

- Kitagawa, H., Kato, S.: GlcNAcylation of a histone methyltransferase in retinoic-acid-induced granulopoiesis. 21st IUBMB and 12th FAOBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, Shanghai, China (2009.8.2-7)
9. Kato, S.: Regulated histone methyltransferase / Demethyltransferase supporting nuclear receptor function. Spetses Summer school in Athens, Athens, Greece (2009.8.23-28)
 10. Kato, S.: Regulated histone methyltransferases supporting nuclear. Dana-Farber Cancer Institute (Affiliated to Harvard Medical School) Seminar, Boston, USA (2009.9.8)
 11. Kato, S.: Biology and physiology of steroid hormone receptor. Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society (LWPES) / European Society for Pediatric Endocrinology (ESPE) 8th Joint Meeting Global Care in Pediatric Endocrinology, New York, USA (2009.9.9-11)
 12. Youn, M.-Y., Takada, I., Imai, Y., Kato, S.: A histone demethylase, Jmjd5, is an osteoclastogenic regulator. American Society of Bone and Mineral Research, 31st Annual Meeting, Denver, USA (2009.9.11-15)
 13. Kato, S.: Regulated histone methyltransferase / demethylase supporting nuclear receptor function. EMBO Conference, Nuclear Receptor: from molecular mechanisms to molecular medicine, Dubrovnik, Croatia (2009.9.25-29)
 14. Kato, S.: Epigenetic modifications supporting VDR-mediated gene regulations. 14th Workshop on Vitamin D, Brugge, Belgium (2009.10.4-8)
 15. Oya, H., Takeyama, K., Yokoyama, A., Fujiki, R., Youn, M.-Y., Takada, I., Kato, S., Kitagawa, H.: Phosphorylation of WSTF by MAPK induces a switching between two distinct chromatin remodeling complexes. 14th Workshop on Vitamin D, Brugge, Belgium (2009.10.4-8)
 16. Yamamoto, Y., Memezawa, A., Takagi, K., Ochiai, E., Shindo M., Kato, S.: A tissue-specific function by unliganded VDR. 14th Workshop on Vitamin D, Brugge, Belgium (2009.10.4-8)
 17. Kondo, T., Kim, M.-S., Matsumoto, T., Yamamoto, Y., Takeyama, K., Kato, S.: DNA Demethylation factor, MBD4 is a key molecule in the vitamin D metabolism. 14th Workshop on Vitamin D, Brugge, Belgium (2009.10.4-8)
 18. Kato, S.: Transcriptional regulation of steroid action. 2nd World Conference, Hormonal and Genetic Basis of Sexual Differentiation Disorders and Hot Topics in Endocrinology, Miami, USA (2010.1.15-17)
 19. Kato, S.: Epigenetic regulators supporting nuclear receptor function. Korea-Japan Chromatin & Epigenetics Joint Symposium 2010, Gangwon-do, Korea (2010.1.21-22)
- 【国内発表】
1. 北川浩史、大矢博之、山岡育子、藤木亮次、吉村公宏、横山敦、神津円、高田伊知郎、加藤茂明：核内受容体転写修飾因子として機能するクロマチン構造変換複合体の新規細胞内シグナル依存性機能制御メカニズムの解明 (2009.4.23-25) 第82回日本内分泌学会学術総会 (前橋)
 2. 大竹史明、藤井義明、加藤茂明：ダイオキシン受容体はリガンド依存性ユビキチンリガーゼである (2009.4.23-25) 第82回日本内分泌学会学術総会 (前橋)
 3. 上田崇、伊藤紗弥、沢津橋俊、鈴木絵里子、山形薫、藤山沙理、田辺真彦、

- 木村周平、林珍仙、村田拓哉、松川紘之、武山健一、加藤茂明：アンドロゲン受容体新規転写共役抑制因子を介したアンドロゲン依存性癌の分子機構の解析 (2009.4.23-25) 第 82 回日本内分泌学会学術総会 (前橋)
4. 近藤剛史、金美善、高田伊知郎、松本高広、武山健一、加藤茂明：ビタミン D3 1 α 水酸化酵素遺伝子上で、活性型ビタミン D 依存的な転写抑制解除に関与する脱メチル化酵素 MBD4 欠損マウスは、ビタミン D 代謝機構の破綻を呈する (2009.4.23-25) 第 82 回日本内分泌学会学術総会 (前橋)
 5. 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 α 転写制御機構の解析 (2009.4.23-25) 第 82 回日本内分泌学会学術総会 (前橋)
 6. 横田健一、大竹史明、北川浩史、加藤茂明：ミネラルコルチコイド受容体 (MR) による未知臓器傷害メカニズムの解析 (2009.4.23-25) 第 82 回日本内分泌学会学術総会 (前橋)
 7. 近藤剛史、金美善、高田伊知郎、松本高広、加藤茂明：MBD4 はビタミン D 生合成調節因子である (2009.7.23-25) 第 27 回日本骨代謝学会学術集会 (大阪)
 8. 延珉榮、高田伊知郎、今井祐記、加藤茂明：ヒストンメチル化酵素、Jmjd5 は破骨細胞形成抑制因子である (2009.7.23-25) 第 27 回日本骨代謝学会学術集会 (大阪)
 9. 北川浩史、山岡育子、岡田麻衣子、藤山沙理、加藤茂明：炎症制御に関与するグルココルチコイドレセプター (GR) の分解制御メカニズムの解析 (2009.10.21-24) 第 82 回日本生化学会大会 (神戸)
 10. Fujiki, R., Chikanishi, T., Hashiba W, Roeder, R.G., Kitagawa, H., Kato, S.: Nuclear O-glycosylation of a histone methyltransferase facilitates retinoic-acid-induced differentiation. (2009.10.21-24) 第 82 回日本生化学会大会 (神戸)
 11. 大竹史明、藤井義明、加藤茂明：ダイオキシン受容体はリガンド依存性ユビキチンリガーゼである (2009.10.21-24) 第 82 回日本生化学会大会 (神戸)
 12. 近西俊洋、藤木亮次、橋場和華、加藤茂明：O-結合型 N-アセチルグルコサミン転移酵素 (OGT) の核内新規相互作用因子の探索 (2009.10.21-24) 第 82 回日本生化学会大会 (神戸)
 13. 関根弘樹、三村純正、大島基彦、渡辺要平、五十嵐勝秀、菅野純、生田統悟、川尻要、加藤茂明、藤井義明：AhR の LPS 刺激に対する抗炎症的作用機構の解明 (2009.10.21-24) 第 82 回日本生化学会大会 (神戸)
 14. 横山敦、藤山沙理、北川浩史、加藤茂明：ヒストン脱メチル化酵素 LSD1 による神経分化制御メカニズムの解析 (2009.10.21-24) 第 82 回日本生化学会大会 (神戸)
 15. 北川浩史、加藤茂明：グルココルチコイドレセプター (GR) による炎症制御メカニズムの解析 (2009.11.4) 第 17 回日本ステロイドホルモン学会学術集会 (福岡)
 16. 藤木亮次、北川浩史、加藤茂明：核内糖修飾を介する血球分化促進機構 (2009.11.4) 第 17 回日本ステロイドホルモン学会学術集会 (福岡)
 17. 村田拓哉、伊藤紗弥、沢津橋俊、鈴木絵里子、田辺真彦、藤山沙理、木村周平、上田崇、松川紘之、林珍仙、武山健一、加藤茂明：核輸送制御とクロマチン構造調節の相互作用を担う新規因子の探索 (2009.12.9-12) 第 32 回日本分子生物学会年会 (横浜)
 18. 近藤剛史、金美善、高田伊知郎、松本高広、加藤茂明：MBD4 はビタミン D 生合成調節因子である (2009.12.9-12) 第 32 回日本分子生物学会年会 (横浜)
 19. 井上和樹、松本高広、肥塚真実子、加藤茂明：Y 染色体遺伝子 Uty の性差別

