

- 2007.
24. Ohtake, F., Baba, A., Takada, I., Okada, M., Iwasaki, K., Miki, H., Takahashi, S., Kouzmenko, A., Nohara, K., Chiba, T., Fujii-Kuriyama, Y., Kato, S.: Dioxin receptor is a ligand-dependent E3 ubiquitin ligase. *Nature* 446, 562-566, 2007.
  25. Fukuda, T., Yamagata, K., Fujiyama, S., Matsumoto, T., Koshida, I., Yoshimura, K., Mihara, M., Nakamura, T., Akimoto, C., Yamamoto, Y., Katagiri, T., Foulds, C., Takezawa, S., Kitagawa, H., Takeyama, K., O'Malley, B.W., Kato, S.: DEAD-box RNA helicase subunits of the Drosha complex are required for processing of rRNA and a subset of MicroRNAs. *Nat Cell Biol* 9, 604-611, 2007.
  26. Takezawa, S., Yokoyama, A., Okada, M., Fujiki, R., Iriyama, A., Yanagi, Y., Ito, H., Takada, I., Kishimoto, M., Miyajima, A., Takeyama, K., Umesono, K., Kitagawa, H., Kato, S.: A cell cycle-dependent co-repressor for photoreceptor cell-specific nuclear receptor function. *EMBO J* 26, 764-774, 2007.
  27. Miyamoto, J., Matsumoto, T., Shiina, H., Inoue, K., Takada, I., Ito, S., Itoh, J., Minematsu, T., Sato, T., Yanase, T., Nawata, H., Osamura, R.Y., Kato, S.: Pituitary function of androgen receptor constitutes a glucocorticoid production circuit. *Mol Cell Biol* 27, 4807-4814, 2007.
  28. Kim, M.-S., Fujiki, R., Kitagawa, H., Kato, S.:  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -induced DNA methylation suppresses the human CYP27B1 gene. *Mol Cell Endocrinol* 265-266, 168-173, 2007.
  29. Kim, M.-S., Fujiki, R., Murayama, A., Kitagawa, H., Yamamoto, K., Yamamoto, Y., Mihara, M., Takeyama, K., Kato, S.:  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -induced transrepression by vitamin D receptor through E-box-type elements in the human parathyroid hormone gene promoter. *Mol Endocrinol* 21, 334-342, 2007.
  30. Yamaoka, K., Shindo, M., Iwasaki, K., Yamaoka, I., Yamamoto, Y., Kitagawa, H., Kato, S.: Multiple co-activator complexes support ligand-induced transactivation function of VDR. *Arch Biochem Biophys* 460, 166-171, 2007.
  31. Memezawa, A., Takada, I., Takeyama, K., Igarashi, M., Ito, S., Aiba, S., Kato, S., Kouzmenko, A.P.: Id2 Gene targeted crosstalk between Wnt and retinoid signaling regulates proliferation in human keratinocytes. *Oncogene* 26, 5038-5045, 2007.
  32. Kimura, S., Matsumoto, T., Matsuyama, R., Shiina, H., Sato, T., Takeyama, K., Kato, S.: Androgen receptor function in folliculogenesis and its clinical implication in premature ovarian failure. *Trends Endocrinol Metab* 18, 183-189, 2007.
  33. Kato, S., Fujiki, R., Kim, M.-S., Kitagawa, H.: Ligand-induced transrepressive function of VDR requires a chromatin remodeling complex, WINAC. *J Steroid Biochem Mol Biol* 103, 372-380, 2007.
  34. Matsumoto, T., Kawano, H., Shiina, H., Sato, T., Kato, S.: Androgen receptor functions in male and female reproduction. *Reproductive Med Biol* 6, 11-17, 2007.
  35. Fuse, H., Korenaga, S., Sakari, M., Hiyama, T., Ito, T., Kimura, K., Kato, S.: Non-steroidal antiandrogens act as AF-1 agonists under conditions of high androgen-receptor expression. *Prostate* 67, 630-637, 2007.
  36. Sato, S., Kojima, M., Hanada, R., Kimura, A.I., Abe, T., Matsumoto, T., Iwasaki, M., Inose, H., Ida, T., Mieda, M., Takeuchi, Y., Fukumoto, S., Fujita, T.,

- Kato, S., Kangawa, K., Shinomiya, K., Takeda, S.: Central control of bone remodelling by Neuromedin U: a mediator of the leptin-dependent regulation of bone formation. *Nat Med* 13, 1234-1240, 2007.
37. Aihara, K., Azuma, H., Akaike, M., Ikeda, Y., Sata, M., Takamori, N., Yagi, S., Iwase, T., Sumitomo, Y., Kawano, H., Yamada, T., Fukuda, T., Matsumoto, T., Sekine, K., Sato, T., Nakamichi, Y., Yamamoto, Y., Yoshimura, K., Watanabe, T., Nakamura, T., Oomizu, A., Tsukada, M., Hayashi, H., Sudo, T., Kato, S., Matsumoto, T.: Strain-dependent embryonic lethality and exaggerated vascular remodeling in heparin cofactor II-deficient mice. *J Clin Invest* 117, 1514-1526, 2007.
38. Yokota, K., Shibata, H., Kurihara, I., Kobayashi, S., Suda, N., Murai-Takeda, A., Saito, I., Kitagawa, H., Kato, S., Saruta, T., Itoh, H.: Coactivation of the N-terminal transactivation of mineralocorticoid receptor by Ubc9. *J Biol Chem* 282, 1998-2010, 2007.
39. Fan, W., Yanase, T., Morinaga, H., Okabe, T., Nomura, M., Daitoku, H., Fukamizu, A., Kato, S., Takayanagi, R. and Nawata, H.: IGF1/insulin signaling activates androgen signaling through direct interactions of FOXO1 with androgen receptor. *J Biol Chem* 282, 7329-7338, 2007.
40. Mukai, H., Tsurugizawa, T., Murakami, G., Kominami, S., Ishii, H., Ogiue-Ikeda, M., Takata, N., Tanabe, N., Furukawa, A., Hojo, Y., Ooishi, Y., Morrison J. H., Janssen, W.G., Rose, J.A., Chambon, P., Kato, S., Izumi, S., Yamazaki, T., Kimoto, T., Kawato, S.: Rapid modulation of long-term depression and spinogenesis via synaptic estrogen receptors in hippocampal principal neurons. *J Neurochem* 100, 950-967, 2007.
41. Kittaka, A., Saito, N., Honzawa, S., Takenouchi, K., Ishizuka, S., Chen, T. C., Peleg, S., Kato, S., Arai, M.A.: Creative synthesis of novel vitamin D analogs for health and disease. *J Steroid Biochem Mol Biol* 103, 269-276, 2007.
42. Hirata, T., Fujioka, M., Takahashi, K. A., Asano, T., Ishida, M., Akioka, K., Okamoto, M., Yoshimura, N., Satomi, Y., Nishino, H., Hirota, Y., Nakajima, S., Kato, S., Kubo, T.: Low molecular weight phenotype of Apo(a) is a risk factor of corticosteroid-induced osteonecrosis of the femoral head after renal transplant. *J Rheumatol* 34, 516-522, 2007.
43. Arai, M.A., Takeyama, K., Ito, S., Kato, S., Chen, T.C., Kittaka, A.: High-throughput system for analyzing ligand-induced cofactor recruitment by vitamin D receptor. *Bioconjug Chem* 18, 614-620, 2007.
44. Hirata, T., Fujioka, M., Takahashi, K.A., Arai, Y., Asano, T., Ishida, M., Kuribayashi, M., Akioka, K., Okamoto, M., Yoshimura, N., Satomi, Y., Nishino, H., Fukushima, W., Hirota, Y., Nakajima, S., Kato, S., Kubo, T.: ApoB C7623T polymorphism predicts risk for steroid-induced osteonecrosis of the femoral head after renal transplantation. *J Orthop Sci* 12, 199-206, 2007.
45. Indra, A.K., Castaneda, E., Antal, M.C., Jiang, M., Messaddeq, N., Meng, X., Loehr, C.V., Gariglio, P., Kato, S., Wahli, W., Desvergne, B., Metzger, D., Chambon, P.: Malignant transformation of DMBA/TPA-induced papillomas and nevi in the skin of mice selectively lacking retinoid-X-receptor  $\alpha$  in epidermal keratinocytes. *J Invest Dermatol* 127, 1250-1260, 2007.
46. Asagiri, M., Hirai, T., Kunigami, T.,

