

Ⅲ 総合研究報告書

総合研究報告

主任研究者

名和田 新（九州大学大学院医学研究院病態制御内科学）

分担研究者

岡本光弘（大阪大学大学院生命機能研究科）

猿田享男（慶應義塾大学医学部内科）

諸橋憲一郎（岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所）

加藤茂明（東京大学分子細胞生物学研究所核内情報研究分野）

藤枝憲二（旭川医科大学医学部小児科）

田中廣壽（東京大学医科学研究所先端医療研究センター免疫病態分野）

研究協力者

安田圭吾、武田 純（岐阜大学医学部第三内科）

関原久彦、中島 淳（横浜市立大学医学部第三内科）

宮森 勇（福井医科大学第三内科）

大関武彦（浜松医科大学小児科）

笹野公伸（東北大学大学院医学系研究科病理診断学分野）

藤田敏郎（東京大学大学院医学研究科内科（腎臓内分泌内科））

伊庭英夫（東京大学医科学研究所感染・免疫大部門宿主寄生体学分野）

奥山明彦（大阪大学医学部泌尿器科）

村尾孝児（香川医科大学第一内科）

伊藤 裕（京都大学大学院医学研究科内分泌代謝内科）

西川哲男（横浜労災病院）

高柳涼一（九州大学医学研究院老年医学）

笠山宗正（大阪大学大学院医学系研究科 C4 分子病態内科（3 内科））

上芝 元、宮地幸隆（東邦大学医学部内科学糖尿病・代謝・内分泌科）

研究要旨

（研究目的）分子生物学および発生工学的な手法を駆使して副腎ホルモン産生異常症の診断法と治療法を開発する。1) 先天性副腎過形成（副腎酵素欠損症）、先天性副腎低形成：副腎再生ならびに副腎の遺伝子治療のための基礎的なデータを得る。2) ステロイドホルモン不応症：ステロイドホルモン不応症ならびにグルココルチコイド耐性の克服を目指す。3) 副腎腫瘍：副腎偶発腫の診療指針の確立を目指す。また、副腎腫瘍の自立的ホルモン産生機構および副腎癌の治療への可能性について検討する。4) 副腎性高血圧：原発性アルドステロン症の診断における内分泌学的検査の意義の再検討、臓器障害への MR の関与の検討を行う。（結果と考察）1) 先天性副腎過形成（副腎酵素欠損症）、先天性副腎低形成：Ad4BP/SF-1 をマウス骨髄細胞に発現させることにより、ステロイド産生細胞を誘導した。Ad4BP/SF-1 遺伝子の発現、活性調節に関し、新知見を得た。ACTH-cAMP 系のシグナル伝達における SIK の意義を明らかにした。Antley-Bixler 症候群（ABS）の疾患遺伝子（複合ヘテロ変異）を世界で初め

て同定した。Foxo1、Nurr-1、ウロコルチンの副腎での発現を報告した。2) ステロイドホルモン不応症:GR と相互作用する因子、グルココルチコイドの作用を修飾する因子として、HDAC、AR、HEXIM-1、Rnnx-2、Tob、Wnt、11 β -HSD 等を同定した。3) 副腎腫瘍:3678 例の副腎偶発腫の検討結果をもとに、副腎偶発腫の治療・診断指針案を作成した。副腎への in vivo 遺伝子導入法を開発した。BRG-1、Brm の活性化が副腎癌の治療に役立つ可能性を示した。副腎腫瘍に対する鏡視下手術の優位性を示した。4) 副腎性血圧異常症:原発性アルドステロン症が高血圧の6%を占める事、原発性アルドステロン症の診断における ACTH 負荷副腎静脈採血ならびに各種負荷試験の有用性、ミネラルコルチコイド高血圧における臓器障害の病態を明らかにした。11 β HSD タイプ2 遺伝子、アルドステロン合成酵素遺伝子の多型について検討した。(結論) 副腎ホルモン産生異常症の病態、診断、治療、合併症予防に関して新しい知見を得た。

1. 研究目的

当研究班では、先天性副腎過形成(副腎酵素欠損症)、先天性副腎低形成、ステロイドホルモン不応症、副腎腫瘍、副腎性血圧異常症などの、副腎ホルモンの産生および作用に異常をきたす疾患を対象にして、分子生物学的および発生工学的な手法を駆使して病態を明らかにし、それに基づいて診断法と治療法を開発することを研究目標とした。

1) 先天性副腎過形成(副腎酵素欠損症)、先天性副腎低形成

Ad4BP/SF-1、Dax-1をはじめ COUP-TF、Foxo1 などの転写因子、プロテインキナーゼ SIK などが、副腎の発生、分化、ステロイドホルモン合成酵素遺伝子発現において果たす役割を解明し、副腎再生ならびに副腎の遺伝子治療のための基礎的なデータを得る。

2) ステロイドホルモン不応症

グルココルチコイドレセプター (GR) をはじめとしたステロイドホルモンのレセプターと転写共役因子、クロマチン構造変換因子 SWI/SNF などの相互作用、GR β の意義、GR の転写活性化能と転写抑制能の分離、等の解析を行い、ステロイドホルモン不応症に加えて、臨床の場

で大きな問題であるグルココルチコイド耐性の克服を目指す。

3) 副腎腫瘍

副腎偶発腫の疫学的長期予後調査に関して、頻度、病因、腫瘍の大きさやホルモン分泌能の変動等について、prospective な調査を継続し、副腎偶発腫の診療指針の確立を目指す。また、副腎腫瘍の自立的ホルモン産生機構の獲得に関しては、核内レセプター Ad4BP/SF-1 および COUP-TF、HDL 受容体 CLA-1、ステロイド合成酵素遺伝子の異常について検討する。さらに、副腎癌細胞におけるホルモン産生、細胞増殖とクロマチン構造変換因子 SWI/SNF の関係について解析し、副腎癌の治療への可能性について検討する。

4) 副腎性血圧異常症

原発性アルドステロン症は以前考えられていたよりも頻度の多い疾患であり、全高血圧の数%をしめると考えられるようになってきた。また、アルドステロンはうっ血性心不全などの心、血管障害をはじめとした臓器障害の病態形成に深く関与することが明らかになってきた。また、偽性アルドステロン症、偽性低アルドステロン症といったミネラルコルチコ

イドの関与する疾患の病態は不明な部分が多い。本研究では、原発性アルドステロン症の診断における内分泌学的負荷試験および副腎静脈サンプリングの意義の再検討、ミネラルコルチコイドレセプター (MR) の転写因子としての性状及び共役する補助因子群の検索、ミネラルコルチコイド高血圧におけるカリウムと臓器障害、 11β 水酸化ステロイド脱水素酵素 (11β HSD) type2、うっ血性心不全における MR の関与と抗アルドステロン剤の有効性の検討を行う。

2. 研究方法

1) 先天性副腎過形成 (副腎酵素欠損症)、先天性副腎低形成

副腎再生療法の確立を目指し、Ad4BP/SF-1 を発現するアデノウイルスベクターを作製し、骨髄由来の組織幹細胞を用いて副腎への分化誘導を試みた (名和田)。

Ad4BP 遺伝子を含む 200kb の領域から、各種遺伝子断片を調整し、トランスジェニックマウスを作製することでエンハンサー活性の有無を検討した (諸橋)。

Ad4BP/SF-1 と Dax-1 の蛋白-蛋白相互作用について、共焦点レーザー顕微鏡ならびに FRAP を用いた核局在の変化と転写活性との比較を、forskolin 刺激、非刺激下で行い、プロテインキナーゼ A (PKA) による Ad4BP/SF-1 の転写活性化機構について検討した (名和田)。

