

# 生化学第二

## 1 構 成 員

	平成23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、特任助教など)	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22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	7.01
(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. Xue X-D, Kimura W, Wang B, Hikosaka K, Itakura T, Uezato T, Matsuda M, Koseki H, Miura N: A unique expression pattern of Tbx10 in the hindbrain as revealed by Tbx10<sup>lacZ</sup> allele. **Genesis** 48: 195-199, 2010.
2. Yang Z, Hikosaka K, Sharkar MTK, Tamakoshi T, Chandra A, Wang B, Itakura T, Xue X-D, Uezato T, Kimura W, Miura N: The mouse forkhead gene Foxp2 modulates expression of the lung genes. **Life Sciences** 87: 17-25, 2010.
3. Kimura W, Machii M, Xue X-D, Sultana N, Hikosaka K, Sharkar MTK, Uezato T, Matsuda M, Koseki H, Miura N: Irx11 mutant mice show reduced tendon differentiation and no patterning defects in musculoskeletal system development. **Genesis** 49: 2-9, 2011.

インパクトファクターの小計 [ 7.01 ]

#### 4 特許等の出願状況

	平成22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22年度
(1) 文部科学省科学研究費	2件 (250万円)
(2) 厚生科学研究費	1件 (500万円)
(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

Nishat Sultana (代表者) 若手研究 (B) 大腸癌の増殖を支持する癌付随線維芽細胞における FOXF2 遺伝子の役割 190 万円 (新規)

彦坂圭介 (代表者) 特別研究員奨励費 60 万円 (継続)

##### (2) 厚生科学研究費

三浦直行 (分担者) 肝炎等克服対策研究事業「肝炎ウイルス感染複製増殖過程の解明と新規治療法開発に関する研究」分担課題「HCV 感染モデル動物の開発」500 万円 (新規) 代表者 国立感染症研究所 部長 脇田隆字

#### 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	1件	

(1) 国際学会等開催・参加

5) 一般発表

ポスター発表

1. Kimura W, Sultana N, Sharkar MTK, Hikosaka K, Miura N: Generation of the Tbx1-AmCyan transgenic mice and its application. Keystone Symposia on "Mechanism of Cardiac Growth, Death and Regeneration", February 2011, Keystone CO.

(2) 国内学会の開催・参加

3) シンポジウム発表

1. 木村航, Nishat Sultana, Mohammad Sharkar, 三浦直行: Creation of a Tbx1-AmCyan1 transgenic mice and its application to characterize the Tbx1-expressing cells、第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学大会合同大会ワークショップ、2010年12月、神戸

4) 座長をした学会名

三浦直行 第17回肝細胞研究会、2010年6月、秋田

三浦直行 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学大会合同大会ワークショップ、2010年12月、神戸

(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

(3) 国内外の英文雑誌のレフリー

Genesis (USA) 1回、Dev Dyn (USA) 1回

9 共同研究の実施状況

	平成22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22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。Foxc2 蛋白のリン酸化部位を調べてみると、セリンとスレオニンがリン酸化されていることが判明した。そこで、これらのアミノ酸をアラニンに代えるとリンパ管の形態が変化した。今、Foxc2 蛋白の標的遺伝子を探している。

(木村 航, 三浦直行, <sup>1</sup>Tatiana Petrova) <sup>1</sup>University 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。そこで、マウスホモログ Foxp2 に対するモノクローナル抗体を作成した。肺の発生時期における Foxp2 の発現を免疫組織学的に検討した。肺が細気管支となり伸長している時、Foxp2 はその先端部に発現し、近位部では発現が消失する。また、生後は気管支上皮細胞では発現せず、肺胞の II 型肺胞細胞に発現していた。Foxp2 は転写因子であるので、気管支上皮で発現している CC10 遺伝子と II 型肺胞細胞で発現している Surfactant protein C 遺伝子に対する Foxp2 の効果を培養細胞へのトランスフェクションで検討した結果、Foxp2 は CC10 プロモーターには抑制的に働き、Surfactant Protein C プロモーターには活性的に働くことが判明した (楊志、彦坂圭介、板倉達郎、薛曉東、三浦直行)

### 3. Tbx10 遺伝子の器官形成における役割

T-box 遺伝子ファミリーは器官形成に重要な役割を果たす遺伝子である。新しい T-box 遺伝子 Tbx10 遺伝子座位に LaxZ を挿入する形でノックアウトマウスを作成した。ホモマウスはメンデル法則通りに生まれてくることが判明した。Tbx10 発現細胞は rhombomere4 から腹側に移動し、最終的に橋部に楕円球の形で分布する。この神経核に該当するものとして介在ニューロンが考えられる。

(薛曉東、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腫瘍発生に関する研究

ヒト変異 Rb 遺伝子をラット HNF-1 $\alpha$  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。さらに、変異 Rb 蛋白は正常 Rb 蛋白と異なり、Myc プロモーターに脱抑制的に作用することも判明した。

(王博、彦坂圭介、則武秀尚、上里忠良、三浦直行)

### 5. Irx11 遺伝子の機能の解明

近々にクローニングされた Irx11 遺伝子のノックアウトマウスを作成し、ホモマウスの症状を観察したところ、腱が低形成であることが明らかになった。Screlaxis の発現に影響はなかった。腱の発生においては、初期に Screlaxis が働き、後期に Irx11 が働くことが重要であることが明らかになった。

(木村 航、薛曉東、三浦直行)

### 6. 新しい神経軸索伸長因子の生化学的精製

筋芽細胞 C2C12 の培養上清には、PC12 細胞の軸索を伸長させる活性があることを発見した。大量に培養した培養液を種々のカラムにかけて、軸索伸長因子の生化学的精製を行っている。

(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 遺伝子は先天性リンパ水腫-睫毛重生症候群（以後、LD 症候群）の原因遺伝子であり重要な遺伝子である。そこで、Foxc2 蛋白のリン酸化について研究した。蛋白中央部の7個のセリン、スレオニンが標的遺伝子の決定に重要な役割を果たしていることが明らかになった。
2. Foxp2 遺伝子は肺発生においてダイナミックに発現パターンが変化する。CC10 遺伝子が発現する必要のない細気管支伸長期には発現し、CC10 遺伝子が発現する肺胞形成後には気管

支上皮の発現は消失する。肺胞形成後にはII型肺胞細胞にのみ発現する。Foxp2は気管支上皮および肺胞上皮のマーカー遺伝子であるCC10とSurfactant Protein Cを制御している重要な転写因子であることを明らかにできた。

3. 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。この際、c-Myc mRNAが増加していた。そこで、変異RbのMycプロモーターへの転写活性を検討した。その結果、野生型Rb蛋白はMycプロモーターに対して抑制的に作用するが、変異Rb蛋白は脱抑制的に作用することが明らかになった。この事実は、肝細胞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探索を進めており、これらの研究成果がまもなく明らかになると思われる。