

- 総会（札幌）
2. 三宅泉、上北尚正、堺隆一：神経芽腫における野生型 ShcC の腫瘍抑制効果の解析 (2005.9.14-16) 第 64 回日本癌学会学術総会（札幌）
  3. 上北尚正、堺隆一：がん細胞の足場非依存性増殖における Src 型キナーゼ及び、その基質群を介した新規シグナル伝達機構の解析 (2005.9.14-16) 第 64 回日本癌学会学術総会（札幌）
  4. 田中正光、鎌田礼子、佐々木一樹、堺隆一：ephrin-B1 の shedding による細胞外ドメインの分泌機序の解析 (2005.9.14-16) 第 64 回日本癌学会学術総会（札幌）
  5. 二見仁康、梶村直子、堺隆一：RNA 干渉による活性化 Ret 蛋白の機能解析 (2005.9.14-16) 第 64 回日本癌学会学術総会（札幌）
  6. 堺隆一：シグナルドッキング分子と癌 (2006.2.23) 第 15 回広島大学・広島がんセミナー学術講演会（広島）
  7. 黄錦鴻、堺隆一、古市貞一：小脳顆粒細胞軸索の伸長におけるチロシンリン酸化ドッキング蛋白質 Cas の役割の解析 (2006.7.19-21) 第 29 回日本神経科学大会（京都）
  8. 堺隆一：神経細胞の分化増殖異常と癌 (2006.7.19-21) 第 29 回日本神経科学大会（京都）
  9. 三宅泉、上北尚正、堺隆一：神経芽腫細胞株における ShcC シグナルの分化・増殖に対する影響 (2006.9.28-30) 第 65 回日本癌学会学術総会（横浜）
  10. 上北尚正、堺隆一：がん細胞の足場非依存性増殖における CDCP1 による新規シグナル伝達機構の解析 (2006.9.28-30) 第 65 回日本癌学会学術総会（横浜）
  11. 賈琳、上北尚正、柳原五吉、堺隆一：Cortactin のリン酸化によるがん細胞の運動制御機構の解析 (2006.9.28-30) 第 65 回日本癌学会学術総会（横浜）
  12. 田中正光、堺隆一：Eph-ephrin を介した腫瘍制御機構 (2006.9.28-30) 第 65 回日本癌学会学術総会（横浜）
  13. 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）
  14. 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）
  15. 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）
  16. 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）

厚生科学研究費補助金  
(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（総合）

骨粗鬆症・変形性関節症疾患遺伝子としての  
新しい遺伝子情報制御因子、標的因子の検索と機能解析

分担研究者 津久井 通  
埼玉医科大学ゲノム医学研究センター 実験動物施設講師

【研究要旨】

多因子性疾患である骨粗鬆症・変形性関節症疾患遺伝子について、その疾患因子候補としてのエストロゲン、ビタミン K 関連遺伝子について、遺伝子改変マウスを作製した。これらのトランスジェニックマウスでコンディショナルに骨、軟骨組織、肝臓で過剰発現させる系を確立し、遺伝子情報制御因子の生体での機能解析を行った。エストロゲンと変形性関節症(OA: Osteoarthritis)との関係は、古くから閉経後の女性で OA の有病率が増加することから、エストロゲンと OA との関与の可能性が考えられてきたが、未だ不明な点が多い。エストロゲンシグナルを非リガンド依存的に活性化できるエストロゲンの変異レセプター(caER $\alpha$ および caER $\beta$ )を軟骨組織で過剰発現することにより、エストロゲンシグナルの軟骨組織・膝関節における作用の関与を示唆した。またビタミン K の関連因子として知られるヒト $\gamma$ -グルタミルカルボキシラーゼ(GGCX)およびその標的タンパク質であるオステオカルシン(BGP)を組織特異的に過剰発現させた結果、骨代謝において石灰化制御および骨質に作用する可能性が示唆された。

A. 研究目的

骨粗鬆症の治療薬としてその有効性または可能性が高いことが報告されている物質について、カルシトニン、ビタミンD、ビタミンK、PTH、エストロゲン、ビスフォスフォネートが治療薬として考えられており、また実際に臨床におけるデータよりその有効性が示されているが、その作用機序・骨代謝以外のリスク等については、未だ不明な点が多く生体内での機能解析が必須と考えられる。これらの生体内での作用メカニズムを分子レベルで解明し、骨粗鬆症疾患遺伝子の検索、シグナル伝達、および相互作用に関する研究を行うことで、新規の治療法および創薬の可能性を示すことが、今後の重要な

研究課題と考えられる。

骨粗鬆症疾患とならんで変形性関節症(OA)は、“痛み”を伴う骨疾患で、健康長寿を脅かす大きなリスクファクターと考えられる。関節症疾患のみで考えた場合でも、厚生労働省の2004年の調査によると要介護・要支援となる原因のそれぞれ6.1・17.5%が関節疾患関連である。OAの罹患者数については、一説には数千万人規模と推定されており関節症の研究は高齢者のQOLや将来的な医療費の抑制の観点からも急務に対応すべき研究課題と考えられる。最近の報告では、エストロゲンシグナルとOAの関連についての報告として、その代謝物の血中濃度とOAとの関与が示唆されている。これらの生体

内での作用メカニズムを分子レベルで解明し、OA・骨粗鬆症疾患遺伝子の検索、シグナル伝達、および相互作用に関する研究を行うことで、新規の治療法および創薬の可能性を示すことが、今後の重要な研究課題と考えられる。

本研究課題では、エストロゲンシグナル・ビタミンKシグナル関連遺伝子について、骨・軟骨代謝における生体機能、薬剤の効果・影響についてを、個体丸ごとを活用した系で検討する。この点が遺伝子改変マウスを使用する利点と考えられる。しかしながら、実際に骨・軟骨代謝で重要と考えられる候補因子群について、マウスで遺伝子改変を行った場合、これらの個体においては、種々の理由(例えば、軟骨形成異常、肺呼吸不全、授乳不可能等)から胎生期で致死となる可能性が高く、遺伝子改変マウスをライン化して、再現性および信頼できるデータとして吟味することが困難であった。それら問題点を改善するため、本研究課題では、コンディショナルトランスジェニック(cTg)マウスシステムを開発し、個体での網羅的な解析を行った。

本研究では、候補因子群を同定し、これらの因子群の生体内における骨・軟骨作用を解明し、これらの因子の相互作用やシグナル伝達に関する研究を通して、違う作用点を持つと考えられる新規因子について分子レベルで骨粗鬆症・OAを体系的に解明する。さらに、新しく作製される遺伝子改変モデル動物を利用して、これらの因子の骨・軟骨代謝における生体作用、病態のメカニズム、治療法への応用性を検討し、早期診断マーカーへの応用や治療法への新たなコンセプトの提案および新薬の開発に貢献することを目指した。