- Kamano, S., Gober, H.J., Okamoto, K., Nishizawa, K., Latz, E., Golenbock, D.T., Aoki, K., Ohya, K., Imai, Y., Morishita, Y., Miyazono, K., Kato, S., Saftig, P., Takayanagi, H.: Catheptin K-dependent toll-like receptor 9 signaling revealed in experimental arthritis. *Science* 319, 624-627, 2008.
47. Tanaka, M., Kamata, R., Takigahira, M., Yanagihara, K., Sakai, R.: Phosphorylation of ephrin-B1 regulates dissemination of gastric scirrhous carcinoma. *Am J Pathol* 171, 68-78, 2007.
48. Tanaka, M., Sasaki, K., Kamata, R., Sakai, R.: Carboxyl terminus of ephrin-B1 regulates metalloproteinase secretion and invasion of cancer cells. *J Cell Sci* 120, 2179-2189, 2007.
49. Uekita, T., Jia, L., Narisawa-Saito, M., Yokota, J., Kiyono, T., Sakai, R.: CUB domain-containing protein 1 is a novel regulator of anoikis resistance in lung adenocarcinoma. *Mol Cell Biol* 27, 7649-7660, 2007.
50. Tazaki, T., Miyazaki, K., Hiyama, E., Nakamoto, T., Sakai, R., Yamasaki, N., Honda, Z., Noda, M., Miyasaka, N., Sueda, T., Honda, H.: Functional analysis of Src homology 3-encoding exon (exon 2) of p130Cas in primary fibroblasts derived from exon 2-specific knockout mice. *Genes Cells* 13, 145-157, 2008.
51. Jia, L., Uekita, T., Sakai, R.: Hyperphosphorylated cortactin in cancer cells plays an inhibitory role in cell motility by regulating tyrosine phosphorylation of Cas. *Mol Cancer Res*, in press.
52. Tsukui, T., Imazawa, Y., Inoue, S.: Molecular mechanism of vitamin K and its regulators in bone metabolism. *Clin Calcium* 17, 1685-1691, 2007.
53. Ito, M., Muraki, M., Takahashi, Y., Imai, M., Tsukui, T., Yamakawa, N., Nakagawa, K., Ohgi, S., Horikawa, T., Iwasaki, W., Iida, A., Nishi, Y., Yanase, T., Nawata, H., Miyado, K., Kono, T., Hosoi, Y., Saito, H.: Glutathione S-transferase theta 1 expressed in granulosa cells as a biomarker for oocyte quality in age-related infertility. *Fertil Steril*, in press.
2. 学会発表  
【国際学会】
1. Horie-Inoue, K., Takayama, K., Inoue, S.: Common and differential responses to steroid hormones via their receptor-binding sites in human genome identified by chromatin immunoprecipitation-based tiling array. (2007.3.22-27) Keystone Symposia, Steamboat Springs, Colorado, USA.
2. Horie-Inoue, K., Ichikawa, T., Inoue, S.: VitaminK2 induces phosphorylation of protein kinase A and expression of novel target genes in osteoblastic cells. (2007.4.28-5.2) 9<sup>th</sup> European Congress of Endocrinology, Budapest, Czech.
3. Horie-Inoue, K., Takayama, K., Inoue, S.: Steroid hormone receptors potentially share common DNA binding site in human genome revealed by chromatin immunoprecipitation-based tiling array. (2007.5.2-5.5) "Nuclear Receptors: Structure and Function in Health and Disease" Nuclear Receptor EMBO Conference 2007, Gardone Riviera, Lake Garda, Italy.
4. Azuma, K., Horie, K., Sakai, R., Hayashi, S., Ouchi, Y., Inoue, S.: ER alpha-HDAC6 complex at plasma membrane mediates rapid tubulin deacetylation as a novel nongenomic estrogen action.

- (2007.6.2-5) The Endocrine Society's 97<sup>th</sup> annual meeting, Toronto, Canada.
5. Horie-Inoue, K., Ikeda, K., Inoue, S.: Systemic identification of novel estrogen-regulated mitochondrial genes through the combination of bioinformatics and functional analysis of consensus estrogen response elements. (2007.8.5-10) "Assembly of the Mitochondrial Respiratory Chain" FASEB Summer Research Conferences, Tucson, AZ, USA.
  6. Horie-Inoue, K., Takayama, K., Inoue, S.: ChIP-on-chip analysis reveals novel glucocorticoid response genes adjacent to genomic binding sites for steroid hormone receptor in osteoblastic cells. (2007.9.16-19) American Society of Bone and Mineral Research 29<sup>th</sup> Annual Meeting, Honolulu, Hawaii, USA.
  7. Horie-Inoue, K., Takayama, K., Inoue, S.: Common and differential responses to steroid hormones via their cognate receptor-binding sites in human genome. (2007.10.28-11.1) 21<sup>st</sup> International Mammalian Genome Conference, Kyoto, Japan.
  8. Inoue, S.: Protein modification of 14-3-3sigma by TRIM E3 ligase. (2008.2.24-29) Biology of 14-3-3 Proteins, Gordon Research Conferences, Ventura, California, USA.
  9. Kato, S.: Transcriptional pathways in the treatment of bone disease. (2007.1.11-14) Salk/Nature/Ipsen Foundation Symposium on Biological Complexity: Diseases of Transcription, La Jolla, California, USA.
  10. Kato, S.: Functional regulation of nuclear steroid hormone receptors through protein degradation. (2007.2.1-2) The 4<sup>th</sup> International Nuclear Receptor Meeting in Japan, Osaka, Japan.
  11. Kato, S.: Transcriptional regulation of steroid action. (2007.4.25-28) 2<sup>nd</sup> Conference on Skeletal Biology and Medicine, New York, USA.
  12. Takada, I., Mihara, M., Kato, S.: A histone lysine methyltransferase activated by non-canonical WNT signaling suppresses PPAR-gamma function. (2007.5.2-5) EMBO Conference 2007, Gardon Riviera, Italy.
  13. Ohtake, F., Takada, I., Fujii-Kuriyama, Y., Kato, S.: Dioxin (Ah) receptor assembles a ligand-dependent E3 ubiquitin ligase complex. (2007.5.2-5) EMBO Conference 2007, Gardon Riviera, Italy.
  14. Kato, S.: Interactions between dioxin (AhR) and estrogen receptors. (2007.7.22-26) Bregenz Summer School on Endocrinology, Bregenz, Austria.
  15. Kato, S.: Functional regulation of nuclear steroid hormone receptors through protein degradation. (2007.8.21-25) 6<sup>th</sup> World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Tokyo, Japan.
  16. Kato, S.: Consequences of a selective VDR knock out in the osteoblast. (2007.9.16-19) ASBMR 29<sup>th</sup> Annual Meeting, Hawaii, USA.
  17. Kim, M.-S., Takada, I., Takeyama, K., Kato, S.: Derepression of CYP27B1 gene expression mediates DNA-demethylation. (2007.9.16-19) ASBMR 29<sup>th</sup> Annual Meeting, Hawaii, USA.
  18. Uekita, T., Lin, J., Sakai, R.: CDCP1 regulates anoikis resistance in human lung adenocarcinoma. (2007.1.21-27) 7<sup>th</sup> AACR/JCA Joint International Conference, Hawaii, USA.
  19. Sakai, R., Uekita, T.: CDCP1 regulates anoikis resistance in human lung adenocarcinoma. (2007.8.8-12) Mechanisms & Models of Cancer

Meeting, San Diego, USA.

20. Sakai, R., Uekita, T.,: CDCP1 regulates metastatic potential of human cancers through anoikis resistance. (2007.12.21-22) The 12<sup>th</sup> Korea-Japan Cancer Research Workshop, Sapporo, Japan.