塩誘導性キナーゼ (SIK) は ACTH によるステロイド合成酵素遺伝子の発現を負に制御する。そこで ACTH 依存的な遺伝子制御機構を明らかにするため、SIK の細胞内基質の同定を試みた (岡本)。

マウス副腎における Foxo1 mRNA の発現を RT-PCR 法、in situ hybridization 法により検討した。野生

型と変異型 Foxo1 (constitutively active type, dominant negative type) を培養細胞に発現させ、ステロイドホルモンの mRNA 発現レベルを定量的 RT-PCR 法により検討した (藤枝)。

先天性に副腎不全を呈した症例の原因となる遺伝子異常を探索した (藤枝)。

酵母 Two-Hybrid 法を用いて、ヒト副腎皮質腺腫 cDNA ライブラリーから COUP-TFI 結合蛋白をスクリーニングし、COUP-TFI との結合様式、細胞内局在、transienttransfection assay、クロマチン免疫沈降法、Northern blot、免疫組織化学などにより解析した (猿田)。

ヒト副腎ならびに副腎皮質ホルモン産生異常症での糖質、鉱質コルチコイド合成の調整機構の検討と糖質コルチコイド抵抗性の検索を目的として、ヒト胎児期から成人期までの正常副腎、副腎腫瘍他の副腎疾患、腎疾患などのヒト組織を対象とした免疫組織化学、in situ hybridization, RT-PCR を施行した (笹野)。

2) ステロイドホルモン不応症

MR、GR の転写制御領域を同定するとともに、それに結合する転写共役因子複合体群を生化学的に検索した。また、男性ホルモン受容体 (AR) ノックアウトマウスにおける副腎過形成の分子機構を解析した (加藤)。

グルココルチコイドの作用機構解明と副作用克服の分子基盤創成を目的に、培養細胞におけるグルココルチコイドレセプター (GR) 各種変異体、レポーター遺伝子を用いた分子生物学的検討を行った (田中)。

血管内皮細胞における IL-6 および VCAM-1 遺伝子発現に対する GR、ER、PPAR α のリガンド濃度依存性・核内受容体特異性を解析した (笠山)。

グルココルチコイドレセプター (GR) を介するシグナルと、他の骨芽細胞分化制御に重要なシグナル伝達系とのクロストークを明らかにするために、骨芽細胞を用いた発現解析、プロモーター解析および共焦点レーザー顕微鏡を用いた細胞内動態の解析を行った (高柳)。

胎児・胎盤の副腎ステロイドホルモン産生・代謝の変動が、生活習慣病のリスクファクターに与える影響に関して、11 β HSD を中心として研究した。具体的には11 β HSD のノックアウト、阻害薬 (CBX)、子宮内環境の変動 (低栄養、糖尿病など) による内分泌系の変動、および11 β HSD tpye1 遺伝子のプロモーター活性におよぼす転写共役因子の役割について検討した (大関)。

3) 副腎腫瘍

クロマチン構造変換因子 SWI/SNF 複合体が、AP-1 や ER α 、 β とどのような相互作用をするかを精査した。また SWI/SNF 複合体の触媒サブユニットの発現を欠く副腎皮質上皮癌細胞 SW13 において、この複合体がどのように発癌に関わるかを精査した (伊庭)。

ヒト HDL 受容体 CLA-1 に変異を導入した Decoy CLA-1 の発現ベクターを作成し、in vitro および in vivo にてステロイドホルモン合成能、腫瘍増殖能、アポトーシス誘導能を検討した (村尾)。

平成11年より行っている副腎偶発腫の長期疫学調査を続行し、全国の大学病院、200床以上の高度専門医療機関および地域中核病院の1014施設にアンケート形式の調査票を送付し、症例を登録し、追跡調査を行った (宮地、上芝)。

副腎皮質非機能性腫瘍30例 (男性17例、女性13例) を対象に、アルドステロン産生腺腫で高値を示すと言われている血中および尿中の18-hydroxycortisol

(18-OHF) ならびに18-oxocortisol (18-OXOF) をRIAで測定した (宮地、上芝)。

ホルモン産生副腎腫瘍に対する外科的治療としての鏡視下手術の有用性と安全性について検討をおこなう目的で、開腹手術症例と鏡視下手術症例についてそれぞれ術中術後の治療成績を比較した (奥山)。

副腎皮質ホルモン dehydroepiandrosterone (DHEA) の様々な生理活性を解明するために、実験動物を使用し in vitro と in vivo にて DHEA の生理活性を検討した (関原、中島)。

4) 副腎性血圧異常症

一般内科外来受診高血圧症1060例を対象として、血漿レニン活性 (PRA)、アルドステロン濃度 (PAC) を定量し、PRA < 1.0 ng/ml/hr, PAC > 12.0 ng/dl の場合原発性アルドステロン症を、血清コルチゾール (F) が > 20 μ g/dl であれば、クッシング症候群を、血漿カテコラミン3分画では正常上限の3倍以上で褐色細胞腫を考慮した。また腹部超音波検査にて副腎腫瘍をスクリーニングした (西川)。

原発性アルドステロン症疑い23症例において内分泌学的負荷試験を施行し、血中アルドステロン濃度の反応性よりアルドステロン産生腺腫 (APA) の診断が可能かどうかを検討した (伊藤)。

病態解明による原発性アルドステロン症の診断・治療の推進のため、ホルモン分泌動態解析から ACTH 負荷副腎静脈サンプリング (ACTH-AVS) の有用性と意義を検証し、また、モデル動物で K 欠乏の役割やアルドステロン誘導分子 sgk の血管細胞での活性制御を検討した (藤田)。

培養血管平滑筋細胞における MR および11 β HSD の発現並びに in vivo でのア

ルドステロン受容体拮抗薬の有効性を検討した（宮森）。

正常・高血圧・糖尿病患者計 639 例を対象に、 11β HSD タイプ 2 遺伝子第 1 イントロン内 CA リピート多型と臨床指標との関連を分析した。また、正常副腎 14 例・アルドステロン産生副腎腫瘍 26 例などを対象に、摘出組織中のアルドステロン合成酵素や転写因子などの mRNA 発現量を定量し、疾患や臨床指標との関連を検討した（安田、武田）。

（倫理面への配慮）

遺伝子解析に当たっては患者・家族からの十分なインフォームドコンセントを得た後に実施した。患者・家族の個人情報保護に関しても十分な注意を払い、不利益を被らないよう配慮した。また、必要なものに関しては、学内の倫理委員会を通し研究を行った。

3. 研究結果および考察

1) 先天性副腎過形成（副腎酵素欠損症）、先天性副腎低形成

Ad4BP/SF-1 を、アデノウイルスを用いて、マウス骨髄由来の組織幹細胞に発現させることにより、種々のステロイドを産生する細胞を誘導することができた。この細胞は ACTH 反応性であり、*in vitro* で長期間培養することが可能であった（名和田）。

Ad4BP/SF-1 遺伝子の第 4 イントロン内に胎生副腎エンハンサーを同定した。この配列には書初の遺伝子発現に必要な配列と、発現の維持に必要な配列が存在した。副腎皮質疾患の患者 DNA を用いて、これらの配列に変異がないかを検討中である（諸橋）。