## B. 研究方法

分担者の研究分担項目のうち、骨粗鬆症疾患・変形性関節症の関連因子として

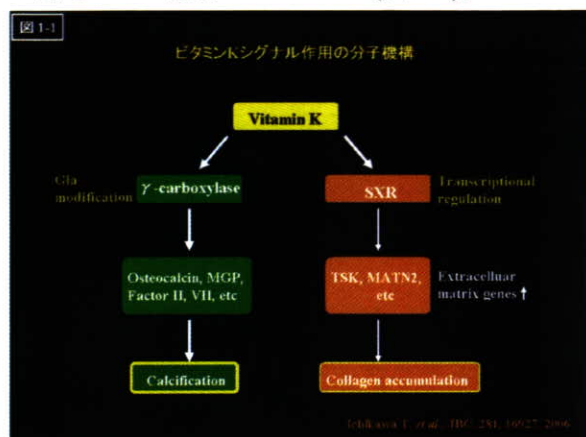
考えられる2つのエストロゲンシグナルおよびビタミンKシグナルを介する骨・軟骨作用に焦点を当て研究を行った。エストロゲン等の遺伝子情報制御因子について遺伝子改変動物を作製し、その動物個体における骨・軟骨作用について解析を行った。一つは、エストロゲンシグナル関連因子としてのエストロゲンレセプター(ER $\alpha$ およびER $\beta$ )を介する生体での軟骨作用について解析を進めた。また、ビタミンK関連因子としての $\gamma$ -グルタミルカルボキシラーゼ(GGCX)、およびGGCXの代表的な標的タンパク質として知られるBGP(Bone Gla Protein: Osteocalcin)の骨作用について検討を行った。新規遺伝子情報制御因子・標的因子候補としてエストロゲンシグナルおよびビタミンK関連因子を網羅的に解明するために、本研究課題での分担項目として以下の4つの段階に分けて研究を遂行した。

1. ビタミンK依存性GGCXおよびそのグラ化標的タンパクとしてのBGPのビタミンK関連遺伝子のTgマウスの作製およびその解析
2. リガンド非依存性な活性型caER $\alpha$ 、およびcaER $\beta$ Tgマウスの作製およびその解析
3. 骨組織または肝臓特異的に遺伝子改変するための組換え酵素Creを発現するマウスの準備および実験系の確立
4. 1、2および3で準備・作製した遺伝子改変マウスを活用して、骨、軟骨、および肝臓組織特異的にそれぞれ生体内でgain of functionする系を確立し、エストロゲンシグナル・ビタミンKシグナルによる生体での骨・軟骨代謝作用について検討する。

## C. 研究結果

1. ビタミンKシグナルと骨代謝作用(BGP、GGCXコンディショナルトランスジェニックマウスの解析)

ビタミンKシグナルの骨代謝作用は、ビタミンK依存性 $\gamma$ -グルタミルカルボキシラーゼ(GGCX)によるGla化修飾を介する作用、およびステロイドX受容体(SXR)等を介するマトリックスなどの転写制御による作用などが報告されている(図1-1)。GGCX

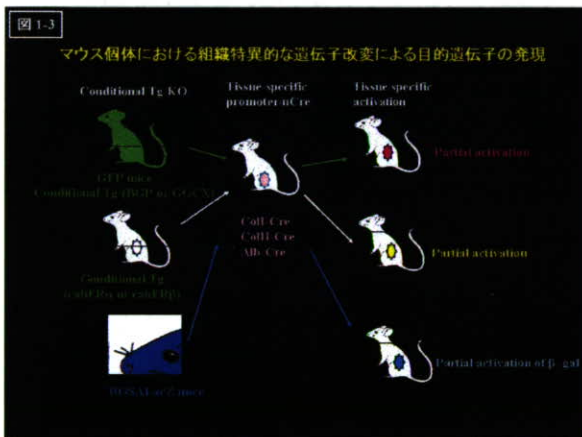
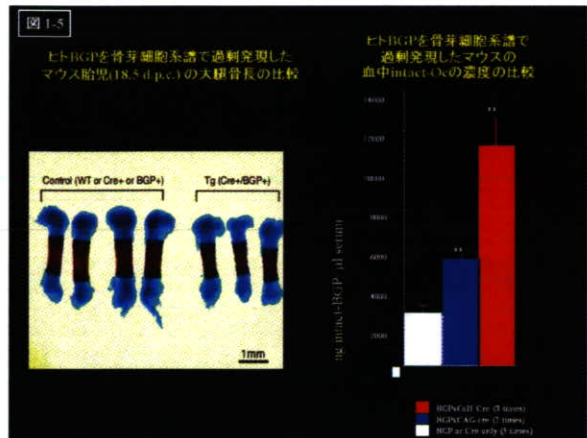
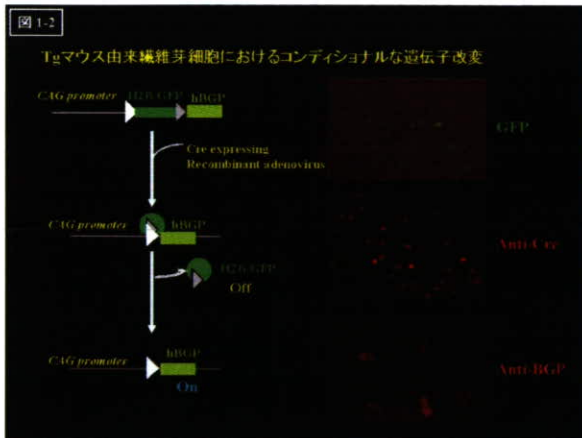


の発現プロファイルを行うと生体では特に肝臓で高い発現を示しており、ビタミンKを補因子としオステオカルシンやMGP等のCa<sup>2+</sup>結合を制御する修飾酵素として知られている。今までの報告ではGGCXのアミノ酸変異を伴う遺伝子変異は、四肢の形成異常、骨密度と相関があることが報告されている。最近の報告では、高齢者においてGGCXの一塩基置換遺伝子多型性(SNP)解析を行った結果、酵素活性と骨代謝との相関があることが示唆され、注目される因子である。本研究では、本来内在性のGGCXの発現が高い肝臓において、アルブミンプロモーター支配下にCre組換え酵素を発現するTgマウスを交配することにより、コンディショナルにヒトGGCXをマウスの肝臓で過剰発現した際の、骨代謝の解析を行った。ヒトGGCXを肝臓で過剰発現したマウスでは、PIXImusにより大腿骨部の骨密度および骨塩含量を検討した結果、対照区と有意な差は得られなかったが、さらに詳細な骨形態計測による解析を行った結果、骨量および骨梁数などの増加が認められた。ヒトGGCX cTgマウスの骨形成のパラメータを検討した結果、骨形成速度およ

