

生化学第二

1 構 成 員

	平成 24 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）	6 人	(2 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	13 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 23 年度	
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	7 編	(0 編)
そのインパクトファクターの合計	39.73	
(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	
(6) その他（レター等）	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. Hikosaka K, Noritake H, Kimura W, Sultana N, Skarkar MTK, Tagawa Y, Uezato T, Kobayashi Y, Wakita T, Miura N: Expression of human factors CD81, claudin-1, scavenger receptor, and occludin in mouse hepatocytes does not confer susceptibility to HCV entry. *Biomed Res* 32: 143-150, 2011.
2. Wang B, Hikosaka K, Sultana N, Sharkar MTK, Noritake H, Kimura W, Wu Y-X, Kobayashi Y, Uezato T, Miura N: Liver tumor formation by a mutant retinoblastoma protein in the transgenic mice is caused by an up-regulation of c-Myc target genes. *Biochem Biophys Res Commun* 417: 601-601, 2012.
3. Uezato T, Sato E, Miura N: Screening of natural medicines that efficiently activate neurite outgrowth in PC12 cells in C2C12-cultured medium. *Biomed Res* 33: 25-33, 2012.

インパクトファクターの小計 [5.12]

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. Tammela T, Zarkada G, NUrmi H, Jakobsson L, Heinolainen K, Tvorogov D, Zheng W, Franco C, Murtomaki A, Aranda E, Miura N, Yla-Herttuala S, Fruttiger M, Makinen T, Eichmann A, Pollard J, Gerhardt H, Alitaro K: VEGFR-3 controls tip to stalk conversion at vessel fusion sites by reinforcing Notch signaling. *Nature Cell Biol* 13: 1202-1213, 2011.
2. Liang X, Guo K, Xu K, Jin T, Wu Y-X, Liu P, Liu J: Synthesis of immunomagnetic nanoparticles and their use for breast cancer cell separation. *Adv Sci Lett* 4: 3403-3407, 2011.
3. Wang B, Zhang W-J, Zhao J, Wang F-J, Fan L-Q, Wu Y-X, Hu Z-B: Gene cloning and expression of a novel hypoglycaemic peptide from *Momordica charantia*. *J Sci Food Agric* 91: 2443-2448, 2011.
4. Sabine A, Agalarov Y, Hajjami NME, Jaquet M, Hagerling R, Pollmann C, Bebbler D, Pfenniger A, Miura N, Dormond O, Calmes JM, Adams RH, Makinen T, Kiefer F, Kwak BR, Petrova TV: PROX1, FOXC2 and mechanotransduction cooperate to control connexin 37 and calcineurin during lymphatic valve formation. *Dev Cell* 22: 430-445, 2012.

インパクトファクターの小計 [34.61]

4 特許等の出願状況

	平成 23 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 23 年度
(1) 文部科学省科学研究費	2 件 (270 万円)

(2) 厚生労働科学研究費	1 件	(400 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 120 万円 (継続)

呉 一心 (代表者) 挑戦的萌芽研究 小動物モデルとしての HCV 感染性マウスの作製とその応用 150 万円 (新規)

(2) 厚生労働科学研究費

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」400 万円 (継続) 代表者 国立感染症研究所 部長 脇田隆宇

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	0 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	2 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, Hikosaka H, Sharkar, MTK, Uezato T, Koseki K, Miura N: Irx11 is required for tendon differentiation during mouse musculoskeletal system development. Joint Meeting of the German and Japanese Societies of Developmental Biology, March 23-26 2011, Dresden Germany
2. Kimura W, Machii M, Sultana N, Hikosaka K, Sharkar MTK, Uezato T, Koseki H, Miura N: Reduced tendon differentiation in the Irx11 knockout mice. 70th annual meeting, of Society of Developmental Biology, July 21-25 2011, Chicago IL

(2) 国内学会の開催・参加

4) 座長をした学会名

三浦直行 第 10 回心臓血管発生研究会、2011 年 10 月、福島

(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

Hepatol Res (Japan) 1回、Dev Dyn (USA) 1回

9 共同研究の実施状況

	平成23年度
(1) 国際共同研究	3件
(2) 国内共同研究	3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

