

身のチロシンリン酸化を介して下流に浸潤や播種を抑制するシグナルを伝えることが示唆された。細胞骨格形成の制御や基質接着能がこのような性質に影響を与えたと考えている。

Src による破骨細胞の機能制御は Rho によるアクチン骨格形成や基質との接着、メタロプロテアーゼによる基質分解の制御などが深く関わると考えられるので、その制御分子としての ARAP3 や CDCP1 の重要性が明らかになった。

Src ファミリーの各組織における機能を正確に理解するには、その場でリン酸化を受ける基質の同定と、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。その方向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情報を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て研究を押し進めることにより、骨細胞系においても高発現している個々の Src の基質群の機能の詳細を明らかにして、そのバランス制御のモデル系をさらに構築していけるものと考えられる。

10. 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

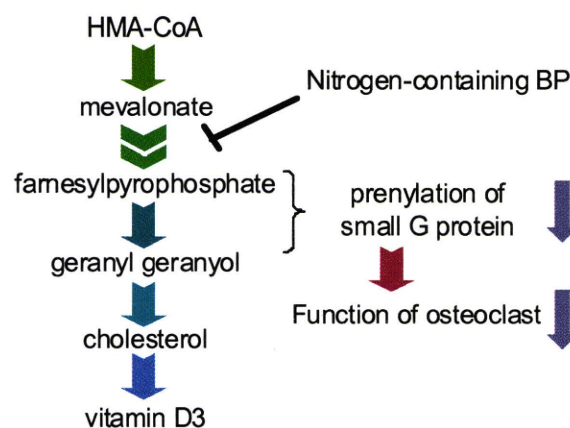
本研究によって、ビスホスホネート製剤服用患者のうち、新規骨折を発症した患者では骨折を発症しなかった患者に比べて、血清 ucOC が高値であることが判明した。このことは、ビタミン K2 の骨代謝面における不足状態がビスホスホネート

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。

窒素含有ビスホスホネートはメバロン酸経路における farnesyl pyrophosphate synthase を阻害することがその作用機序であることが明らかにされている(Fig 15)。

Fig 15

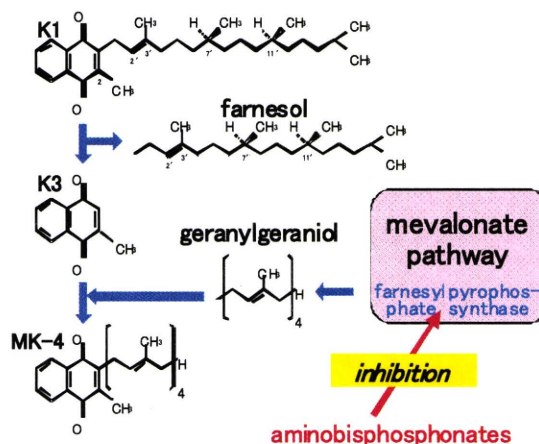
Nitrogen-containing bisphosphonate and mevalonate pathway



一方、最近の研究によって、ビタミン K1 やメナテトレノン以外のビタミン K2 は体内でメナテトレノンに変換されることが確かめられ、その反応をつかさどる酵素も同定された(Fig 16)。この変換におい

Fig 16

ビタミンKの変換とメバロン酸経路



て利用される geranylgeraniol はメバロン酸経路から供給されるため、窒素含有ビ

スホスホネートによってこの供給が抑制されることが考えられる。

以上のことから、窒素含有ビスホスホネートを骨粗鬆症の治療に用いた時、骨折予防効果が十分得られなかった患者において骨代謝の面におけるビタミン K 不足がもたらされており、このことは窒素含有ビスホスホネートのビタミン K 代謝に及ぼす影響を介している可能性が示唆された。

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(*Bone* 40, 451-456, 2007)。ビスホスホ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た。昨年の本研究において、ビスホスホ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(Fig 17)。今回の研

Fig 17

個人の特性を生かした骨粗鬆症薬物療法システムの開発に関する研究の概要



究結果はこの研究計画の意義を裏付けるものであり、今後の推進が期待される。また、この計画においてはビタミン K の摂取量に関する情報を収集する必要があり、そのための食生活に関するアンケート(Table 3)を採用した。

Table 3

食生活に関するアンケート

納豆と野菜について、あてはまる番号に○を付けてください。

納豆 (1パック:50g)	① ほとんど食べない	② 週1~2回	③ 週3~4回	④ 1日1回以上
野菜 (1回の食事あたり)	① ほとんど食べない	② 少し食べる	③ 普通に食べる	④ たっぷり食べる

野菜の「普通に食べる」は、きざんだ野菜を片手に1杯くらい、あるいは小鉢1杯くらいが目安。

E. 結論

(1) 骨粗鬆症ならびに関連疾患の診断・治療の分子標的の同定機能解析とテーラーメード医療への応用

本年度は、ゲノム医学を活用した ChIP-chip 法(クロマチン免疫沈降法に基づくゲノムタイリングアレイ解析)、ChIP-シーケンス法、独自の GBS 法とマイクロアレイ法等により、骨粗鬆症ならびに関連疾患に関わる遺伝情報制御分子、診断・治療の分子標的を網羅的に探索し、機能解析を行った。特に、エストロゲン、ビタミン K、グルココルチコイドをはじめとする各種骨作用薬の新規標的因子を明らかにし、分子標的の探索を行い、複数の候補遺伝子を得た。さらに、ヒト遺伝解析について、これまでの 5 万 SNP ならびに 25 万 SNP による遺伝解析に加え CNV 解析を進め対象者の骨密度、骨関節変形指数、骨加齢疾患・関連疾患に関わる各種バイオマーカーとの関連解析により、複数の疾患感受性遺伝子を明らかにした。有望な候補に対して、細胞レベル

と動物レベルで機能解析を行い、薬の標的としての可能性を示した。

(2) 核内受容体と共役因子の同定とその骨粗鬆症ならびに関連疾患との関連

本年度は骨代謝と関連疾患に関わる核内受容体と共役因子について、破骨細胞、軟骨細胞ならびに骨芽細胞特異的遺伝子改変マウスのシステムを活用して生体機能解析を行った。特にエストロゲン、アンドロゲン、ビタミンD、ビタミンK受容体(SXR/PXR)による結果は骨の病態を引き起こすものであり、新しい疾患モデルとして薬物の効果を調べるのに有用である。

(3) 新しい細胞内シグナル伝達因子・膜受容体・酵素の同定、機能解析と骨粗鬆症ならびに関連疾患との関連

細胞内シグナル伝達系では、蛋白質レベルの修飾が大きな意義を持っている。特に、エストロゲンをはじめとする骨作用薬もしくはメカニカルストレスによるリン酸化、さらにはエピジェネティックな蛋白修飾に関わるシグナル伝達機構の解析を進め、新規リン酸化、アセチル化修飾メカニズムを明らかにし、治療標的としての意義を示した。

(4) 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

ビスホスホ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を進めた。

F. 発表

1. 論文発表

1. Urano, T., Shiraki, M., Usui, T., Sasaki, N., Ouchi, Y., Inoue, S.: Identification of non-synonymous polymorphisms in the WDSOF1 gene as novel susceptibility markers for low bone mineral density in Japanese postmenopausal women. *Bone* 47, 636-642, 2010.