び石灰化速度が有意に減少していることがわかり、一方、骨吸収パラメータに関しては骨吸収速度の減少、および骨吸収を盛んに行う多核破骨細胞数の顕著な減少が観察された。本研究により、ヒトGGCXを肝臓で過剰発現したマウスの骨代謝作用を解析した結果、低回転型の骨代謝状態であることが示唆され、骨形成より骨吸収が優位に減少することで未成熟な骨量および骨梁数の増加したことが示唆され、ビタミンKを介する肝臓のGGCXの活性の変化により、骨代謝に作用することが示唆された。

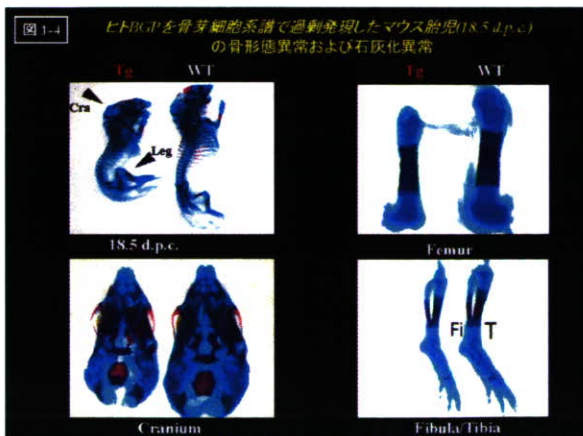
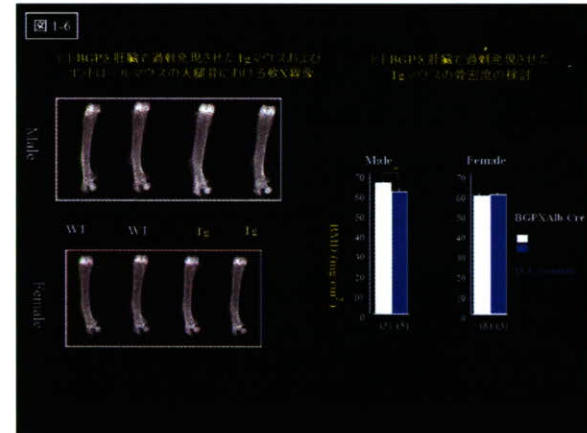
ビタミンKに関連する骨疾患遺伝子の候補として、GGCXのグラ化の標的タンパクであるBGPに関して、cTgマウスの作製を行った結果、数ラインのcTgマウスが得られた。BGP(Bone Gla protein: Osteocalcin)は、血中における代表的な骨代謝マーカーとして知られており、実際に血中の骨形成の指標とされている。BGP遺伝子のKOマウスの表現型では、石灰化異常を伴う顕著な骨量増加が報告されている。最近の3次元の立体構造解析により、骨組織でBGPは、GGCXによりグラ化修飾を受けて、ハイドロキシアパタイトとカルシウムと強固に結合するモデルが報告されている。

BGPの骨代謝における役割を検討するために、ヒトBGP cDNAを単離し、Cre/loxP系を利用して、コンディショナルにgain of functionできる遺伝子改変マウスを作製した。Cre処理前では、GFPをレポーター遺伝子として発現しており、Cre処理後ではGFPが除去されBGPが強制発現される系である(図1-2)。骨芽細胞系譜で発現のあるコラーゲンタイプI プロモーター支配下にCreを発現し、BGPを強制発現する系を活用しこれらの遺伝子改変動物を利用して、生体におけるBGPの骨代謝への作用について解析を行った(図1-3)。BGPを過剰発現した結果、マウス胎生後期から骨組織において石灰化異常が観察された、



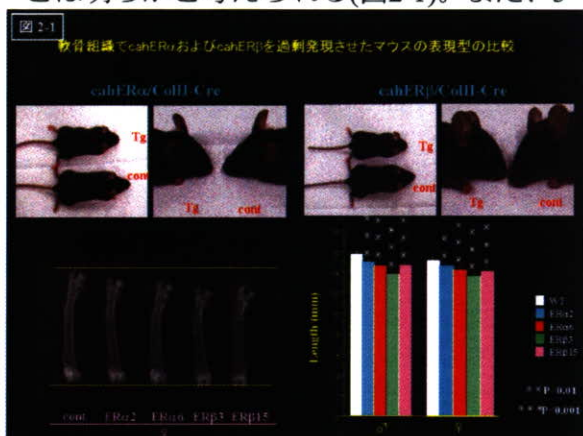
検討することは困難と考えられた。それ故、これらの問題点を改善するために、BGPが血中分泌型タンパクであることに着目し、肝臓特異的に遺伝子を発現可能なアルブミンプロモーター支配下にCreを発現するTgマウスと交配することにより、成熟マウス個体を得ることが可能であった。これらのマウスを利用して、血中ヒトBGP量と骨代謝作用の解析を行った結果、骨密度に有意差が認められた(図1-6)。

特に大腿骨、頸骨、および腓骨の長さが対照区と比較すると短く、さらに頭蓋骨の低形成が見られた(図1-4)。上記交配により得られたBGPを過剰発現するマウスは、ほとんどが出生後1日目-2日目で致死となることを明らかにした。これら出生後1日目-2日目のマウス胎児から血清を集め、血清中のヒトBGP量を測定した結果、これらのマウスで有意に高いintract-BGP値を示した(図1-5)。しかし、生後直後に致死となるため、骨代謝における作用を



2. エストロゲンシグナルと変形性関節症  
エストロゲンシグナルに関する、生体内の骨・軟骨代謝における作用については、選択的にER $\alpha$ またはER $\beta$ シグナルをgain of functionすることが可能な、cTgマウスの作製を行い、軟骨組織でER $\alpha$ またはER $\beta$ を過剰発現可能な系を確立した。多くの変形性関節症を呈するマウスモデルは、II型コラーゲンの遺伝子変異およびタンパク質変性を伴うことが原因で起こることが知られている。第1に、軟骨におけ