- 成における機能解析 (2009.12.9-12) 第 32 回日本分子生物学会年会 (横浜)
20. 岡田麻衣子、大竹史明、加藤茂明: ER α は M 期特異的に E3 ligase 複合体を形成する (2009.12.9-12) 第 32 回日本分子生物学会年会 (横浜)
21. 朝妻知子、西川亜美、岡田麻衣子、大竹史明、加藤茂明: ビタミン D レセプターのユビキチンリガーゼ活性の生理機能解明 (2009.12.9-12) 第 32 回日本分子生物学会年会 (横浜)
22. 橋山幸世、大竹史明、岡田麻衣子、加藤茂明: AhR のユビキチンリガーゼ活性の細胞周期依存的調節機構の解析 (2009.12.9-12) 第 32 回日本分子生物学会年会 (横浜)
23. Ohtake, F., Baba, A., Okuno, Y., Kato, S.: A signal-dependent histone demethylase complex in regulation of gluconeogenic genes. (2009.12.9-12) 第 32 回日本分子生物学会年会 (横浜)
24. Ito, S., Sawatsubashi, S., Suzuki, E., Tanabe, M., Kimura, S., Ueda, T., Fujiyama, S., Murata, T., Matsukawa, H., Lim, J., Takeyama, K., Kato, S.: BAHD1, a novel chromatin reorganization factor regulates histone gene expression through heterochromatin formation. (2009.12.9-12) 第 32 回日本分子生物学会年会 (横浜)
25. Youn, M.Y., Takada, I., Imai, Y., Kato, S.: A histone demethylase, Jmjd5, is an osteoclastogenic regulator. (2009.12.9-12) 第 32 回日本分子生物学会年会 (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 塚 隆一
国立がんセンター研究所 細胞増殖因子研究部部長

【研究要旨】

細胞内シグナル伝達系は、細胞外からの刺激に応じて細胞の増殖・分化・運動・形態などを制御しているが、そのコントロールに異常が生じると癌をはじめとする種々の疾患につながる。骨粗鬆症もその新たな予防・診断・治療法の開発のためには、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が極めて重要である。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・骨芽細胞においてその分化と機能維持のために必須の機能を持つことがこれまでの解析により示されている。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、骨細胞における Src ファミリーの役割を詳細に解析し、骨粗鬆症の病因の本質的な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。我々は欠損変異体や RNAi などの手法を用いて Src ファミリーキナーゼの基質群である Cas、CDCP1、Ossa などが独自の生物学的機能を持つことをこと明らかにしてきた。これらの機能は骨の分化や機能維持に密接に関係していると考えられ、さらには骨粗鬆症や関連疾患に対する選択的な治療薬開発につながると考えられる。

A. 研究目的

骨代謝において骨新生と骨吸収のバランスは、骨芽細胞系と破骨細胞系の増殖・分化・機能調節によって、通常うまく平衡状態に保たれている。この骨代謝のバランスが崩れ、骨量の病的減少が引き起こされた状態が骨粗鬆症と考えられる。c-Src のノックアウトマウスが破骨細胞機能障害により骨大理石病を呈することが 1991 年の Cell 誌に報告されて以来、Src の活性化と破骨細胞の機能が密接に関係しているものと予測されて多くの研究が進められてきたが、数々の状況証拠や関連分子の発見にもかかわらずその分

子メカニズムについては現在に至るまで完全に解明されてはいない。本研究では破骨細胞の機能制御に最も深く関わると考えられる分子群の一つである Src ファミリーキナーゼとその基質群の機能解析について重点的に行う。そもそも Src およびその基質の伝えるシグナル作用機序についてさらに詳細な解析を行うことにより、Src キナーゼの活性またはシグナルの調節による破骨細胞機能の抑制が骨粗鬆症の標的治療として有効であることを示し、そのような Src の特異的ブロックのモデルを樹立することを主たる目標とする。Src ファミリーの各組織における活性

を正確に理解するには、その場でリン酸化を受けて Src と結合する基質の同定と、基質が下流に伝えるシグナルを明らかにすることが極めて重要である。しかるに基質からのアプローチが遅れている背景には、このような基質蛋白質の機能解析に現在主流となった DNA チップのような発現量解析では得るのが難しい幾つかの情報、すなわち 1) 蛋白質のチロシンリン酸化の状態、2) 蛋白質の複合体形成とその結合相手、3) 蛋白質の細胞内局在、などの情報が必要不可欠である事がある。我々はこの目的の遂行のために効率的にチロシンリン酸化を含む蛋白質群を精製し、質量分析に持ち込むため新しい技術の開発を行ってきた。この手法と、プロテオーム解析や古典的な細胞生物学的解析をうまく組み合わせることで研究を押し進めることにより、各種刺激により骨細胞に起こる細胞内変化に蛋白質発現-蛋白質修飾-複合体形成-細胞内局在の4つの側面からアプローチし、その結果を総合的に評価して実際に起きている現象を理解することを試みる。

図1にこれまで当研究室及び他の研究室で同定された主要な Src の基質蛋白質群を示す。このような蛋白質群は骨細胞系においても発現しており、チロシンリン酸化部位以外はそれぞれまったく異なる構造を持ち、独自の生物学的機能を発揮することによって Src の活性化シグナ

ルを伝えているものと考えられる。

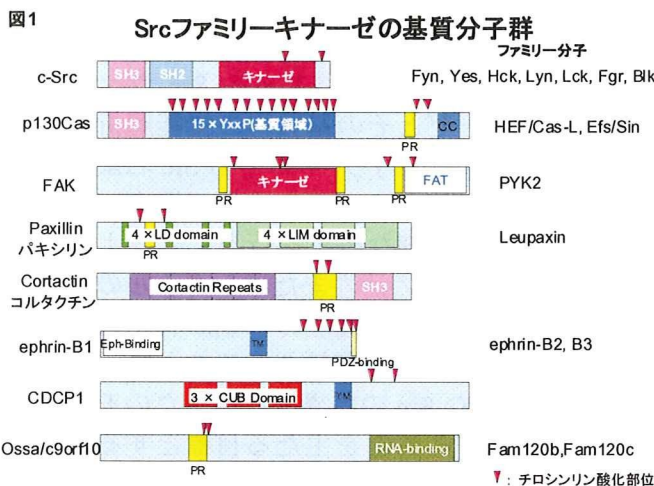
本研究は以上のような手法を用いて Src ファミリー及びその基質群のシグナルという視点で骨粗鬆症の病態をできる限り正確に把握し、骨粗鬆症の診断や、分子レベルでの治療法の開発に結びつけることをめざすものである。

B. 研究方法

これまで何年間も続けてきたリン酸化蛋白質の総合的解析の過程で、疾患に関わる数多くの Src キナーゼの基質分子の発現変化やチロシンリン酸化の変化を見だし、その機能解析を行ってきたが、疾患治療のための分子標的を見つけるという最終的な目的に沿って、その中から骨軟骨系において極めて重要な役割を果たす可能性のある幾つかの蛋白質とその機能に焦点を絞るような形で最近の研究を進めてきている。