PKA による Ad4BP/SF-1 の活性化について、Dax-1 が Ad4BP/SF-1 から解離し、GCN5/TRRAP 等の coactivator が

リクルートされることを明らかにした（名和田）。

SIK が TORC と呼ばれる cAMP 依存の転写因子（CREB）に特異的な転写共役因子をリン酸化し、その結果 TORC は核外へ移動し遺伝子発現が抑制されることを見出した（岡本）。

胎仔期から副腎での発現が確認され、成獣においては副腎皮質球状層および副腎髄質において Foxo1 mRNA が発現していることを確認した。constitutively active 型ならびに dominant negative 型の 2 種類の mutant Foxo1 発現ベクターを作製し、野生型と共に培養細胞（Y-1）に導入して、ステロイドホルモンの mRNA 発現量を定量的 RT-PCR 法により比較検討した。その結果 P450aldo、 11β -OHase、P450scc の発現量に著変は認められなかった（藤枝）。

先天性骨系統疾患の一つである Antley-Bixler 症候群（ABS）には外陰部異常を伴う群と伴わない群とに大別される。外陰部異常を伴う ABS は常染色体劣性の疾患でしばしばステロイド合成障害を合併することが報告されている。複合型ステロイド合成障害と外陰部異常を伴う ABS 症例において P450oxidoreductase（POR）遺伝子変異（複合ヘテロ変異）を世界で初めて同定した。POR に依存するミクロゾーム酵素である CYP21A2、CYP17A1、CYP19A1 などの酵素活性が低下し、これにより複合型ステロイド合成障害、外陰部異常を呈することが明らかとなった（藤枝）。

COUP-TFI 結合蛋白として、SUMO 化 E2 酵素、E3 酵素である Ubc9、PIAS1 を単離、同定した。Ubc9、PIAS1 は、副腎皮質球状層に特異的な高発現を認め、SUMO 化非依存性に、COUP-TFI の転

写コアクチベーターとしてアルドステロン合成酵素 CYP11B2 の転写を活性化することが示された。

副腎腫瘍においては、コルチゾール産生腺腫において PIAS family 蛋白の特異的な低発現を認めたことから、クッシング症候群における病態生理学的役割が示唆された (猿田)。

NGFI-B、Nurr-1、特に Nurr-1 が鉍質コルチコイド産生を制御する事を示し、CRF 類似蛋白のウロコルチンが副腎皮質で発現し糖質コルチコイド合成を制御する事も報告した。また糖質コルチコイド抵抗性における CR β の発現の意義を明らかにした (笹野)。

2) ステロイドホルモン不応症

GR と炎症性転写制御因子 AP-1 との巨大複合体を精製したところ、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) を含むことを明らかにした。また、ARKO マウスにおいては、脳下垂体系の異常を見出した (加藤)。

新規 GR 抑制分子として HEXIM1 を同定した。また、作用分離型 GR 作動薬の分子基盤を創成した (田中)。

核内受容体や転写共役因子 CBP の発現量増加により少量のリガンドで IL-6・VCAM-1 発現を抑制し得ること、核内受容体による両遺伝子発現抑制の特異性の分子機構を明らかにした (笠山)。

Runx2、Tob による GR の転写活性化抑制ならびに核内 foci 形成阻害作用を見出した。また GC は dickkopf-1 (Dkk-1) の誘導を介して Wnt シグナルを抑制することを見いだした (高柳)。

11 β HSD のノックアウト、CBX と同様に妊娠母体の糖尿病は、胎盤・胎児腎の 11 β HSD type2 遺伝子発現を低下させた。LRH1、ERR2 は 11 β HSD type1 遺伝子のプロモーター活性を増加、PPAT γ 、 α は

低下させ、C/EBP α による増加は C/EBP β により抑制された (大関)。

3) 副腎腫瘍

SWI/SNF 複合体が AP-1、ER 両転写制御因子の活性化に共通して関与し、両者の複雑な生理作用の原因となっていることが明らかになった。またこの複合体の欠失が副腎皮質癌の発癌に直接関与することが示された (伊庭)。

ヒト HDL 受容体 CLA-1 に変異を導入した Decoy CLA-1 は、副腎細胞における細胞増殖の抑制、アポトーシスの促進作用を示した。また、超音波と微小気泡を用いた Ultrasonic microbubble destruction 法を用いることにより、In vivo において副腎への特異的な遺伝子導入が可能であった (村尾)。

平成 11 年度から平成 15 年度までの 5 年間に報告を受けた 3678 例の副腎偶発腫の全国疫学調査の検討で、病因別頻度ではホルモン非産生腺腫が 50.8% と半数以上を占め、Preclinical Cushing 症候群を含むコルチゾール産生腺腫が 10.5%、褐色細胞種が 8.5%、アルドステロン産生腺腫が 5.1%、副腎癌が 50 例で 1.4% であった。副腎癌を副腎偶発腫から鑑別するためのカットオフ値は 3cm が適切と考えられ、腫瘍径が 3cm 以上の副腎偶発腫の約 4% が副腎癌で、腫瘍径が 3cm 未満の場合は 99.7% の確立で副腎癌を否定できた。また、1 年以上の経過観察があった 1311 例について腫瘍径の変化を検討したところ、ホルモン非産生腺腫の 4 割が大きさに変化はなかったが、約 3 分の 1 が増大傾向を示した。これらの疫学調査結果をもとに、副腎偶発腫の治療・診断指針案を作成した (宮地、上芝)。

副腎皮質非機能性腺腫 30 例を検討したところ 3 例で、18-hydroxycortisol お

よび 18-oxocortisol の産生亢進がみられ、これらの症例は将来アルドステロン産生腺腫になる可能性つまり Preclinical Aldosteronism である可能性が示唆された (宮地、上芝)。

開腹術に比べ鏡視下手術は手術時間が長くなる傾向がみられたが、術中出血量、術後の疼痛は有意に少なく、術後の回復も早かった (奥山)。

DHEA の抗糖尿病作用、肝細胞保護作用、心線維化抑制作用のメカニズムが解明された (関原、中島)。

4) 副腎性血圧異常症

高血圧症例 1020 例を対象とし、5 年間に亘る prospective study を行い、最終的には 6.0% が原発性アルドステロン症、クッシング症候群が 1.0%、プレクリニカルクッシング症候群が 1.0%、褐色細胞腫が 0.6%、腎血管性高血圧が 0.5% に認められた。残りの 90.9% が本態性高血圧症と確定診断された。すなわち外科処置にて治癒可能な副腎性高血圧は高血圧全体の 8.6% を占める事が明らかとなり、高血圧の日常診療にて初診時にホルモン検索をルーチン化して副腎性高血圧症をスクリーニングする必要があることが示された (西川)。

各負荷試験のアルドステロン産生腺腫正診率は①カプトリル負荷：90%② 1mg デキサメサゾン AII 負荷：93%③迅速 ACTH 負荷：67%④ 1mg デキサメサゾン負荷：73%であった。さらに⑤ 1mg デキサメサゾン抑制下で迅速 ACTH 負荷試験を施行することにより正診率がより向上する可能性が示唆された (伊藤)。

ACTH-AVS の有用性が証明され、術後の負荷試験からこの検査法の機能的意義付けが可能となった。また、K 欠乏により Redox 制御分子の翻訳調節を介した血管機能障害の可能性が新たに示され、