2. Azuma, K., Casey, S.C., Ito, M., Urano, T., Horie, K., Ouchi, Y., Kirchner, S., Blumberg, B., Inoue, S.: Pregnane X receptor knockout mice display osteopenia with reduced bone formation and enhanced bone resorption. *J Endocrinol* 207, 257-263, 2010.
3. Urano, T., Narusawa, K., Kobayashi, S., Shiraki, M., Horie-Inoue, K., Sasaki, N., Hosoi, T., Ouchi, Y., Nakamura, T., Inoue, S.: Association of HTRA1 promoter polymorphism with spinal disc degeneration in Japanese women. *J Bone Miner Metab* 28, 220-226, 2010.
4. Fujita, M., Sugama, S., Sekiyama, K., Sekigawa, S., Tsukui, T., Nakai, M., Waragai, M., Takenouchi, T., Takamatsu, Y., Wei, J., Rockenstein, E., LaSpada, A.R., Masliah, E., Inoue, S., Hashimoto, M.: A β -synuclein mutation linked to dementia produces neurodegeneration when expressed in mouse brain. *Nat Commun* 1, 110, 2010.
5. Poeck, H., Bscheider, M., Gross, O., Finger, K., Roth, S., Rebsamen, M., Hanneschlager, N., Schlee, M., Rothenfusser, S., Barchet, W., Kato, H., Akira, S., Inoue, S., 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. *Nat Immunol* 11, 63-69, 2010.
6. Azuma, K., Urano, T., Ouchi, Y., Inoue, S.: Glucocorticoid-induced gene tripartite motif-containing 63 (TRIM63) promotes differentiation of osteoblastic cells. *Endocr J* 57, 455-462, 2010.
7. Ikeda, K., Fukushima, T., Ogura, H., Tsukui, T., Mishina, M., Muramatsu, M., Inoue, S.: 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. *FEBS Lett* 584, 806-810, 2010.
8. Mori, K., Horie-Inoue, K., Gehlbach, P.L., Takita, H., Kabasawa, S., Kawasaki, I., Ohkubo, T., Kurihara, S., Iizuka, H., Miyashita, Y., Katayama, S., Awata, T., Yoneya, S., Inoue, S.: Phenotype and Genotype Characteristics of Age-related Macular Degeneration in a Japanese Population. *Ophthalmol* 117, 928-938, 2010.
 9. Kurosawa, T., Hiroi, H., Momoeda, M., Inoue, S., Taketani, Y.: Clomiphene citrate elicits estrogen agonistic/antagonistic effects differentially via estrogen receptors α and β . *Endocr J* 57, 517-521, 2010
 10. 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., Inoue, S.: Differential expression of estrogen-related receptors β and γ (ERR β and ERR γ) and their clinical significance in human prostate cancer. *Cancer Sci* 101, 646-651, 2010.
 11. Ueyama, K., Ikeda, K., Sato, W., Nakasato, N., Horie-Inoue, K., Takeda, S., Inoue, S.: Knock-down of Efp by DNA-modified small interfering RNA inhibits breast cancer cell proliferation and *in vivo* tumor growth. *Cancer Gene Ther* 17, 624-632, 2010.
 12. Onodera, Y., Miki, Y., Suzuki, T., Takagi, K., Akahira, J.I., Sakyu, T., Watanabe, M., Inoue, S., Ishida, T., Ohuchi, N., Sasano, H.: Runx2 in human breast carcinoma: its potential roles in cancer progression. *Cancer Sci* 101, 2670-2675, 2010.
 13. Murata, T., Takayama, K., Katayama, S., Urano, T., Horie-Inoue, K., Ikeda, K., Takahashi, S., Kawazu, C., Hasegawa, A., Ouchi, Y., Homma, Y., Hayashizaki, Y., Inoue, S.: miR-148a is an androgen-responsive microRNA that promotes LNCaP prostate cell growth by repressing its target CAND1 expression. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 13, 356-361, 2010.
 14. Oyama, M., Nagashima, T., Suzuki, T., Kozuka-Hata, H., Yumoto, N., Shiraishi, Y., Ikeda, K., Kuroki, Y., Gotoh, N., Ishida, T., Inoue, S., Kitano, H., Okada-Hatakeyama, M.: Integrated Quantitative Analysis of the Phosphoproteome and Transcriptome in Tamoxifen-Resistant Breast Cancer. *J Biol Chem* 286, 818-829, 2011.
 15. Takayama, K., Tsutsumi, S., Katayama, S., Okayama, T., Horie-Inoue, K., Ikeda, K., Urano, T., Kawazu, C., Hasegawa, A., Ikeo, K., Gojyobori, T., Ouchi, Y., Hayashizaki, Y., Aburatani, H., Inoue, S.: Integration of cap analysis of gene expression and chromatin immunoprecipitation analysis on array reveals genome-wide androgen receptor signaling in prostate cancer cells. *Oncogene* 30, 619-630, 2011.
 16. Urano, T., Narusawa, K., Sasaki, N., Shiraki, M., Hosoi, T., Ouchi, Y., Nakamura, T., Inoue, S.: A single-nucleotide polymorphism in the hyaluronan and proteoglycan link protein 1 (HAPLN1) gene is associated with spinal osteophyte formation and disc degeneration in Japanese women. *Eur Spine J* 20, 572-577, 2011.
 17. Ijichi, N., Shigekawa, T., Ikeda, K., Horie-Inoue, K., Fujimura, T., Tsuda, H., Osaki, A., Saeki, T., Inoue, S.: Estrogen-related receptor γ modulates cell proliferation and estrogen signaling in breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 123, 1-7, 2011.

18. Tsuchihashi, T., Mori, K., Horie-Inoue, K., Gehlbach, P.L., Kabasawa, S., Takita, H., Ueyama, K., Okazaki, Y., Inoue, S., Awata, T., Katayama, S., Yoneya, S.: Association of the Gene Variants of Complement Factor H and High-Temperature Requirement A-1 Genotypes with Response of Age-related Macular Degeneration to Photodynamic Therapy. *Ophthalmol* 118, 93-100, 2011.
19. Nakajima, Y., Osakabe, A., Suzuki, T., Kishimoto, Y., Kuroda, T., Fujimura, T., Homma, Y., Murayama, A., Inoue, S., Yanagisawa, J.: KLF5-ER β pathway is responsible for the contradictory effects of estrogen on prostate tumor formation. *Sci Signal* 4, ra22, 2011.
20. Kou, I., Takahashi, A., Urano, T., Fukui, N., Ito, H., Ozaki, K., Tanaka, T., Hosoi, T., Shiraki, M., Inoue, S., Nakamura, Y., Kamatani, N., Kubo, M., Mori, S., Ikegawa, S.: Common Variant s in a Novel Gene, *FONG* on Chromosome 2q33.1 Confer Risk of Osteoporosis in Japanese. *PLoS ONE* 6, e19641, 2011.
21. Obinata, D., Takayama, K., Urano, T., Murata, T., Kumagai, J., Fujimura, T., Ikeda, K., Horie-Inoue, K., Homma, Y., Ouchi, Y., Takahashi, S., Inoue, S.: Oct1 regulates cell growth of LNCaP cells and is a prognostic factor for prostate cancer. *Int J Cancer* (in press)
22. Ikeda, K., Tsukui, T., Horie-Inoue, K., Inoue, S.: Conditional expression of constitutively active estrogen receptor α in osteoblasts increases bone mineral density in mice. *FEBS Lett* (in press)
23. Akimoto, C., Ueda, T., Inoue, K., Yamaoka, I., Sakari, M., Obara, W., Fujioka, T., Nagahara, A., Nonomura, N., Tsutsumi, S., Aburatani, H., Miki, T., Matsumoto, T., Kitagawa, H., Kato, S.: Testis-specific protein on Y chromosome (TSPY) represses the activity of the androgen receptor in androgen-dependent testicular germ-cell tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 107: 19891-19896, 2010.
24. Youn, M.Y., Takada, I., Imai, Y., Yasuda, H., Kato, S.: Transcriptionally active nuclei are selective in mature multinucleated osteoclasts. *Genes Cells* 15, 1025-1035, 2010.
25. Yokoyama, A., Okuno, Y., Chikanishi, T., Hashiba, W., Sekine, H., Fujiki, R., Kato, S.: KIAA1718 is a histone demethylase that erases repressive histone methyl marks. *Genes Cells* 15: 867-873, 2010.
26. Matsuyama, R., Takada, I., Yokoyama, A., Fujiyama-Nakamura, S., Tsuji, N., Kitagawa, H., Fujiki, R., Kim, M., Kouzu-Fujita, M., Yano, T., Kato, S.: Double PHD fingers protein DPF2 recognizes acetylated histones and suppresses the function of estrogen-related receptor alpha through histone deacetylase 1. *J Biol Chem* 285: 18166-18176, 2010.
27. Imai, Y., Kondoh, S., Kouzmenko, A., Kato, S.: Minireview: osteoprotective action of estrogens is mediated by osteoclastic estrogen receptor- α . *Mol Endocrinol* 24: 877-885, 2010.
28. Chikanishi, T., Fujiki, R., Hashiba, W., Sekine, H., Yokoyama, A., Kato, S.: Glucose-induced expression of MIP-1 genes requires O-GlcNAc transferase in monocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 39, 865-870, 2010.
29. Takada, I., Tsuji, N., Youn, M. Y., Fujiyama, S., Okada, M., Imai, Y., Kondo, S., Kitakawa, H., Yasuda, H., Kato, S.: Purification and identification of estrogen receptor alpha co-regulators in osteoclasts. *Ann N Y Acad Sci* 1192: 201-207, 2010.

