

- Fujiyama, S., Matsukawa, H., Kouzmenko, A., Takeyama, K., Tomari, Y., Siomi, H., Kato, S.: Identification of novel insulator function to regulate chromatin formation through Dcr-2/Ago2 pathway. (2008.3.25-4.1) 2008 Keystone Symposia Conference (RNAi, MicroRNA, and Non-Coding RNA), Whistler, Canada.
3. Takada, I., Mihara, M., Suzawa, M., Kato, S.: A histone lysine methyltransferase activated by non-canonical Wnt signaling suppresses PPAR- γ function. (2008.3.29-4.5) 2008 Keystone Symposia Conference (Nuclear Receptors: Orphan Brothers), Whistler, Canada.
 4. Takeyama, K., Ito, S., Sawatsubashi, S., Kouzmenko, A., Suzuki, E., Zhao, Y., Yamagata, K., Tanabe, M., Kimura, S., Ueda, T., Murata, T., Matsukawa, H., Fujiyama, S., Hirabayashi, Y., Gotoh, Y., Kato, S.: Novel corepressor, SNASH induces neurogenesis through the transcriptional repressing for notch signaling. (2008.3.29-4.5) 2008 Keystone Symposia Conference (Nuclear Receptors: Orphan Brothers), Whistler, Canada.
 5. Ueda, T., Ito, S., Sawatsubashi, S., Kouzmenko, A., Suzuki, E., Yamagata, K., Zhao, Y., Tanabe, M., Kimura, S., Murata, T., Matsukawa, H., Fujiyama, S., Miki, T., Takeyama, K., Kato, S.: Aberrant expression of a novel androgen corepressor in testicular tumors. (2008.3.29-4.5) 2008 Keystone Symposia Conference (Nuclear Receptors: Orphan Brothers), Whistler, Canada.
 6. Okada, M., Takezawa, S., Mezaki, Y., Yamaoka, I., Takada, I., Kitagawa, H., Kato, S.: Switching of chromatin-remodeling complexes for estrogen receptor α . (2008.4.7-13) 2008 Keystone Symposia Conference (Molecular Basis for Chromatin Modifications and Epigenetic Phenomena), Snowmass, USA.
 7. Yokoyama, A., Takezawa, S., Schüle, R., Kitagawa, H., Kato, S.: Transrepressive function of TLX requires the histone demethylase, LSD1. (2008.4.7-13) 2008 Keystone Symposia Conference (Molecular Basis for Chromatin Modifications and Epigenetic Phenomena), Snowmass, USA.
 8. Murata, T., Sawatsubashi, S., Ito, S., Zhao, Y., Yamagata, K., Suzuki, E., Tanabe, M., Fujiyama, S., Kimura, T., Ueda, H., Matsukawa, K., Takeyama, K., Kato, S.: Analysis of a novel co-repressor, Z4 with *Drosophila* molecular genetics and proteomics. (2008.4.7-13) 2008 Keystone Symposia Conference (Molecular Basis for Chromatin Modifications and Epigenetic Phenomena), Snowmass, USA.
 9. Kimura, S., Ito, S., Sawatsubashi, S., Kouzmenko, A., Suzuki, E., Zhao, Y., Yamagata, K., Tanabe, M., Ueda, T., Fujiyama, S., Murata, T., Matsukawa, H., Takeyama, K., Kato, S.: *Drosophila* arginine methyltransferase 1 (DART1) modulates ecdysone receptor-mediated transcription in *Drosophila* metamorphosis. (2008.4.7-13) 2008 Keystone Symposia Conference (Molecular Basis for Chromatin Modifications and Epigenetic Phenomena), Snowmass, USA.
 10. Kato, S.: Nuclear O-glycosylation regulates histone methyltransferase activity of RAIGIN during retinoic acid-induced differentiation. (2008.4.6-10) International Workshop on Cell Regulations in Division and Arrest under Stress, Okinawa, Japan.

11. Kato, S.: Sex steroid hormones mediate osteoprotective effects by controlling osteoclast life cycle. (2008.4.10-12) 11th Frontiers in Nuclear Receptor Action Conference, Savannah, USA.
12. Kato, S.: Nuclear receptor function in skeletal tissues. (2008.5.14-16) NYAS on Integrative Physiology, New York, USA
13. Kato, S.: Control of gene expression by the VDR. (2008.6.15-18) The Endocrine Society's 90th Annual Meeting, San Francisco, USA.