【国内学会】

1. 井上聡: [招待講演] ビタミン K/SXR、エストロゲン/ER: 核内受容体と骨粗鬆症 -生活習慣病と関連疾患の分子機構: 核内受容体と生活習慣病- (2007.4.13) 第 273 回 CBI 学会研究講演会 (東京)
2. 井上聡: [特別講演] ビタミン K の新しい作用メカニズム (2007.5.11) 骨粗鬆症学術集会 (名古屋)
3. 高山賢一、堀江公仁子、池田和博、浦野友彦、伊地知暢広、大内尉義、井上聡: [研究奨励賞] 前立腺癌細胞におけるアンドロゲン受容体結合部位同定による新規アンドロゲン応答遺伝子の探索 (2007.5.26) 第 7 回関東ホルモンと癌研究会 (東京)
4. 井上聡: [シンポジウム] -核内レセプターと糖脂質代謝の最前線- エストロゲン・エストロゲン関連レセプター (ER/ERR) とエネルギー代謝 (2007.6.14-16) 第 80 回日本内分泌学会学術集会 (東京)
5. 高山賢一、金城聖文、堤修一、堀江公仁子、池田和博、浦野友彦、伊地知暢広、大内尉義、白髭克彦、油谷浩幸、井上聡: ヒトゲノムレベルでの受容体結合部位同定による前立腺癌細胞における新規アンドロゲン応答遺伝子の系統的探索 (2007.6.14-16) 第 80 回日本内分泌学会学術集会 (東京)
6. 浦野友彦、白木正孝、大内尉義、井上聡: アディポネクチン受容体遺伝子多型が閉経後女性の体脂肪量に与える影響 (2007.6.20-22) 第 49 回日本老年医学会学術集会 (札幌)
7. 浦野友彦、白井貴彦、大内尉義、井上聡: 骨芽細胞における細胞周期制御因子とビタミン D シグナルとのクロストークによる分化・老化・増殖制御機構 (2007.7.7) 東京骨関節フォーラム (東京)
8. 井上聡: ゲノム医学-基礎から未来医療へ- 老年病のゲノム医学 (2007.7.27) 第 5 回 RCGM フロンティアシンポジウム (埼玉)
9. 伊地知暢広、池田和博、堀江公仁子、八木研、岡崎康司、井上聡: 脂肪細胞分化におけるエストロゲン関連受容体 (ERRalpha) の機能的役割 (2007.7.27) 第 5 回 RCGM フロンティアシンポジウム (埼玉)
10. 高山賢一、堀江公仁子、池田和博、浦野友彦、伊地知暢広、井上聡: 前立腺癌細胞におけるアンドロゲン受容体結合部位同定による新規アンドロゲン応答遺伝子の探索 (2007.7.27) 第 5 回 RCGM フロンティアシンポジウム (埼玉)
11. 池田和博、中里権恵、堀江公仁子、井上聡: 子宮内膜癌におけるエストロゲン応答遺伝子 COX7RP の役割 (2007.7.27) 第 5 回 RCGM フロンティアシンポジウム (埼玉)
12. 竹尾愛理、池田和博、菱沼俊樹、井上聡: 脳におけるエストロゲン標的遺伝子の解析 (2007.7.27) 第 5 回 RCGM フロンティアシンポジウム (埼玉)
13. 堀江公仁子、高山賢一、井上聡: ステロイドホルモン受容体結合部位の共通性と特異性に関する検討 (2007.7.27) 第 5 回 RCGM フロンティアシンポジウム (埼玉)
14. 白木正孝、浦野友彦、黒田龍彦、田中司郎、宮尾真理子、斎藤充、井上聡: MTHFR 多型(C677T)と骨密度の骨折発生に関する交互作用 (2007.7.19) 第 25 回日本骨代謝学会学術集会 (大阪)

15. Inoue, S.: Novel Vitamin K action via transcriptional regulation. (2007.8.24) 4<sup>th</sup> Meeting of Bone Biology Forum (Shizuoka, Japan)
16. 古谷武文、猪狩勝則、小竹茂、井上永介、浦野友彦、井上聡、南家由紀、八子徹、小橋川剛、市川奈緒美、原まさ子、戸松泰介、山中寿、鎌谷直之:LRP5 遺伝子多型と女性RA患者における新規骨折の関連;大規模前向き観察研究 (IORRA)を用いた解析より (2007.9.12-15) 日本人類遺伝学会第 52 回大会 (東京)
17. 浦野友彦、大内尉義、井上聡: E3 リガーゼ Efp の発現制御と疾患における役割に関する検討 (2007.9.15) 東京大学生命科学研究ネットワーク (東京)
18. 井上聡: [特別講演] ビタミン K の新しい作用機構 (2007.9.21) 生体キノン研究会第 6 回講演会 (東京)
19. Inoue, S.: [特別講演関連 Symposium] Estrogen responsive genes in the growth control of breast tumors. (2007.10.3-5) 第 66 回日本癌学会学術総会 (横浜)
20. Azuma, K., Urano, T., Watabe, T., Ouchi, Y., Inoue, S.: PROX1 suppresses vitamin K2-dependent transcriptional activity of SXR in hepatocellular carcinoma cell. (2007.10.3-5) 第 66 回日本癌学会学術総会 (横浜)
21. Takayama, K., Kaneshiro, K., Tsutsumi, S., Horie, K., Ikeda, K., Urano, T., Ijichi, N., Ouchi, Y., Shirahige, K., Aburatani, H., Inoue, S.: Identification of novel androgen response genes in prostate cancer by analyzing androgen receptor binding sites. (2007.10.3-5) 第 66 回日本癌学会学術総会 (横浜)
22. 堀江公仁子、森圭介、神田将和、樺沢昌、川崎いずみ、大崎昌孝、飯塚浩幸、粟田卓也、岡崎康司、井上聡、米谷新: CFH および HTRA1 プロモーター遺伝子多型による加齢黄斑性症罹患リスクの検討 ショートタイトル: AMD 罹患リスクの遺伝学的検討 (2007.10.11-14) 第 61 回臨床眼科学会 (京都)
23. 伊地知暢広、池田和博、堀江公仁子、井上聡: 脂肪細胞分化におけるエストロゲン関連受容体の機能的役割 (2007.10.19-20) 第 28 回日本肥満学会 (東京)
24. 池田和博、池田秀利、三谷幸之介、井上聡: ウイルス抵抗性における TRIM5alpha と Efp (TRIM25) 遺伝子の共通もしくは特異的な作用メカニズム (2007.10.21-23) 第 55 回日本ウイルス学会学術集会 (札幌)
25. 井上聡: [シンポジウム] 骨関節疾患の遺伝学 骨粗鬆症のゲノム医学 (2007.11.14-16) 第 9 回日本骨粗鬆症学会 (東京)
26. 井上聡: [イブニングセミナー] 骨におけるビタミン K の作用メカニズムー Gamma カルボキシル化による蛋白修飾と核内受容体を介する転写制御 (2007.11.14-16) 第 9 回日本骨粗鬆症学会 (東京)
27. 浦野友彦、臼井貴彦、天野均、高橋勝彦、大内尉義、井上聡: ビタミン D 受容体は細胞周期制御因子 p57<sup>Kip2</sup> と複合体を形成し骨形成を制御する (2007.11.14-16) 第 9 回日本骨粗鬆症学会 (東京)
28. 東浩太郎、浦野友彦、大内尉義、井上聡: 骨芽細胞におけるグルココルチコイド応答遺伝子の探索 (2007.11.14-16) 第 9 回日本骨粗鬆症学会 (東京)
29. 竹尾愛理、池田和博、菱沼俊樹、堀江公仁子、井上聡: ラット海馬におけるエストロゲン標的遺伝子の解析 (2007.11.23-24) 第 15 回日本ステロイドホルモン学会 (仙台)
30. 浦野友彦、大内尉義、井上聡: ユビキチンリガーゼ Efp とその基質蛋白に

- よるシグナルネットワーク (2007.12.11-15) BMB2007 (第80回日本生化学会大会・第30回日本分子生物学会年会) (横浜)
31. 井上聡: [Workshop] 脂溶性ビタミンの分子生物学 - ビタミンKの骨における新しい作用メカニズム (2007.12.11-15) BMB2007 (第80回日本生化学会大会・第30回日本分子生物学会年会) (横浜)
  32. 浦野友彦、大内尉義、井上聡: エストロゲン応答性ユビキチンリガーゼ Efp の基質蛋白同定と機能解明に基づく臨床応用 (2008.1.22) 東京大学メディカル・キューブ主催 先端医療開発研究シンポジウム (東京)
  33. Inoue S: [Symposium] Prevention and Treatment of Osteoporosis (2008.3.17-19) 第81回日本薬理学会年会 (横浜)
  34. 中井雅晶、藤田雅代、魏建設、藁谷正明、井上聡、津久井通、橋本款: ヒト変異型  $\beta$  シヌクレイン (P123H beta-syn) 発現トランスジェニックマウスにおける phenotype の解析 (2008.3.28-30) 第145回日本獣医学会学術集会 (相模原)
  35. 村上友浩、高田伊知郎、北川浩史、山岡一良、加藤茂明: 筋芽細胞を用いた PPAR $\alpha$  転写共役因子の精製と同定 (2007.3.24-27) 2007年度日本農芸化学会 (東京)
  36. 武山健一、伊藤紗弥、沢津橋俊、Alexander Kouzmenko、鈴木絵里子、山形薫、趙越、田辺真彦、木村周平、上田崇、村田拓也、藤山沙理、加藤茂明: Notch シグナル伝達依存的な新規転写抑制因子の同定と機能解析 (2007.3.24-27) 2007年度日本農芸化学会 (東京)
  37. 高田伊知郎、三原政朋、加藤茂明: Wnt シグナル依存的な PPAR $\gamma$  活性制御機構の解析 (2007.3.24-27) 2007年度日本農芸化学会 (東京)
  38. 鈴木絵里子、沢津橋俊、伊藤紗弥、田辺真彦、木村周平、趙越、山形薫、上田崇、村田拓也、Alexander Kouzmenko、武山健一、加藤茂明: 未知クロマチンバウンダリー制御因子の新たな探索法確立の試み (2007.3.24-27) 2007年度日本農芸化学会 (東京)
  39. 秋本千央、井上和樹、松本高広、盛真友、北川浩史、加藤茂明: Y染色体遺伝子 TSPY と男性ホルモン受容体の機能的相互作用の解析 (2007.3.24-27) 2007年度日本農芸化学会 (東京)
  40. 武政 (高橋) さゆり、渡辺資之、松本高広、北村唯一、加藤茂明: 前立腺におけるアンドロゲンレセプターの高次機能解析 (2007.4.14-17) 第95回日本泌尿器科学学会総会 (神戸)
  41. 加藤茂明: 核内受容体を介する細胞内情報伝達機構に関する研究 (2007.6.14-16) 第27回日本内分泌学会 (東京)
  42. 加藤茂明: 性ホルモン受容体群の骨組織での高次機能 (2007.7.19-21) 第25回日本骨代謝学会 (大阪)
  43. 高田伊知郎、三原正朋、松本邦弘、加藤茂明: 間葉系幹細胞における PPAR $\gamma$  と Non-canonical Wnt シグナルのクロストーク分子機構の解析 (2007.7.19-21) 第25回日本骨代謝学会 (大阪)
  44. 今井祐記、中村貴、竹田秀、福田亨、山本陽子、高岡邦夫、松本高広、加藤茂明: エストロゲンの骨量維持機構は Fas Lignd シグナルを介した破骨細胞寿命の調節である (2007.7.19-21) 第25回日本骨代謝学会 (大阪)
  45. 藤木亮次、赤石葉月、北川浩史、加藤茂明: レチノイン酸誘導性血球分化を制御する核内受容体転写共役因子群の探索 (2007.12.11-15) BMB2007 (第80回日本生化学会大会・第30回日本分子生物学会年会) (横浜)
  46. 金美善、高田伊知郎、武山健一、加藤茂明: ビタミン D 一位水酸化酵素遺