30. Takada, I., Kouzmenko, A.P., Kato, S.: PPAR- γ signaling crosstalk in mesenchymal stem cells. *PPAR Research* 2010, Article 341671, 6 pages, 2010.
31. Youn, M.Y., Fujiyama-Nakamura, S., Takada, I., Imai, Y., Kato, S.: Identification of osteoclastic factors in the nuclear envelope of mature, multinucleated osteoclasts. *Biosci Biotechnol Biochem* 74: 1956-1959, 2010.
32. Sawatsubashi, S., Murata, T., Lim, J., Fujiki, R., Ito, S., Suzuki, E., Tanabe, M., Zhao, Y., Kimura, S., Fujiyama, S., Ueda, T., Umetsu, D., Ito, T., Takeyama, K., Kato, S.: A histone chaperone, DEK, transcriptionally coactivates a nuclear receptor. *Genes Dev* 24: 159-170, 2010.
33. Ochiai, E., Kitagawa, H., Takada, I., Fujiyama, S., Sawatsubashi, S., Kim, M. S., Mezaki, Y., Tsushima, Y., Takagi, K., Azuma, Y., Takeyama, K., Yamaoka, K., Kato, S., Kamimura, T.: CDP/cut is an osteoblastic coactivator of the vitamin D receptor (VDR). *J Bone Miner Res* 25: 1157-1166, 2010.
34. Chambon, C., Duteil, D., Vignaud, A., Ferry, A., Messaddeq, N., Malivindi, R., Kato, S., Chambon, P., Metzger, D.: Myocytic androgen receptor controls the strength but not the mass of limb muscles. *Proc Natl Acad Sci USA* 107: 14327-14332, 2010.
35. Takahashi, S., Watanabe, T., Okada, M., Inoue, K., Ueda, T., Takada, I., Watabe, T., Yamamoto, Y., Fukuda, T., Nakamura, T., Akimoto, C., Fujimura, T., Hoshino, M., Imai, Y., Metzger, D., Miyazono, K., Minami, Y., Chambon, C., Kitamura, T., Matsumoto, T., Kato, S.: Noncanonical Wnt signaling mediates androgen-dependent tumor growth in a mouse model of prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 108: 4938-4943, 2011.
36. Futami, H., Sakai, R.: All-trans retinoic acid downregulates ALK in neuroblastoma cell lines and induces apoptosis in neuroblastoma cell lines with activated ALK. *Cancer Lett* 297: 220-225, 2010.
37. Tazaki, T., Sasaki, T., Uto, K., Yamasaki, N., Tashiro, S., Sakai, R., Tanaka, M., Oda, H., Honda, Z., Honda, H.: p130Cas, Crk-associated substrate plays essential roles in liver development by regulating sinusoidal endothelial cell fenestration. *Hepatology* 52: 1089-1099, 2010.
38. Miyazawa, Y., Uekita, T., Hiraoka, N., Fujii, S., Kosuge, T., Kanai, Y., Nojima, Y., Sakai, R.: CUB domain-containing protein 1, a prognostic factor for human pancreatic cancers, promotes cell migration and extracellular matrix degradation. *Cancer Res* 70: 5136-5146, 2010.
39. Yamaguchi, H., Yoshida, S., Muroi E., Kawamura, M., Kouchi, Z., Nakamura, Y., Sakai, R., Fukami, K.: Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate and PIP5-kinase α are required for invadopodia formation in human breast cancer cells. *Cancer Sci* 101: 1632-1638, 2010.
40. Tanaka, M., Kamata, R., Yanagihara, K., Sakai, R.: Suppression of gastric cancer dissemination by ephrin-B1-derived peptide. *Cancer Sci* 101: 87-93, 2010.
41. Yagi, R., Tanaka, M., Sasaki, K., Kamata, R., Nakanishi, Y., Kanai, Y., Sakai, R.: ARAP3 inhibits peritoneal dissemination of scirrhous gastric carcinoma cells by regulating cell adhesion and invasion. *Oncogene* 30: 1413-1421, 2011.
42. Baba, A., Ohtake, F., Okuno, Y., Yokota, K., Okada, M., Imai, Y., Ni, M., Meyer, A.

- C., Igarashi, K., Kanno, J., Brown, M., Kato, S.: Signal-sensing activation of a histone lysine demethylase complex. *Nat Cell Biol* (in press).
43. 上西一弘、田中司朗、石田裕美、細井孝之、大橋靖雄、門脇孝、折茂肇：牛乳・乳製品摂取とメタボリックシンドロームに関する横断的研究. 日本栄養・食糧学会誌 63: 151-159, 2010.
44. Shiraki, M., Yamazaki, Y., Shiraki, Y., Hosoi, T., Tsugawa, N., Okano, T.: High level of serum undercarboxylated osteocalcin in patients with incident fractures during bisphosphonate treatment. *J Bone Miner Metab* 28: 578-584. 2010.
45. Hosoi, T.: Genetic aspects of osteoporosis. *J Bone Miner Metab* 28: 601-607, 2010.
46. Tanaka, S., Yoshimura, N., Kuroda, T., Hosoi, T., Saito, M., Shiraki, M.: The Fracture and Immobilization Score (FRISC) for risk assessment of osteoporotic Fracture and immobilization in postmenopausal women-A joint analysis of the Nagano, Miyama, and Taiji Cohorts. *Bone* 47: 1064-1070, 2010.
47. Shiraki, M., Kuroda, T., Miyakawa, N., Fujinawa, N., Tanzawa, K., Ishizuka, A., Tanaka, S., Tanaka, Y., Hosoi, T., Itoi, E., Morimoto, S., Itabashi, A., Sugimoto, T., Yamashita, T., Gorai, I., Mori, S., Kishimoto, H., Mizunuma, H., Endo, N., Nishizawa, Y., Takaoka, K., Ohashi, Y., Ohta, H., Fukunaga, M., Nakamura, T., Orimo, H.: Design of a pragmatic approach to evaluate the effectiveness of concurrent treatment for the prevention of osteoporotic fractures: rationale, aims and organization of a Japanese Osteoporosis Intervention Trial (JOINT) initiated by the Research Group of Adequate Treatment of Osteoporosis (A-TOP). *J Bone Miner Metab* 29: 37-43, 2011.
48. Sogabe, N., Maruyama, R., Baba, O., Hosoi, T., Goseki-Sone, M.: Effects of long-term vitamin K1 (phylloquinone) or vitamin K2 (menaquinone-4) supplementation on body composition and serum parameters in rats. *Bone* 48: 1036-1042, 2011.
2. 学会発表
【国際学会】
1. Murata, T., Takayama, K., Urano, T., Fujimura, T., Kumagai, J., Horie-Inoue, K., Ikeda, K., Takahashi, S., Ouchi, Y., Homma, Y., Inoue, S.: 14-3-3ζ is an androgen-regulated gene that activates the androgen receptor signaling and facilitates cell survival in prostate cancer. (2010.4.17-21) AACR 101st Annual Meeting 2010, Washington DC, USA.
2. Azuma, K., Casey, S., Kirchner, S., Ito, M., Urano, T., Horie, K., Ouchi, Y., Blumberg, B., Inoue, S.: Pregnane X receptor knockout mice display osteopenia with reduced bone formation and enhanced bone absorption. (2010.5.5-8) IOF World Congress on Osteoporosis & 10th European Congress on Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis, Florence, Italy.
3. Horie-Inoue, K., Ikeda, K., Inoue, S.: Altered hormonal regulation of gene expression in anti-hormone drug-resistant and hormone-deprived breast and prostate cancer cells. (2010.6.19-22) ENDO 2010: The 92nd Annual Meeting & Expo, San Diego, CA, USA.
4. Ito, M., Hiroi, H., Urano, T., Momoeda, M., Hosokawa, Y., Tsutumi, R., Koizumi, M., Yano, T., Inoue, S., Taketani, Y.: A progesterone responsive gene, 14-3-3τ, upregulates the transcriptional activity of

