

生化学第二

1 構成員

	平成16年3月31日現在
教授	1人
助教授	1人
講師（うち病院籍）	0人（0人）
助手（うち病院籍）	2人（0人）
医員	0人
研修医	0人
特別研究員	0人
大学院学生（うち他講座から）	1人（0人）
研究生	2人
外国人客員研究員	0人
技官（教務職員を含む）	0人
その他（技術補佐員等）	1人
合 計	8人

2 教官の異動状況

- 三浦 直行（教授）（H11. 4. 1～現職）
 上里 忠良（助教授）（H4. 4. 1～現職）
 佐藤 英二（助手）（S62. 10. 1～現職）
 呉 一心（助手）（H8. 4. 1～現職）

3 研究業績

数字は小数2位まで。

	平成15年度
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	3編（0編）
そのインパクトファクターの合計	21.97
(2) 論文形式のプロシーディングズ数	0編
(3) 総説数（うち邦文のもの）	0編（0編）
そのインパクトファクターの合計	0
(4) 著書数（うち邦文のもの）	1編（0編）
(5) 症例報告数（うち邦文のもの）	0編（0編）
そのインパクトファクターの合計	0

(1) 原著論文（当該教室所属の者に下線）

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. Wang T, Tamakoshi T, Uezato T, Shu F, Kanzaki-Kato N, Fu Y, Koseki H, Yoshida N,

Sugiyama T, Miura N : Forkhead transcription factor Foxf2 (LUN)-deficient mice exhibit abnormal development of secondary palate. Dev Biol 259 : 83-94, 2003.

インパクトファクターの小計 [5.19]

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）

1. Ueki T, Tanaka M, Yamashita K, Mikawa S, Qiu Z-F, Maragakis NJ, Hevner RF, Miura N, Sugimura H, Sato K : A novel secretory factor, Neurogenesis-1, provides neurogenic environmental cues for neural stem cells in the adult hippocampus. J Neurosci 23 : 11732-40, 2003.

インパクトファクターの小計 [8.05]

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

1. Kriederman BM, Myloyde TL, Witte MH, Dagenais SL, Witte CL, Rennels M, Bernas MJ, Lynch MT, Erickson RP, Caulder MS, Miura N, Jackson D, Brooks BP, Glover TW : FOXC2 haploinsufficient mice are a model for human autosomal dominant lymphedema-distichiasis syndrome. Hum Mol Genet 12 : 1179-1185, 2003.

インパクトファクターの小計 [8.73]

(2) 論文形式のプロシーディングズ

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

(3) 総 説

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

(4) 著 書

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. Miura N, Wang T, Tamakoshi T : Chapter 64 Introduction to Forkhead (Fox) Genes in

"Inborn Errors of Development : Molecular basis of clinical disorders of morphogenesis"
 (Eds Epstein CJ, Erickson RP, Wynshaw-Boris A) pp.664-670, Oxford University Press, San
 Francisco, 2004.

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

(5) 症例報告

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

4 特許等の出願状況

	平成15年度
特許取得数（出願中含む）	0件

5 医学研究費取得状況

	平成15年度
(1) 文部科学省科学研究費	2件 (860万円)
(2) 厚生科学研究費	0件 (0万円)
(3) 他政府機関による研究助成	0件 (0万円)
(4) 財団助成金	0件 (0万円)
(5) 受託研究または共同研究	0件 (0万円)
(6) 奨学寄附金その他（民間より）	1件 (50万円)

(1) 文部科学省科学研究費

三浦直行（代表者）基盤研究（B）劇症肝炎抵抗性モデル動物を用いた肝発癌と肝細胞死の分子標的の探索 720万円（新規）

三浦直行（代表者）萌芽研究 分子標的発見による肝臓強化新療法の基礎的研究 140万円（継続）

6 特定研究などの大型プロジェクトの代表，総括

7 学会活動

	国際学会	国内学会
(1) 特別講演・招待講演回数	1件	0件
(2) シンポジウム発表数	0件	2件
(3) 学会座長回数	0件	3件
(4) 学会開催回数	0件	0件
(5) 学会役員等回数	0件	2件
(6) 一般演題発表数	1件	

(1) 国際学会等開催・参加

2) 国際学会・会議等における基調講演・招待講演

Miura N : Tissue engineering of the liver in rodents using cell and gene technology. The 3rd Hamamatsu-Kyungpook Joint Symposium, September 2003, Daegu, Korea.

5) 一般発表

ポスター発表

1. Miura N, Tamakoshi T, Chandra, A : The FOXC2 gene and a congenital cardiovascular disease. Keystone Symposium on "Cardiac development and congenital heart disease", March 2004, keystone, CO.