(1) Src の基質蛋白質群の機能解析

我々は近年、腫瘍の転移・浸潤に関わる腫瘍特性である足場非依存性を制御するチロシンリン酸化蛋白質 CDCP1 を肺癌細胞株から精製により同定した。CDCP1 は Src ファミリーキナーゼの基質分子である機能不詳の膜蛋白質であり足場非依存性の強い肺癌で発現とチロシンリン酸化レベルが高い。RNAi および変異体を用いた実験で、CDCP1 がチロシンリン酸化した状態でアポトーシス関連分子 PKCδ を介して肺癌細胞の足場喪失時のアポトーシスを抑制していることが明らかになった。更に CDCP1 の発現抑制が幾つかの系で腫瘍の遠隔転移を抑えることを示した。この機能に加え CDCP1 は細胞の運動能を制御し、未知のマトリックスメタロプロテアーゼの活性化を介して細胞の浸潤能と深く関わることがわかりつつある。この機能は Src の破骨細胞における役割を考える上でも重要であると考えられ、さらに解析を進める。



スキルス胃がんの腹膜浸潤部位で強くチロシンリン酸化されている蛋白質として機能不詳の c9orf10 蛋白質を同定した。c9orf10 は酸化ストレスによりチロシンリン酸化を受け Src と PI3 キナーゼの活性化を誘導することで、腫瘍細胞の酸化ストレス抵抗性に関与することが明らかになった。このことから、我々はこの分子に Ossa (Oxidative Stress-associated Src Activator) と名付けた。酸化ストレスに対する細胞の抵抗性は、骨細胞を含む多くの正常細胞系においてもその機能バランスを保つために重要であり、この分子の発現分布、癌以外の種々の疾患の病態とのかかわりを調べるとともに、RNAi や発現ベクターを用いて、機能発揮のメカニズム、そのほかの生理機能の探索など解析を進める。

ephrin-B1 は細胞膜表面に発現するリガンドであり、同じく細胞膜表面に発現する EphB 受容体と細胞間接着によって出会うことでチロシンリン酸化され、接触した細胞同志に双方向性のシグナルを送り repulsion や adhesion などの指令を出すことが知られていた。最近、破骨細胞の細胞膜で発現する ephrin-B と骨芽細胞の表面で発現する EphB が細胞間接着により同時に活性化され、破骨細胞を分化誘導の方向に、骨芽細胞を分化抑制の方向に導くことが示され、骨代謝における EphB と ephrin-B の重要性があらためて浮き彫りになった。我々は Src キナーゼの基質としての ephrin-B1 の機能については以前から幅広く研究を進めてきており、ephrin-B1 が EphB の刺激によって特定のメタロプロテアーゼ分泌を促すことがわかった。今年度はこの ephrin-B1 の作用に必要な C 末側のペプチドの生物学的機能を解析する。

(2) *in vivo* イメージングを用いた骨転移モデルの作成とその解析

骨吸収および骨融解のモデルとして固形腫瘍の骨転移モデルを作成している。具体的な方法として、ルシフェラーゼ遺

伝子を発現させた高転移性の癌細胞株をヌードマウスに注射し、イメージング装置で癌細胞の動態を経時的に観察する。一度全身に回っていた癌細胞が数週間後に骨や脳に転移巣を形成することが確認されているが、骨転移巣より元のヒト癌細胞に由来する細胞をルシフェラーゼの発現を指標にして摘出し、組織培養する。これを再びマウスに注射するという操作を繰り返し行なうことで骨に強く転移する細胞株を樹立する。形成された腫瘍や *in vivo* で継代した培養細胞を生化学的手法や細胞生物学的手法により親株と比較する。このような解析により、骨融解を伴う骨転移にかかわるシグナル伝達分子を明らかにして、さらに骨粗鬆症への関わりについて調べる。

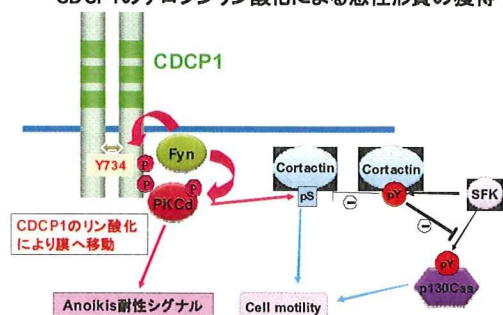
C. 研究結果

(1) Src の新規基質の機能解析

固形腫瘍の足場非依存性増殖に関わる分子として 2007 年に肺がん細胞から同定した CDCP1 は、Src ファミリーによりリン酸化して下流のエフェクター分子 PKC δ を膜にリクルートすることで、固形腫瘍の足場非依存性増殖や運動能・浸潤能を制御することがわかった。ヒトスキルス胃がん 44As3 細胞において CDCP1 を RNAi によって抑制するとマウス腹腔内に注射した際に生ずる腸間膜転移が強く抑制されるが、造腫瘍能などに対する影響は見られない。一方で、他施設との共同研究も併せて肺がん、膵がんなどの系で、CDCP1 高発現群は低発現群と比較して、はっきりと予後が不良であることが統計学的に明らかになりつつある。以上のことから CDCP1 は Src の活性化に応じて足場非依存性を含めた複数の悪性形質を固形腫瘍に付与することにより、腫瘍の転移・浸潤に関わっていることが示された。さらに CDCP1 は膵がんの系では MMP9 を中心としたメタロプロテアーゼ分泌に関わることを示したが、このメタ

ロプロテアーゼ分泌の制御も CDCP1 を介した PKC δ のチロシンリン酸化が重要である。また PKC δ が Src ファミリーの基質で細胞の運動能・浸潤能に密接に関係するコルタクチンと物理的に結合していることが分かり、CDCP1-PKC δ -コルタクチン経路が転移浸潤の制御の中心となるシグナル伝達経路であることが示唆された。PKC δ は Src ファミリーによりチロシンリン酸化されることにより活性化し恒常的に結合しているコルタクチンをセリンでリン酸化することでコルタクチンの機能を活性化すると考えられる。以前我々は胃癌細胞の系でコルタクチンのチロシン残基でのリン酸化が細胞運動能を抑制することを示したが、それと併せてコルタクチンがセリンによるリン酸化とチロシンによるリン酸化で正負の両方向に制御される分子であることが想像され今後解析を進めていく(図2)。

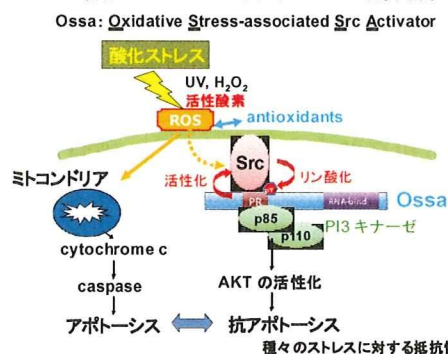
図2 CDCP1のチロシンリン酸化による悪性形質の獲得



スキルス胃がん 44As3 細胞をマウス腹腔内に注射すると腸管膜転移を起こすが、この腸管膜転移部位で通常培養時に比べ強くチロシンリン酸化された蛋白質として新規蛋白質 Ossa が質量分析により同定された。ヒトの組織染色では Ossa は粘膜下に浸潤したスキルス胃がん組織で周囲の正常粘膜に比べ強い発現があることが確認された。Ossa は正常組織でも消化管系を中心に広い発現が認められることから、その生理作用について幅広い解析を行った。解析の結果 Ossa は紫外線や過酸化水素などの酸化ストレス刺激によって