- progesterone receptor B (PR-B) in uterine endometrium. (2010.6.19-22) ENDO 2010: The 92nd Annual Meeting & Expo, San Diego, CA, USA.
5. Inoue, S.: Anti-aging views from sex steroid responsive genes in breast and prostate cancers (2010.8.22-24) Asian Aging Core for Longevity 2010, Jeju, Korea.
 6. Horie-Inoue, K., Ikeda, K., Inoue, S.: Effects of long-term bicalutamide treatment on androgen-dependent gene regulation in prostate cancer cells. (2010.9.12-16) The 6th International Symposium on Hormonal Oncogenesis in Japan, Chiba, Japan.
 7. Urano, T., Shiraki, M., Yagi, H., Sato, M., Ouchi, Y., Inoue, S.: Large scale human SNP analysis revealed an association of GPR98 gene polymorphisms with bone mineral density in postmenopausal women and Gpr98 deficient mice display osteopenia (2010.10.11-15) American Society of Bone and Mineral Research 32nd Annual Meeting, Toronto, Ontario, Canada.
 8. Horie-Inoue, K., Ikeda, K., Inoue, S.: Identification of androgen-inducible novel microRNAs in prostate cancer cells by short RNA sequencing (2011.2.11-16) MicroRNAs and Non-Coding RNAs and Cancer (J5), Keystone Symposia, Banff, Alberta, Canada.
 9. Kato, S.: Physiological function VDR in gene regulation. (2010.5.14) School of Medicine, Kyungpook National University Seminar, Daegu, Korea.
 10. Kato, S.: DNA Demethylation in hormonal-induced transcriptional depression. (2010.5.14-15) 22nd Annual Conference of the Korean Society of Bone Metabolism, Daegu, Korea.
 11. Kato, S.: Hormonal gene regulation through DNA methylation/demethylation. (2010.6.6-11) Federation of American Societies for Experimental Biology (FASEB), Summer Research Conferences, "Biological Methylation: from DNA to Histones", Carefree, USA.
 12. Kato, S.: The role of co-regulators/co-regulator complexes in NR function. (2010.6.17-23) 16th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology, Copenhagen, Denmark.
 13. Kato, S.: Epigenetic regulators supporting nuclear receptor function. (2010.9.7-10) Signaling to Chromatin 2010, Cambridge, UK.
 14. Kato, S.: Epigenetic regulators supporting nuclear receptor function. (2010.10.1) First International Symposium for the "Advances in Animal Models for Human diseases and Drug Discovery", Daegu, Korea.
 15. Imai, Y., Kondoh, S., Matsumoto, T., Wakitani, S., Takaoka, K., Brown, M., Kato, S.: Physiological Impact of Osteoblastic Androgen Receptor in Androgen Anabolic Action. (2010.10.11-15) American Society of Bone and Mineral Research 32nd Annual Meeting, Toronto, Ontario, Canada.
 16. Youn, M.Y., Minehata, K., Takada, I., Imai, Y., Nakamura, T., Suzuki, T., Kato, S.: Jmjd5, JmjC-domain-containing protein, is an osteoclastogeni-repressor. (2010.10.11-15) American Society of Bone and Mineral Research 32nd Annual Meeting, Toronto, Ontario, Canada.
 17. Kato, S.: Molecular Basis of epigenetic regulation. (2010.11.8-10) The Inaugural Lyon-Tokyo, Encounters in Biosciences (BMIC Joint session: Plenary meeting of the Doctoral School), Lyon, France.
 18. Kato, S.: Transcriptional co-regulators for nuclear receptor. (2010.11.8-10) The

- Inaugural Lyon-Tokyo, Encounters in Biosciences (ENS de Lyon-Todai Workshop "Control of gene expression in normal and pathologic cells"), Lyon, France.
19. Kato, S.: The role of sex steroid hormone receptors in bone. (2010.11. 8-10) The Inaugural Lyon-Tokyo, Encounters in Biosciences (RETIM Joint session: <Mineralised Tissues>), Lyon, France.
 20. Inoue, K., Matsumoto, T., Imai, Y., Kato, S.: The biological function of Uty in sex differences of skeletal growth. (2011.1. 10-15) Keystone Symposia, Histone Code: Fact or Fiction?, Utah, USA.
 21. Youn, M.-Y., Minehata, K., Takada, I., Imai, Y., Nakamura, T., Suzuki, T., Kato, S.: Jmjd5 is a novel osteoclastogenic repressor. (2011.1.10-15) Keystone Symposia, Histone Code: Fact or Fiction?, Utah, USA.
 22. Kato, H., Yokoyama, A., Fukuda, Y., Ito, S., Suzuki, E., Tanabe, M., Fujiyama, S., Kimura, S., Ueda, T., Murata, T., Lim, J., Shiozaki, Y., Takeyama, K., Kato, S.: Identification and characterization of a novel co-repressor of LXR β . (2011.1.10-15) Keystone Symposia, Histone Code: Fact or Fiction?, Utah, USA.
 23. Hashiba, W., Hiroki Sekine, H., Yokoyama, A., Chikanishi, T., Fujiki, R., Kato, S.: Proteomic analysis for Histone H2B interacting factors. (2011.1.10-15) Keystone Symposia, Histone Code: Fact or Fiction?, Utah, USA.
 24. Fujiki, R., Chikanishi, T., Hashiba, W., Roeder, W.G., Kato, S.: GlcNAcylation of a histone methyltransferase in retinoic acid-induced granulopoiesis. (2011.1.10-15) Keystone Symposia, Histone Code: Fact or Fiction?, Utah, USA.
 25. Kimura, S., Tanabe, M., Ueda, T., Murata, T., Ito, I., Suzuki, E., Lim, J., Fujiyama, S., Kato, H., Shiozaki, Y., Takeyama, K., Kato, S.: A bromodomain containing protein, *sperkin*, is a novel histone kinase in spermatogenesis. (2011.1.10-15) Keystone Symposia, Histone Code: Fact or Fiction?, Utah, USA.
 26. Sakai, R., Tanaka, M.: A novel phosphoprotein, Ossa/C9orf10 protect cancer cells from oxidative stress-induced apoptosis. (2010.2.5-9) 8th Joint International Conference of AACR/JCA, Hawaii, USA.
 27. Miyake, I., Kamata, R., Futami, H., Sakai, R.: Analysis of cellular mediators of oncogenic signaling originating from activated ALK in neuroblastoma cells. (2010.6.21-24) Advances in Neuroblastoma Research 2010, Stockholm, Sweden.
 28. Miyake, I., Kamata, R., Futami, H., Sakai, R.: Analysis of oncogenic substrate proteins of activated ALK in neuroblastoma cells. (2010.8.18-22) 16th Protein Phosphorylation and Cell Signaling Meeting, La Jolla, USA.
- 【国内学会】
1. 土橋尊志、森圭介、樺澤昌、田北博保、上山数弘、堀江公仁子、井上聡、栗田卓也、米谷新：加齢黄斑変性における光線力学的治療予後と HTRA1-rs11200638 遺伝子多型との関係 (2010.4.15-18) 第 114 回日本眼科学会総会 (名古屋)
 2. 伊藤正典、廣井久彦、百枝幹雄、浦野友彦、細川有美、堤亮、善利史子、小泉美奈子、黒澤貴子、矢野哲、井上聡、武谷雄二：子宮内膜におけるプロゲステロン応答遺伝子 14-3-3 τ (tau)の機能解析 (2010.4.23-25) 第 62 回日本産科婦人科学会学術講演会 (東京)
 3. 浦野友彦、白木正孝、大内尉義、井上聡：葉酸トランスポーター遺伝子多型