るエストロゲンシグナルの作用について検討した。マウスの内在性のER $\alpha$ およびER $\beta$ は、発生初期の肥大軟骨で発現していることを見出した。エストロゲンの作用としては、性成熟期や二次性徴段階の骨の成長や骨端線閉鎖に生理的な作用があると想定される。本研究では、軟骨、特にII型コラーゲンとエストロゲンシグナルの作用について検討するために、II型コラーゲン(CollII)-CreマウスとcTgマウスの交配を行った。ER $\alpha$ およびER $\beta$ シグナルを過剰発現したマウスでは、同様な成長不全を伴う表現型が得られていることより、骨長の制御や骨の成長に作用していることは明らかと考えられる(図2-1)。また、3



週齢幼若マウスにおいて骨組織での表現型の解析を行った結果、頭蓋形成異常、頸椎不全、体長の短縮、骨長への作用の可能性が示唆された(図2-2)。さらに、時



系列的に成熟マウス(15週齢♀)における膝関節領域の解析を行った結果、対照区の膝関節腔域では脂肪層と細胞外マトリ

ックスで満たされた膝関節でのスムーズな歩行運動が可能と考えられるが、ER $\beta$ シグナルを過剰発現したマウスの十字靭帯では、脂肪層の顕著な減少が観察された。ER $\alpha$ シグナルを過剰発現した区では、II型コラーゲンの減少および関節軟骨の脱落を呈した表現型が得られた。ER $\alpha$ およびER $\beta$ それぞれ違う軟骨・膝関節作用を持つ可能性が示唆され、典型的なOA様の表現型を示し、エストロゲンシグナルによる軟骨作用とOAとの関与が示唆された。

#### D. 考察

ビタミン K シグナルと BGP(Bone Gla protein: Osteocalcin)の骨代謝作用は、ビタミン K を介する $\gamma$ -グルタミルカルボキシラーゼ(GGCX)のタンパク質修飾の標的因子と考えられ、骨組織で高発現させた場合、胎生致死となり、BGP 自体が骨基質に作用するばかりでなく、骨組織での石灰化制御因子である可能性も考えられる。最近の報告では、BGP は、ホルモン様に作用して内分泌代謝にも作用することが示唆されており、ビタミン K シグナルによる GGCX の標的因子が、タンパク質修飾の有無により新たな生体作用をもたらすことが考えられ、他の GGCX 標的因子の骨代謝作用の解明および新規標的因子の同定は、今後の研究展開に重要と考えられる。ビタミン K を介する GGCX の肝臓における酵素活性の変化と骨代謝への関与の可能性については、肝臓でヒト GGCX を過剰発現させたマウスでは骨密度・骨塩含量ともに変化しないが、より詳細な骨形態計測解析した結果、低回転型の骨代謝状態であり骨形成より骨吸収が優位に減少することで未成熟な骨量・骨梁数の増加したことが示唆された。つまり肝臓の GGCX 活性の上昇により、標的 Gla 化タンパク質の Glu/Gla の修飾を変化させ、特に骨吸収に強く作用する因子の存在の可能性が示唆された。このこ

とは、血中の分泌タンパク質もしくは肝臓で合成されるタンパク質で Gla 化修飾の制御を受けるタンパク質が存在し、骨吸収作用を抑制する可能性も考えられる。また、肝臓機能と骨代謝がビタミン K シグナルを介してお互いにリンクしている可能性が考えられ、慢性的な肝疾患における骨代謝異常との関係についても興味深い。ビタミン K シグナルを介する作用としては、骨粗鬆症の治療における骨量・骨密度だけでなく、骨質等も併せたパラメータの重要性、骨質を改善させるような新たな創薬ターゲットとしての可能性が考えられる。

エストロゲンシグナルと変形性関節症(OA)との関係については、リガンド非依存性の変異エストロゲンレセプター  $caER\alpha$  および  $caER\beta$  を軟骨組織において過剰発現した場合、胎生期から未成熟期において軟骨の成長や骨長への作用が示唆された。また、成熟期でも15週齢と若い週齢においても、 $ER\alpha$  および  $ER\beta$  シグナルを過剰発現したマウスでは、膝関節において典型的なOA様の表現型を示す個体が得られた。しかし  $ER\alpha$  および  $ER\beta$  シグナルの軟骨作用に違いがあることが観察され、エストロゲンとOA発症の関与については、関節腔や関節軟骨等、 $ER\alpha$  および  $ER\beta$  シグナルそれぞれで別の作用があると考えられ、多段階的に関与することが考えられる。将来的な研究展開としては、エストロゲンシグナルの軟骨作用およびOA発症の分子レベルでの作用メカニズムの解明が重要と考えられる。

#### E. 結論

ビタミンKシグナルの遺伝子情報制御因子としてのBGP cTgマウスにおける骨代謝の解析を行った結果、コラーゲンタイプIプロモーター(ColI)-Creにより骨芽細胞特異的に、コラーゲンタイプIIプロモーター(ColII)-Creにより骨芽細胞特異的にBGPを過剰に発現させた場合、マウス胎

生後期から軟骨組織において石灰化の遅延する傾向が見られ、これらのマウスから得られた仔マウスでは出産後に生存することが困難と示唆された。成熟マウス個体においてBGPを過剰に発現した場合、骨代謝および石灰化に作用する可能性が示唆された。ビタミンK依存性GGCXの肝臓における酵素活性の変化と骨代謝作用に関しては、マウス肝臓でヒトGGCXを過剰発現することで、骨代謝は低回転型を示し骨形成より骨吸収が優位な状態となり、未成熟な骨量の増加が表現型として観察され、また肝臓機能を介して骨吸収を抑制する作用をもつGla化標的タンパク質が存在する可能性が示唆された。

エストロゲンシグナルとOAとの関与については、軟骨組織でエストロゲンシグナルを過剰発現した場合、マウス個体においてOA様の表現型を示すことが観察され、軟骨組織におけるエストロゲンシグナルの破綻が細胞の分化・増殖、もしくはコラーゲン、細胞外マトリックス、および脂肪等の分解・合成関連因子と作用する可能性が示唆され、エストロゲンシグナルがOAの発症に関与することが示唆された。

#### F. 発表

##### 1. 論文発表

1. Suzuki, T., Urano, T., Tsukui, T., Horie-Inoue, K., Moriya, T., Ishida, T., Muramatsu, M., Ouchi, Y., Sasano, H., Inoue, S.: Estrogen-responsive finger protein as a new potential biomarker for breast cancer. *Clin Cancer Res* 11, 6148-6154, 2005.
2. Imazawa, Y., Hisatake, K., Mitsuzawa, H., Matsumoto, M., Tsukui, T., Nakagawa, K., Nakadai, T., Shimada, M., Ishihama, A., Nogi, Y.: The fission yeast protein Ker1p is an ortholog of RNA polymerase I subunit A14 in *Saccharomyces cerevisiae* and is required