- 伝子の活性型ビタミン D 依存的な転写抑制解除には DNA 脱メチル化機構が関与する (2007.12.11-15) BMB2007 (第 80 回日本生化学会大会・第 30 回日本分子生物学会年会) (横浜)
47. 山形薫、鈴木絵里子、沢津橋俊、伊藤紗弥、藤山沙理、田辺真彦、上田崇、村田拓哉、趙越、松川紘之、武山健一、加藤茂明：エストロゲン応答 miRNA 発現のプロファイリング (2007.12.11-15) BMB2007 (第 80 回日本生化学会大会・第 30 回日本分子生物学会年会) (横浜)
48. 岡田麻衣子、竹澤慎一郎、目崎喜弘、高田伊知郎、北川浩史、加藤茂明：細胞周期依存的な ER $\alpha$  の機能解析 (2007.12.11-15) BMB2007 (第 80 回日本生化学会大会・第 30 回日本分子生物学会年会) (横浜)
49. 横山敦、竹澤慎一郎、北川浩史、加藤茂明：オーファン核内受容体 TLX の、転写共役因子複合体の同定による転写抑制機構の解明 (2007.12.11-15) 第 30 回日本分子生物学会年会、第 80 回日本生化学会大会合同大会 (横浜)
50. 馬場敦史、大竹史明、高田伊知郎、加藤茂明：グルカゴン/PKA シグナル依存的な FXR 新規転写共役因子複合体の解析 (2007.12.11-15) BMB2007 (第 80 回日本生化学会大会・第 30 回日本分子生物学会年会) (横浜)
51. 伊藤紗弥、沢津橋俊、鈴木絵里子、趙越、山形薫、田辺真彦、木村周平、上田崇、藤山沙理、村田拓哉、松川紘之、武山健一、加藤茂明：染色体構造変換を介した新規転写共役抑制因子の探索と機能解析 (2007.12.11-15) BMB2007 (第 80 回日本生化学会大会・第 30 回日本分子生物学会年会) (横浜)
52. Yue Zhao, Ken-ichi Takeyama, Shun Sawatsubashi, Saya Ito, Eriko Suzuki, Kaoru Yamagata, Yuko Shirode, Masahiko Tanabe, Shuhei Kimura, Sari Fujiyama, Takashi Ueda, Takuya Murata, Hiroyuki Matsukawa, Alexander P. Kouzmenko, Shigeaki Kato : Identification of MDC1 that enhances androgen receptor transactivation. (2007.12.11-15) BMB2007 (第 80 回日本生化学会大会・第 30 回日本分子生物学会年会) (横浜)
53. 山岡育子、北川浩史、秋本千央、加瀬郁子、目崎善弘、清水崇史、加藤茂明：酸化還元刺激によるグルココルチコイドレセプター転写制御メカニズムの解析 (2007.12.11-15) BMB2007 (第 80 回日本生化学会大会・第 30 回日本分子生物学会年会) (横浜)
54. 藤山沙理、沢津橋俊、鈴木絵里子、伊藤紗弥、田辺真彦、趙越、木村周平、上田崇、山形薫、村田拓哉、松川紘之、武山健一、加藤茂明：遺伝学的アプローチとプロテオミクスを連携した新規活性化クロマチン構造調節因子の網羅的探索と機能解析 (2007.12.11-15) BMB2007 (第 80 回日本生化学会大会・第 30 回日本分子生物学会年会) (横浜)
55. 三木ひろみ、大竹史明、高田伊知郎、藤井義明、加藤茂明：ダイオキシン受容体による脂肪細胞分化抑制作用機構の解明 (2007.12.11-15) BMB2007 (第 80 回日本生化学会大会・第 30 回日本分子生物学会年会) (横浜)
56. 秋本千央、上田崇、山岡育子、井上和樹、松本高広、盛真友、北川浩史、加藤茂明：Y 染色体遺伝子 TSPY と男性ホルモン受容体の機能的相互作用の解析 (2007.12.11-15) BMB2007 (第 80 回日本生化学会大会・第 30 回日本分子生物学会年会) (横浜)
57. 松山玲子、高田伊知郎、北川浩史、矢野哲、加藤茂明：ERR $\alpha$ 新規転写共役因子の同定と解析 (2007.12.11-15) BMB2007 (第 80 回日本生化学会大



- 会・第 30 回日本分子生物学会年会)  
(横浜)
58. 鈴木絵里子、沢津橋俊、伊藤紗弥、趙越、山形薫、田辺真彦、木村周平、藤山沙理、上田崇、村田拓哉、松川紘之、Alexander Kouzmenko、武山健一、加藤茂明：未知クロマチンバウンダリー制御因子の新たな探索法確立の試み(2007.12.11-15) BMB2007 (第 80 回日本生化学会大会・第 30 回日本分子生物学会年会) (横浜)
59. 二見仁康、堺隆一：神経芽腫における受容体型チロシンキナーゼ RET の役割の検討 (2007.10.3-5) 第 66 回日本癌学会総会 (横浜)
60. 田中正光、鎌田礼子、堺隆一：分子標的としての ephrin-B1 信号伝達 (2007.10.3-5) 第 66 回日本癌学会総会 (横浜)
61. 上北尚正、田中正光、柳原五吉、堺隆一：CDCP1 はスキルス胃がんの腹膜播種の制御に関する因子である (2007.10.3-5) 第 66 回日本癌学会総会 (横浜)
62. 三宅泉、堺隆一：神経芽腫細胞の分化機構における ShcA および ShcC の機能について (2007.10.3-5) 第 66 回日本癌学会総会 (横浜)
63. 今澤由紀子、津久井通、井上聡：エストロゲンシグナルにおける軟骨代謝作用：II 型コラーゲンプロモーターを利用した ER $\alpha$  および ER $\beta$  コンディショナルトランスジェニックマウスの解析 (2007.7.19) 第 25 回日本骨代謝学会学術集会 (大阪)
64. 津久井通、今澤由紀子、井上聡：ピタミン K 依存性 gamma-carboxylase のコンディショナルトランスジェニックマウスにおける肝臓を介した骨代謝作用の解析 (2007.7.27) 第 5 回 RCGM フロンティアシンポジウム(埼玉)
65. 今澤由紀子、津久井通、井上聡：II 型コラーゲンプロモーターを利用した ER $\alpha$  及び ER $\beta$  コンディショナルトランスジェニックマウスの解析 (2007.7.27) 第 5 回 RCGM フロンティアシンポジウム (埼玉)
66. 今澤由紀子、津久井通、井上聡：軟骨代謝におけるエストロゲンシグナル作用の解析 (2008.1.10) 第 3 回 Bone Forum in Hanno (埼玉)
- G. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許出願中
1. 発明の名称：「骨粗鬆症感受性遺伝子、及び骨粗鬆症罹患リスクの測定法」、出願番号：特願 2007-153035、出願日：2007 年 6 月 18 日、発明者：井上聡・浦野友彦・大内尉義・白木正孝、出願人：国立大学法人東京大学
2. 発明の名称：「ヒト体脂肪量と関連する遺伝子多型に基づく肥満発症リスクの判定方法」、特願 2007-298045、出願日：2007 年 11 月 16 日、発明者：井上聡・浦野友彦・大内尉義・白木正孝、出願人：国立大学法人東京大学