- は血中葉酸値を規定し骨粗鬆症ならびに骨折発症に関わる (2010.6.11-13) 第10回日本抗加齢医学会総会 (京都)
4. 東浩太郎、池田和博、浦野友彦、大内尉義、井上聡 : エストロゲン受容体欠損マウスを用いた骨芽細胞におけるエストロゲン応答遺伝子の検討 (2010.6.11-13) 第10回日本抗加齢医学会総会 (京都)
 5. 堀江公仁子、森圭介、米谷新、井上聡 : [最優秀演題賞受賞講演]日本人加齢黄斑変性の罹患リスク予測の検討 (2010.6.11-13) 第10回日本抗加齢医学会総会 (京都)
 6. 村田太郎、高山賢一、浦野友彦、熊谷仁平、藤村哲也、高橋悟、大内尉義、本間之夫、井上聡 : アンドロゲン応答とアンドロゲン依存性増殖に関わるマイクロ RNA の同定とその機能 (2010.6.17-18) 第3回前立腺生物学シンポジウム (三重)
 7. 重川崇、伊地知暢広、津田均、池田和博、堀江公仁子、大崎昭彦、佐伯俊昭、井上聡 : フォークヘッド転写因子 FOXP1 は乳癌においてエストロゲンシグナル調節に関与する (2010.6.24-25) 第18回日本乳癌学会学術総会 (札幌)
 8. 東浩太郎、Stephanie Casey、浦野友彦、大内尉義、Bruce Blumberg、井上聡 : 核内受容体 PXR ノックアウトマウスは加齢に伴い変形性膝関節症様の变化を呈する (2010.6.24-26) 第52回日本老年医学会学術集会 (東京)
 9. 高山賢一、浦野友彦、大内尉義、井上聡 : ヒト 21、22 番染色体におけるアンドロゲン受容体結合部位の探索 (2010.6.24-26) 第52回日本老年医学会学術集会 (東京)
 10. 東浩太郎、池田和博、大内尉義、井上聡 : エストロゲンの genomic および nongenomic 作用 (Genomic and nongenomic actions of estrogen) (2010.7.9) The 6th Young Endocrinologist conference (長崎)
 11. 井上聡 : [カレントコンセプト] 骨の老化とアンチエイジング—骨のアンチエイジングとビタミン K (2010.7.21-23) 第28回日本骨代謝学会学術集会 (東京)
 12. 東浩太郎、大内尉義、井上聡 : [シンポジウム] 性ホルモンと骨代謝—骨軟骨におけるエストロゲン作用 (2010.7.21-23) 第28回日本骨代謝学会学術集会 (東京)
 13. 伊地知暢広、池田和博、堀江公仁子、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: EPAS1 遺伝子は骨芽細胞分化を抑制する (2010.7.21-23) 第28回日本骨代謝学会学術集会 (東京)
 14. 高山賢一、片山慎太郎、堀江公仁子、池田和博、浦野友彦、大内尉義、林崎良英、井上聡 : [学会賞 (基礎部門) 受賞] 次世代シーケンサーを活用したアンドロゲン依存性転写開始点の包括的同定による前立腺癌におけるアンドロゲン標的シグナルの解析 (2010.7.30-31) 第29回日本アンドロロジー学会学術大会 (東京)
 15. 高山賢一、大内尉義、井上聡 : [シンポジウム] 前立腺癌細胞におけるアンドロゲン受容体の役割 (2010.7.30-31) 第11回ホルモンと癌研究会 (名古屋)
 16. Inoue, S.: [International Session] CAGE and ChIP-chip/ChIP-seq analyses reveal genome-wide androgen receptor signaling in prostate cancer cells. (2010.9.22-24) 第69回日本癌学会学術総会 (大阪)
 17. Takayama, K., Tsutsumi, S., Horie-Inoue, K., Ikeda, K., Urano, T., Ouchi, Y., Aburatani, H., Inoue, S.: ChIP analysis on array reveals genome-wide androgen receptor -binding sites in human prostate

- cancer cells. (2010.9.22-24) 第 69 回日本癌学会学術総会 (大阪)
18. Obinata, D., Takayama, K., Urano, T., Takahashi, S., Inoue, S.: ARFGAP3, an androgen target gene, promotes prostate cancer cell proliferation and migration. (2010.9.22-24) 第 69 回日本癌学会学術総会 (大阪)
 19. 伊地知暢広、池田和博、堀江公仁子、井上聡: 間葉系由来細胞の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 (2010.10.1-2) 第 31 回日本肥満学会 (前橋)
 20. 浦野友彦、白木正孝、八木秀司、佐藤真、大内尉義、井上聡: SNP アレイを用いた骨量との関連解析-ヒトゲノム、マウスモデル、ならびに発現解析を用いた骨粗鬆症疾患関連遺伝子の同定 (2010.10.21-23) 第 12 回日本骨粗鬆症学会 (大阪)
 21. 井上聡: [ランチョンセミナー] エストロゲン及びアンドロゲン依存性の腫瘍細胞増殖機構 (2010.11.27) 第 18 回日本ステロイドホルモン学会 (名古屋)
 22. 村田太郎、高山賢一、浦野友彦、藤村哲也、池田和博、堀江公仁子、高橋悟、大内尉義、本間之夫、井上聡: 次世代シーケンサーによるアンドロゲン応答に関わるマイクロ RNA の同定とその機能解析 (2010.11.27) 第 18 回日本ステロイドホルモン学会 (名古屋)
 23. 池田和博、津久井通、堀江公仁子、井上聡: 活性型エストロゲン受容体を軟骨細胞で発現するトランスジェニックマウスの解析 (2010.11.27) 第 18 回日本ステロイドホルモン学会 (名古屋)
 24. 伊地知暢広、重川崇、池田和博、堀江公仁子、津田均、大崎昭彦、佐伯俊昭、井上聡: エストロゲン関連受容体 ERR γ は乳がんにおける細胞増殖とエストロゲンシグナル経路を調節する (2010.11.27) 第 18 回日本ステロイドホルモン学会 (名古屋)
 25. Takayama, K., Tsutsumi, S., Katayama, S., Horie-Inoue, K., Ikeda, K., Urano, T., Ouchi, Y., Hayashizaki, Y., Aburatani, H., Inoue, S.: Integrative analysis of androgen receptor signaling in prostate cancer cells by cap analysis of gene expression (CAGE) and chromatin immunoprecipitation analysis on array in prostate cancer cells. (2010.12.7-10) BMB2010 (第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会) (神戸)
 26. 池田和博、津久井通、堀江公仁子、井上聡: 骨芽細胞において活性型エストロゲン受容体を過剰発現するマウスは骨密度の増加を示す (2010.12.7-10) BMB2010 (第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会) (神戸)
 27. 遠藤弘史、池田和博、堀江公仁子、井上聡: Terf/TRIM17 は細胞周期関連蛋白質 ZWINT を介して細胞増殖を制御する (2010.12.7-10) BMB2010 (第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会) (神戸)
 28. Oyama, M., Nagashima, T., Kozuka-Hata, H., Yumoto, N., Shiraishi, Y., Ikeda, K., Kuroki, Y., Gotoh, N., Inoue, S., Kitano, H., Okada-Hatakeyama, M.: Integrative analysis of phosphoproteome and transcriptome dynamics defines drug-resistance properties of breast cancer (2010.12.7-10) BMB2010 (第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会) (神戸)
 29. 井上聡: ホルモン依存性癌におけるホルモン作用機構 (2010.12.11) 第 26 回前立腺シンポジウム (品川)
 30. 村田太郎、高山賢一、浦野友彦、藤村哲也、池田和博、堀江公仁子、高橋悟、大内尉義、本間之夫、井上聡: 次世代