(2) 国内学会の開催・参加

3) シンポジウム発表

1. 三浦直行 : The FOXC2 gene is involved in cardiovascular morphogenesis. 第76回日本生化学会大会, 10月, 横浜
2. 三浦直行 : フォークヘッド遺伝子Foxc2ノックアウトマウスの呈する心大動脈異常はヒトLD症候群の部分症状にあたる, 第26回日本分子生物学会年会, 12月, 神戸

4) 座長をした学会名

三浦直行 第75回日本生化学会大会シンポジウム

三浦直行 第25回日本分子生物学会年回シンポジウム, 一般発表

(3) 役職についている国際・国内学会名とその役割

三浦直行 日本生化学会評議員

三浦直行 日本細胞生物学会評議員

8 学術雑誌の編集への貢献

	国内	外国
学術雑誌編集数 (レフリー数は除く)	0件	0件

9 共同研究の実施状況

	平成15年度
(1) 国際共同研究	4件
(2) 国内共同研究	1件
(3) 学内共同研究	2件

(1) 国際共同研究

Kari Alitalo (ヘルシンキ大学) Foxc2遺伝子のリンパ管形成における役割
 Tom Glover (ミシガン大学) 先天性リンパ水腫モデル動物におけるリンパ管形成
 Masashi Yanagisawa (テキサス大学) Foxc2とエンドセリン受容体Aの相互関係
 Peter Carlsson (イエーテボリ大学医学部) Foxf1とFoxf2の相互作用

(2) 国内共同研究

杉山俊博 (秋田大学医学部) フォークヘッド遺伝子Foxc2の発生における役割

(3) 学内共同研究

金岡繁 (内科学第一) 腸管の癌に関する研究
 佐藤康二 (解剖学第一) Neurogenesis-1の骨分化誘導作用に関する研究

10 産学共同研究

	平成15年度
産学共同研究	0件

11 受賞

12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

1. 心大動脈形成の分子機構に関する研究

我々は、フォークヘッド遺伝子Foxc2 (MFH-1) のノックアウトマウスは心大動脈の形成異常を呈することから、Foxc2遺伝子は心大動脈の発生に重要な役割を果たしていることを明らかにした。一方、エンドセリン受容体A (ETA) のノックアウトマウスも似た心大動脈の形成異常を示すことが共同研究者の柳沢博士の研究室で明らかにされた。最近、Tbx1およびCrkl遺伝子のノックアウトマウスが作製され、その2つのノックアウトマウスが大動脈弓の形成異常や副甲状腺の形成異常を示したことから、Foxc2遺伝子とTbx1遺伝子、Crkl遺伝子の相互関係を明らかにする第一歩として、Foxc2/Tbx1ダブルヘテロマウスとFoxc2/Crklダブルヘテロマウスを作製した。特に症状を示さなかったため、現在Foxc2/Tbx1ダブルホモマウスとFoxc2/Crklダブルホモマウスを作製し、心大動脈の症状を検討中である。

(玉越智樹, 三浦直行, 柳沢正史¹⁾ ¹⁾テキサス大学

2. リンパ管形成におけるフォークヘッド遺伝子Foxc2の役割

先天性リンパ水腫-睫毛重生 (Lymphedema-distichiasis, 略してLD) 症候群の原因遺伝子がFOXC2遺伝子であることをミシガン大学のGlover博士が発見して以来, Glover博士とは共同研究をしている。Foxc2ヘテロマウスをよく観察してみると, 睫毛が2列に生えていることがわかり, この症状は100%のヘテロマウスに見られる。また, Evans Blue Dye (EBD) を耳の皮下, 鼻腔, 前足, 後足に注射することにより, リンパ管造影すると, 正常マウスに比し, ヘテロマウスではリンパ管の拡張やリンパ節の増加と拡大が起こっていることが明らかになった。また, 正常マウスでは後足へのEBD注射では後腹膜リンパ管の機能が正常のため, 肝門部リンパ管へは色素が逆流しないが, ヘテロマウスでは肝門部リンパ管への逆流が認められ, リンパ流の異常があることが機能的に明らかになった。

(三浦直行, T. Glover¹, B. M. Kriedman²) ¹University of Michigan, ²University of Arizona