# 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金  
(創薬基盤推進研究事業：ヒトゲノムテーラーメイド研究)  
分担研究報告書

核内受容体、核内受容体共役因子の骨粗鬆症・変形性関節症における機能解析  
－破骨細胞における性ホルモン受容体の高次機能－

分担研究者 加藤 茂明  
東京大学分子細胞生物学研究所 教授

【研究要旨】

性ホルモン(アンドロゲン・エストロゲン)は主要な骨代謝調節因子の一つであり、強力な骨量維持作用をもつ。しかしながらその作用機構は未だに不明である。内分泌機構を介して間接的な骨組織に対する作用なのか、あるいは骨組織を構成している細胞群に直接的に作用するのかは未だ明らかでなく、後者の場合、骨細胞・破骨細胞・骨芽細胞のいずれに対する作用なのか不明確である。特に破骨細胞に対する直接作用の存在については、破骨細胞での性ステロイドホルモン受容体の検出が困難であるために懐疑的であり、培養細胞を用いた研究が中心となっているが生体内高次機能の探索には十分とはいえない。そこで、破骨細胞特異的なエストロゲンレセプター(ER)遺伝子欠損マウスを新たに作出したところ、著しい骨量低下を認めた。以上の結果から、破骨細胞内 ER を直接的に介したエストロゲンによる骨吸収抑制機構の一端が明らかとなった。

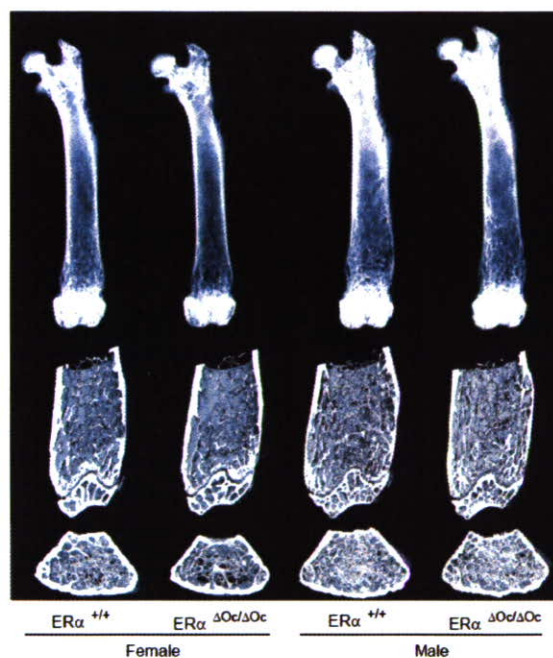
A. 研究目的

骨基質はコラーゲンを主成分とする基質にハイドロキシアパタイトが沈着した硬組織であるにも関わらず、内外からの刺激に応じて常に破骨細胞による骨吸収と骨芽細胞による骨形成を活発に繰り返している(リモデリング)。この過程は、骨吸収と骨形成の正負の調節の上に成立するため、正常な骨組織の維持には骨リモデリングのバランス維持が重要である。骨リモデリングには数多くの代謝制御因子が知られているが、なかでも性ステロイドホルモンは主要制御因子として知られている。実際、近年顕在化している閉経後骨粗鬆症は、女性ホルモン(エストロゲン)欠乏によって引き起こされることが広く知られており、閉経後骨粗鬆症にお

ける骨折予防を目的として、ホルモン補充療法(HRT: Hormone Replacement Therapy)が導入されたがホルモン作用の副作用が認められたため、副作用改善を目的として、比較的骨量回復のみを認める合成リガンドとして SERM (Selective Estrogen Receptor Modulator)が導入されてはいるもののその詳細な作用メカニズムは不明である。エストロゲンの生理作用はリガンド依存性転写制御因子であるエストロゲン受容体(ER)を介した標的遺伝子の転写制御により発揮されると考えられている。ところが、全身的 ER 遺伝子欠損マウスでは、アンドロゲンをはじめとした全身の内分泌バランスによるホメオスタシスの維持のため、骨量に著明な変化は認めない。そこで昨年度、骨組織特

異的に ER 遺伝子を破壊することにより ER の骨組織における高次機能解明を目的に、Cre/loxP システムを利用した破骨細胞特異的 Cre 発現マウスを用いることにより、破骨細胞特異的 ER 遺伝子欠損 (OcERKO) マウスを作出し、その骨組織変異を解析したところ、メス OcERKO マウスにおいて顕著な骨密度の低下が見られた(図 1)。そこで本年度は、成熟破骨細胞における ER の直接的な作用メカニズムを明らかにすることを目的とした。

図 1



### B. 研究方法

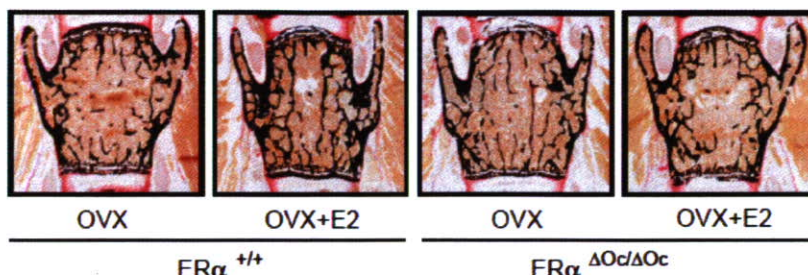
昨年度報告した OcERKO マウスの 12 週齢メスマウスを用いて、骨形態計測法による骨組織のさらなる解析、および破骨細胞内における ER の標的遺伝子の探索等をおこなった。

### C. 研究結果

OcERKO マウスの卵巣摘出後にエストロゲンを投与したところ、対照群におい

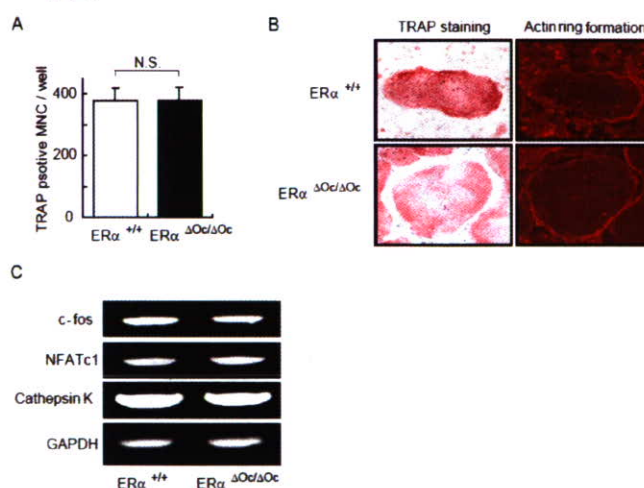
ては骨密度の回復を認めたものの、OcERKO マウスにおいては骨量の有意な変化を認めなかった(図 2)。

図 2



そこで、破骨細胞初代培養系を用い、その破骨細胞分化への影響を検討したところ、OcERKO マウス由来の破骨細胞初代培養系においては、対象群と比較して分化に有意な差は認められなかった。また、c-fos や NFATc1 などの破骨細胞に関連する転写因子の発現にも差が認められなかった(図 3)。このことは、ER が破骨細胞分化には関与しないことを示している。

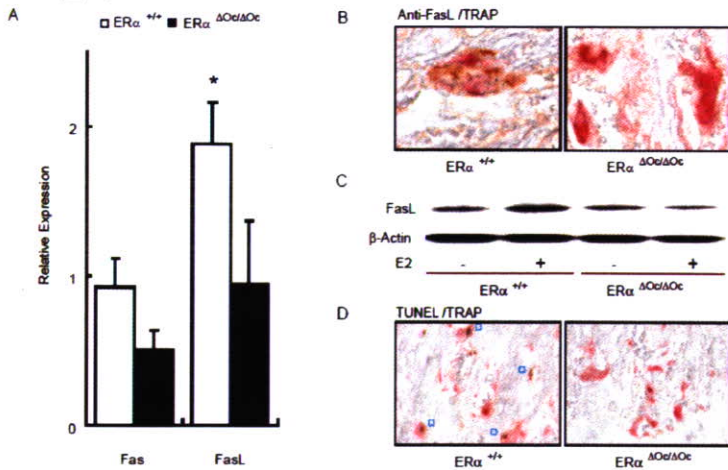
図 3



そこで、破骨細胞内での ER のターゲットを探索したところ、アポトーシス関連因子である FasL の発現が低下していることが明らかとなった(図 4、次頁)。

以上より、破骨細胞内において ER は FasL の発現を制御しアポトーシスに導くことにより、骨吸収を抑制していることが明らかとなった。

図 4



#### D. 考察

本研究では破骨細胞特異的 ERKO マウスを作出する事で、生体レベルにおける破骨細胞内 ER 高次機能について解析を試みた。

現在、骨吸収機能をもつ唯一の細胞種が破骨細胞であると考えられている。in vitro の実験系を通じてこれまで多くの骨吸収制御因子が報告されているが、培養破骨細胞を用いた検証には限界があり、それら因子が破骨細胞で特異的に機能しているか証明する手段が存在しなかった。そこで我々が作出した Ctsk-Cre ノックインマウスを用いることで成熟破骨細胞特異的な遺伝子欠損が可能となった。今後、これら因子群の詳細な作用メカニズムの解析が可能となった。

現在まで破骨細胞での明確な ER 発現報告がないにも関わらず、実際に OcERKO マウスを作製したところ、骨量の減少が観察された。今回得られた結果から、性ホルモンであるエストロゲンは、骨組織を構成する細胞群のひとつである破骨細胞に、直接的に作用することで骨吸収を抑制していることが明らかとなった。