- for stable association of Rrn3p and RPA21 in RNA polymerase I. *J Biol Chem* 280, 11467-11474, 2005.
3. Tsukui, T., Imazawa, Y., Inoue, S.: Role of estrogen signaling in male bone. *Clin Calcium* 3, 468-472, 2006.
  4. Tsukui, T., Imazawa, Y., Inoue, S.: Molecular mechanism of vitamin K and its regulators in bone metabolism. *Clin Calcium* 17, 1685-1691, 2007.
  5. 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
1. 今澤由紀子、津久井通、井上聡：選択的エストロゲンシグナルの骨代謝における作用：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(2005.7.21-23) 第23回日本骨代謝学会学術集会 (大阪)
  2. 大羽沙弥佳、津久井通、今澤由紀子、栗原真紀、堀江公仁子、久武幸司、禾泰寿、村松正實、井上聡：トランスジェニックマウスを用いた卵巣における ER alpha・ER beta の解析 (2005.12.6-8) 第28回日本分子生物学会年会 (福岡)
  3. 津久井通、今澤由紀子、大羽沙弥佳、井上聡：オステオカルシンを異所性に発現させたコンディショナルトランスジェニックマウスにおける骨代謝および石灰化作用の解析(2006) 第9回ビタミンK & Aging研究会 (東京)
  4. 津久井通、今澤由紀子、井上聡：ビタミンK依存性γ-カルボキシラーゼトランスジェニックマウスにおける骨作用の解析 (2006.10.1) 第2回Bone form in Hanno (埼玉)
  5. 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)
  6. 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 form in Hanno (埼玉)



研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

IV-	発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
1	Urano T, Shiraki M, Fujita M, Hosoi T, Orimo H, Ouchi Y, <u>Inoue S</u>	Association of a single nucleotide polymorphism in the lipoxxygenase ALOX15 5'-flanking region (-5229G/A) with bone mineral density.	<i>J Bone Miner Metab</i>	23	226-230	2005
6	Ogushi T, Takahashi S, Takeuchi T, Urano T, Horie-Inoue K, Kumagai J, Kitamura T, Ouchi Y, Muramatsu M, <u>Inoue S</u>	Estrogen receptor-binding fragment-associated antigen 9 is a tumor-promoting and prognostic factor for renal cell carcinoma.	<i>Cancer Res</i>	65	3700-3706	2005
13	Suzuki T, Urano T, Tsukui T, Horie-Inoue K, Moriya T, Ishida T, Muramatsu M, Ouchi Y, Sasano H, <u>Inoue S</u>	Estrogen-responsive finger protein as a new potential biomarker for breast cancer.	<i>Clin Cancer Res</i>	11	6148-6154	2005
20	Sudo Y, Ezura Y, Kajita M, Yoshida H, Suzuki T, Hosoi T, <u>Inoue S</u> , Shiraki M, Ito H, Emi M	Association of single nucleotide polymorphisms in the promoter region of the pro-opiomelanocortin gene (POMC) with low bone mineral density in adult women.	<i>J Hum Genet</i>	50	235-240	2005
26	Sakuma M, Akahira JI, Suzuki T, <u>Inoue S</u> , Ito K, Moriya T, Sasano H, Okamura K, Yaegashi N	Expression of estrogen-responsive finger protein (Efp) is associated with advanced disease in human epithelial ovarian cancer.	<i>Gynecol Oncol</i>	99	664-670	2005
33	Acconcia F, Totta P, Ogawa S, Cardillo I, <u>Inoue S</u> , Leone S, Trentalance A, Muramatsu M, Mario M	Survival versus apoptotic 17beta-estradiol effect: Role of ER alpha and ER beta activated non-genomic signaling.	<i>J Cell Physiol</i>	203	193-201	2005
42	Asaoka K, Ikeda K, Hishinuma T, Horie-Inoue K, Takeda S, <u>Inoue S</u>	A retrovirus restriction factor TRIM5alpha is transcriptionally regulated by interferons.	<i>Biochem Biophys Res Commun</i>	338	1950-1956	2005
49	Ito K, Suzuki T, Akahira J, Sakuma M, Saitou S, Okamoto S, Niikura H, Okamura K, Yaegashi N, Sasano H, <u>Inoue S</u>	14-3-3 sigma in endometrial cancer - A possible prognostic marker in early stage cancer -.	<i>Clin Cancer Res</i>	11	7384-7391	2005
57	Ikeda K, <u>Inoue S</u> , Muramatsu M	RING finger-B box-coiled coil (RBCC) proteins as ubiquitin ligase in the control of protein degradation and gene regulation.	<i>Zinc finger proteins: from atomic contact to cellular function.</i>		106-113	2005

65	Aoki T, Imamura H, Makuuchi M, <u>Inoue S</u>	Immunohistochemical detection of EBAG9/RCAS1 expression in hepatocellular carcinoma.	<i>Handbook of Immunohistochemistry and in situ hybridization of human carcinomas. Molecular genetics, liver carcinoma, and pancreatic carcinoma</i>	3	261-268	2005
73	Azuma K, Tanaka M, Uekita T, <u>Inoue S</u> , Yokota J, Ouchi Y, <u>Sakai R</u>	Tyrosine phosphorylation of paxillin affects the metastatic potential of human osteosarcoma.	<i>Oncogene</i>	24	4754-4764	2005
84	Horie-Inoue K, Takayama K, Bono H, Ouchi Y, Okazaki Y, <u>Inoue S</u>	Identification of novel steroid target genes through the combination of bioinformatics and functional analysis of hormone response elements.	<i>Biochem Biophys Res Commun</i>	339	99-106	2006
92	Horie-Inoue K, <u>Inoue S</u>	Epigenetic and proteolytic inactivation of 14-3-3sigma in breast and prostate cancer.	<i>Semin in Cancer Biol</i>	16	235-239	2006
97	Urata Y, Ihara Y, Murata H, Goto S, Koji T, Yodoi J, <u>Inoue S</u> , Kondo T	17-beta-Estradiol protects against oxidative stress-induced cell death through the glutathione/glutaredoxin-dependent redox regulation of Akt in myocardial H9c2 cell.	<i>J Biol Chem</i>	281	13092-13102	2006
108	Shukuwa K, Izumi SI, Hishikawa Y, Ejima K, <u>Inoue S</u> , Muramatsu M, Ouchi Y, Kitaoka T, Koji T	Diethylstilbestrol increases the density of prolactin cells in male mouse pituitary by inducing proliferation of prolactin cells and transdifferentiation of gonadotropic cells.	<i>Histochem Cell Biol</i>	126	111-123	2006
121	Nakasato N, Ikeda K, Urano T, Horie-Inoue K, Takeda S, <u>Inoue S</u>	A ubiquitin E3 ligase Efp is up-regulated by interferons and conjugated with ISG15.	<i>Biochem Biophys Res Commun</i>	351	540-546	2006
128	Takeuchi T, <u>Inoue S</u> , Yokosawa H	Identification and Herc5-mediated ISGylation of novel target proteins.	<i>Biochem Biophys Res Commun</i>	348	473-477	2006