細胞内で Src ファミリーキナーゼによってチロシンリン酸化を受け、リン酸化依存的に PI3 キナーゼと会合し PI3 キナーゼ-AKT シグナルを活性化することが分かった。また Ossa は C 末側に RNA 結合ドメインを持ち、この領域を介して IGF-II などの発現を調節していることが明らかになった。この結果として Ossa を高発現する細胞は酸化ストレスによるアポトーシスに対して抵抗性を獲得していると考えられ、スキルス胃がん細胞の Ossa の発現を RNAi により抑制するとそのマウスモデルでの腸間膜浸潤が抑えられた。Ossa による酸化ストレスに対する抵抗性は骨細胞を含めた多くの細胞が、in vivo での働きに関与すると考えられさらにノックアウトマウスを含めた機能解析に進めていく予定である。酸化ストレス刺激における Ossa の役割を図3にまとめる。

図3 Ossaは酸化ストレスによるアポトーシスを抑制する

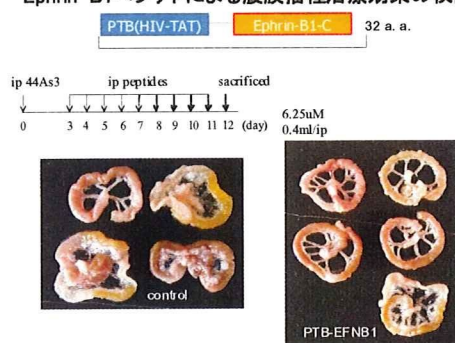


以上のように腫瘍が酸化ストレスによるアポトーシスに対して抵抗性を獲得する際に重要な分子であることが示された。Ossa は酸化ストレスに伴う Src の恒常的活性化にも深くかかわっていることが示され、Src-Ossa 間のシグナルをブロックすることにより、腫瘍特異的に Src ファミリーの恒常的活性化を抑えることができる可能性もある。腫瘍は酸化ストレスを含め飢餓・低酸素など各種ストレスに抵抗性を有することが、その異常増殖・転移・浸潤をもたらす大きな要因であり、場合によっては治療抵抗性にも関わる。Ossa を軸にしてこのストレス抵抗性を解

除する薬剤がデザインできれば、腫瘍細胞の正常化という方向性を持つ全く新しい薬剤の開発につながる可能性がある。

膜型のリガンドである ephrin-B1 がスキルス胃がんや膵癌などの腫瘍において、その C 末領域を介するシグナル伝達によってメタロプロテアーゼ分泌誘導などの機序で腫瘍の浸潤を抑えることを示してきた。これまでに、C 末を欠損する変異体の過剰発現で ephrin-B1 を介したシグナルを抑えると、マウスモデルにおける腫瘍の浸潤能を著明に抑制することを見いだした。ephrin-B1 も CDCP1 同様に細胞膜外の結合による多量体化が活性化に関わることが分かっている。そこで臨床における実用化を睨んで、HIV の TAT 由来の細胞膜透過にかかわる PTD(protein transduction domain) のペプチドと ephrin-B1 の C 末のペプチドの融合ペプチドを合成してその生理活性を解析中である。スキルス胃がん細胞を腹腔内に注射したのち、この融合ペプチドの反復投与を行うと腹膜播種が著明に抑制されることが示された (図 4)。

図 4 Ephrin-B1 ペプチドによる腹膜播種治療効果の検討

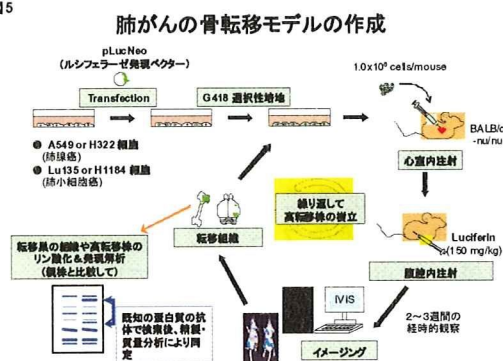


(2) *in vivo* イメージングを用いた骨転移モデルの作成とその解析

A549 を始めとする数種類の肺癌細胞株に Luciferase 遺伝子を発現させた細胞株をマウス左心室に投与した後、基質となる Luciferin を腹腔内に投与、10 分後にイメージング装置で Luciferase 反応を検出し、細胞が全身に回っていることを確認した。1 週間後までには頸、脚、腰の骨

などに転移していることが視覚的に確認できた骨などへの転移は経過的に拡大、進展したが、脳転移については 2 週間以降に観察されることが多かった。数週間後に再び観察を行い、転移巣の形成をモニターし、そのうちの骨/脳に転移した腫瘍を培養し、再びマウスに投与する操作を繰り返し行うことで骨に強く転移する細胞株の樹立を目指した。インジェクション-骨転移-培養のサイクルを 3~6 サイクル繰り返したところ、親株と比較して骨に転移指向性を持つ細胞株を数株樹立することができた (図 5)。現在までの

図 5



解析では、このような骨指向性の細胞では *in vivo* で多臓器転移の減少、*in vitro* で Migration / Invasion 低下、E-cadherin の発現上昇と N-cadherin の発現低下、FAK, Cas などの細胞内チロシンリン酸化の上昇、基質接着の亢進などがみられ、さらに浮遊培養時に Akt が低下せず、Erk が上昇しないなどの特徴がみられた。このような細胞ではいくつか親株と比較して新規と思われる蛋白質のチロシンリン酸化の亢進や低下が認められるので、現在抗リン酸化チロシン抗体による精製の上、同定を試みている。

D. 考察

Src ファミリーキナーゼはチロシンキナーゼの酵素としてその生理機能を発揮すると考えられるが、数多くの分子が潜在的に Src ファミリーの基質となりうる。骨・軟骨系において発現する Src ファミリ

キナーゼが、臓器特異的に、そして機能特異的に多くの基質のチロシンリン酸化に関わっていると考えられるが、どの基質がどのような骨・軟骨の機能を制御しているのかは未だに明らかにされていない場合が多い。

本研究で Src の基質群の中で CDCP1 や ephrin-B1 がメタロプロテナーゼ分泌に関わることが示されたが、このような分子を介したメタロプロテナーゼ分泌は、破骨細胞による骨融解の過程にも大きく関係している可能性がある。さらに既にコルタクチンや p130Cas など複数の Src 基質がアクチンとの結合を介して、アクチン繊維の再構成や形態形成、運動能に関わることが示されていることから、破骨細胞がアクチンリングを形成して骨融解の場を作る際にこのような特定の Src 基質群が重要であることが示唆される。

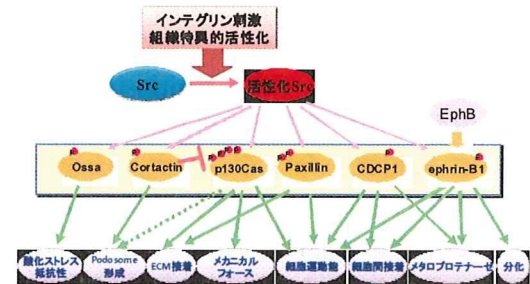
骨代謝と酸化ストレスと老化との深い関係は以前からよく知られているが、加齢が主たる要因となる骨粗鬆症においても酸化ストレスとの関係は重要だと考えられる。酸化ストレスによる T 細胞の活性化が骨髄で TNF の産生を促し、骨喪失を亢進させること、酸化ストレスが破骨細胞の分化に関わることなどが言われているが、Ossa を介した酸化ストレス抵抗性のシグナルの ON/OFF も骨粗鬆症の発症に影響を与えている可能性がある。今後骨細胞系における Src 基質群の発現パターンに加齢による変化についてもさらに検討をしていく必要がある。