14. Kato, S.: Function of nuclear sex hormone receptors in target tissues. (2008. 8.25-28) Annual Scientific Meeting of Endocrine Society of Australia (ESA) & Society for Reproductive Biology (SRB), Melbourne, Australia.
15. Kato, S., Imai, Y., Nakamura, T.: Estrogen mediate osteoprotective effects by controlling osteoclast life cycle. (2008. 8.28-30) Australian & New Zealand Bone & Mineral Society (ENZBMS), Melbourne, Australia.
16. Kato, S., Takada, I.: A non-canonical Wnt signal induces osteoblastogenesis through attenuatin PPARgamma-mediated adipogenesis. (2008.8.28-30) Australian & New Zealand Bone & Mineral Society (ENZBMS), Melbourne, Australia.
17. Kato, S.: The molecular mechanism of osteo-protective actions of sex hormones. (2008.9.4) Erasmus MC Lectures on Endocrinology, Rotterdam, The Netherlands.
18. Takada, I., Young, M.-Y., Imai, Y., Kato, S.: Biochemical characterization of ER α co-regulators in multinucleated mature osteoclasts. (2008.9.12-16) American Society of Bone and Mineral Research 30th Annual Meeting, Montreal, Canada.
19. Young, M.-Y., Takada, I., Kondou, S., Imai, Y., Kato, S.: Multinuclear expression of ER α in mature osteoclasts. (2008.9.12-16) American Society of Bone and Mineral Research 30th Annual Meeting, Montreal, Canada.
20. Kato, S.: Coactivator mediation of MR AF-1. (2008.9.10-12) The Mineralcorticoid Receptor-update on Biology, Structure and Ligands, Berlin, Germany.
21. Kato, S.: The mechanism of gene regulations by VDR. (2008.9.17) HSDM Grand Rounds Series at Harvard School of Dental Medicine, Boston, USA.
22. Kato, S.: Dioxin receptor is a ligand-dependent E3 ubiquitin ligase. (2008.10.20-21) Dioxin Toxicity: Mechanisms, Models, & Potential Health Risks, East Lansing, USA.
23. Kato, S.: Estrogen mediate osteoprotective by controlling osteoclast life cycle. (2008.11.22) The 20th Korean Society of Bone Metabolism Autumn Scientific Congress, Jeju-do, Korea.
24. Kato, S.: Regulated histone methylase / demethylase complexes supporting nuclear receptors. (2009.4.9-10) International Joint Symposium on "Cell Fate Regulation Research: Molecular Basis and Therapeutic Potentials", Kumamoto, Japan.
25. Kato, S.: Transcriptional regulation of steroid action. (2009.4.29-5.2) The New York Academy of Sciences (NYAS), 3rd Conference on Skeletal Biology and Medicine, New York, USA.
26. Kato, S.: Nuclear O-glycosylation regulates histone methyltransferase activity of MLL5 during retinoic acid-induced differentiation. (2009.5.12-13) The 66th Korean Society for Biochemistry and Molecular Biology Annual Meeting, Seoul, Korea.

27. Kato, S.: Non-canonical Wnt signaling and the osteoblast-adipocyte lineage decision. (2009.5.23-27) 36th European Symposium on Calcified Tissues, Vienna, Austria.
28. Kato, S.: Nuclear vitamin D receptor-regulated expression of the human CYP27B1 gene mediated the DNA methylation / demethylation. (2009.6.21-25) 16th International Conference on Cytochrome P450, Okinawa, Japan.
29. Kato, S.: The Role of histone modifying enzymes in gene regulation. (2009.6.23-26) The 24th Naito Conference "Nuclear Dynamics and RNA [II]", Sapporo, Japan.
30. Kato, S.: Epigenetic regulators for nuclear receptors. (2009.8.2-7) 21st IUBMB and 12th FAOBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, Shanghai, China.
31. Fujiki, R., Chikanishi, T., Hashiba, W., Ito, H., Takada, I., Roeder, G.R., Kitagawa, H., Kato, S.: GlcNAcylation of a histone methyltransferase in retinoic-acid-induced granulopoiesis. (2009.8.2-7) 21st IUBMB and 12th FAOBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, Shanghai, China.
32. Kato, S.: Regulated histone methyltransferase / Demethyltransferase supporting nuclear receptor function. (2009.8.23-28) Spetses Summer school in Athens, Athens, Greece.
