

生化学第二

1 構成員

	平成17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）	4人（0人）
研究生	3人
外国人客員研究員	0人
技術職員（教務職員を含む）	0人
その他（技術補佐員等）	1人
合 計	12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16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	46.87
(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）	2編（2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）	0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）

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. Kanaoka S, Yoshida K, Miura N, Sugimura H, Kajimura M : Potential usefulness of detecting cyclooxygenase 2 messenger RNA in feces for colorectal cancer screening. Gastroenterology 127 : 422-427, 2004.

インパクトファクターの小計 [13.44]

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. Petrova TV, Karpanen T, Norrmen C, Mellor R, Tamakoshi T, Finegold D, Ferrell R, Kerjaschki D, Mortimer P, Yla-Herttuala S, Miura N, Alitara K: Defective valves and abnormal mural cell recruitment as a mechanism for the lymphatic vascular failure in lymphedema distichiasis. Nature Medicine 10 : 974-981, 2004.
2. Kanzaki-Kato N, Tamakoshi T, Fu Y, Chandra A, Itakura T, Uezato T, Tanaka T, Clouthier DE, Sugiyama T, Yanagisawa M, Miura N : Roles of forkhead transcription factor Foxc2 (MFH-1) and endothelin receptor A in cardiovascular morphogenesis. Cardiovasc Res 65 : 711-718, 2005.

インパクトファクターの小計 [33.43]

(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

1. 三浦直行 : 発生・代謝遺伝子として注目を浴びるフォークヘッド遺伝子 蛋白質核酸酵素 49 : 2558-2570, 2004.
2. 三浦直行 : FOXC2遺伝子と先天性リンパ水腫 医学のあゆみ 211 : 1152-1153, 2004.

インパクトファクターの小計 [0.00]

4 特許等の出願状況

	平成16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16年度
(1) 文部科学省科学研究費	2件 (610万円)
(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	1件 (500万円)

(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 (12万円)

(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 360万円(継続)

三浦直行(代表者) 基盤研究(C) 心臓大血管の形態形成の分子機構の解明 250万円(新規)

(4) 財団助成金

三浦直行(代表者) 上原記念生命科学財団研究助成金 言語遺伝子FOXP2の言語・器官形成機構 500万円(新規)

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	0件
(3) 学会座長回数	0件	1件
(4) 学会開催回数	0件	0件
(5) 学会役員等回数	0件	3件
(6) 一般演題発表数	2件	

(1) 国際学会等開催・参加

ポスター発表

1. Chandra A, Ichihara T, Sugiyama T, Miura N: Resistance to fulminant hepatitis and carcinogenesis conferred by overexpression of retinoblastoma protein in mouse liver. Keystone Symposium on "Cancer and Development", February 2005, Banff, Alberta.
2. Wang T, Chandra A, Miura N: Foxf2-deficient mice exhibit abnormal development of secondary palate. Keystone Symposium on "Molecular regulation of stem cells", February 2005, Banff, Alberta.

(2) 国内学会の開催・参加

4) 座長をした学会名

三浦直行 第3回心臓血管発生研究会

(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

三浦直行 心臓血管発生研究会幹事

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16年度
(1) 国際共同研究	3件
(2) 国内共同研究	1件
(3) 学内共同研究	1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

Christer Betsholtz（カロリンスカ研究所）腎臓形成におけるFoxc2遺伝子の役割

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

(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

10 産学共同研究

	平成16年度
産学共同研究	0件

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。そこで、心大動脈形成におけるFoxc2遺伝子とETA遺伝子の上流下流関係を明らかにすることにした。Foxc2ヌルマウスにおけるETA遺伝子の発現と、ETAヌルマウスにおけるFoxc2遺伝子の発現を *in situ hybridization* 法で検討した結果、Foxc2遺伝子とETA遺伝子はいずれも独立に大動脈血管形成に働いていることが判明した。さらに、Foxc2/ETAダブルホモマウスを作製した。ダブルヘテロマウスは正常であったが、ダブルホモマウスはシングルホモマウスより重篤な症状を呈した。詳細な検討の結果、ダブルホモマウスはシングルホモマウスではおこらない総動脈幹開存が起こっていることが判明した。また、ダブルホモマウスは胎生11.5日で心不全のため死亡することが明らかになった。これらの事実は、大動脈弓血管の形成にはFoxc2遺伝子およびETA遺伝子が相加的に働いていることを示唆

している。

(三浦直行, 玉越智樹, 加藤直子², 柳沢正史¹) ¹テキサス大学, ²秋田大学医学部

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 ; LD) 症候群の原因遺伝子がFOXC2遺伝子であることが2000年末に明らかになった。そこで, Foxc2ヘテロマウスを詳細に調べてみると, 2列睫毛とリンパ管の異常を示し, Foxc2ヘテロマウスがヒトLD症候群のよいモデルになることを昨年明らかにした。今回, Foxc2ホモマウス皮膚のリンパ管を詳細に検討した結果, Foxc2ホモマウスおよびヒトLD患者の毛際リンパ管内皮細胞は蛇行し, 通常基底膜や周皮細胞に被われていないが, ホモマウスおよびLD患者の皮膚の毛細リンパ管内皮細胞は厚い基底膜と周皮細胞に囲まれている異常を呈することが判明した。また, リンパの逆流を防ぐためのリンパ管内の弁がホモマウスやLD患者では欠損していることも明らかになった。これらのことから, LD患者皮膚では間質から毛細リンパ管への体液の流入が障害され, また弁が欠損しているためリンパ液の逆流がおこり, リンパ浮腫を呈すると考えられた。