以上のような基質分子と Src の相互作用による骨細胞系のシグナル伝達制御の多様性を図 6 にまとめる。

E. 結論

骨粗鬆症などのような老化などの過程で起こる代謝性変化は、特定の遺伝子の変異や発現の ON/OFF のようなはっきりとしたスイッチがあると考えられるよりも、いくつかの蛋白質の量的な変化により、

図6 破骨細胞機能のエフェクターとしてのSrc基質群の役割



バランスが取りきれなくなった状態と考えられる。その意味で「疾患遺伝子」を研究する際に、疾患の引き金となる遺伝子変化を追い求めるだけでなく、疾患の状態を生み出しているエフェクターとしての遺伝子群の量的・質的变化が重要になると考える。Src など疾患に関係する一つの蛋白質もその種々の基質を介した多彩なシグナルが老化と関係した多くの変化をもたらしているであろう。ここに Src のシグナルを伝えるリン酸化蛋白質を包括的に理解することの意味がある。細胞機能を制御するリン酸化蛋白質群の解析は、通常のマイクロアレイ法や 2 次元スポット解析だけでは手の届かない分野である。治療薬開発の面でも、実際の標的となる蛋白質を発現解析からだけでなく、リン酸化などの修飾とそれによる複合体形成の変化などの解析から正確に理解することはきわめて重要なことであると考えられる。Src キナーゼに関わる細胞内シグナル伝達分子の分子間結合を阻害することにより破骨細胞の機能やアポトーシスに関わるシグナルを選択的にブロックすることが可能になると考える。Src チロシンキナーゼの主要な基質として破骨細胞においても高い発現レベルを持つばかりか、常時チロシンリン酸化をしていることが報告されており、シグナルの調節機構などは細胞がん化などとの関わりで研究が進んでいるので、破骨細胞におけるコンディショナルノックアウトの解析が待たれるさらに治療薬開発に向けて重要なこ

とは、骨・軟骨代謝・機能の特異的かつ適切な程度に阻害する分子の設計と、長期間それを全身にデリバリーするための方法論の確立であろう。

現在、癌などの分野で進められている Src のチロシンキナーゼ阻害剤を用いた研究と比較しても、細胞内のシグナル媒介・調節分子によるチロシンキナーゼシグナルの制御が実現すればその特異性においてははるかに優れているため、骨粗鬆症などの慢性疾患においても副作用の少ない薬剤の開発につながる可能性が高いと期待している。

F. 発表

1. 論文発表

1. Tanaka, M., Kamata, R., Yanagihara, K., Sakai, R.: Suppression of gastric cancer dissemination by ephrin-B1-derived peptide. *Cancer Sci* 101, 87-93, 2010.
2. Futami, H., Sakai, R.: RET protein promotes non-adherent growth of NB-39-nu neuroblastoma cell line. *Cancer Sci* 100, 1034-1039, 2009.
3. Azuma, K., Urano, T., Horie-Inoue, K., Hayashi, S., Sakai, R., Ouchi, Y., Inoue, S.: Association of estrogen receptor alpha and histone deacetylase 6 causes rapid deacetylation of tubulin in breast cancer cells. *Cancer Res* 69, 2935-2940, 2009.
4. Ikeda, J., Oda, T., Inoue, M., Uekita, T., Sakai, R., Okumura, M., Aozasa, K., Morii, E.: Expression of CUB domain containing protein (CDCP1) is correlated with prognosis and survival of patients with adenocarcinoma of lung. *Cancer Sci* 100, 429-433, 2009.
5. Miyake, I., Ohira, M., Nakagawara, A., Sakai, R.: Distinct role of ShcC docking protein in the differentiation of neuroblastoma. *Oncogene* 28, 662-673, 2009.
6. Tanaka, M., Sasaki, K., Kamata, R., Hoshino, Y., Yanagihara, K., Sakai, R.: A novel RNA-binding protein, Ossa/C9orf10 regulates activity of Src kinases to protect cells from oxidative stress-induced apoptosis. *Mol Cell Biol* 29, 402-413, 2009.

2. 学会発表

【国際学会】

1. Sakai, R.: Regulation of invasion and metastasis by a Src substrate, CDCP1. (2009.7.7-9) 2nd DKFZ-NCC Workshop on Cancer Research, Tokyo, Japan.
2. Sakai, R.: Role of membrane protein, CDCP1 in tumor metastasis and invasion. (2009.9.16-19) Japanese-German Cancer Workshop, Hamburg, Germany.

【国内学会】

1. 堺隆一、田中正光：スキルス胃がんの酸化ストレス抵抗性に関わる分子 Ossa の機能解析 (2009.7.23-24) 第 18 回日本がん転移学会学術集会・総会 (旭川)
2. 上北尚正、堺隆一：CDCP1 は膵癌の転移・浸潤能に関わる予後因子である (2009.7.23-24) 第 18 回日本がん転移学会学術集会・総会 (旭川)
3. 二見仁康、堺隆一：神経芽腫細胞株におけるレチノイン酸による ALK の発現抑制及びアポトーシス誘導との関わり (2009.10.1-3) 第 68 回日本癌学会学術総会 (横浜)
4. 上北尚正、堺隆一：Src キナーゼ基質 CDCP1 による転移・浸潤の制御 (2009.10.1-3) 第 68 回日本癌学会学術総会 (横浜)
5. 澤井勇一郎、大木理恵子、堺隆一：癌遺伝子 Src の下流因子 p130Cas の C 末端断片化のがん化及びがん転移における意義 (2009.10.1-3) 第 68 回日本癌学会学術総会 (横浜)
6. 宮澤悠里、上北尚正、堺隆一：膵臓がんにおける CDCP1 発現と転移・予後との

関わり (2009.10.1-3) 第 68 回日本癌学会学術総会 (横浜)

7. 八木玲子、田中正光、堺隆一 : スキルス胃癌細胞の腹膜播種における ARAP3 の役割 (2009.10.1-3) 第 68 回日本癌学会学術総会 (横浜)
8. 堺隆一、田中正光 : 癌の酸化ストレス抵抗性に関わる新規分子 Ossa の機能解析 (2009.11.13-14) 第 4 回日本プロテインホスファターゼ研究会学術総会 (熊本)

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

骨粗鬆症ならびに関連疾患の標的 SNP の同定と臨床応用に関する研究

分担研究者 細井 孝之
国立長寿医療センター臨床研究・治験推進部長

【研究要旨】

骨折発生抑制を目的とする薬物療法においてビスフォスフォネート製剤は中心的な役割を担っているが、いまだその効果は不十分でありすべての骨折を防ぐことはできない。本製剤の効果を増すための併用療法を考慮する際に、個人の遺伝子情報を用いることを検討した。すなわち、骨粗鬆症と診断されビスフォスフォネート製剤を処方する患者において、ビタミン K2 製剤を併用するか否かの決定にガンマカルボキシラーゼ(GGCX)遺伝子等の多型性を利用することの有用性を検討するための臨床研究計画を立案した。有用性の判定には、血清低カルボキシル化オステオカルシン濃度の低下を用いる。今後この研究計画に従った研究を実行していく予定である。

A. 研究目的

骨粗鬆症は骨の脆弱性亢進によって骨折しやすくなった状態であり、特に加齢に伴う骨量の減少と骨質の劣化による原発性骨粗鬆症の患者は我が国だけでも1,000 万人以上に及ぶことが報告されている。骨粗鬆症の合併症である脆弱性骨折は疼痛や変形による日常生活度や生活の質の低下のみならず、生命予後の悪化をももたらすことが知られている。骨粗鬆症による主な骨折としては、脊椎の圧迫骨折、前腕骨遠位端骨折、上腕骨近位端骨折、大腿骨近位部骨折などがあげられる。これらのうち最も重症である大腿骨近位部骨折の我が国における発生数は2007 年において約 15 万例と推定されており、いまだ増加傾向にある。