また血管細胞で sgk が活性制御されることが明らかになった (藤田)。

血管組織は MR および 11 β HSD を発現しアルドステロンの作用を制御していること、病態時においては MR が過剰発現してその作用が増強されることが明らかになった (宮森)。

11 β HSD タイプ 2 遺伝子第 1 イントロン内 CA リピート多型は高血圧症とは関連しないが、尿中 Na·K 排泄量と正相関、血中インスリンと負に相関し、2 型糖尿病と関連した。またアルドステロン産生副腎腺腫におけるアルドステロン合成酵素発現レベルは、同遺伝子の Lys173Arg 多型と関連し、SF1 や Nurr1 の発現レベルと相関した (安田、武田)。

4. 評価

1) 達成度について

a) 先天性副腎過形成 (副腎酵素欠損症)、先天性副腎低形成

Ad4BP/SF-1 を骨髄幹細胞に発現することによりステロイド産生細胞を誘導できたことは、副腎再生へと大きく道を開くものである。

Ad4BP/SF-1 遺伝子の胎性副腎特異的なエンハンサーを 200kb にわたる広汎な領域から同定した。

SIK の基質が同定された結果、ACTH-cAMP シグナル下における遺伝子の発現開始-維持-終結の具体像が明らかになった。

ABS の疾患原因遺伝子を新たに同定し、その発症機構の一端を明らかにすることができた。Foxo1 の副腎における発現は確認できたが、ステロイド産生に与える影響については不明である。

オーファンレセプターの COUP-TFI が副腎ステロイド産生に重要なことが示されていたが、本研究の結果、その結合

蛋白として Ubc9、PIAS1 を同定することに成功し、それらの蛋白が副腎皮質球状層におけるアルドステロン産生に重要であることが示された。

副腎皮質内における鉱質コルチコイド産生を制御する転写制御因子を初めて同定し、CRF 関連蛋白がヒト副腎皮質及びホルモン異常症で発現している糖質コルチコイド合成を制御している事も初めて示した。更に腎疾患と糖質コルチコイド抵抗性と受容体サブタイプとの関連性も初めて示した。

以上、多くの画期的な成果を挙げることができ、おおむね当初の研究目的は達成されたと思われる。

b) ステロイドホルモン不応症

ARKO マウスを用いた解析から、視床下部-下垂体-副腎皮質系の形成において男性ホルモンが生理的に重要な役割を果たすことを初めて明らかにすることができた。

GR 特異的リガンドのプロトタイプであるコルチバザールによる転写誘導において、コンピューターを用いた3次元立体構造解析によりその作用モデルを提唱した。

GR 感受性調節因子として HEXIMI を同定した。

GR および転写共役因子 CBP の発現量を増加させることにより、グルココルチコイドの投与量を減少させることができる可能性を示した。

骨芽細胞において、Runx2 および Tob が GR 機能を抑制することを明らかにした。また、グルココルチコイドによる骨形成抑制において、グルココルチコイドによる DKK-1 の誘導による Wnt シグナルの抑制が関与している可能性を見出した。

11 β -HSD type1 の活性低下がグルコ

コルチコイド抵抗性に関与する可能性を明らかにした。

以上、グルココルチコイド不応症の病態および治療法開発のための基礎データとなる多くの成果を挙げることができたが、グルココルチコイド不応症の克服に関しては非常に困難なテーマであり、地道な研究を続けていくしかないと思われる。

c) 副腎腫瘍

3678 例の副腎偶発腫の登録があり、病因別頻度、良悪性鑑別のためのカットオフ値の設定、経過観察における腫瘍増大の頻度等が明らかになった。これらをもとに副腎偶発腫の治療・診断指針案を作成した。

クロマチン構造変換因子 SWI/SNF の触媒サブユニットである BRG-1、Brm が、癌抑制遺伝子である可能性、および BRG-1、Brm の発現がエピジェネティカルな発現調節を受けることが示された。

副腎ステロイドホルモンの合成における CLA-1 の役割について明らかにすることができた。また CLA-1 の機能として、コレステロール供給機能と細胞増殖機能を同定することができた。

HSD11B2 多型と糖代謝との関連が明らかになった。またアルドステロン産生腺腫におけるアルドステロン合成酵素の過剰発現に対して、自身の遺伝的多様性の影響や、SF1、Nurr1 の関与が明らかとなった。

ホルモン産生副腎腫瘍に対する鏡視下手術の長所、短所が明らかになった。

DHEA の抗糖尿病作用、肝細胞保護作用、心線維化抑制作用のメカニズムが解明された。

以上、副腎偶発腫の治療・診断指針案を作成した。副腎腫瘍における自律的ホルモン産生機構の解析に関しては一定の

成果を得ることができ、当初の目的はほぼ達成された。

d) 副腎性血圧異常症

RHA/CBP 複合体がリガンド選択的にミネラルコルチコイド受容体 (MR) の AF-1 領域に結合して、転写制御することを明らかにした。また、同じくステロイド受容体であるビタミン D 受容体に結合する新規転写修飾因子複合体 WINAC を同定し、この複合体が ATP 依存的なクロマチン構造変換活性をもっていることを明らかにした。

1020 例の高血圧症例を対象とした 5 年間に亘る prospective study により原発性アルドステロン症の頻度が 6% であることを示すことができた。

アルドステロン産生腺腫の診断における内分泌学的負荷試験ならびに ACTH 負荷副腎静脈サンプリングの有用性を明らかにした。

アルドステロンの血管作用に関して分子および個体レベルで成果が得られた。

以上、我々が当初計画していた目的はほぼ達成し得たと考えている。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

a) 先天性副腎過形成 (副腎酵素欠損症)、先天性副腎低形成

組織幹細胞をもちいた副腎再生に関する成果は世界初であり、副腎分化のメカニズム研究のルーツを提供するだけでなく、臨床応用へ道を開く画期的なものである。

Ad4BP/SF-1 遺伝子の胎性副腎特異的なエンハンサーの同定は世界初の画期的なものである (論文準備中)。

SIK に関する発見は副腎皮質のシグナル伝達だけでなく、cAMP で制御される遺伝子の発現機構の全体像を明らかにした画期的なものであり、Cell 誌に掲載さ

れた。

先天性の副腎不全を呈した Antley - Bixler 症候群 (ABS) の原因遺伝子として POR 遺伝子を同定した研究は世界初の画期的なものであり、Nature Genetics 誌に掲載された。ABS の新たな原因が同定できたことは、本疾患の病態解明に大変有用と思われる。

Foxo1 の副腎における発現についての報告はこれまでないため、新知見であるが、機能解明には至らなかった。

COUP - TFI が副腎や性腺などのステロイド産生組織に高発現を認めるオーファンレセプターであり、リガンドが不明であることから、その作用調節因子として COUP - TFI と蛋白 - 蛋白相互作用する転写共役因子が重要と考えられる。本研究の結果、SUMO 化酵素 Ubc9、PIAS1 を同定できたことから、今後副腎ステロイド産生における SUMO 化の機能の重要性が明らかになっていくものと思われる。

b) ステロイドホルモン不応症

視床下部 - 下垂体 - 副腎皮質系の形成における男性ホルモンの役割に関する報告は、全く新規なものであり、世界的に注目される発見である。

副作用のないグルココルチコイド療法のためには、GR 特異性の向上とグルココルチコイド投与量を必要最小限にすることが重要である。3次元立体構造解析による作用モデルの提唱およびグルココルチコイド投与量を減らせる可能性を示せたことは、新しいステロイド療法への道を開くものである。