(玉越智樹, 三浦直行, ¹Tatiana Petrova, ¹Kari Alitalo) ¹Biomedicum Helsinki and University of Helsinki

3. フォークヘッド遺伝子Foxp2の器官形成における役割

家族性に重度の会話と言語に障害のある患者の原因遺伝子はFOXP2であった。そこで, 言語遺伝子FOXP2の進化的な側面を明らかにするため, メダカの相同遺伝子を単離した。FOXP2遺伝子はヒト, チンパンジー, マウス, ソングバードは比較的似ているが, メダカ遺伝子とはかなり構造上異なっていることが明らかになった。現在, 構造上の違いによる機能的な差異を検討している。

(板倉達郎, Chandra Abhisheck, 楊志, せつ暁東, 三浦直行)

4. Rbトランスジェニックマウスの劇症肝炎, 肝癌抵抗性に関する研究

ヒトRb 遺伝子をラットHNF-1 α の遺伝子プロモーター支配下に置いたコンストラクトを用いてトランスジェニックマウスを2系統得た。肝臓の大きさや組織構築はコントロールマウスと差異を認めなかった。劇症肝炎を誘導する抗Fas 抗体を投与すると, コントロールマウスでは血清GOT, GPT値の上昇や, 肝組織像で出血や肝細胞変性像が観察されるのに対して, Rbトランスジェニックマウスでは, GOT, GPT値の上昇はほとんど見られず, 肝組織像でも出血や肝細胞変性像も観察されなかった。また, ジエチルニトロサミン腹腔内注射後フェノバルビタール飲水により肝癌を誘導すると, コントロールマウスでは肝細胞癌と多数の結節が出現するが, Rbトランスジェニックマウスでは肝細胞癌は出現せず, 結節数も有意に減少していた。トランスジェニックマウスとコントロールマウスの肝臓抽出液のアポトーシス関連蛋白をウエスタンブロット法で比較検討した。その結果, p53蛋白, E2F蛋白などは変化せず, Bclファミリー蛋白のうちでも, Bax 蛋白のみがトランスジェニックマウスで著明に減少していることが判明した。

(王博, 市原利晃¹, 杉山俊博¹, 上里忠良, 三浦直行) ¹秋田大学医学部)

5. 新しい遺伝子BP53の単離とその解析

H, K-ATPase のN末端側のペプチドを合成し、これを兔に免疫して抗ペプチド抗体を得た。この抗体を用いて、ラット脳細胞抽出液に対してウエスタンブロットしたところ、1本のバンドが検出された。本来の蛋白は脳では発現しない蛋白であるので、この蛋白は、未知の新しいファミリー遺伝子であると考え、脳 cDNAライブラリーをこの抗体でイムノスクリーニングしたところ、陽性のクローンを1個得た。塩基配列を決定したところ、この遺伝子はヒトRap2 Interacting Proteinと構造上ホモロジーがあることが判明した。組み換え蛋白を大腸菌で産生したところ、SDS-PAGE上分子量53kDaであった。DsRed2-BP53融合蛋白のPC12細胞内局在を見てみると、GFP-tubulinと共局在を示した。また、BP53蛋白はGDP依存性にPC12細胞やマウス脳からの抽出液のB2分画中の小胞と結合することを見出した。

(上里忠良, 三浦直行)

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の心大血管形成における分子機構について、詳しく検討を行った結果、転写因子であるFoxc2遺伝子とエンドセリン受容体A遺伝子はパラレルに形態形成に働いていることが明らかになったことは注目に値する。また、ダブルホモマウスがより早期に心不全で死亡することが明らかになり、Foxc2遺伝子とエンドセリン受容体A遺伝子が相加的に大動脈・肺動脈の隔壁形成に関与していることを明らかに出来た。

また、先天性リンパ水腫-睫毛重生症候群において、リンパ浮腫がおこる原因として、毛細リンパ管内皮細胞が蛇行し厚い基底膜や周皮細胞に取り囲まれており、またリンパ管弁を欠損しているなどの異常のためであることを明らかにできた。

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、日本では当教室と筑波大学（FoxOについて研究している）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原因としてFOXC2遺伝子の突然変異が発見され、この患者のリンパ血管の形成異常の分子メカニズムを明らかにしたことは注目されている。今年度も、当講座の研究内容は大動脈、リンパ管、骨格系、脳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

1. 「リンパ管形成遺伝子を解明-浜松医大など」日本経済新聞 2004年8月23日

日本経済新聞

2004年(平成16年)8月23日(月曜日)

リンパ管形成
遺伝子を解明

浜松医大など

浜松医科大学の三浦直
行教授などの日米欧共同
チームは、全身にくまな
く張り巡らされているリ
ンパ管を形成する遺伝子を
突き止めた。この遺伝子
に異常があると、リンパ
管の構造がおかしくな
り、リンパ液がスムーズ
に流れなくなる。下肢な
どがむくむリンパ水腫な
どの治療法開発に役立ち

そつだ。
「FOX C2」と呼ぶ
遺伝子に異常があると、
リンパ管の内部の弁が欠
損したり、リンパ管の周
囲に筋肉細胞の一種が異
常に集まったりすること
がわかった。これにより、
リンパ液がスムーズに流
れなくなるといふ。動物
実験や患者の試料を分析
した。
リンパ管の形成のカギ
を握る遺伝子が分かった
ことで、リンパ管が傷ん
だ部分に、新たなリンパ
管を作るといった治療法
を開発できる可能性があ
る。成果は米科学誌「ネイ
チャー・メディシン」電子
版に二十三日掲載する。