骨粗鬆症の予防と治療は基礎治療としての生活習慣改善指導と骨折発生予防を目的とする薬物療法からなりたつ。近年の本領域における薬物療法の進歩には大

きなものがあり、特にビスフォスフォネート製剤を中心とする骨吸収抑制剤に関しては、骨折予防効果に関するエビデンスが蓄積され、第一選択薬の地位を確保している。一方、本薬剤による骨折発生抑制効果は骨折リスクを約半分にする程度にとどまっており、治療効果のさらなる改善が望まれている。近年、研究分担者も加わって行われた臨床研究により、ビスフォスフォネート製剤を服用しているにも関わらず脆弱性骨折を発症した患者群の特徴が明らかにされてきた(Shiraki M, Hosoi T, et al. 論文投稿中)。それによるとビスフォスフォネート製剤服用患者のうち、新規骨折を発症した患者では骨折を発症しなかった患者にくらべて、血清低カルボキシル化オステオカルシン(ucOC)が高値であることが判明した。このことは、ビタミン K2 の骨代謝面における不足状態がビスフォスフォネート製剤の骨折発生抑制効果を阻害していること

を示唆する。

骨代謝面における血清 ucOC の高値に反映されるビタミン K 不足は、ビタミン K の摂取不足のみならず、ビタミン K の作用、特にガンマカルボキシラーゼ (GGCX) に対する補酵素としての作用不足が想定される。我々は、GGCX 遺伝子の機能的 SNP を解析した際、酵素活性の低い遺伝子型(325Arg)が存在し、日本人人口の約 4 分の 1 がこのタイプであることを見出した(Hosoi T, et al. *Bone* 2007)。ビスフォスフォネート製剤による骨粗鬆症の薬物療法を行うにあたってこの遺伝子型に関する情報があれば、酵素活性の低い遺伝子型を持つ患者に対するビタミン K2 製剤の併用を勧めるのに有用であることが予想される。本研究においては、ビスフォスフォネート製剤を処方する患者において、ビタミン K2 製剤を併用するかどうかの決定に GGCX 遺伝子多型性の判定を利用することの有用性を検討するための臨床研究計画を立案する。

B. 研究方法

上記目的を達成するための研究対象、研究実施場所、およびサンプルの解析体制について検討する。特に研究対象者数については、GCX 遺伝子の機能的 SNP における遺伝子型の分布ならびに、それぞれの遺伝子型によってもたらされる GGCX 蛋白質の酵素活性をもとに仮説の検証に要するに足るよう推定して決定する。

C. 研究結果

a. 研究の対象及び実施場所

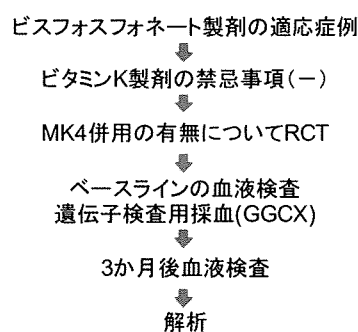
研究参加施設の外来を受診している患者のうち、「骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン 2006 年版」に照らし合わせて薬物療法の対象者であることが判断された患者であり、ビスフォスフォネート製剤が治療薬として選択された患者を対象とする。ただし、ワルファリンを服用してお

り、ビタミン K2 製剤の処方が禁忌であるものは対象外とする。対象者には、研究計画について文書による説明を行い、書面でインフォームドコンセントを得た者を研究参加者とする。血清 ucOC の測定は各施設で採取された血清について、1 検査機関で行う。GGCX 遺伝子多型性の解析は、東京大学医学部抗加齢医学講座において一括して行う。

b. 研究デザイン

研究参加者はビスフォスフォネート製剤を開始する時点で、封筒法により無作為にビタミン K2 製剤(メナテトレノン 45mg/日)併用群(70 例)と非併用群(70 例)に振り分けられる。研究参加者から採取された血液検体は血清 ucOC の測定ならびに GGCX 遺伝子多型性の解析に供される(資料 1)。GGCX 遺伝子多型性の解析結

資料 1



果は匿名化された臨床情報とのみ連結され、研究参加者ご本人には通知されない。薬剤の内服開始から 3 か月の時点で血清 ucOC を再度測定する。血清 ucOC の変動について、ビスフォスフォネート製剤単独群における GGCX325Arg 群(低活性群)と GGCX325Gln 群、ビタミン K2 製剤併用群における GGCX325Arg 群(低活性群)と GGCX325Gln 群の計 4 群間の比較検討を行う。なお、遺伝子解析については、GGCX 遺伝子に加えて、ビタミン K サイクル関連遺伝子であるビタミン K 還元酵素(VKOR)、カルメニン、および核内の標的である SXR についても多型性を解析する。なお、日本人のビタミン K 摂取量に

における最も強力な規定因子である納豆の摂取状況について、その摂取頻度を聞き取り調査する。

c. 対象の選択基準

研究参加施設の外来を受診している患者のうち、「骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン 2006 年版」に照らし合わせて薬物療法の対象者であることが判断された患者であり、ビスフォスフォネート製剤が治療薬として選択された患者を対象とする。

d. 対象の除外基準

ワルファリンを服用しており、ビタミン K2 製剤の処方禁忌であるもの。

e. 症例数の設定とその根拠

先行研究により、GGCX325Arg 群と GGCX325Gln 群の比はほぼ 1:3 であり、ビスフォスフォネート治療による血清 ucOC の低下割合が最小有意変化 (minimal significant change, MSC) を上回る割合が、GGCX325Gln 群で 70%、GGCX325Arg 群で 10% と仮定した場合、危険率 0.05 で両側検定を行い、有意な差が認められる確率 (パワー) を 80% になるための必要総症例数は、ビタミン K2 製剤併用または非併用の GGCX325Arg 群が約 12 例であり、総症例数は 96 例 (12x4 x 2 = 96 例) となる。それぞれを 60% と 20% と仮定した場合は 184 例 (23x4 x 2 = 184 例) と計算される。本研究ではこれらの値の平均値である 140 例 (非併用群 70 例、併用群 70 例) を対象症例数として設定した。

f. 対象者の臨床情報

年齢、身長、体重、脊椎 X 線所見、骨塩定量値、一般生化学測定項目 (総蛋白、アルブミン、ALP、AST、ALT、総コレステロール、BUN、クレアチニン、血清カルシウム、血清リン)、骨代謝関連検査値 (血清 ucOC、血清 total ucOC、骨型 ALP、血清 NTX)。血清 ucOC は免疫電気化学的方法 (“Picolumi”) によって定められた検査機関 (SRL 等) において一括して測定する。納豆の摂取頻度 (聞き取り)。

g. 遺伝子解析

EDTA 加血液 0.5ml から DNA を抽出し、GGCX、VKOR、カルメニン、SXR の各遺伝子多型性を決定する。遺伝子解析は研究代表者の施設で一括して行われる。

h. 研究における医学倫理的配慮について

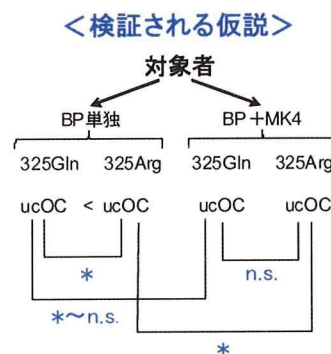
- ① 研究等の対象とする個人の人権擁護
研究計画はヘルシンキ宣言に基づいて立案され、遺伝子情報は当施設の管理者のもとで厳密に管理される。
- ② 研究等の対象となる者 (本人又は家族) の理解と同意
文書による説明と同意を得る。
- ③ 研究等によって生ずる個人への不利益並びに危険性と医学上の貢献の予測