GR 感受性調節因子として新たに HEXIMI、Runx2 および Tob を同定し、グルココルチコイド抵抗性の新たな機序を見出した。

11 β - HSD のノックアウト、阻害薬と

ともに、母体の糖尿病が胎児・胎盤系のステロイドホルモン代謝に影響を与えることが示された。

c) 副腎腫瘍

副腎偶発腫について、全国規模で 3000 例以上を調査した国は世界でも例がなく、非常に貴重な解析結果が得られた。

クロマチン構造変換因子 SWI/SNF の触媒サブユニットである BRG-1、Brm の活性化が副腎癌の治療に役立つ可能性を示すことができた。

DHEA の生理活性は世界的に注目されており価値のある研究である。

d) 副腎性高血圧異常症

1020 例の高血圧症例を対象とした 5 年間に亘る prospective study は、一般外来の症例を対象に簡便にスクリーニングして副腎性高血圧症の頻度を日本で最初に報告した貴重かつ重要なデータである。外科処置で治療可能な副腎性高血圧が 8.6% を占めるため、積極的にスクリーニングして、早期治療を行えば、予後改善と医療費削減に寄与することができることを示したことに意義がある。

アルドステロン産生腺腫の診断における内分泌学的負荷試験ならびに ACTH 負荷副腎静脈サンプリングの有用性を明らかにしたことは、原発性アルドステロン症の診療上意義のあるものである。

アルドステロンの血管作用に関して分子および個体レベルで成果が得られ、近い将来臨床で用いられると思われる抗アルドステロン剤の有用性が示されたことは意義が大きい。

3) 今後の展望について

a) 先天性副腎過形成（副腎酵素欠損症）、先天性副腎低形成

骨髄幹細胞を用いた Ad4BP/SF-1 発現によるステロイド産生細胞への誘導については、副腎と性腺への誘導特異性の

解明、副腎分化に関係する遺伝子の同定、ヒト骨髄を用いた副腎再生の試みへとさらに発展させることができる。

Ad4BP/SF-1 遺伝子の胎性副腎特異的なエンハンサーの同定は、種々の因子を胎性副腎特異的に発現させることにつながるため、副腎に分化が誘導された細胞の同定や遺伝子治療への応用も可能である。

ACTH をはじめとした、cAMP に依存する転写が、SIK-TORC システムで制御されることが明らかになった。今後これらの因子に関わる病態が発見されその病因が解明されることが期待される。

今後先天性ステロイドホルモン産生異常症の原因遺伝子を探索し、疾患概念や病態解明に寄与していく。

Foxo1 の発現領域が副腎皮質球状層と副腎髓質に限られることから、Foxo1 が血圧調整に何らかの影響を与えている可能性が推測される。

b) ステロイドホルモン不応症

AR がどのようにして視床下部一下垂体-副腎皮質系に関与するかを明らかにする必要がある。

今回提唱した、コンピューターを用いた 3 次元立体構造解析による GR 活性化モデルは、GR 超選択的ナリガンドの開発につながる。また、新たな GR 感受性因子の発見は GR 抵抗性克服の新たな標的を提供するものである。

グルココルチコイド抵抗症において 11 β -HSD type1 の活性低下が関与するかどうか検証する必要がある。

c) 副腎腫瘍

今回作成した副腎偶発腫の治療・診断針案を今後検証して、治療・診断指針として完成させる必要がある。

ホルモン作用における SWI/SNF 複体の機能の多様性や、発癌における原因

因子としての普遍性の追究がより重要になってくるものと考えられる。

Decoy CLA-1 を *in vivo* にて副腎腫瘍内に遺伝子導入するという、副腎腫瘍の新たな治療法の有効性を検討する必要がある。

11 β -HSD type2 は臍 β 細胞で発現を確認しており、グルココルチコイドとインスリン分泌をリンクする経路として注目される。また、アルドステロン産生腺腫におけるアルドステロン合成酵素の過剰発現に対して、他の転写因子についても検討を要する。

DHEA の作用機序に関する研究をさらに進めていく。

d) 副腎性高血圧異常症

副腎性高血圧は臨床症状や一般検査では鑑別不能であり、高血圧診療にて副腎由来のホルモン検査を行う必要があり、その検索をルーチン化することで、完治可能な副腎性高血圧症の早期診断が可能である。

MR をはじめとしたステロイドホルモンのレセプターの転写共役因子複合体群の構成因子全ては、完全には同定されておらず、現在更なる精製を行っており、結論を得るのには更に時間を要する。

カリウム欠乏のモデル動物における検討結果が、実際にヒトの病態にどの程度関与するかは今後の検討課題である。

11 β -HSD type2 のアルドステロン標的臓器における役割を病態、治療の観点からさらに検討する必要がある。

アルドステロン拮抗剤の治療面における今後の展望が期待される。

4) 研究内容の効率性について

3年間での成果として、おおむね効率的に実施されたものと判断している。

5. 結論

1) 先天性副腎過形成 (副腎酵素欠乏症)、先天性副腎低形成

骨髓幹細胞を用いた副腎再生への道が開かれた。また、胎生副腎特異的に転写活性を示すエンハンサーを Ad4BP 遺伝子内に同定した。

ACTH 刺激で開始される cAMP 依存のステロイド合成酵素の遺伝子発現は SIK がリン酸化した TORC が脱リン酸化されることが引き金となる。またこの過程には、これまで信じられている CREB の活性化は必ずしも必要ではないと思われる。

外陰部異常を伴う Antley - Bixler 症候群の原因として新たに P450 oxidoreductase 遺伝子異常を同定・発表した。

COUP - TFI は、球状層において Ubc9、PIAS1 と結合することにより CYP11B2 遺伝子の発現を増加させることにより、アルドステロン産生を促進することが明らかとなった。

副腎皮質ホルモン合成を制御しているまったく新しい機序を鉱質及び糖質コルチコイド双方において示す事が出来て副腎皮質ホルモン産生異常症の病態の理解に大きな貢献をした。

2) ステロイドホルモン不応症

ステロイドホルモン受容体群の機能を、転写レベル及び個体レベルで探ることで、転写制御の分子メカニズムや生体内高次機能の一端を副腎レベルで明らかにすることができた。

グルココルチコイド作用を組織あるいは作用選択的に発現させることは原理的に可能である。また、副作用のないステロイド療法のための手段として、核内受容体や転写共役因子の発現調節による方法が可能である。

GRを介するシグナルと、他の骨芽細胞の増殖分化に関するシグナル伝達系との機能相関が明らかになった。

母親の糖尿病などの胎児環境は11 β HSDを介し出生後の内分泌環境・代謝調節に影響を与えることが示唆される。その機序として転写共役因子が関与している可能性が考えられる。

3) 副腎腫瘍

SWI/SNF複合体形成を介してERとAP-1との間のcross-talkが生まれ、エストロゲンの生理作用の多様性に貢献することが示された。

副腎癌由来細胞株においてBRG1、Brm遺伝子とともに癌抑制遺伝子であることが示された。

ヒトHDL受容体CLA-1に変異を導入したDecoy CLA-1は、副腎細胞における細胞増殖の抑制、アポトーシスの促進作用を示した。

副腎偶発腫の長期疫学調査より副腎偶発腫の治療・診断指針案を作成した。また、腫瘍径により良悪性の鑑別を行うためのカットオフ値は3cmが最適と考えられた。

腫瘍の大きさなどの適応を正しく検討し、鏡視下手術に精通した外科医がおこなえば、鏡視下手術は安全で非常に有用な術式であり、現在のGolden Standardと考えられる。