133	Ichikawa T, Horie-Inoue K, Ikeda K, Blumberg B, <u>Inoue S</u>	Steroid and xenobiotic receptor SXR mediates vitamin K2-activated transcription of extracellular matrix-related genes and collagen accumulation in osteoblastic cells.	<i>J Biol Chem</i>	281	Cover and 16927-16934	2006
142	Gack MU, Shin YC, Joo CH, Urano T, Liang C, Sun L, Takeuchi O, Akira S, Chen Z, <u>Inoue S</u> , Jung JU	TRIM25 RING-finger E3 ubiquitin ligase is essential for RIG-I-mediated antiviral activity.	<i>Nature</i>	446	916-921	2007
148	Ichikawa T, Horie-Inoue K, Ikeda K, Blumberg B, <u>Inoue S</u>	Vitamin K2 induces phosphorylation of protein kinase A and expression of novel target genes in osteoblastic cells.	<i>J Mol Endocrinol</i>	39	239-247	2007
157	Urano T, Shiraki M, Narusawa K, Usui T, Sasaki N, Hosoi T, Ouchi Y, Nakamura T, <u>Inoue S</u>	Q89R polymorphism in the LDL receptor-related protein 5 gene is associated with spinal osteoarthritis in postmenopausal Japanese women.	<i>Spine</i>	32	25-29	2007
162	Urano T, Narusawa K, Shiraki M, Usui T, Sasaki N, Hosoi T, Ouchi Y, Nakamura T, <u>Inoue S</u>	Association of a single nucleotide polymorphism in the WISP1 gene with spinal osteoarthritis in postmenopausal Japanese women.	<i>J Bone Miner Metab</i>	25	253-258	2007
168	Fujita M, Sugama S, Nakai M, Takenouchi T, Wei J, Urano T, <u>Inoue S</u> , Hashimoto M	Alpha -synuclein stimulates differentiation of osteosarcoma cells: Relevance to downregulation of proteasome activity.	<i>J Biol Chem</i>	282	5736-5748	2007
181	Ezura Y, Nakajima T, Urano T, Sudo Y, Kajita M, Yoshida H, Suzuki T, Hosoi T, <u>Inoue S</u> , Shiraki M, Emi M	Association of a single-nucleotide variation (A1330V) in the low-density lipoprotein receptor-related protein 5 gene (LRP5) with bone mineral density in adult Japanese women.	<i>Bone</i>	40	997-1005	2007
190	Usui T, Urano T, Shiraki M, Ouchi Y, <u>Inoue S</u>	Association of a single nucleotide polymorphism in Wnt10b gene with bone mineral density.	<i>Geriatric Gerontol Int</i>	7	48-53	2007
196	Fujimura T, Takahashi S, Urano T, Kumagai J, Ogushi T, Horie-Inoue K, Ouchi Y, Kitamura T, Muramatsu M, <u>Inoue S</u>	Increased expression of Estrogen-Related Receptor alpha (ERRalpha) is a negative prognostic predictor in human prostate cancer.	<i>Int J Cancer</i>	120	2325-2330	2007

202	Takayama K, Kaneshiro K, Tsutsumi S, Horie-Inoue K, Ikeda K, Urano T, Ijichi N, Ouchi Y, Shirahige K, Aburatani H, <u>Inoue S</u>	Identification of novel androgen response genes in prostate cancer cells by coupling chromatin immunoprecipitation and genomic microarray analysis.	<i>Oncogene</i>	26	4453-4463	2007
213	Ikeda M, <u>Inoue S</u> , Muramatsu M, Minatogawa Y	Characterization and identification of a steroid receptor-binding protein, SRB-RGS.	<i>Biol Pharm Bull</i>	30	1056-1064	2007
222	Kinoshita H, Nakagawa K, Narusawa K, Goseki-Sone M, Fukushima Irie M, Mizoi L, Yoshida H, Okano T, Nakamura T, Suzuki T, <u>Inoue S</u> , Orimo H, Ouchi Y, Hosoi T	A functional single nucleotide polymorphism in the vitamin K-dependent gamma-glutamyl carboxylase gene (Arg325Glu) is associated with bone mineral density in elderly Japanese women.	<i>Bone</i>	40	451-456	2007
228	Ijichi N, Ikeda K, Horie-Inoue K, Yagi K, Okazaki Y, <u>Inoue S</u>	Estrogen-related receptor alpha modulates the expression of adipogenesis-related genes during adipocyte differentiation.	<i>Biochem Biophys Res Commun</i>	358	813-818	2007
234	Kumagai J, Fujimura T, Takahashi S, Urano T, Ogushi T, Horie-Inoue K, Ouchi Y, Kitamura T, Muramatsu M, Blumberg B, <u>Inoue S</u>	Cytochrome P450 2B6 is a growth-inhibitory and prognostic factor for prostate cancer.	<i>Prostate</i>	67	1029-1037	2007
243	Suzuki T, Urano T, Miki Y, Moriya T, Akahira J, Ishida T, Horie K, <u>Inoue S</u> , Sasano H	Nuclear cyclin B1 in human breast carcinoma as a potent prognostic factor.	<i>Cancer Sci</i>	98	644-651	2007
251	Mori K, Horie-Inoue K, Kohda M, Kawasaki I, Gehlbach PL, Awata T, Yoneya S, Okazaki Y, <u>Inoue S</u>	Association of the HTRA1 gene variant with age-related macular degeneration in the Japanese population.	<i>J Hum Genet</i>	52	636-641	2007
257	Urano T, Shiraki M, Ouchi Y, <u>Inoue S</u>	Association of a single nucleotide polymorphism in the steroid and xenobiotic receptor (SXR) gene (IVS1-579A/G) with bone mineral density.	<i>Geriatric Gerontol Int</i>	7	104-109	2007
263	Horie-Inoue K, <u>Inoue S</u>	Steroid and xenobiotic receptor mediates a novel vitamin K2 signaling pathway in osteoblastic cells.	<i>J Bone Miner Metab</i>	26	9-12	2008