骨粗鬆症の薬物療法における併用療法の有用性はまだ確立されておらず、併用療法を行うか否かについては臨床的判断にゆだねられている。本研究は併用療法に対する理論的根拠を得るために有用な研究であり医学的貢献が得られると考えられる。また薬物療法に用いる薬剤は骨粗鬆症に対して保険適用を得ているもののみであり、その使用において患者への不利益はない。

D. 考察

本研究計画によって検証される仮説を資料 2 に示す。血清 ucOC 濃度は骨代謝に

資料 2



におけるビタミン K の充足状態のマーカーとなるものであり、その濃度が高いことはビタミン K の不足状態を示唆する。本

研究計画における対象者は4群に分けられ、薬物療法開始後3カ月の時点で血清ucOC濃度が測定される。ucOC濃度がより低下していることがビスフォスフォネート製剤による治療効果の指標と考えられるが、GGCX活性が高い遺伝子型(GGCX325Gln)を持つ場合にはビスフォスフォネート製剤単独とMK4併用群で有意差がないのに対して、GGCX活性が低い遺伝子型(GGCX325Arg)を持つ場合には有意差が見出されることなどが予想される。本研究結果の解析によって、ビスフォスフォネート製剤に対するMK4併用に関する個別化における遺伝子解析の有用性が検証されることが期待される。

E. 結論

ビスフォスフォネート製剤を処方する患者において、ビタミンK2製剤を併用するか否かの決定にGGCX遺伝子多型性の判定を利用することの有用性を検討するための臨床研究計画を立案した。

F. 研究発表

1.論文発表

1. Orimo, H., Yaegashi, Y., Onoda, T., Fukushima, Y., Hosoi, T., Sakata, K.: Hip fracture incidence in Japan: estimates of new patients in 2007 and 20-year trends. *Arch Osteoporosis* 4, 71-77, 2009.

2.学会発表

1. Urano, T., Narusawa, K., Shiraki, M., Hosoi, T., Ouchi, Y., Nakamura, T., Inoue, S.: A single nucleotide polymorphism in the hyaluronan and proteoglycan link protein gene (HAPLN1) is associated with spinal osteophyte formation and disc narrowing in postmenopausal Japanese women. (2009.9.11-15) American Society of Bone and Mineral Research 31st Annual Meeting, Denver, Colorado, USA.
2. Sogabe, N., Maruyama, R., Hosoi, T., Goseki-Sone, M.: Effects of vitamin K₁ (phylloquinone) or vitamin K₂ (menaquinone-4) on bone metabolism in growing female rats. (2009.9.11-15) American Society of Bone and Mineral Research 31st Annual Meeting, Denver, Colorado, USA.

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, Usui T, Sasaki N, Ouchi Y, <u>Inoue S</u>	Bone mass effects of a Smad6 gene polymorphism in Japanese postmenopausal women.	<i>J Bone Miner Metab</i>	27	562-566	2009
6	Takayama K, Tsutsumi T, Suzuki T, Horie-Inoue K, Ikeda K, Kaneshiro K, Fujimura T, Kumagai J, Urano T, Sakaki Y, Shirahige K, Sasano H, Takahashi S, Kitamura T, Ouchi Y, Aburatani H, <u>Inoue S</u>	Amyloid precursor protein is a primary androgen target gene that promotes prostate cancer growth.	<i>Cancer Res</i>	69	137-142	2009
12	Azuma K, Urano T, Horie-Inoue K, Hayashi S, <u>Sakai R</u> , Ouchi Y, <u>Inoue S</u>	Association of estrogen receptor a and histone deacetylase 6 causes rapid decetylation of tubulin in breast cancer cell.	<i>Cancer Res</i>	69	2935-2940	2009
18	Urano T, Shiraki M, Usui T, Sasaki N, Ouchi Y, <u>Inoue S</u>	A1330V variant of the low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5) gene decrease Wnt signaling and affect the total body bone mineral density in Japanese women.	<i>Endocr J</i>	56	625-631	2009
25	Kubo M, Ijichi N, Ikeda K, Horie-Inoue K, Takeda S, <u>Inoue S</u>	Modulation of adipogenesis-related gene expression by estrogen-related receptor γ during adipocytic differentiation.	<i>Biochim Biophys Acta - Gene Regulatory Mechanisms</i>	1789	71-77	2009
32	Urano T, Shiraki M, Yamaga R, Sasaki N, Ouchi Y, <u>Inoue S</u>	Association of a sequence variation in the gene encoding adiponectin receptor 1 (ADIPOR1) with body mass index in the Japanese population.	<i>Anti-Aging Med</i>	6	79-82	2009
36	Ijichi N, Ikeda K, Fujita M, Usui T, Urano T, Azuma K, Ouchi Y, Horie-Inoue K, <u>Inoue S</u>	EPAS1, a dexamethasone-inducible gene in osteoblasts, inhibits osteoblastic differentiation.	<i>Open Bone J</i>	1	28-37	2009
46	Urano T, Usui T, Shiraki M, Ouchi Y, <u>Inoue S</u>	Association of a single nucleotide polymorphism in the constitutive androstane receptor (CAR) gene with bone mineral density.	<i>Geriatric Gerontol Int</i>	9	235-241	2009
53	Kumagai J, Urano T, Ogushi T, Takahashi S, Horie-Inoue K, Fujimura T, Azuma K, Muramatsu M, Ouchi Y, Kitamura T, <u>Inoue S</u>	EBAG9 is a tumor-promoting and prognostic factor for bladder cancer.	<i>Int J Cancer</i>	124	799-805	2009

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
60	Takeo C, Ikeda K, Horie-Inoue K, <u>Inoue S</u>	Identification of Igf2, Igfbp2 and Enpp2 as estrogen-responsive genes in rat hippocampus.	<i>Endocr J</i>	56	113-120	2009
68	Furuya T, Urano T, Ikari K, Kotake S, <u>Inoue S</u> , Hara M, Momohara S, Kamatani N, Yamanaka H	A1330V polymorphism of low-density lipoprotein receptor-related protein 5 gene and self-reported incident fractures in Japanese female patients with rheumatoid arthritis.	<i>Mod Rheumatol</i>	19	140-144	2009
75	Urano W, Furuya T, Inoue E, Taniguchi A, Urano T, Kotake S, Sekita C, <u>Inoue S</u> , Hara M, Momohara S, Kamatani N, Yamanaka H	Associations between methotrexate treatment and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms with incident fractures in Japanese female rheumatoid arthritis patients.	<i>J Bone Miner Metab</i>	27	574-583	2009
85	Fujimura T, Takahashi S, Urano T, Kumagai J, Murata T, Ogushi T, Horie-Inoue K, Ouchi Y, Kitamura T, Muramatsu M, Homma Y, <u>Inoue S</u>	Expression of cytochrome P450 3A4 and its clinical significance in human prostate cancer.	<i>Urology</i>	74	391-397	2009
92	Azuma K, Urano T, Ouchi Y, <u>Inoue S</u>	Vitamin K2 suppresses proliferation and motility of hepatocellular carcinoma cells by activating steroid and xenobiotic receptor.	<i>Endocr J</i>	56	843-849	2009
99	Fujimura T, Takahashi S, Urano T, Liu X, Ogushi T, Muramatsu M, Ouchi Y, Kitamura T, Homma Y, <u>Inoue S</u>	EBAG9 expression and its clinical significance in human testicular cancer	<i>Int J Urol</i>	16	329-332	2009
103	Urano T, Usui T, Takeda S, Ikeda K, Okada A, Ishida Y, Iwayanagi T, Otomo J, Ouchi Y, <u>Inoue S</u>	TRIM44 interacts with and stabilizes terf, a TRIM ubiquitin E3 ligase.	<i>Biochem Biophys Res Commun</i>	383	263-268	2009
109	Gack MU, Albrecht RA, Urano T, Inn KS, Huang IC, Carnero E, Farzan M, <u>Inoue S</u> , Jung JU, García-Sastre A	Influenza A virus NS1 targets the ubiquitin ligase TRIM25 to evade recognition by RIG-I.	<i>Cell Host Microbe</i>	5	439-449	2009
120	Suzuki H, <u>Inoue S</u> , Hayashizaki Y, et al.(他157名、56番目)	The transcriptional network that controls growth arrest and differentiation in a human myeloid leukemia cell line.	<i>Nat Genet</i>	41	553-562	2009