#### E. 結論

本研究は破骨細胞特異的 ERKO マウスの作出および解析により、破骨細胞内 ER

が骨代謝制御に直接関与している事を明らかにし、骨組織に対する性ステロイドホルモン作用メカニズムの一端を解明した。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Kitagawa, H., Yamaoka, I., Akimoto, C., Kase, I., Mezaki, Y., Shimizu, T., Kato, S.: A reduction state potentiates the glucocorticoid response through receptor protein stabilization. *Genes Cells* 12, 1281-1287, 2007.
2. Takada, I., Mihara, M., Suzawa, M., Ohtake, F., Igarashi, M., Takeyama, K., Nakamura, T., Mezaki, Y., Takezawa, S., Yogiashi, Y., Kitagawa, H., Yamada, G., Takada, S., Minami, Y., Shibuya, H., Matsumoto, K., Kato, S.: A histone lysine methyltransferase activated by non-canonical Wnt signaling suppresses PPAR- $\gamma$  transactivation. *Nat Cell Biol* 9, 1273-1285, 2007.
3. Igarashi, M., Yogiashi, Y., Mihara, M., Takada, I., Kitagawa, H., Kato, S.: Vitamin K induces osteoblast differentiation through PXR-mediated transcriptional control of the *Msx2* gene. *Mol Cell Biol* 27, 7947-7954, 2007.
4. Kitagawa, H., Ray, W. J., Glantschnig, H., Nantermet, P.V., Yu, Y., Leu, C.T., Harada, S.I., Kato, S., Freedman, L.P.: A regulatory circuit mediating convergence between *nurr1* transcriptional regulation and Wnt Signaling. *Mol Cell Biol* 27, 7486-7496, 2007.
5. Nakamura, T., Imai, Y., Matsumoto, T., Sato, S., Takeuchi, K., Igarashi, K., Harada, Y., Azuma, Y., Krust, A., Yamamoto, Y., Nishina, H., Takeda, S., Takayanagi, H., Metzger, D., Kanno, J., Takaoka, K., Martin, T.J., Chambon, P.,

- Kato, S.: Estrogen prevents bone loss via estrogen receptor  $\alpha$  and induction of Fas ligand in osteoclasts. *Cell* 130, 811-823, 2007.
6. Ohtake, F., Baba, A., Takada, I., Okada, M., Iwasaki, K., Miki, H., Takahashi, S., Kouzmenko, A., Nohara, K., Chiba, T., Fujii-Kuriyama, Y., Kato, S.: Dioxin receptor is a ligand-dependent E3 ubiquitin ligase. *Nature* 446, 562-566, 2007.
  7. Fukuda, T., Yamagata, K., Fujiyama, S., Matsumoto, T., Koshida, I., Yoshimura, K., Mihara, M., Nakamura, T., Akimoto, C., Yamamoto, Y., Katagiri, T., Foulds, C., Takezawa, S., Kitagawa, H., Takeyama, K., O'Malley, B.W., Kato, S.: DEAD-box RNA helicase subunits of the Drosha complex are required for processing of rRNA and a subset of MicroRNAs. *Nat Cell Biol* 9, 604-611, 2007.
  8. Takezawa, S., Yokoyama, A., Okada, M., Fujiki, R., Iriyama, A., Yanagi, Y., Ito, H., Takada, I., Kishimoto, M., Miyajima, A., Takeyama, K., Umesono, K., Kitagawa, H., Kato, S.: A cell cycle-dependent co-repressor for photoreceptor cell-specific nuclear receptor function. *EMBO J* 26, 764-774, 2007.
  9. Miyamoto, J., Matsumoto, T., Shiina, H., Inoue, K., Takada, I., Ito, S., Itoh, J., Minematsu, T., Sato, T., Yanase, T., Nawata, H., Osamura, R.Y., Kato, S.: Pituitary function of androgen receptor constitutes a glucocorticoid production circuit. *Mol Cell Biol* 27, 4807-4814, 2007.
  10. Kim, M.-S., Fujiki, R., Kitagawa, H., Kato, S.:  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -induced DNA methylation suppresses the human CYP27B1 gene. *Mol Cell Endocrinol* 265-266, 168-173, 2007.
  11. Kim, M.-S., Fujiki, R., Murayama, A., Kitagawa, H., Yamamoto, K., Yamamoto, Y., Mihara, M., Takeyama, K., Kato, S.:  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -induced transrepression by vitamin D receptor through E-box-type elements in the human parathyroid hormone gene promoter. *Mol Endocrinol* 21, 334-342, 2007.
  12. Yamaoka, K., Shindo, M., Iwasaki, K., Yamaoka, I., Yamamoto, Y., Kitagawa, H., Kato, S.: Multiple co-activator complexes support ligand-induced transactivation function of VDR. *Arch Biochem Biophys* 460, 166-171, 2007.
  13. Memezawa, A., Takada, I., Takeyama, K., Igarashi, M., Ito, S., Aiba, S., Kato, S., Kouzmenko, A.P.: Id2 Gene targeted crosstalk between Wnt and retinoid signaling regulates proliferation in human keratinocytes. *Oncogene* 26, 5038-5045, 2007.
  14. Kimura, S., Matsumoto, T., Matsuyama, R., Shiina, H., Sato, T., Takeyama, K., Kato, S.: Androgen receptor function in folliculogenesis and its clinical implication in premature ovarian failure. *Trends Endocrinol Metab* 18, 183-189, 2007.
  15. Kato, S., Fujiki, R., Kim, M.-S., Kitagawa, H.: Ligand-induced transrepressive function of VDR requires a chromatin remodeling complex, WINAC. *J Steroid Biochem Mol Biol* 103, 372-380, 2007.
  16. Matsumoto, T., Kawano, H., Shiina, H., Sato, T., Kato, S.: Androgen receptor functions in male and female reproduction. *Reproductive Med Biol* 6, 11-17, 2007.
  17. Fuse, H., Korenaga, S., Sakari, M., Hiyama, T., Ito, T., Kimura, K., Kato, S.: Non-steroidal antiandrogens act as AF-1 agonists under conditions of high androgen-receptor expression. *Prostate*

- 67, 630-637, 2007.
18. Sato, S., Kojima, M., Hanada, R., Kimura, A.1., Abe, T., Matsumoto, T., Iwasaki, M., Inose, H., Ida, T., Mieda, M., Takeuchi, Y., Fukumoto, S., Fujita, T., Kato, S., Kangawa, K., Shinomiya, K., Takeda, S.: Central control of bone remodelling by Neuromedin U: a mediator of the leptin-dependent regulation of bone formation. *Nat Med* 13, 1234-1240, 2007.
  19. Aihara, K., Azuma, H., Akaike, M., Ikeda, Y., Sata, M., Takamori, N., Yagi, S., Iwase, T., Sumitomo, Y., Kawano, H., Yamada, T., Fukuda, T., Matsumoto, T., Sekine, K., Sato, T., Nakamichi, Y., Yamamoto, Y., Yoshimura, K., Watanabe, T., Nakamura, T., Oomizu, A., Tsukada, M., Hayashi, H., Sudo, T., Kato, S., Matsumoto, T.: Strain-dependent embryonic lethality and exaggerated vascular remodeling in heparin cofactor II-deficient mice. *J Clin Invest* 117, 1514-1526, 2007.
  20. Yokota, K., Shibata, H., Kurihara, I., Kobayashi, S., Suda, N., Murai-Takeda, A., Saito, I., Kitagawa, H., Kato, S., Saruta, T., Itoh, H.: Coactivation of the N-terminal transactivation of mineralocorticoid receptor by Ubc9. *J Biol Chem* 282, 1998-2010, 2007.
  21. Fan, W., Yanase, T., Morinaga, H., Okabe, T., Nomura, M., Daitoku, H., Fukamizu, A., Kato, S., Takayanagi, R., Nawata, H.: IGF1/insulin signaling activates androgen signaling through direct interactions of FOXO1 with androgen receptor. *J Biol Chem* 282, 7329-7338, 2007.
  22. Mukai, H., Tsurugizawa, T., Murakami, G., Kominami, S., Ishii, H., Ogiue-Ikeda, M., Takata, N., Tanabe, N., Furukawa, A., Hojo, Y., Ooishi, Y., Morrison J. H., Janssen, W.G., Rose, J.A., Chambon, P., Kato, S., Izumi, S., Yamazaki, T., Kimoto, T., Kawato, S.: Rapid modulation of long-term depression and spinogenesis via synaptic estrogen receptors in hippocampal principal neurons. *J Neurochem* 100, 950-967, 2007.
  23. Kittaka, A., Saito, N., Honzawa, S., Takenouchi, K., Ishizuka, S., Chen, T. C., Peleg, S., Kato, S., Arai, M.A.: Creative synthesis of novel vitamin D analogs for health and disease. *J Steroid Biochem Mol Biol* 103, 269-276, 2007.
  24. Hirata, T., Fujioka, M., Takahashi, K. A., Asano, T., Ishida, M., Akioka, K., Okamoto, M., Yoshimura, N., Satomi, Y., Nishino, H., Hirota, Y., Nakajima, S., Kato, S., Kubo, T.: Low molecular weight phenotype of Apo(a) is a risk factor of corticosteroid-induced osteonecrosis of the femoral head after renal transplant. *J Rheumatol* 34, 516-522, 2007.
  25. Arai, M.A., Takeyama, K., Ito, S., Kato, S., Chen, T.C., Kittaka, A.: High-throughput system for analyzing ligand-induced cofactor recruitment by vitamin D receptor. *Bioconjug Chem* 18, 614-620, 2007.
  26. Hirata, T., Fujioka, M., Takahashi, K.A., Arai, Y., Asano, T., Ishida, M., Kuribayashi, M., Akioka, K., Okamoto, M., Yoshimura, N., Satomi, Y., Nishino, H., Fukushima, W., Hirota, Y., Nakajima, S., Kato, S., Kubo, T.: ApoB C7623T polymorphism predicts risk for steroid-induced osteonecrosis of the femoral head after renal transplantation. *J Orthop Sci* 12, 199-206, 2007.
  27. Indra, A.K., Castaneda, E., Antal, M.C., Jiang, M., Messaddeq, N., Meng, X., Loehr, C.V., Gariglio, P., Kato, S., Wahli, W., Desvergne, B., Metzger, D., Chambon, P.: Malignant transformation