Kari Alitalo (ヘルシンキ大学) リンパ管における FOXC2 遺伝子の役割

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

古川哲史 (東京医科歯科大学) Irx3 遺伝子ノックアウトマウスの解析

吉田進昭 (東京大学医科学研究所) Foxc2 ノックアウトマウスの解析

(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23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。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、弁形成において Prox1, Foxc2 および力学的な刺激がコネクシン 37 とカルシニューリンを介して作用することを発見した。

(三浦直行, ¹Tatiana Petrova) ¹University of Losannes, Switzerland

2. Irx11 遺伝子の腱形成における役割

Irx11 遺伝子をノックアウトしたところ、メンデル法則通りの生存が認められた。しかし、腱を詳しく検討してみると、低形成であることが判明した。

(木村 航、三浦直行)

3. C 型肝炎ウイルス (HCV) 受容体を発現するトランスジェニックマウスの作製

ヒト HCV 受容体とされる CD81, SCARB1, CLDN1, OCLN の cDNA をアルブミンエンハンサー/プロモーターに連結したトランスジェニックマウスを作製した。患者血清からの HCV を静注して、血中ウイルスを定量したが、ウイルスの感染は確認できなかった。そこで、4 つのヒト蛋白を発現しているトランスジェニックマウス肝臓から初代肝細胞を分離して、HCVpp を感染させた。2 日後に luciferase 活性を測定したが、バックグラウンドレベルであり、ウイルスの侵入が起こっていないと判断された。野生型マウス初代肝細胞と HCVpp が感染できるヒト細胞株 Hep3B を細胞融合させると、ウイルスの侵入が大きく低下した。このことから、マウス肝細胞には HCV の侵入を阻害する因子があるのではないかと考えられる。

(彦坂圭介、則武秀尚、三浦直行)

4. Irx3 遺伝子ノックアウトマウスの作製とその解析

Irx3 遺伝子は心臓内では刺激伝導系で発現している。ノックアウトマウスでは、心室内伝導速度が減少する傾向が認められる。ノックアウトマウスでは、コネクシン 40 が減少し、通常収縮心筋で発現するコネクシン 43 が刺激伝導内に異所性に発現していることを見出した。

(木村航、Nishat Sultana, 古川哲史¹、三浦直行) ¹ 東京医科歯科大学難治疾患研究所

5. 変異 Rb トランスジェニックマウスの肝癌発生に関する研究

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 が増加しており、腫瘍発生したマウスでは、Foxm1, c-Fos, c-Jun, Skp1, Bmi1 などの c-Myc の標的遺伝子の発現が増加していることが明らかになった。

(王博、則武秀尚、上里忠良、三浦直行)

6. 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。化学発癌を含めた多様な研究をする準備が整った。

(則武秀尚、三浦直行)

7. 新しい神経軸索伸長因子の単離とその解析

筋芽細胞 C2C12 細胞培養液には PC12 細胞に神経軸索を伸長する活性があることを見出した。この因子を生化学的に精製した。

(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

1. FOXC2 遺伝子が先天性リンパ水腫—睫毛重生症候群（以後、LD症候群）の原因遺伝子であることが判明し、そのモデル動物にあたる Foxc2 ノックアウトマウスにおいて、LD症候群のリンパ管異常を詳細に検討した。弁の形成には、Foxc2, Prox1, 力学的刺激がコネキシン 37 とカルシニューリンを介して作用していることを発見した（ローザンヌ大学との共同研究）。
2. Irx 3 遺伝子ノックアウトマウスを作製した。刺激伝導系に発現しており、不整脈疾患との関連が注目される（東京医科歯科大学との共同研究）。
3. Irx11 遺伝子ノックアウトマウスの成果は、腱の形成にこの遺伝子が重要であることを示している。腱損傷に対する遺伝子治療の可能性が期待される。
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、スイス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、肝臓癌の発生に関わる遺伝子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。