

生化学第二

1 構 成 員

	平成22年3月31日現在
教授	1人
准教授	1人
講師（うち病院籍）	0人（0人）
助教（うち病院籍）	2人（0人）
助手（うち病院籍）	0人（0人）
特任教員（特任教授，特任准教授，特任助教を含む）	0人
医員	0人
研修医	0人
特任研究員	1人
大学院学生（うち他講座から）	5人（1人）
研究生	0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）	2人
合 計	12人

2 教員の異動状況

- 三浦 直行（教授）（H11. 4. 1～現職）
 上里 忠良（准教授）（H4. 4. 1～19. 3. 31 助教授；19. 4. 1～現職）
 佐藤 英二（助教）（S62. 10. 1～19. 3. 31 助手；19. 4. 1～現職）
 呉 一心（助教）（H8. 4. 1～19. 3. 31 助手；19. 4. 1～現職）

3 研究業績

数字は小数2位まで。

	平成21年度
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	6編（0編）
そのインパクトファクターの合計	38.26
(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	0.00
(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	0.00

(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. Wu YX, Fang X: Apigenin, chrysin, and luteolin selectively inhibit chymotrypsin-like and trypsin-like proteasome catalytic activities in tumor cells. *Planta Med* 76: 128-132, 2010.

インパクトファクターの小計 [2.04]

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. Takai T, Kanaoka S, Yoshida K, Hamaya Y, Ikuma M, Miura N, Sugimura H, Kajimura M, Hishida A: Fecal COX-2 plus MMP-7 mRNA assays as a marker for colorectal cancer screening. *Can Epidemiol Biomarkers Prev* 18, 1888-1893, 2009

インパクトファクターの小計 [4.31]

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. Norrmen C, Cheng J, Miura N, Puolakkainen P, Yla-Herttuala S., Alitaro, K, Petrove TV: FOXC2 controls formation and maturation of lymphatic collecting vessels through cooperation with NFATc1. *J Cell Biol* 185, 439-457, 2009.

2. Bazigou E, Xie S, Chan C, Weston A, Miura N, Sorokin L, Adams R, Muro AF, Sheppard D, Makinen T: Integrin- $\alpha 9$ is required for fibronectin matrix assembly during lymphatic valve morphogenesis. *Dev Cell* 17, 175-186, 2009.

3. Mouta-Bellum C, Kirov A, Micelli-Libby, Mancini ML, Petrova TV, Liaw L, Prudovsky I, Thorpe PE, Miura N, Cantley LC, Alitaro K, Fruman DA, Vary CPH: Organ-specific lymphangiectasia, arrested lymphatic sprouting, and maturation defects resulting from gene-targeting of the PI3K regulatory isoforms p85a, p55a and p50a. *Dev Dyn* 238, 2690-2699, 2009.

4. Harada K, Yamazaki T, Iwata C, Yoshimatsu Y, Sase H, Mishima K, Morishita Y, Hirashima M, Oike Y, Suda T, Miura N, Watabe T, Miyazone K: Identification of Prox1 targets during in vitro vascular differentiation from embryonic stem cells: functional roles of HoxD8 in lymphangogenesis. *J Cell Sci* 122, 3923-3930, 2009.

インパクトファクターの小計 [31.91]

4 特許等の出願状況

	平成21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21年度
(1) 文部科学省科学研究費	3件 (940万円)
(2) 厚生労働科学研究費	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)	0件 (0万円)

(1) 文部科学省科学研究費

三浦直行(代表者) 基盤研究(B) 肝臓ヒト化マウスの作製とその応用 350万円(継続)

三浦直行(代表者) 特定領域研究 C型肝炎ウイルス持続感染マウスの作製と発がん機構の解明
530万円(継続)

彦坂圭介(代表者) 特別研究員奨励費 60万円(継続)

7 学会活動

	国際学会	国内学会
(1) 特別講演・招待講演回数	0件	0件
(2) シンポジウム発表数	0件	1件
(3) 学会座長回数	0件	2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	0件	

(2) 国内学会の開催・参加

3) シンポジウム発表

三浦直行, 待井将志: 心臓形成におけるIrx遺伝子の発現と役割, 第32回日本分子生物学会年会, 2009年12月, 横浜(ワークショップ)

4) 座長をした学会名

三浦直行 第8回心臓血管発生研究会, 2009年7月, 福島

三浦直行 第32回日本分子生物学会年会, 2009年12月, 横浜(ワークショップ)

(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	1件

(2) 外国の学術雑誌の編集

三浦直行 Archives of Medical Science Editorial Board I.F.=1.05

9 共同研究の実施状況

	平成21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	3件

(1) 国際共同研究

Tatiana Petrova（ローザンヌ大学） 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） 先天性リンパ水腫患者におけるFOXC2遺伝子の突然変異

Sandurei Mani（MDアンダーソン癌研究所） FOXC2と癌細胞転移

(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

坂口孝宣（外科学第二） 肝臓癌に関する研究

小林良正（内科学第二） 肝臓癌に関する研究

10 産学共同研究

	平成21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. リンパ管形成におけるFOXC2遺伝子とNFATc遺伝子の役割