DHEAは糖尿病、心臓、肝臓に対し様々な生理活性があり臨床応用の可能性を備えていることが解明された。

4) 副腎性高血圧異常症

高血圧症例1020例を対象にprospective studyを行い、最終的に外科的処置で治療可能な副腎性高血圧が8.6%を占めていた。

内分泌学的負荷試験を組み合わせることは、外科的根治が可能な高血圧

症であるAPAの診断に有用であり、特に外来診療におけるAPA患者の早期発見に寄与すると考えられた。

原発性アルドステロン症の局在診断におけるACTH負荷副腎静脈サンプリングの有用性が実証され、その理論的背景が明らかになった。さらに原発性アルドステロン症の血管病態について、K欠乏を介したRedox制御異常が存在し、アルドステロン誘導分子sgkの血管での制御の可能性が新たに示された。

アルドステロン過剰症における血管障害の分子機構が解明された。

HSD11B2多型は電解質排泄・糖尿病と関連する。アルドステロン産生副腎腺腫におけるアルドステロン合成酵素発現増加には、同遺伝子の多型を介したSF1による調節やNurr1等の転写因子が関係する。

6. 知的所有権の出現状況

1) 特許取得

出願番号：特願2004-289709

出願日：平成16年10月1日

発明の名称：新規ステロイド産生細胞

発明者：権藤重喜、柳瀬敏彦、岡部泰二郎、名和田 新

公開特許

特開2003-259895

公開日：平成15年9月16日

発明の名称：内分泌攪乱物質の検出方法

発明者：名和田 新、柳瀬敏彦、大塚製薬株式会社

United States Patent

Patent No: US 6, 803, 206 B2

Date of Patent: Oct 12, 2004

Method for identifying endocrine disruptors and kit for carrying out the

same.

Innovators: Hajime Nawata, Toshihiko
Yanase

Assignee: Otsuka Pharmaceutical Co.,
Ltd., Osaka (JP)

特願 2004 - 143127

「スクリーニング方法」(TORC のリン
酸化制御と SIK2 活性スクリーニング法)

出願人：竹森 洋、岡本光弘、株式会社
プロテイン・エクスプレス

発明人：竹森 洋、岡本光弘

出願日：平成 16 年 5 月 13 日

「ジーンサイレンシングを制御する方法
およびその利用」

特許 2002 - 150579

(伊庭英夫)

2) 実用新案登録

なし

3) その他

なし

IV 研究成果の刊行に関する一覧表

論文名 (書名又は誌名・巻・頁・年)	刊行 年月日	刊行 書店名	執筆者氏名
The CREB coactivator TORC2 functions as a calcium- and cAMP-sensitive coincidence detector Cell. 119: 61-74	2004		Screaton RA, Conkright MD, Katoh Y, Best JL, Canettieri G, Jeffries S, Guzman E, Niessen S, Yates JR 3rd, Takemori H, Okamoto M, Montminy M.
Salt-inducible kinase-1 represses cAMP response element-binding protein activity both in the nucleus and in the cytoplasm. Eur J Biochem. 271: 4307-4319	2004		Katoh Y, Takemori H, Min L, Muraoka M, Doi J, Horike N, Okamoto M.
Salt-inducible kinase-2: adipose-specific expression, phospho-rylation of Ser-794 in insulin receptor substrate-1, and activation in diabetic animals. J. Biol. Chem. 278 18440-18447	2003		Horike, N., Takemori, H., Katoh, Y., Doi, J., Min, L., Asano, T., Sun, XJ., Yamamoto, H., Kasayama, S., Muraoka, M., Nonaka, Y., Okamoto, M.
ACTH-induced nucleocytoplasmic translocation of salt-inducible kinase; implication in the protein kinase A-activated gene transcription in mouse adrenocortical tumor cells. J. Biol. Chem. 277, 42334-42343	2002		Takemori, H., Katoh, Y., Horike, N., Doi, J., Okamoto, M.
Salt-inducible kinase SIK represses cAMP-dependent protein kinase-mediated activation of human cholesterol side chain cleavage cytochrome P450 promoter through the CREB basic leucine zipper domain. J. Biol. Chem. 277, 15629-15637	2002		Doi, J., Takemori, H., Lin, X-z., Horike, N., Katoh, Y., and Okamoto, M.
副腎皮質の stimulus-secretion coupling 内分泌・糖尿病科 18 : 453-456	2004		岡本光弘・竹森洋
Expression and regulation of nuclear receptor coactivators in glucocorticoid action. Mol Cell Endocrinol 189: 181-189	2002		I. Kurihara, H. Shibata, T. Suzuki, T. Ando, S. Kobayashi, M. Hayashi, I. Saito, T. Saruta
Nuclear receptors and coregulators in adrenal tumors. Horm Res 59 (suppl 1) : 85-93	2003		H. Shibata, S. Kobayashi, I. Kurihara, I. Saito, T. Saruta
Session summary: gene expression. Endocr Res 28 (4) : 541-544	2002		H. Shibata, M. Dufau
CIP-1 is a novel corepressor for nuclear receptor COUP-TF: a potential negative regulator in adrenal steroidogenesis. Endocr Res 28 (4) : 579	2002		S. Kobayashi, H. Shibata, I. Kurihara, I. Saito, T. Saruta.
A RING-finger protein CIP-2 is a novel regulator of COUP-TF action in the adrenal cortex. Endocr Res 28 (4) : 581	2002		I. Kurihara, H. Shibata, S. Kobayashi, I. Saito, T. Saruta
Regulation of differential COUP-TF-coregulator interactions in adrenal cortical steroidogenesis. J Steroid Biochem Mol Biol 85 (2-5) : 449-456	2003		H. Shibata, I. Kurihara, S. Kobayashi, K. Yokota, N. Suda, I. Saito, T. Saruta
Ubc9 interacts with chicken ovalbumin upstream promoter-transcription factor I and represses receptor-dependent transcription. J Mol. Endocrinol 32: 69-86	2004		S. Kobayashi, H. Shibata, I. Kurihara, K. Yokota, N. Suda, I. Saito, T. Saruta
COUP-TF and transcriptional co-regulators in adrenal steroidogenesis. Endocr Res 30: 795-801	2004		H. Shibata, I. Kurihara, S. Kobayashi, N. Suda, K. Yokota, Y. Ikeda, A. Murai, I. Saito, W. E. Rainey, T. Saruta