- シーケンサーによるアンドロゲン応答とアンドロゲン依存性増殖に関わるマイクロRNAの同定とその機能解析 (2011.1.29) 第11回関東ホルモンと癌研究会 (新宿)
31. 阿部弥生、伊地知暢広、池田和博、茅野秀一、堀江公仁子、竹田省、井上聡：子宮内膜癌におけるFOXA1の発現は予後良好因子に関連する (2011.1.29) 第11回関東ホルモンと癌研究会 (新宿)
 32. 大日方大亮、高山賢一、浦野友彦、堀江公仁子、池田和博、大内尉義、高橋悟、井上聡：前立腺癌における新規アンドロゲン応答遺伝子ARFGAP3の分子生物学的検討 (2011.3.11-12) 第20回泌尿器科分子・細胞研究会 (三重)
 33. 于太永、近藤剛史、金藤紫乃、今井祐記、松本高広、加藤茂明：骨代謝制御機構におけるダイオキシン受容体(AhR)の機能解析 (2010.7.21-23) 第28回日本骨代謝学会学術集会 (東京)
 34. Ohtake, F., Fujii-Kuriyama, Y., Kato, S.: Ligand-selective poly-ubiquitin chain formation of AhR, a component of E3 complex. (2010.9.22-24) 第69回日本癌学会学術総会 (大阪)
 35. 井上和樹、松本高広、今井祐記、加藤茂明：Y染色体遺伝子Utyの性差形成における機能解析 (2010.12.7-10) BMB2010: 第33回日本分子生物学会年会、第83回日本生化学会大会 (神戸)
 36. 横山敦、奥野陽亮、橋場和華、関根弘樹、藤山沙理、北川浩史、藤木亮次、加藤茂明：ヒストン脱メチル化酵素による神経分化制御メカニズムの解析 (2010.12.7-10) BMB2010: 第33回日本分子生物学会年会、第83回日本生化学会大会 (神戸)
 37. 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 (2010.12.7-10) BMB2010: 第33回日本分子生物学会年会、第83回日本生化学会大会 (神戸)
 38. 橋場和華、関根弘樹、横山敦、近西俊洋、藤木亮次、加藤茂明：生化学的手法による新規ヒストンH2B相互作用因子の探索 (2010.12.7-10) BMB2010: 第33回日本分子生物学会年会、第83回日本生化学会大会 (神戸)
 39. 今井祐記、金藤紫乃、井上和樹、Min-Young Youn、松本高広、辻直也、星野麻衣子、Myles Brown、加藤茂明：骨芽細胞におけるアンドロゲン受容体高次機能解明 (2010.12.7-10) BMB2010: 第33回日本分子生物学会年会、第83回日本生化学会大会 (神戸)
 40. 村田拓哉、伊藤紗弥、鈴木絵里子、田辺真彦、藤山沙理、木村周平、上田崇、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因子の探索 (2010.12.7-10) BMB2010: 第33回日本分子生物学会年会、第83回日本生化学会大会 (神戸)
 41. Ohtake, F., Kato, S.: Ligand-selective poly-ubiquitylation of AhR involves a transcriptional co-regulator CBP (2010.12.7-10) BMB2010: 第33回日本分子生物学会年会、第83回日本生化学会大会 (神戸)
 42. 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 (2010.12.7-10) BMB2010: 第33回日本分子生物学会年会、第83回日本生化学会大会 (神戸)
 43. 藤木亮次、近西俊洋、橋場和華、関根弘樹、横山敦、加藤茂明：核内O-GlcNAc修飾を介するエピゲノム制御機構の新たな作用点の探索 (2010.12.7-10) BMB2010: 第33回日本分子生物学会年会、第83回日本生化学会大会 (神戸)
 44. 武山健一、沢津橋俊、林珍仙、伊藤紗

- 弥、田辺真彦、村田拓哉、木村周平、上田崇、加藤裕美、汐崎裕美、藤山沙理、伊藤敬、加藤茂明：クロマチン構造調節を介した核内受容体の転写制御機構の解析 (2010.12.7-10) BMB 2010: 第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会 (神戸)
45. 木村周平、田辺真彦、上田崇、村田拓哉、伊藤紗弥、鈴木絵里子、林珍仙、藤山沙理、加藤裕美、汐崎裕美、武山健一、加藤茂明：精母細胞特異的な新たなクロマチン構造変換機構の解明 (2010.12.7-10) BMB2010: 第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会 (神戸)
46. 林珍仙、沢津橋俊、伊藤紗弥、鈴木絵里子、田辺真彦、木村周平、上田崇、藤山沙理、村田拓哉、松川紘之、加藤裕美、汐崎裕美、武山健一、加藤茂明：活性型クロマチン構造調節に関わる転写共役因子の探索及び機能解析 (2010.12.7-10) BMB2010: 第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会 (神戸)
47. 上北尚正、堺隆一：癌細胞の足場非依存性増殖における CDCP1 の Autophagy 抑制の重要性(2010.6.16-17) 第 19 回日本がん転移学会学術集会・総会 (金沢)
48. 山口英樹、堺隆一：PI3-キナーゼシグナルは乳癌細胞による浸潤突起形成及び細胞外基質分解を制御する (2010.6.16-17) 第 19 回日本がん転移学会学術集会・総会 (金沢)
49. 二見仁康、堺隆一：活性化 ALK を有する神経芽腫における RET の役割 (2010.9.22-24) 第 69 回日本癌学会総会 (大阪)
50. 大木理恵子、堺隆一：p53 機能を制御する shRNA の網羅的スクリーニング (2010.9.22-24) 第 69 回日本癌学会総会 (大阪)
51. 上北尚正、岩川麗香、横田淳、堺隆一：がん細胞の足場非依存性増殖及び運動能・浸潤能に関与する CDCP1 の Ras による発現誘導と機能制御 (2010.9.22-24) 第 69 回日本癌学会総会 (大阪)
52. 宮澤悠里、上北尚正、山口英樹、堺隆一：がん細胞の浸潤に関与する CDCP1 及び下流因子 PKC δ の機能解析 (2010.9.22-24) 第 69 回日本癌学会総会 (大阪)
53. 山口英樹、堺隆一、深見希代子：乳癌細胞の浸潤突起形成における PI3-kinase シグナル伝達経路の役割 (2010.9.22-24) 第 69 回日本癌学会総会 (大阪)
54. 八木礼子、上北尚正、堺隆一：肺がんの骨転移モデル作成と骨転移関連因子の探索 (2010.9.22-24) 第 69 回日本癌学会総会 (大阪)

分担研究報告書

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

核内受容体、核内受容体共役因子の
骨粗鬆症ならびに関連疾患における機能解析

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】

ビタミンDの生理作用はカルシウム代謝、細胞の増殖・分化など多岐にわたるが、これらの作用はビタミンD受容体(VDR)を介し発揮される。ビタミンD受容体(VDR)遺伝子欠損(Conventional-VDRKO)マウスは骨形成不全、低カルシウム・低リン血症、高副甲状腺ホルモン(PTH)血症、高1,25(OH)₂D血症、脱毛といったクル病症状を示したが、低カルシウム・低リン血症を伴う骨形成不全は二次性副甲状腺機能亢進症によって引き起こされた可能性も否定できない。そこで我々は骨芽細胞特異的 VDRKO(Ob-VDRKO)マウスを作出し解析することにより、ビタミンDの骨芽細胞を介した骨への直接作用の解明を試みた。その結果Ob-VDRKOマウスは対照群と比較し、血中カルシウム、リン、PTH濃度はいずれも正常であったが、骨量および骨密度の増加が認められた。また骨形態計測の結果Ob-VDRKOマウスでは、骨吸収の抑制が観察された。以上の結果から、骨芽細胞のVDRは骨量の負の調節因子として働くことが示唆された。

A. 研究目的

ビタミンDの生理作用はカルシウム代謝、細胞の増殖・分化など多岐にわたるが、これらの作用はビタミンD受容体(VDR)を介し発揮される。ビタミンD受容体(VDR)遺伝子欠損(Conventional-VDRKO)マウスは骨形成不全、低カルシウム・低リン血症、高副甲状腺ホルモン(PTH)血症、高1,25(OH)₂D血症、脱毛といったクル病症状を示したが、低Ca・低P血症を伴う骨形成不全は二次性副甲状腺機能亢進症によって引き起こされた可能性も否定できない。そこで我々は骨芽細胞特異的 VDRKO(Ob-VDRKO)マウスを作出し解析することによりビタミンDの骨芽細胞を介した骨への直接作用の解