3. フォークヘッド遺伝子Foxf2 (LUN) の発生における役割

新しいフォークヘッド遺伝子Foxf2 (LUN) のノックアウトマウスを作製した。詳しいin situ hybridizationの結果, LUN遺伝子は肺間質や小腸間質そして上顎下顎周囲に発現している遺伝子であることが明らかになった。ノックアウトマウスの解析により, まずヘテロマウスは特に異常を示さなかった。ヘテロマウスどうしをかけ合わせてホモマウスを作製すると, ホモマウスは生後1日までに全部死亡することが判明した。各臓器における異常について検討したところ, 口蓋裂が全ホモマウスに観察された。LUNノックアウトマウス胎児期の口腔形成部位について, 口蓋裂に関係すると言われるMsx1, Msx2, Tbx1, Foxc2遺伝子発現の変化を詳細に検討したが, 著明な発現の変化はなかった。興味深いことに, ホモマウスでは通常起こる舌の扁平化, 下方移動が起こらないことが明らかになり, 舌が口蓋棚が水平伸張するのを邪魔しているために, 口蓋裂が発生することが明らかになった。

(王とう, 玉越智樹, 三浦直行)

4. 脂肪細胞分化, 血管平滑筋細胞分化におけるFoxc2遺伝子の役割

前脂肪細胞株3T3-L1は誘導剤により脂肪細胞に分化して, 細胞質に多数の油滴を含むようになる。3T3-L1細胞にはFoxc2が発現しているが, 誘導剤によりFoxc2 mRNAが増加することを見出した。脂肪細胞分化にFoxc2が必須かどうかを現在検討している。また, 3T3 10T1/2細胞にTGFbを作用させると血管平滑筋アクチンmRNAの増加がおこる。この過程に, Foxc2が必須かどうかを検討している。

(楊志, 三浦直行)

5. Neurogenesis-1の機能の解明

BMPアンタゴニストであるNeurogenesis-1がBMP2によるFoxc2 mRNAの増加作用にいかなる効果を示すかを明らかにするため, 大腸菌および培養細胞で組換えNeurogenesis-1蛋白を作成している。同蛋白の分泌様式を35S-Methionineラベルした細胞抽出液の免疫沈降法を用いて, Pulse-Chase実験により明らかにしつつある。

(A. Chandra, 上里忠良, 三浦直行)

6. 新しい遺伝子産物BP53の解析

脳cDNAライブラリーよりイムノスクリーニングした遺伝子は分子量53kDaの蛋白質をコードしていた。このBP53蛋白質は脳細胞の細胞質に局在する。また、組換えBP53蛋白質で作ったセファロースカラムに細胞抽出液をアプライすると、アクチンとチューブリンが結合することが明らかになった。DsRed2-BP53遺伝子とGFP-actin遺伝子あるいはGFP-tubulin遺伝子を共遺伝子導入した細胞を観察した結果、BP53蛋白とtubulin蛋白は同じ局在を示したが、actin蛋白とは異なる局在を示した。BP53遺伝子は何らかの神経細胞機能を果たしていると推定される。

(上里忠良, 大野浩司¹, 三浦直行) ¹解剖学第一

13 この期間中の特筆すべき業績, 新技術の開発

フォークヘッド遺伝子Foxc2のリンパ管形成における機能についての検討を行った結果、Foxc2ヘテロマウスではリンパ管形成不全というより、むしろリンパ管過形成の像を呈した。また、ヘテロマウスで睫毛が2列に生えていることも発見し、Foxc2ヘテロマウスはヒトリンパ水腫-睫毛重生症候群のよいモデル動物になることが明らかになった。

さらに、フォークヘッド遺伝子Foxf2のノックアウトマウスを詳しく解析した。ホモマウスの主な症状である口蓋裂は、まず舌の形態異常があり、そのため口蓋棚が水平伸張できないために起こることが明らかになった。現在、Foxf1/Foxf2ダブルヘテロマウスの症状を検討している、

14 研究の独創性, 国際性, 継続性, 応用性

フォークヘッド遺伝子ファミリーについて研究しているのは、日本では当教室だけである。外国では、アメリカに数研究室、ヨーロッパに2研究室がファミリーの他の遺伝子について研究を行っている。また、これらの研究室どうしでは、ある場合は競争が、ある場合は共同研究がなされているが、当教室はフィンランド、アメリカの研究室と共同研究を行っている。フォークヘッド遺伝子ファミリーはいろいろな器官の形成に関わる遺伝子ファミリーで、そのノックアウトマウスは発現している器官の形成異常を引き起こす。ヒト先天性リンパ水腫患者の一部にFOX2遺伝子の突然変異が発見されたことから、この遺伝子のリンパ血管形成における役割が注目されている。当講座の研究内容は心臓、大動脈、リンパ管、骨格系などの器官形成の分子機構の解明と疾患との関連という発展性の高いものであり、国際的にも大きく評価されている。

15 新聞, 雑誌等による報道