of DMBA/TPA-induced papillomas and nevi in the skin of mice selectively lacking retinoid-X-receptor alpha in epidermal keratinocytes. *J Invest Dermatol* 127, 1250-1260, 2007.

28. Asagiri, M., Hirai, T., Kunigami, T., Kamano, S., Gober, H.J., Okamoto, K., Nishizawa, K., Latz, E., Golenbock, D.T., Aoki, K., Ohya, K., Imai, Y., Morishita, Y., Miyazono, K., Kato, S., Saftig, P., Takayanagi, H.: Catheptin K-dependent toll-like receptor 9 signaling revealed in experimental arthritis. *Science* 319, 624-627, 2008.

## 2. 学会発表 【国際学会】

1. Kato, S.: Transcriptional pathways in the treatment of bone disease. Salk/Nature/Ipsen Foundation Symposium on Biological Complexity: Diseases of Transcription, La Jolla, California, USA (2007.1.11-14)
2. Kato, S.: Functional regulation of nuclear steroid hormone receptors through protein degradation. The 4th International Nuclear Receptor Meeting in Japan, Osaka, Japan (2007.2.1-2)
3. Kato, S.: Transcriptional regulation of steroid action. 2nd Conference on Skeletal Biology and Medicine, New York, USA (2007.4.25-28)
4. Takada, I., Mihara, M., Kato, S.: A histone lysine methyltransferase activated by non-canonical WNT signaling suppresses PPAR-gamma function. EMBO Conference 2007, Gardon Riviera, Italy (2007.5.2-5)
5. Ohtake, F., Takada, I., Fujii-Kuriyama, Y., Kato, S.: Dioxin (Ah) receptor assembles a ligand-dependent E3 ubiquitin ligase complex. EMBO Conference 2007, Gardon Riviera, Italy (2007.5.2-5)

6. Kato, S.: Interactions between dioxin (AhR) and estrogen receptors. Bregenz Summer School on Endocrinology, Bregenz, Austria (2007.7.22-26)
7. Kato, S.: Functional regulation of nuclear steroid hormone receptors through protein degradation. 6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Tokyo, Japan (2007.8.21-25)
8. Kato, S.: Consequences of a selective VDR knock out in the osteoblast. ASBMR 29th Annual Meeting, Hawaii, USA (2007.9.16-19)
9. Kim, M.-S., Takada, I., Takeyama, K., Kato, S.: Derepression of CYP27B1 gene expression mediates DNA-demethylation. ASBMR 29th Annual Meeting, Hawaii, USA (2007.9.16-19)

## 【国内学会】

1. 村上友浩、高田伊知郎、北川浩史、山岡一良、加藤茂明：筋芽細胞を用いた PPAR $\delta$  転写共役因子の精製と同定 (2007.3.24-27) 2007 年度日本農芸化学会 (東京)
2. 武山健一、伊藤紗弥、沢津橋俊、Alexander Kouzmenko、鈴木絵里子、山形薫、趙越、田辺真彦、木村周平、上田崇、村田拓也、藤山沙理、加藤茂明：Notch シグナル伝達依存的な新規転写抑制因子の同定と機能解析 (2007.3.24-27) 2007 年度日本農芸化学会 (東京)
3. 高田伊知郎、三原政朋、加藤茂明：Wnt シグナル依存的な PPAR $\gamma$  活性制御機構の解析 (2007.3.24-27) 2007 年度日本農芸化学会 (東京)
4. 鈴木絵里子、沢津橋俊、伊藤紗弥、田辺真彦、木村周平、趙越、山形薫、上田崇、村田拓也、Alexander Kouzmenko、武山健一、加藤茂明：未知クロマチンバウンダリー制御因子



- の新たな探索法確立の試み (2007.3.24-27) 2007年度日本農芸化学会 (東京)
5. 秋本千央、井上和樹、松本高広、盛 真友、北川浩史、加藤茂明: Y染色体遺伝子TSPYと男性ホルモン受容体の機能的相互作用の解析 (2007.3.24-27) 2007年度日本農芸化学会 (東京)
  6. 武政 (高橋) さゆり、渡辺資之、松本高広、北村唯一、加藤茂明: 前立腺におけるアンドロゲンレセプターの高次機能解析 (2007.4.14-17) 第95回日本泌尿器科学学会総会 (神戸)
  7. 加藤茂明: 核内受容体を介する細胞内情報伝達機構に関する研究 (2007.6.14-16) 第27回日本内分泌学会 (東京)
  8. 加藤茂明: 性ホルモン受容体群の骨組織での高次機能 (2007.7.19-21) 第25回日本骨代謝学会 (大阪)
  9. 高田伊知郎、三原正朋、松本邦弘、加藤茂明: 間葉系幹細胞におけるPPAR $\gamma$ とNon-canonical Wntシグナルのクロストーク分子機構の解析 (2007.7.19-21) 第25回日本骨代謝学会 (大阪)
  10. 今井祐記、中村貴、竹田秀、福田亨、山本陽子、高岡邦夫、松本高広、加藤茂明: エストロゲンの骨量維持機構はFas Ligndシグナルを介した破骨細胞寿命の調節である (2007.7.19-21) 第25回日本骨代謝学会 (大阪)
  11. 藤木亮次、赤石葉月、北川浩史、加藤茂明: レチノイン酸誘導性血球分化を制御する核内受容体転写共役因子群の探索 (2007.12.11-15) 第30回日本分子生物学会年会、第80回日本生化学会大会合同大会 (横浜)
  12. 金美善、高田伊知郎、武山健一、加藤茂明: ビタミンD一位水酸化酵素遺伝子の活性型ビタミンD依存的な転写抑制解除にはDNA脱メチル化機構が関与する (2007.12.11-15) 第30回日本分子生物学会年会、第80回日本生化学会大会合同大会 (横浜)
  13. 山形薫、鈴木絵里子、沢津橋俊、伊藤紗弥、藤山沙理、田辺真彦、上田崇、村田拓哉、趙越、松川紘之、武山健一、加藤茂明: エストロゲン応答miRNA発現のプロファイリング (2007.12.11-15) 第30回日本分子生物学会年会、第80回日本生化学会大会合同大会 (横浜)
  14. 岡田麻衣子、竹澤慎一郎、目崎喜弘、高田伊知郎、北川浩史、加藤茂明: 細胞周期依存的なER $\alpha$ の機能解析 (2007.12.11-15) 第30回日本分子生物学会年会、第80回日本生化学会大会合同大会 (横浜)
  15. 横山敦、竹澤慎一郎、北川浩史、加藤茂明: オーフアン核内受容体TLXの、転写共役因子複合体の同定による転写抑制機構の解明 (2007.12.11-15) 第30回日本分子生物学会年会、第80回日本生化学会大会合同大会 (横浜)
  16. 馬場敦史、大竹史明、高田伊知郎、加藤茂明: グルカゴン/PKAシグナル依存的なFXR新規転写共役因子複合体の解析 (2007.12.11-15) 第30回日本分子生物学会年会、第80回日本生化学会大会合同大会 (横浜)
  17. 伊藤紗弥、沢津橋俊、鈴木絵里子、趙越、山形薫、田辺真彦、木村周平、上田崇、藤山沙理、村田拓哉、松川紘之、武山健一、加藤茂明: 染色体構造変換を介した新規転写共役抑制因子の探索と機能解析 (2007.12.11-15) 第30回日本分子生物学会年会、第80回日本生化学会大会合同大会 (横浜)
  18. Yue Zhao, Ken-ichi Takeyama, Shun Sawatsubashi, Saya Ito, Eriko Suzuki, Kaoru Yamagata, Yuko Shirode, Masahiko Tanabe, Shuhei Kimura, Sari Fujiyama, Takashi Ueda, Takuya Murata, Hiroyuki Matsukawa, Alexander P. Kouzmenko, Shigeaki Kato :