論文名 (書名又は誌名・巻・頁・年)	刊行 年月日	刊行 書店名	執筆者氏名
Proteasome-mediated mineralocorticoid receptor degradation attenuates transcriptional response to aldosterone. <i>Endocr Res</i> 30: 611-616	2004		K. Yokota, H. Shibata, S. Kobayashi, N. Suda, A. Murai, I. Kurihara, I. Saito, T. Saruta
FHL2, Ubc9 and PIAS1 are novel estrogen receptor α -interacting proteins. <i>Endocr Res</i> 30: 617-621	2004		S. Kobayashi, H. Shibata, K. Yokota, N. Suda, A. Murai, I. Kurihara, I. Saito, T. Saruta.
Adrenal nuclear receptors and co-regulators. International Proceedings of 12 th International Congress of Endocrinology, p. 377-381	2004		H. Shibata, I. Kurihara, S. Kobayashi, N. Suda, K. Yokota, A. Murai, Y. Ikeda, W. E. Rainey, T. Saruta
Ubc9 and PIAS1 activate COUP-TFI-mediated human CYP11B2 gene transcription. <i>J Biol Chem</i> 280: 6721-6730	2005		I. Kurihara, H. Shibata, S. Kobayashi, N. Suda, Y. Ikeda, K. Yokota, A. Murai, I. Saito, W. E. Rainey, T. Saruta
内分泌腫瘍における核内受容体の病態生理学的意義 <i>日本臨床</i> 60 (2) : 237-244	2002		柴田洋孝
特集 核内オーファンレセプターが開く新世界 副腎皮質腫瘍におけるオーファンレセプター COUP-TF, DAX-1 および SF-1 の役割。 <i>Molecular Medicine</i> 39 (3) : 320-326	2002		柴田洋孝
糖質コルチコイド Annual Review 内分泌・代謝 2003 中外医学社、p.238-246	2003		柴田洋孝、猿田享男
副腎皮質腫瘍におけるステロイド合成酵素の発現 <i>内分泌・糖尿病科</i> 15 (3) : 216-223	2002		柴田洋孝
COUP-TF および corepressor によるステロイド 17 α -水酸化酵素 CYP17 遺伝子転写調節 <i>ホルモンと臨床</i> 51 (増刊号) : 192-202	2003		柴田洋孝、小林佐紀子、栗原 勲、齊藤郁夫、猿田享男
原発性アルドステロン症における尿中 18- ハイドロキシコルチゾール <i>臨床内分泌代謝 Update Proceedings</i> 78 (Suppl) : 80-83	2002		柴田洋孝、本間桂子、栗原 勲、小林佐紀子、林 松彦、千葉仁志、黒澤隆夫、竹下栄子、齊藤郁夫、猿田享男
遺伝子改変動物を用いた副腎皮質の発生・増殖：ステロイド 産生因子の機能解析 <i>ホルモンと臨床</i> 51 (10) : 45-51	2003		柴田洋孝
COUP-TF and novel transcriptional coregulators in adrenal cortical steroidogenesis. <i>ホルモンと臨床</i> 52 (増刊) : 150-157	2004		柴田洋孝、栗原 勲、小林佐紀子、横田健一、須田徳子、齊藤郁夫、猿田享男
副腎皮質腫瘍におけるホルモン産生異常と情報伝達系。 <i>内分泌・糖尿病科</i> 18(2) : 112-119	2004		柴田洋孝
アルドステロン合成酵素遺伝子の転写調節 <i>ホルモンと臨床</i> 、52 : 15-24	2004		柴田洋孝、栗原 勲、小林佐紀子、須田徳子、横田健一、村井彩乃、池田やよい、齊藤郁夫、猿田享男
副腎皮質性高血圧におけるステロイド合成異常 (生化学的見地から) <i>最新医学</i> 、59 : 50-57	2004		柴田洋孝、猿田享男
Activation of cAMP-dependent protein kinase increases the protein level of steroidogenic factor-1. <i>Endocrinol.</i> 143, 295-303	2002		R. Asoy, G. Mellgren, K. Morohashi, and J. Lund

論文名 (書名又は誌名・巻・頁・年)	刊行 年月日	刊行 書店名	執筆者氏名
Sexually dimorphic expression of Dax-1 in the adrenal cortex. Genes Cells 7, 717-729	2002		T. Mukai, M. Kusaka, K. Kawabe, K. Goto, H. Nawata, K. Fujieda, K. Morohashi
Mutations of Arx/ARX cause abnormal migration and differentiation of GABAergic interneurons and abnormal development of testes in mice, and X-linked lissencephaly with abnormal genitalia in humans. Nature Genet. 32, 359-369	2002		K. Kitamura, M. Yanazawa, N. Sugiyama, H. Miura, A. Iizuka-Kogo, M. Kusaka, R. Suzuki, Y. Kato-Fukui, K. Kamiirisa, K. Omichi, M. Kasahara, H. Yoshioka, T. Ogata, T. Fukuda, I. Kondo, M. Kato, W. B. Dobyns, M. Yokoyama K. Morohashi
LXXLL motifs in Dax-1 have target specificity for the orphan receptors Ad4BP/SF-1 and LRH-1. Mol. Cell. Biol. 23, 238-249	2003		T. Suzuki, M. Kasahara, H. Yoshioka, K. Morohashi, K. Umesono
Dax1 regulates testis cord organization during gonadal differentiation Development 130, 1029-1036	2003		J. J. Meeks, S. E. Crawford, T. A. Russell, K. Morohashi, B. Capel, J. Weiss, J. L. Jameson
Dax-1 gene transcription is regulated by Wnt4 in the female developing gonad. Mol. Endocrinol. 17, 507-519	2003		H. Mizusaki, K. Kawabe, T. Mukai, E. Ariyoshi, M. Kasahara, H. Yoshioka, A. Swain, K. Morohashi
NR boxes of Dax-1 participate both in Ad4BP/SF-1 dependent nuclear import and in cytoplasmic retention of Dax-1. Mol. Endocrinol. 17, 994-1004	2003		K. Kawajiri, T. Ikuta, T. Suzuki, M. Kusaka, J. Watanabe, M. Muramatsu, K. Fujieda, M. Tachibana, K. Morohashi
Assessment of in vivo action of estrogen using aromatase-knockout mice which carry an estrogen-inducible enhanced green fluorescent protein gene. Endocrinol	2003		K. Toda, Y. Okada, M. Zubair, K. Morohashi, T. Saibara, T. Okada
Mutations of ARX are associated with striking pleiotropy and consistent genotype-phenotype correlation. Human Mutation 23, 147-159	2004		M. Kato, S. Das, K. Petras, K. Kitamura, K. Morohashi, D. N. Abuelo, M. Barr, D. Bonneau, A. Brady, N. J. Carpenter, F. Frisone, T. Fukuda, R. Guerrini, E. Iida, M. Itoh, A. F. Lewanda, Y. Nanba, A. Oka, V. K. Proud, K. L. Russel, P. Saugier-Veber, S. L. Schelley, A. Selicorni, R. Shaner, M. Silengo, F. Stewart, N. Sugiyama, J. Toyama, A. Toutain, A. L í a Vargas, M. Yanazawa, E. H. Zackai, W. B. Dobyns
SUMO-1 Modification of the Synergy Control Motif of Ad4BP/SF-1 Regulates Synergistic Transcription between Ad4BP/SF-1 and Sox9. Mol. Endocrinol. 18, 2451-2462	2004		T. Komatsu, H. Mizusaki, T. Mukai, H. Ogawa, D. Baba, M. Shirakawa, S. Hatakeyama, K. Nakayama, H. Yamamoto, A. Kikuchi, and K. Morohashi
Novel Isoform of Vinexin, Vinexin γ Regulates Sox9 Gene Expression through activating MAPK Cascade in Mouse Fetal Gonad Genes to Cells,	in press		M. Matsuyama, H. Mizusaki, A. Shimono, T. Mukai, K. Okumura, K. Abe, K. Shimada, and K. Morohashi