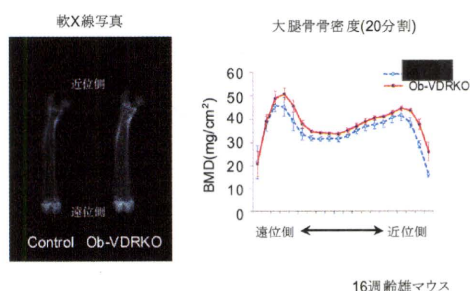
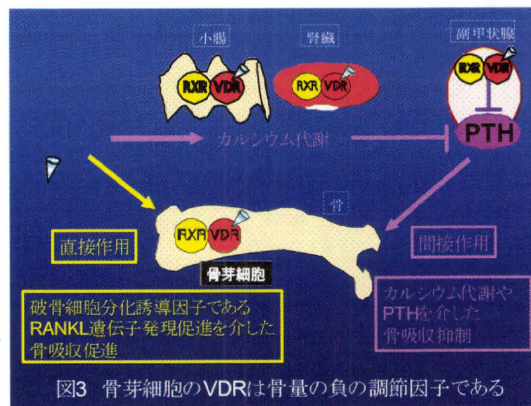
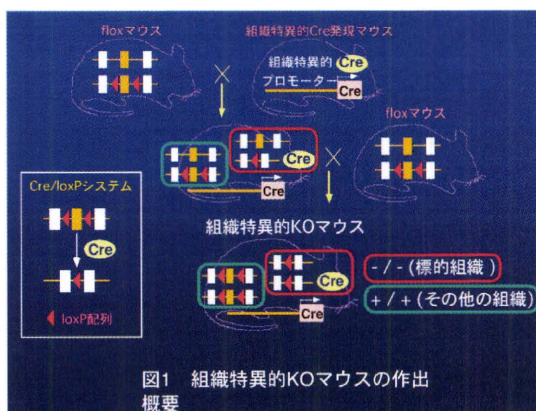
明を試みた。

B. 研究方法

まずVDR遺伝子座にloxP配列を挿入したVDR floxマウスを作出し、骨芽細胞特異的にCreリコンビナーゼを発現するCol.α1(I)-Creトランスジェニックマウスとの交配により骨芽細胞特異的VDRKO(Ob-VDRKO)マウスを作出しその表現型を解析した(図1、次頁)。

C. 研究結果

Ob-VDRKOマウスを解析した結果、対照群と比較し、血中カルシウム、リン、PTH濃度はいずれも正常であったが、骨量および骨密度の増加が認められた(図2)。



骨形態計測の結果 Ob-VDRKO マウスでは、骨形成の指標には変化が見られなかったが、骨吸収の指標が減少していた。さらに Ob-VDRKO マウスでは骨吸収を担う成熟破骨細胞への分化誘導因子である RANKL の遺伝子発現が有意に減少していた。

D. 考察

本研究の結果、Ob-VDRKO マウスでは血中カルシウム、リン、PTH 濃度はいずれも正常であったことから、生体内におけるカルシウム代謝は正常であると考えられる。にもかかわらず Ob-VDRKO マウスでは骨吸収の抑制による骨量増加が認められたことから、VDR は腎臓、小腸、副甲状腺においてカルシウム代謝を調節することにより骨に対して間接的に作用するばかりではなく、骨芽細胞の VDR が骨代謝制御に直接関与しており、骨芽細胞の VDR は骨量の負の調節因子として働くことが示唆された(図 3)。

E. 結論

本年度の研究により、骨芽細胞の VDR は骨量の負の調節因子として働くことが示唆された。今後マイクロアレイ解析等により骨芽細胞における VDR の標的遺伝子を網羅的に探索することにより、骨芽細胞におけるビタミン D の作用メカニズムが明らかにされる可能性がある。

F. 研究発表

- 論文発表
 - Akimoto, C., Ueda, T., Inoue, K., Yamaoka, I., Sakari, M., Obara, W., Fujioka, T., Nagahara, A., Nonomura, N., Tsutsumi, S., Aburatani, H., Miki, T., Matsumoto, T., Kitagawa, H., Kato, S.: Testis-specific protein on Y chromosome (TSPY) represses the activity of the androgen receptor in androgen-dependent testicular germ-cell tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 107: 19891-19896, 2010.
 - Youn, M.Y., Takada, I., Imai, Y., Yasuda, H., Kato, S.: Transcriptionally active nuclei are selective in mature multinucleated osteoclasts. *Genes Cells* 15, 1025-1035, 2010.
 - Yokoyama, A., Okuno, Y., Chikanishi, T., Hashiba, W., Sekine, H., Fujiki, R., Kato, S.: KIAA1718 is a histone demethylase that erases repressive histone methyl marks. *Genes Cells* 15: 867-873, 2010.
 - Matsuyama, R., Takada, I., Yokoyama, A., Fujiyama-Nakamura, S., Tsuji, N.,

- Kitagawa, H., Fujiki, R., Kim, M., Kouzu-Fujita, M., Yano, T., Kato, S.: Double PHD fingers protein DPF2 recognizes acetylated histones and suppresses the function of estrogen-related receptor alpha through histone deacetylase 1. *J Biol Chem* 285: 18166-18176, 2010.
5. Imai, Y., Kondoh, S., Kouzmenko, A., Kato, S.: Minireview: osteoprotective action of estrogens is mediated by osteoclastic estrogen receptor- α . *Mol Endocrinol* 24: 877-885, 2010.
 6. Chikanishi, T., Fujiki, R., Hashiba, W., Sekine, H., Yokoyama, A., Kato, S.: Glucose-induced expression of MIP-1 genes requires O-GlcNAc transferase in monocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 39, 865-870, 2010.
 7. Takada, I., Tsuji, N., Youn, M. Y., Fujiyama, S., Okada, M., Imai, Y., Kondo, S., Kitakawa, H., Yasuda, H., Kato, S.: Purification and identification of estrogen receptor alpha co-regulators in osteoclasts. *Ann N Y Acad Sci* 1192: 201-207, 2010.
 8. Takada, I., Kouzmenko, A.P., Kato, S.: PPAR- γ signaling crosstalk in mesenchymal stem cells. *PPAR Research* 2010, Article 341671, 6 pages, 2010.
 9. Youn, M.Y., Fujiyama-Nakamura, S., Takada, I., Imai, Y., Kato, S.: Identification of osteoclastic factors in the nuclear envelope of mature, multinucleated osteoclasts. *Biosci Biotechnol Biochem* 74: 1956-1959, 2010.
 10. Sawatsubashi, S., Murata, T., Lim, J., Fujiki, R., Ito, S., Suzuki, E., Tanabe, M., Zhao, Y., Kimura, S., Fujiyama, S., Ueda, T., Umetsu, D., Ito, T., Takeyama, K., Kato, S.: A histone chaperone, DEK, transcriptionally coactivates a nuclear receptor. *Genes Dev* 24: 159-170, 2010.
 11. Ochiai, E., Kitagawa, H., Takada, I., Fujiyama, S., Sawatsubashi, S., Kim, M. S., Mezaki, Y., Tsushima, Y., Takagi, K., Azuma, Y., Takeyama, K., Yamaoka, K., Kato, S., Kamimura, T.: CDP/cut is an osteoblastic coactivator of the vitamin D receptor (VDR). *J Bone Miner Res* 25: 1157-1166, 2010.
 12. Chambon, C., Duteil, D., Vignaud, A., Ferry, A., Messaddeq, N., Malivindi, R., Kato, S., Chambon, P., Metzger, D.: Myocytic androgen receptor controls the strength but not the mass of limb muscles. *Proc Natl Acad Sci USA* 107: 14327-14332, 2010.
 13. Takahashi, S., Watanabe, T., Okada, M., Inoue, K., Ueda, T., Takada, I., Watabe, T., Yamamoto, Y., Fukuda, T., Nakamura, T., Akimoto, C., Fujimura, T., Hoshino, M., Imai, Y., Metzger, D., Miyazono, K., Minami, Y., Chambon, C., Kitamura, T., Matsumoto, T., Kato, S.: Noncanonical Wnt signaling mediates androgen-dependent tumor growth in a mouse model of prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 108: 4938-4943, 2011.
 14. Baba, A., Ohtake, F., Okuno, Y., Yokota, K., Okada, M., Imai, Y., Ni, M., Meyer, A. C., Igarashi, K., Kanno, J., Brown, M., Kato, S.: Signal-sensing activation of a histone lysine demethylase complex. *Nat Cell Biol* (in press).
2. 学会発表
【国際学会】
1. Kato, S.: Physiological function VDR in gene regulation. (2010.5.14) School of Medicine, Kyungpook National University Seminar, Daegu, Korea.
 2. Kato, S.: DNA Demethylation in hormonal-induced transcriptional