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
130	Poeck H, Bscheider M, Gross O, Finger K, Roth S, Rebsamen M, Hanneschlager N, Schlee M, Rothenfusser S, Barchet W, Kato H, Akira S, <u>Inoue S</u> , Endres S, Peschel C, Hartmann G, Hornung V, Ruland J	RIG-I is a dual activator of Card9 and inflammasome signaling for IL-1 β production upon RNA virus recognition.	<i>Nat Immunol</i>	11	63-69	2010
138	Urano T, Narusawa K, Kobayashi S, Shiraki M, Horie-Inoue K, Sasaki N, <u>Hosoi T</u> , Ouchi Y, Nakamura T, <u>Inoue S</u>	Association of HTRA1 promoter polymorphism with spinal disc degeneration in Japanese women.	<i>J Bone Miner Metab</i>	28	220-226	2010
145	Ikeda K, Fukushima T, Ogura H, Tsukui T, Mishina M, Muramatsu M, <u>Inoue S</u>	Estrogen regulates the expression of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor subunit epsilon 4 (Grin2d), that is essential for the normal sexual behavior in female mice.	<i>FEBS Lett</i>	584	806-810	2010
150	Fujimura T, Takahashi S, Urano T, Ijichi N, Ikeda K, Kumagai J, Murata T, Takayama K, Horie-Inoue K, Ouchi Y, Muramatsu M, Homma Y, <u>Inoue S</u>	Differential expression of estrogen-related receptors β and γ (ERR β and ERR γ) and their clinical significance in human prostate cancer.	<i>Cancer Sci</i>	10	646-651	2010
156	Mori K, Horie-Inoue K, Gehlbach PL, Takita H, Kabasawa S, Kawasaki I, Ohkubo T, Kurihara S, Iizuka H, Miyashita Y, Katayama S, Awata T, Yoneya S, <u>Inoue S</u>	Phenotype and Genotype Characteristics of Age-related Macular Degeneration in a Japanese Population.	<i>Ophthalmol</i>		in press	
167	Ueyama K, Ikeda K, Sato W, Nakasato N, Horie-Inoue K, Takeda S, <u>Inoue S</u>	Knock-down of Efp by DNA-modified small interfering RNA inhibits breast cancer cell proliferation and in vivo tumor growth.	<i>Cancer Gene Ther</i>		in press	
176	Azuma K, Urano T, Ouchi Y, <u>Inoue S</u>	Glucocorticoid-induced gene tripartite motif-containing 63 (TRIM63) promotes differentiation of osteoblastic cells.	<i>Endocr J</i>		in press	
184	Kim M, Kondo T, Takada I, Youn M, Yamamoto Y, Takahashi S, Matsumoto T, Fujiyama S, Shirode Y, Yamaoka I, Kitagawa H, Takeyama K, Shibuya H, Ohtake F, <u>Kato S</u>	DNA demethylation in hormone-induced transcriptional derepression.	<i>Nature</i>	461	1007-1012	2009

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
190	Fujiki R, Chikanishi T, Hashiba W, Ito H, Takada I, Roeder RG, Kitagawa H, <u>Kato S</u>	GlcNAcylation of a histone methyltransferase in retinoic-acid-induced granulopoiesis.	<i>Nature</i>	459	455-459	2009
197	Yamagata K, Fujiyama S, Ito S, Ueda T, Murata T, Naitou M, Takeyama K, Minami Y, O' Malley BW, <u>Kato S</u>	Maturation of microRNA is hormonally regulated by a nuclear receptor.	<i>Mol Cell</i>	36	340-347	2009
205	Yoshimura K, Kitagawa H, Fujiki R, Tanabe M, Takezawa S, Takada I, Yamaoka I, Yonezawa M, Kondo T, Furutani Y, Yagi H, Yoshinaga S, Masuda T, Fukuda T, Yamamoto Y, Ebihara K, Li DY, Matsuoka R, Takeuchi JK, Matsumoto T, <u>Kato S</u>	Distinct function of 2 chromatin remodeling complexes that share a common subunit, Williams syndrome transcription factor (WSTF).	<i>Proc Natl Acad Sci USA</i>	106	9280-9285	2009
211	Suzuki E, Zhao Y, Ito S, Sawatsubashi S, Murata T, Furutani T, Shirode Y, Yamagata K, Tanabe M, Kimura S, Ueda T, Fujiyama S, Lim J, Matsukawa H, Kouzmenko AP, Aigaki T, Tabata T, Takeyama K, <u>Kato S</u>	Aberrant E2F activation by polyglutamine expansion of androgen receptor in SBMA neurotoxicity.	<i>Proc Natl Acad Sci USA</i>	106	3818-3822	2009
216	Kouzu-Fujita M, Mezaki Y, Mtsumoto T, Yamaoka I, Sawatsubashi S, Yano T, Taketani Y, Kitagawa H, <u>Kato S</u>	Coactivation of estrogen receptor β by a gonadotropin-induced cofactor GIOT.	<i>Mol Cell Biol</i>	29	83-92	2009
226	Imai Y, Nakamura T, Matsumoto T, Takaoka K, <u>Kato S</u>	Molecular mechanisms underlying the effects of sex steroids on bone and mineral metabolism.	<i>J Bone Miner Metab</i>	27	127-130	2009
230	Oya H, Yokoyama A, Yamaoka I, Fujiki R, Yonezawa M, Youn M-Y, Takada I, <u>Kato S</u> , Kitagawa H	Phosphorylation of WSTF by MAPK induces a switching between two distinct chromatin remodeling complexes.	<i>J Biol Chem</i>	284	32472-32482	2009
241	Zhao Y, Takeyama K, Sawatsubashi S, Ito S, Suzuki E, Yamagata K, Tanabe M, Kimura S, Fujiyama S, Ueda T, Murata T, Matsukawa H, Shirode Y, Kouzmenko AP, Li F, Tabata T, <u>Kato S</u>	Corepressive action of CBP on androgen receptor transactivation in pericentric heterochromatin in a Drosophila experimental model system.	<i>Mol Cell Biol</i>	29	1017-1034	2009
259	Imai Y, Kondoh S, Kouzmenko A, <u>Kato S</u>	Regulation of bone metabolism by nuclear receptors.	<i>Mol Cell Endocrinol</i>	310	3-10	2009