267	Urano T, Narusawa K, Shiraki M, Usui T, Sasaki N, Hosoi T, Ouchi Y, Nakamura T, <u>Inoue S</u>	Association of a single nucleotide polymorphism in the insulin-like growth factor-1 receptor gene with spinal osteoarthritis in postmenopausal Japanese women.	<i>Spine</i>	in press		
279	Masuihiro Y, Mezaki Y, Sakari M, Takeyama K, Yoshida T, Inoue K, Yanagisawa J, Hanazawa S, O'Malley BW, <u>Kato S</u>	Splicing potentiation by growth factor signals via estrogen receptor phosphorylation.	<i>Proc Natl Acad Sci USA</i>	102	8126-8131	2005
285	Fujiki R, Kim M, Sasaki Y, Yoshimura K, Kitagawa H, <u>Kato S</u>	Ligand-induced transrepression by VDR through association of WSTF with acetylated histones.	<i>EMBO J</i>	24	3881-3894	2005
299	Saito H, Maeda A, Ohtomo S, Hirata M, Kusano K, <u>Kato S</u> , Ogata E, Segawa H, Miyamoto K, Fukushima N	Circulating FGF-23 is regulated by 1 $\alpha$ ,25-Dihydroxyvitamin D3 and phosphorus <i>in vivo</i> .	<i>J Biol Chem</i>	280	2543-2549	2005
306	Yamamoto K, Uchida E, Urushino N, Sakaki T, Kagawa N, Sawada N, Kamakura M, <u>Kato S</u> , Inouye K, Yamada S	Identification of amino acid residue of CYP27B1 responsible for binding of 25-hydroxyvitamin D3 whose mutation causes vitamin D-dependent rickets type I.	<i>J Biol Chem</i>	280	30511-30516	2005
312	Inoue Y, Segawa H, Kaneko I, Yamanaka S, Kusano K, Kawakami E, Furutani J, Ito M, Kuwahata M, Saito H, Fukushima N, <u>Kato S</u> , Kanayama H, Miiyamoto K	Role of the vitamin D receptor in FGF23 action on phosphate metabolism.	<i>Biochem J</i>	390	325-331	2005
319	Matsumoto T, Takeyama K, Sato T, <u>Kato S</u>	Study of androgen receptor functions by genetic models.	<i>J Biochem</i>	138	105-110	2005
325	Shiina H, Matsumoto T, Sato T, Igarashi K, Miyamoto J, Takemasa S, Sakari M, Takada I, Nakamura T, Metzger D, Chambon P, Kanno J, Yoshikawa H, <u>Kato S</u>	Premature ovarian failure in androgen receptor-deficient mice.	<i>Proc Natl Acad Sci USA</i>	103	224-229	2005

331	Yamamoto K, Sokabe T, Matsumoto T, Yoshimura K, Shibata M, Ohura N, Fukuda T, Sato T, Sekine K, <u>Kato S</u> , Isshiki M, Fujita T, Masuda H, Kobayashi M, Kawamura K, Kamiya A, Ando J	Impaired flow-dependent control of vascular tone and remodeling in P2X4-deficient mice.	<i>Nat Med</i>	12	133-137	2006
336	Yamada T, Kawano H, Koshizuka Y, Fukuda T, Yoshimura K, Kamekura S, Saito T, Ikeda T, Kawasaki Y, Azuma Y, Ikegawa S, Hoshi K, Chung U, Nakamura K, <u>Kato S</u> , Kawaguchi H	Carminerin contributes to chondrocyte calcification during endochondral ossification.	<i>Nat Med</i>	12	665-670	2006
342	Li M, Hener P, Zhang Z, <u>Kato S</u> , Metzger D, Chambon P	Topical vitamin D3 and low-calcemic analogs induce thymic stromal lymphopoietin in mouse keratinocytes and trigger an atopic dermatitis.	<i>Proc Natl Acad Sci USA</i>	103	11736-11741	2006
348	Tateishi Y, Sonoo R, Sekiya Y, Sunahara N, Kawano M, Wayama M, Hirota R, Kawabe Y, Murayama A, <u>Kato S</u> , Kimura K, Yanagisawa J	Turning off estrogen receptor beta-mediated transcription requires estrogen-dependent receptor proteolysis.	<i>Mol Cell Biol</i>	26	7966-7976	2006
359	Ma Y, Khalifa B, Yee YK, Lu J, Memezawa A, Savkur RS, Yamamoto Y, Chintalacheruvu SR, Yamaoka K, Stayrook KR, Bramlett KS, Zeng QQ, Chandrasekhar S, Yu XP, Linebarger JH, Iturria SJ, Burris TP, <u>Kato S</u> , Chin WW, Nagpal S	Identification and characterization of noncalcemic, tissue-selective, nonsecosteroidal vitamin D receptor modulators.	<i>J Clin Invest</i>	116	892-904	2006
372	Ohtake F, Baba A, Takada I, Okada M, Iwasaki K, Miki H, Takahashi S, Kouzmenko A, Nohara K, Chiba T, Fujii-Kuriyama Y, <u>Kato S</u>	Dioxin receptor is a ligand-dependent E3 ubiquitin ligase.	<i>Nature</i>	446	562-566	2007

377	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 TJ, Chambon P, <u>Kato S</u>	Estrogen prevents bone loss via estrogen receptor $\alpha$ and induction of Fas ligand in osteoclasts.	<i>Cell</i>	130	811-823	2007
390	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 BW, <u>Kato S</u>	DEAD-box RNA helicase subunits of the Drosha complex are required for processing of rRNA and a subset of MicroRNAs.	<i>Nat Cell Biol</i>	9	604-611	2007
408	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, <u>Kato S</u>	A histone lysine methyltransferase activated by non-canonical Wnt signaling suppresses PPAR- $\gamma$ transactivation.	<i>Nat Cell Biol</i>	9	1273-1285	2006
429	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, <u>Kato S</u>	A cell cycle-dependent co-repressor for photoreceptor cell-specific nuclear receptor function.	<i>EMBO J</i>	26	764-774	2007
440	Igarashi M, Yogiashi Y, Mihara M, Takada I, Kitagawa H, <u>Kato S</u>	Vitamin K induces osteoblast differentiation through PXR-mediated transcriptional control of the Msx2 gene.	<i>Mol Cell Biol</i>	27	7947-7954	2007
448	Kitagawa H, Ray WJ, Glantschnig H, Nantermet PV, Yu Y, Leu CT, Harada SI, <u>Kato S</u> , Freedman LP	A regulatory circuit mediating convergence between nurr1 transcriptional regulation and Wnt Signaling.	<i>Mol Cell Biol</i>	27	7486-7496	2007