- depression. (2010.5.14-15) 22nd Annual Conference of the Korean Society of Bone Metabolism, Daegu, Korea.
3. Kato, S.: Hormonal gene regulation through DNA methylation/demethylation. (2010.6.6-11) Federation of American Societies for Experimental Biology (FASEB), Summer Research Conferences, "Biological Methylation: from DNA to Histones", Carefree, USA.
 4. Kato, S.: The role of co-regulators/co-regulator complexes in NR function. (2010.6.17-23) 16th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology, Copenhagen, Denmark.
 5. Kato, S.: Epigenetic regulators supporting nuclear receptor function. (2010.9.7-10) Signaling to Chromatin 2010, Cambridge, UK.
 6. Kato, S.: Epigenetic regulators supporting nuclear receptor function. (2010.10.1) First International Symposium for the "Advances in Animal Models for Human diseases and Drug Discovery", Daegu, Korea.
 7. Imai, Y., Kondoh, S., Matsumoto, T., Wakitani, S., Takaoka, K., Brown, M., Kato, S.: Physiological Impact of Osteoblastic Androgen Receptor in Androgen Anabolic Action. (2010.10.11-15) American Society of Bone and Mineral Research 32nd Annual Meeting, Toronto, Ontario, Canada.
 8. Youn, M.Y., Minehata, K., Takada, I., Imai, Y., Nakamura, T., Suzuki, T., Kato, S.: Jmjd5, JmjC-domain-containing protein, is an osteoclastogenirepressor. (2010.10.11-15) American Society of Bone and Mineral Research 32nd Annual Meeting, Toronto, Ontario, Canada.
 9. Kato, S.: Molecular Basis of epigenetic regulation. (2010.11.8-10) The Inaugural Lyon-Tokyo, Encounters in Biosciences (BMIC Joint session: Plenary meeting of the Doctoral School), Lyon, France.
 10. Kato, S.: Transcriptional co-regulators for nuclear receptor. (2010.11.8-10) The Inaugural Lyon-Tokyo, Encounters in Biosciences (ENS de Lyon-Todai Workshop "Control of gene expression in normal and pathologic cells"), Lyon, France.
 11. Kato, S.: The role of sex steroid hormone receptors in bone. (2010.11.8-10) The Inaugural Lyon-Tokyo, Encounters in Biosciences (RETIM Joint session: <Mineralised Tissues>), Lyon, France.
 12. Inoue, K., Matsumoto, T., Imai, Y., Kato, S.: The biological function of Uty in sex differences of skeletal growth. (2011.1.10-15) Keystone Symposia, Histone Code: Fact or Fiction?, Utah, USA.
 13. Youn, M.-Y., Minehata, K., Takada, I., Imai, Y., Nakamura, T., Suzuki, T., Kato, S.: Jmjd5 is a novel osteoclastogenic repressor. (2011.1.10-15) Keystone Symposia, Histone Code: Fact or Fiction?, Utah, USA.
 14. Kato, H., Yokoyama, A., Fukuda, Y., Ito, S., Suzuki, E., Tanabe, M., Fujiyama, S., Kimura, S., Ueda, T., Murata, T., Lim, J., Shiozaki, Y., Takeyama, K., Kato, S.: Identification and characterization of a novel co-repressor of LXR β . (2011.1.10-15) Keystone Symposia, Histone Code: Fact or Fiction?, Utah, USA.
 15. Hashiba, W., Hiroki Sekine, H., Yokoyama, A., Chikanishi, T., Fujiki, R., Kato, S.: Proteomic analysis for Histone H2B interacting factors. (2011.1.10-15) Keystone Symposia, Histone Code: Fact or Fiction?, Utah, USA.
 16. Fujiki, R., Chikanishi, T., Hashiba, W., Roeder, W.G., Kato, S.: GlcNAcylation of a histone methyltransferase in retinoic

acid-induced granulopoiesis. (2011.1.10-15) Keystone Symposia, Histone Code: Fact or Fiction?, Utah, USA.

1. Kimura, S., Tanabe, M., Ueda, T., Murata, T., Ito, I., Suzuki, E., Lim, J., Fujiyama, S., Kato, H., Shiozaki, Y., Takeyama, K., Kato, S.: A bromodomain containing protein, *sperkin*, is a novel histone kinase in spermatogenesis. (2011.1.10-15) Keystone Symposia, Histone Code: Fact or Fiction?, Utah, USA.

【国内学会】

1. 于太永、近藤剛史、金藤紫乃、今井祐記、松本高広、加藤茂明：骨代謝制御機構におけるダイオキシン受容体 (AhR) の機能解析 (2010.7.21-23) 第 28 回日本骨代謝学会学術集会 (東京)
2. Ohtake, F., Fujii-Kuriyama, Y., Kato, S.: Ligand-selective poly-ubiquitin chain formation of AhR, a component of E3 complex. (2010.9.22-24) 第 69 回日本癌学会学術総会 (大阪)
3. 井上和樹、松本高広、今井祐記、加藤茂明：Y 染色体遺伝子 Uty の性差形成における機能解析 (2010.12.7-10) BMB2010: 第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会 (神戸)
4. 横山敦、奥野陽亮、橋場和華、関根弘樹、藤山沙理、北川浩史、藤木亮次、加藤茂明：ヒストン脱メチル化酵素による神経分化制御メカニズムの解析 (2010.12.7-10) BMB2010: 第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会 (神戸)
5. 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 (2010.12.7-10) BMB2010: 第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会 (神戸)
6. 橋場和華、関根弘樹、横山敦、近西俊洋、藤木亮次、加藤茂明：生化学的手法による新規ヒストン H2B 相互作用因子の探索 (2010.12.7-10) BMB2010: 第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会 (神戸)
7. 今井祐記、金藤紫乃、井上和樹、Min-Young Youn、松本高広、辻直也、星野麻衣子、Myles Brown、加藤茂明：骨芽細胞におけるアンドロゲン受容体高次機能解明 (2010.12.7-10) BMB 2010: 第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会 (神戸)
8. 村田拓哉、伊藤紗弥、鈴木絵里子、田辺真彦、藤山沙理、木村周平、上田崇、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因子の探索 (2010.12.7-10) BMB 2010: 第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会 (神戸)
9. Ohtake, F., Kato, S.: Ligand-selective poly-ubiquitylation of AhR involves a transcriptional co-regulator CBP (2010. 12.7-10) BMB2010: 第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会 (神戸)
10. 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 (2010.12.7-10) BMB 2010: 第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会 (神戸)
11. 藤木亮次、近西俊洋、橋場和華、関根弘樹、横山敦、加藤茂明：核内 O-GlcNAc 修飾を介するエピゲノム制御機構の新たな作用点の探索 (2010. 12.7-10) BMB2010: 第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会 (神戸)
12. 武山健一、沢津橋俊、林珍仙、伊藤紗弥、田辺真彦、村田拓哉、木村周平、上田崇、加藤裕美、汐崎裕美、藤山沙理、伊藤敬、加藤茂明：クロマチン構造調節を介した核内受容体の転写制

- 御機構の解析 (2010.12.7-10) BMB
2010: 第33回日本分子生物学会年会、
第83回日本生化学会大会 (神戸)
13. 木村周平、田辺真彦、上田崇、村田拓
哉、伊藤紗弥、鈴木絵里子、林珍仙、
藤山沙理、加藤裕美、汐崎裕美、武山
健一、加藤茂明: 精母細胞特異的な新
たなクロマチン構造変換機構の解明
(2010.12.7-10) BMB2010: 第33回日本
分子生物学会年会、第83回日本生化学
会大会 (神戸)
14. 林珍仙、沢津橋俊、伊藤紗弥、鈴木絵
里子、田辺真彦、木村周平、上田崇、
藤山沙理、村田拓哉、松川紘之、加藤
裕美、汐崎裕美、武山健一、加藤茂明:
活性型クロマチン構造調節に関わる
転写共役因子の探索及び機能解析
(2010.12.7-10) BMB2010: 第33回日本
分子生物学会年会、第83回日本生化学
会大会 (神戸)