- Identification of MDC1 that enhances androgen receptor transactivation. (2007.12.11-15) 第 30 回日本分子生物学会年会、第 80 回日本生化学会大会合同大会 (横浜)
19. 山岡育子、北川浩史、秋本千央、加瀬郁子、目崎善弘、清水崇史、加藤茂明：酸化還元刺激によるグルコシルコイドレセプター転写制御メカニズムの解析 (2007.12.11-15) 第 30 回日本分子生物学会年会、第 80 回日本生化学会大会合同大会 (横浜)
20. 藤山沙理、沢津橋俊、鈴木絵里子、伊藤紗弥、田辺真彦、趙越、木村周平、上田崇、山形薫、村田拓哉、松川紘之、武山健一、加藤茂明：遺伝学的アプローチとプロテオミクスを連携した新規活性化クロマチン構造調節因子の網羅的探索と機能解析 (2007.12.11-15) 第 30 回日本分子生物学会年会、第 80 回日本生化学会大会合同大会 (横浜)
21. 三木ひろみ、大竹史明、高田伊知郎、藤井義明、加藤茂明：ダイオキシン受容体による脂肪細胞分化抑制作用機構の解明 (2007.12.11-15) 第 30 回日本分子生物学会年会、第 80 回日本生化学会大会合同大会 (横浜)
22. 秋本千央、上田崇、山岡育子、井上和樹、松本高広、盛真友、北川浩史、加藤茂明：Y 染色体遺伝子 TSPY と男性ホルモン受容体の機能的相互作用の解析 (2007.12.11-15) 第 30 回日本分子生物学会年会、第 80 回日本生化学会大会合同大会 (横浜)
23. 松山玲子、高田伊知郎、北川浩史、矢野哲、加藤茂明：ERR $\alpha$ 新規転写共役因子の同定と解析 (2007.12.11-15) 第 30 回日本分子生物学会年会、第 80 回日本生化学会大会合同大会 (横浜)
24. 鈴木絵里子、沢津橋俊、伊藤紗弥、趙越、山形薫、田辺真彦、木村周平、藤山沙理、上田崇、村田拓哉、松川紘之、Alexander Kouzmenko、武山健一、加藤茂明：未知クロマチンバウンダリー制御因子の新たな探索法確立の試み (2007.12.11-15) 第 30 回日本分子生物学会年会、第 80 回日本生化学会大会合同大会 (横浜)

厚生労働科学研究費補助金  
(創薬基盤推進研究事業：ヒトゲノムテラーメード研究)  
分担研究報告書

細胞内シグナル伝達因子・膜受容体・酵素系の  
骨粗鬆症疾患遺伝子としての役割

分担研究者 堺 隆一  
国立がんセンター研究所 細胞増殖因子研究部部长

【研究要旨】

骨細胞系・軟骨細胞系の細胞の増殖・機能異常の本態を理解し、その異常に関わる細胞内シグナル伝達分子を明らかにすることは、骨粗鬆症や変形性関節症(OA)の予防・診断・治療などの面でも極めて重要である。様々なシグナル伝達分子群の中でチロシンキナーゼである Src ファミリーの分子とその基質群は、破骨細胞・骨芽細胞においてはその分化と機能維持のために、軟骨細胞においてはインテグリンを介して細胞外基質の情報を受け取り、増殖を維持するために必要であると考えられる。本研究では Src ファミリーの活性変化や組織による基質特異性を解析することにより、骨細胞・軟骨細胞系における Src ファミリーの役割を詳細に解析し、骨粗鬆症・OA の病因の理解を目指すとともに、Src のシグナル経路を標的とした治療への発展につながる基盤を作成する。これまでに我々は欠損変異体や RNAi などの手法を用いてコルタクチン、p130Cas(Cas)、ephrin-B などの新しい機能を見出すことに成功した。これらの機能は骨・軟骨系の分化や機能維持に密接に関係していると考えられ、骨粗鬆症、OA の病因の解明や治療薬の開発に重要な分子であることが示唆された。

A. 研究目的

近年、種々の疾患の原因蛋白質や発症メカニズムが解明され、その新たな治療法の開発に光明を与えている。他の組織と同様に骨や軟骨の維持や修復にも多くの細胞内蛋白質群を介したシグナル伝達系が関与している。骨質における骨新生と骨破壊のバランスが崩れた状態である骨粗鬆症や、関節軟骨の量的・質的異常をその一因とする変形性関節症(OA)は、加齢、外的ストレス、ホルモンバランスなど幾つかの要因で増殖や機能調節の適切なコントロールが崩れた状態であり、他の内臓疾患と全く同様にその増殖や機

能を司る蛋白質群の解析が重要であることは明らかである。

本研究の目的は、このような骨や軟骨を形成する細胞の機能がどのような機構により制御されているかを、細胞内シグナル伝達の解析により明らかにすること、そしてそのメカニズムに基づいて有効な骨粗鬆症・OA の治療モデルを提唱することである。骨・軟骨細胞において、細胞外から働きかける種々の刺激が、実際に細胞膜・細胞質のどのようなシグナル伝達分子を介して、どのように細胞の機能・増殖・生存を制御するのかを明らかにして、骨粗鬆症・OA の病態と、正常な

代謝のバランスを取り戻すためには骨・軟骨細胞にどのようなシグナル分子を標的とした治療を行うと有効であるかを、細胞モデルを用いて解明することを目指している。

骨・軟骨系細胞でのシグナル伝達には多くの分子群の関わりが指摘されているが、本研究でこの3年間、特に焦点を絞って解析してきたのは非受容体型チロシンキナーゼに分類される Src ファミリーのチロシンキナーゼとそれによってチロシンリン酸化を受ける基質蛋白質群を介したシグナル伝達系である。Src ファミリーキナーゼは非常に多彩ないくつもの生理機能を持ち、その多くは骨軟骨組織においても極めて重要である。

まず1つは細胞と細胞外基質と間での接着刺激の情報を受け取るインテグリンシグナルの媒介分子としての役割である。骨粗鬆症の病態に関与する破骨細胞はその骨吸収作用を発揮するために骨基質と接着したり移動したりする事が必要で、そのため細胞表面のインテグリン  $\alpha V \beta 3$  を中心とするインテグリンが接着刺激を受け取る。このような接着能・運動能を維持し、機能を発揮するにはインテグリンシグナルを細胞内に伝える Src キナーゼが必要である。また OA で病的減少が見られる軟骨細胞の増殖には回りのコラーゲンによるインテグリン  $\alpha 1 / \alpha 2 \beta 1$  複合体刺激が必要で、細胞内シグナル伝達はやはり Src キナーゼからその基質であるパキシリン、PYK、コルタクチンなどのリン酸化を介する経路を用いると考えられる。特に破骨細胞においては骨融解の場を作る sealing zone の形成に先立って、podosome という小さな構造体が形成されることが重要とされる。この podosome は約  $1 \mu\text{m}$  の点状の接着構造で、破骨細胞だけでなくマクロファージ 樹状細胞、活性型 Src などで Transform した細胞、などに観察される。培養した破骨細胞においても podosome が集合して環状の構造体を

形成し、更に大きくなってアクチンが濃縮することにより Sealing Zone のような構造を取ることが観察される。この podosome の形成には Src キナーゼの活性化が深くかかわることが知られており、その基質の中でも特にコルタクチンがこの構造に局在することが報告されているが、Src によるコルタクチンのリン酸化はむしろ podosome の形成に抑制的に働くという研究もあり、その作用機序に興味を持たれる。

また同様に細胞-細胞間の接着においても、Src キナーゼはそれを直接感知するカドヘリン分子群や Eph-ephrin 分子群の直下にいて、接着の情報を細胞内に伝える役割を果たしている。骨芽細胞表面に発現する EphB 蛋白質と破骨細胞表面に発現する ephrin-B 蛋白質は、両方の細胞が接触したときに双方向に活性化のシグナルを送り、それぞれの細胞のコントロールを行うことが最近明らかになって注目を集めているが、この破骨細胞における ephrin-B 活性化のプロセスにおいても、Src キナーゼによるリン酸化が重要な役割をしていることがわかっている。

さらには、マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)の分泌もそのメカニズムの詳細は明らかになっていないが Src キナーゼ経路との深い関わりが指摘されている。MMP の分泌は骨粗鬆症における破骨細胞による骨吸収にも深く関わっているが、同時に OA における軟骨組織の破壊においてもその寄与が示唆されているものである。

骨・軟骨の生理学的役割の中で最も大きいのが、体躯に加わった物理的な外力から重要な他の組織を保護し、更にその力を吸収するということである。このようなメカニカルな刺激が実際骨粗鬆症や OA の成因と深く関わることは以前から知られているが、最近の知見としては、幾つかの Src キナーゼの基質分子が細胞に外力が加わった時にチロシンリン酸化