459	Miyamoto J, Matsumoto T, Shiina H, Inoue K, Takada I, Ito S, Itoh J, Minematsu T, Sato T, Yanase T, Nawata H, Osamura RY, <u>Kato S</u>	Pituitary function of androgen receptor constitutes a glucocorticoid production circuit.	<i>Mol Cell Biol</i>	27	4807-4814	2007
467	Kim M-S, Fujiki R, Kitagawa H, <u>Kato S</u>	1 $\alpha$ ,25(OH) $_2$ D $_3$ -induced DNA methylation suppresses the human CYP27B1 gene.	<i>Mol Cell Endocrinol</i>	265-266	168-173	2007
473	Kitagawa H, Yamaoka I, Akimoto C, Kase I, Mezaki Y, Shimizu T, <u>Kato S</u>	A reduction state potentiates the glucocorticoid response through receptor protein stabilization.	<i>Genes Cells</i>	12	1281-1287	2007
480	Yamaoka K, Shindo M, Iwasaki K, Yamaoka I, Yamamoto Y, Kitagawa H, <u>Kato S</u>	Multiple co-activator complexes support ligand-induced transactivation function of VDR.	<i>Arch Biochem Biophys</i>	460	166-171	2007
486	Sato S, Kojima M, Hanada R, Kimura A., Abe T, Matsumoto T, Iwasaki M, Inose H, Ida T, Mieda M, Takeuchi Y, Fukumoto S, Fujita T, <u>Kato S</u> , Kangawa K, Shinomiya K, Takeda S	Central control of bone remodelling by Neuromedin U: a mediator of the leptin-dependent regulation of bone formation.	<i>Nat Med</i>	13	1234-1240	2007
493	<u>Kato S</u> , Fujiki R, Kim M-S, Kitagawa H	Ligand-induced transrepressive function of VDR requires a chromatin remodeling complex, WINAC.	<i>J Steroid Biochem Mol Biol</i>	103	372-380	2007
502	Kittaka A, Saito N, Honzawa S, Takenouchi K, Ishizuka S, Chen TC, Peleg S, <u>Kato S</u> , Arai MA	Creative synthesis of novel vitamin D analogs for health and disease.	<i>J Steroid Biochem Mol Biol</i>	103	269-276	2007
510	Asagiri M, Hirai T, Kunigami T, Kamano S, Gober HJ, Okamoto K, Nishizawa K, Latz E, Golenbock DT, Aoki K, Ohya K, Imai Y, Morishita Y, Miyazono K, <u>Kato S</u> , Saftig P, Takayanagi H	Cathepsin K-dependent toll-like receptor 9 signaling revealed in experimental arthritis.	<i>Science</i>	319	624-627	2008
514	Miyake I, Hakomori Y, Mitsu Y, Nakadate H, Matsuura N, Sakamoto M, <u>Sakai R</u>	Domain-specific function of ShcC docking protein in neuroblastoma cells.	<i>Oncogene</i>	24	3206-3215	2005

524	Osajima-Hakomori Y, Miyake I, Ohira M, Nakagawara A, Nakagawa A, <u>Sakai R</u>	Biological role of anaplastic lymphoma kinase in neuroblastoma.	<i>Am J Pathol</i>	167	213-222	2005
534	Miyamoto Y, Chen L, Sato M, Sokabe M, Nabeshima T, Pawson T, <u>Sakai R</u> , Mori N	Hippocampal synaptic modulation by the phosphotyrosine adapter protein ShcC/N-Shc via interaction with the NMDA receptor.	<i>J Neurosci</i>	25	1826-2835	2005
544	Seo S, Asai T, Saito T, Suzuki T, Morishita Y, Nakamoto T, Ichikawa M, Yamamoto G, Kawazu M, Yamagata T, <u>Sakai R</u> , Mitani K, Ogawa S, Kurokawa M, Chiba S, Hirai H	Crk-associated substrate lymphocyte type is required for lymphocyte trafficking and marginal zone B cell maintenance.	<i>J Immunol</i>	175	3492-3501	2005
554	Tanaka M, Kamata R, <u>Sakai R</u>	Phosphorylation of ephrin-B1 via the interaction with claudin following cell-cell contract formation.	<i>EMBO J</i>	24	3700-3711	2005
566	Tanaka M, Kamata R, <u>Sakai R</u>	EphA2 phosphorylates the cytoplasmic tail of claudin-4 and mediates paracellular permeability.	<i>J Biol Chem</i>	280	42375-42382	2005
574	Huang J, <u>Sakai R</u> , Furuichi T	The docking protein Cas links tyrosine phosphorylation signaling to elongation of cerebellar granule cell axons.	<i>Mol Biol Cell</i>	17	3187-3196	2006
584	Sawada Y, Tamada M, Dubrin-Thaler B, Cherniavskaya O, <u>Sakai R</u> , Tanaka S, Sheetz MP	Force sensing by mechanical extension of the Src family kinase substrate p130Cas.	<i>Cell</i>	127	1015-1026	2006
596	Tanaka M, Sasaki K, Kamata R, <u>Sakai R</u>	Carboxyl terminus of ephrin-B1 regulates metalloproteinase secretion and invasion of cancer cells.	<i>J Cell Sci</i>	120	2179-2189	2007
607	Tanaka M, Kamata R, Takigahira M, Yanagihara K, <u>Sakai R</u>	Phosphorylation of ephrin-B1 regulates dissemination of gastric scirrhous carcinoma.	<i>Am J Pathol</i>	171	68-78	2007
618	Uekita T, Jia L, Narisawa-Saito M, Yokota J, Kiyono T, <u>Sakai R</u>	CUB domain-containing protein 1 is a novel regulator of anoikis resistance in lung adenocarcinoma.	<i>Mol Cel Biol</i>	27	7649-7660	2007

630	Tazaki T, Miyazaki K, Hiyama E, Nakamoto T, <u>Sakai R</u> , 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.	<i>Genes Cells</i>	13	145-157	2008
643	Jia L, Uekita T, <u>Sakai R</u>	Hyperphosphorylated cortactin in cancer cells plays an inhibitory role in cell motility by regulating tyrosine phosphorylation of Cas.	<i>Mol Cancer Res</i>	in press		
660	Imazawa Y, Hisatake K, Mitsuzawa H, Matsumoto M, <u>Tsukui T</u> , Nakagawa K, Nakadai T, Shimada M, Ishihama A, Nogi Y	The fission yeast protein Ker1p is an ortholog of RNA polymerase I subunit A14 in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> and is required for stable association of Rrn3p and RPA21 in RNA polymerase I.	<i>J Biol Chem</i>	280	11467-11474	2005
668	Ito M, Muraki M, Takahashi Y, Imai M, <u>Tsukui T</u> , 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.	<i>Fertil Steril</i>	in press		

刊 行 物 の 別 刷