論文名 (書名又は誌名・巻・頁・年)	刊行 年月日	刊行 書店名	執筆者氏名
Mesonephric Fgf9 as the signal that stimulates gonad formation. Dev. Biol.,	in press		H. Yoshioka, Y. Ishimaru, N. Sugiyama, N. Tsunekawa, T. Noce, M. Kasahara, and K. Morohashi
Nuclear receptor function requires a TFIIA-type histone acetyl transferase complex. Mol. Cell, 9, 553-562	2002		Yanagisawa, J., Kitagawa, H., Yanagida, M., Wada, O., Ogawa, S., Nakagomi, M., Oishi, H., Yamamoto, Y., Nagasawa, H., MacMahon, S. B., Cole, M. D., Tora, L., Takahashi, N., Kato, S.
Androgen-dependent neurodegeneration by polyglutamine-expanded human androgen receptor in drosophila. Neuron, 35, 855-864	2002		Takeyama, K., Ito, S., Yamamoto, A., Tanimoto, H., Furutani, T., Kanuka, H., Miura, M., Tabata, T., Kato, S.
Stabilization of androgen receptor protein is induced by agonist, not by antagonists. Biochem. Biophys. Res. Commun., 294, 779-784	2002		Furutani, T., Watanabe, T., Tanimoto, K., Hashimoto, T., Koutoku, H., Kudoh, M., Shimizu, Y., Kato, S., Shikama, H.
Androgen receptor structure and function from knock-out mouse. Clin Pediatr Endocrinol., 11, 1-7	2002		Kato, S.
Molecular genetics of vitamin D-dependent hereditary rickets. Hormone Research, 57, 73-78	2002		Kato, S., Yoshizawa, T., Kitanaka, S., Murayama, A., Takeyama, K.
Ligand selective potentiation of rat mineralocorticoid receptor activation function-1 (AF-1) by a CBP-containing HAT complex. Mol. Cell. Biol., 22, 3698-3706	2002		Kitagawa, H., Yanagisawa, J., Fuse, H., Ogawa, S., Yogiashi, Y., Okuno, A., Nagasawa, H., Nakajima, T., Matsumoto, T., Kato, S.
Transcriptional regulation of the mouse steroid 5alpha-reductase type II gene by progesterone in brain. Nucleic Acids Res., 30, 1387-1393	2002		Matsui, D., Sakari, M., Sato, T., Murayama, A., Takada, I., Kim, M., Takeyama, K., Kato, S.
Requirement of fibroblast growth factor 10 in development of white adipose tissue. Genes & Development, 16, 908-912	2002		Sakaue, H., Konishi, M., Ogawa, W., Asaki, T., Mori, T., Yamasaki, M., Takata, M., Ueno, H., Kato, S., Kasuga, M., Itho, N.
Molecular mechanisms underlying the action of environmental endocrine-disrupting chemicals. Environmental Sciences, 9, 57-70	2002		Nawata, H., Goto, K., Morinaga, H., Yanase, T., Yanagisawa, J., Kato, S., Nomura, M., Okabe Taijiro, Takayanagi, R.
Adrenomedullin, an endogenous peptide, counteracts cardiovascular damage. Circulation, 105, 106-111	2002		Shimosawa, T., Shibagaki, Y., Ishibashi, K., Kitamura, K., Kangawa, K., Kato, S., Ando, K., Fujita, T.
Role of FGF 10/FGFR2b signaling during mammary gland development in the mouse embryo. Development, 129, 53-60	2002		Mailleux, A. A., Spencer-Dene, B., Dillion, C., Ndiaye, D., Savona-Baron, C., Itoh, N., Kato, S., Dichson, C., Thiery, J. P., Bellusci, S.
FGF10 maintains stem cell compartment in developing mouse incisors. Development, 129, 1533-1541	2002		Harada, H., Toyono, T., Toyoshima, K., Yamasaki, M., Itoh, N., Kato, S., Sekine, K., Ohuchi, H.

論文名 (書名又は誌名・巻・頁・年)	刊行 年月日	刊行 書店名	執筆者氏名
Stimulation of smad1 transcriptional activity by ras-extracellular signal-regulated kinase pathway: a possible mechanism for collagen-dependent osteoblastic differentiation. J. Bone Miner. Res., 17, 240-248	2002		Suzawa, M., Tamura, Y., Fukumoto, S., Miyazono, K., Fujita, T., Kato, S., Takeuchi, Y.
Employment of the human estrogen receptor β ligand-binding domain and co-activator SRC1 nuclear receptor-binding domain for the construction of a yeast two-hybrid detection system for endocrine disrupters. J. Biochem., 131, 399-405	2002		Lee, H.-S., Miyauchi, K., Nagata, Y., Fukuda, R., Sasagawa, S., Endoh, H., Kato, S., Horiuchi, H., Takagi, M., Ohta, A.
The chromatin remodeling complex WINAC targets a nuclear receptor to promoters and is impaired in Williams Syndrome. Cell, 113, 905-917	2003		Kitagawa, H., Fujiki, R., Yoshimura, K., Mezaki, Y., Uematsu, Y., Matsui, D., Ogawa, S., Unno, K., Okubo, M., Tokita, A., Nakagawa, T., Ito, T., Ishimi, Y., Nagasawa, H., Matsumoto, T., Yanagisawa, J., Kato, S.
Modulation of estrogen receptor signalin by association with the activated dioxin receptor. Nature, 423, 545-550	2003		Ohtake, F., Takeyama, K., Matsumoto, T., Kitagawa, H., Yamamoto, Y., Nohara, K., Tohyama, C., Krust, A., Mimura, J., Chambon, P., Yanagisawa, J., Fujii-Kuriyama, Y., Kato, S.
Cytokines suppress adipogenesis and PPAR- γ function through the TAK1/TAB1/NIK cascade. Nature Cell Biol., 5, 224-230	2003		Suzawa, M., Takada, I., Yanagisawa, J., Ohtake, F., Ogawa, S., Yamauchi, T., Kadowaki, T., Takeuchi, Y., Shibuya, H., Gotoh, Y., Matsumoto, K., Kato, S.
Suppressive function of androgen receptor in bone resorption. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 100, 9416-9421	2003		Kawano, H., Sato, T., Yamada, T., Matsumoto, T., Sekine, K., Watanabe, T., Nakamura, T., Fukuda, T., Yoshimura, K., Yoshizawa, T., Aihara, K., Yamamoto, Y., Nakamichi, Y., Metzger, D., Chambon, P., Nakamura, K., Kawaguchi, H., Kato, S.
Chondromodulin-I (ChM-I) is a bone remodeling factor. Mol. Cell. Biol., 23, 636-644	2003		Nakamichi, Y., Shukunami, C., Yamada, T., Aihara, K., Kawano, H., Sato, T., Nishizaki, Y., Yamamoto, Y., Shindo, M., Yoshimura, K., Kawaguchi, H., Hiraki, Y., Kato, S.
Late onset of obesity in male androgen receptor-deficient (ARKO) mice. Biochem. Biophys. Res. Commun., 300, 167-171	2003		Sato, T., Matsumoto, T., Yamada, T., Watanabe, T., Kawano, H., Kato, S.
p54nrb acts as a transcriptional coactivator for activation function 1 of the human androgen receptor. Biochem. Biophys. Res. Commun., 306, 660-665	2003		Ishitani, K., Yoshida, T., Kitagawa, H., Ohta, H., Nozawa, S., Kato, S.