先天性リンパ水腫-睫毛重生（Lymphedema-Distichiasis）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2003年明らかにした。2004年には、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（Nature Medicine 2004年

8月号)。2009年は、腸管リンパ管に注目し、心臓の弁の形成異常をおこすことが知られているNFATc遺伝子のリンパ管の弁形成についての役割を検討した。その結果、Foxc2とNFATcは協調的にリンパ管の弁形成に働くことを見出した。

(木村 航, 三浦直行, ¹Tatiana Petrova) ¹University of Lausanne

2. フォークヘッド遺伝子Foxp2の肺形成における役割

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。しかし、言語遺伝子FOXP2は肺や腸管にも発現している。そこで、モノクロナル抗マウスFoxp2抗体を作製し、肺の各発生段階における発現を観察した。Foxp2は伸長する気管支や細気管支の遠位部に発現し、近位部では発現が減少あるいは消失した。最終的には肺胞のII型肺胞細胞に発現が限局した。この特徴的な発現パターンに合致する遺伝子としてCC10遺伝子とSurfactant-C遺伝子がある。この2つのプロモーターをluciferaseに連結して、Foxp2の転写活性を検討したところ、Foxp2はCC10遺伝子には抑制的に、Surfactant-C遺伝子には積極的に働くことを発見した。

(楊志, 彦坂圭介, Chandra Abhisheek, 薛曉東, 三浦直行)

3. Irx11, Irx3遺伝子の器官形成における役割

Irx11遺伝子は最近クローニングされた遺伝子である。そこで、発生における役割を知るため、ノックアウトマウスを作製した。マウスはメンデル法則に従い生まれることが明らかになり、生殖能力も正常であった。詳しい検討の結果、ホモマウスでは腱の形成に異常があることが判明した。この異常にいたる発生学的な分子基盤を解明中である。

一方、Irx3遺伝子は心筋で発現している遺伝子である。ノックアウトマウスを作製したところ、メンデル通りに生まれる。心臓形態に異常はないが、心室内伝導速度が野生型に比べ遅延していることを見出した。現在、Irx3遺伝子の異常により伝導障害がおこる分子メカニズムを解析している。

(木村 航, 三浦直行)

4. 変異Rbトランスジェニックマウスの肝臓発生に関する研究

ヒト変異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。しかし、11ヶ月から15ヶ月になるとトランスジェニックマウスは雌雄とも肝細胞種という良性腫瘍を50%の頻度で発生した。遺伝子発現を検索してみると、トランスジェニックマウスは腫瘍の有無に関わらず、c-Myc mRNAが増加していることが明らかになった。また、腫瘍が発生したマウスでは、c-Fos, c-Jun, Foxm1, Bmi1, Skp2 mRNAが増加していることも明らかになった。

(王博, 則武秀尚, 彦坂圭介, 上里忠良, 三浦直行)

5. ヒト肝細胞キメラ肝臓をもつマウスの作製とその応用

Alb-uPAトランスジェニックマウスは外来性肝細胞を移植するのに適当なマウスである。このトランスジェニックマウスに免疫不全マウスscidを交配し、Alb-uPAトランスジーンをもつ免疫不全

マウスに、マウス肝細胞やヒト肝細胞を移植する基本的手技が確立された。レンチウイルスにより任意の癌遺伝子を導入して発癌に関する多様な研究をする準備が整った。

(則武秀尚, 三浦直行)

6. 新しい神経突起誘導因子の精製とその解析

筋芽細胞C2C12の培養上清をPC12細胞に加えると、神経突起が形成されることを見出した。この因子は、蛋白成分でNGF抗体やBDGF抗体でも阻害されないことから、新規の因子であると期待される。現在、大量のC2C12細胞培養液から硫酸沈殿や疎水性カラムなどを用いて、この因子の精製を試みている。

(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

1. FOXC2遺伝子がリンパ管の弁形成遺伝子であることが判明していたので、同じく弁形成に関わることが知られているNFATc遺伝子との相互作用を検討した。その結果、NFATcはFoxc2と協調的にリンパ管の弁形成に関わっていることを発見した。
2. Irx3遺伝子ノックアウトマウスで心室内伝導異常がおこることを見出した。このマウスは突然死に至る原因を解明する糸口を与える可能性を秘めたモデルマウスとして注目に値する。
3. Foxp2遺伝子の肺における役割を明らかにした。最初発現しているが最終的には発現が消失する気管支上皮細胞が分泌するCC10遺伝子には抑制的に働き、Foxp2の発現が持続するII型肺胞細胞が分泌するSurfactant-C遺伝子には促進的に働くことが判明した。
4. 変異Rbトランスジェニックマウスを作製し、肝細胞腫瘍がマウス雌雄で50%自然発生する事を見出した。この事実は、肝キメラマウスと併用することで、肝細胞癌への発癌過程解明へのシーズとなる研究であると評価している。

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、スウェーデン、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。当講座の研究内容は心臓大動脈、リンパ管、腎臓、脳、左右決定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。

フォークヘッド遺伝子以外にも、肝臓癌の発生や心臓形成に関わる遺伝子の研究も進めており、これらの研究成果がまもなく明らかになると思われる。