33. Kato, S.: Regulated histone methyltransferases supporting nuclear. (2009.9.8) Dana-Farber Cancer Institute (Affiliated to Harvard Medical School) Seminar, Boston, USA.
34. Kato, S.: Biology and physiology of steroid hormone receptor. (2009.9.9-11) Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society (LWPES) / European Society for Pediatric Endocrinology (ESPE) 8th Joint Meeting Global Care in Pediatric Endocrinology, New York, USA.
35. Youn, M.-Y., Takada, I., Imai, Y., Kato, S.: A histone demethylase, Jmjd5, is an osteoclastogenic regulator. (2009.9.11-15) American Society of Bone and Mineral Research, 31st Annual Meeting, Denver, USA.
36. Kato, S.: Regulated histone methyltransferase / demethylase supporting nuclear receptor function. (2009.9.25-29) EMBO Conference, Nuclear Receptor: from molecular mechanisms to molecular medicine, Dubrovnik, Croatia.
37. Kato, S.: Epigenetic modifications supporting VDR-mediated gene regulations. (2009.10.4-8) 14th Workshop on Vitamin D, Brugge, Belgium.
38. 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. (2009.10.4-8) 14th Workshop on Vitamin D, Brugge, Belgium.
39. Yamamoto, Y., Memezawa, A., Takagi, K., Ochiai, E., Shindo M., Kato, S.: A tissue-specific function by unliganded VDR. (2009.10.4-8) 14th Workshop on Vitamin D, Brugge, Belgium.
40. 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. (2009.10.4-8) 14th Workshop on Vitamin D, Brugge, Belgium.
41. Kato, S.: Transcriptional regulation of steroid action. (2010.1.15-17) 2nd World Conference, Hormonal and Genetic Basis of Sexual Differentiation Disorders and

- Hot Topics in Endocrinology, Miami, USA.
42. Kato, S.: Epigenetic regulators supporting nuclear receptor function. (2010.1.21-22) Korea-Japan Chromatin & Epigenetics Joint Symposium 2010, Gangwon-do, Korea.
 43. Kato, S.: The role of co-regulators / co-regulator complexes in NR function. (2010.3.26-30) The 14th International Congress of Endocrinology (ICE2010), Kyoto, Japan.
 44. Yamamoto, Y., Memezawa, A., Takagi, K., Ochiai, E., Kato, S.: A Tissue-specific function by unliganded VDR. (2010.3.26-30) The 14th International Congress of Endocrinology (ICE2010), Kyoto, Japan.
 45. Matsumoto, T., Tsuji, N., Inoue, K., Kondo, S., Kondo, T., Yamamoto, Y., Okuno, Y., Sato, T., Kato, S.: Androgen and estrogen receptors triple knockout mice to evaluate biological impact on sex steroids hormones actions. (2010.3.26-30) The 14th International Congress of Endocrinology (ICE2010), Kyoto, Japan.
 46. Ohtake, F., Fujii-Kuriyama, Y., Kato, S.: Ah receptor acts as a ligand-dependent ubiquitin ligase. (2010.3.26-30) The 14th International Congress of Endocrinology (ICE2010), Kyoto, Japan.
 47. Fujiyama-Nakamura, S., Ito, S., Sawatsubashi, S., Suzuki, E., Tanabe, M., Kimura, S., Ueda, T., Murata, T., Takeyama, K., Kato, S.: Identification and characterization of a D12 mega size complex. (2010.3.26-30) The 14th International Congress of Endocrinology (ICE2010), Kyoto, Japan.
 48. Fujiki, R., Chikanishi, T., Hashiba, W., Roeder, R.C., Kitagawa, H., Kato, S.: Nuclear O-glycosylation of a histone methyltransferase facilitates RA-induced transcription and differentiation. (2010.3.26-30) The 14th International Congress of Endocrinology (ICE2010), Kyoto, Japan.
 49. Kato, S.: Physiological function VDR in gene regulation. (2010.5.14) School of Medicine, Kyungpook National University Seminar, Daegu, Korea.
 50. 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.
 51. 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.
 52. 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.
 53. Kato, S.: Epigenetic regulators supporting nuclear receptor function. (2010.9.7-10) Signaling to Chromatin 2010, Cambridge, UK.
 54. 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.
 55. 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.
 56. Youn, M.Y., Minehata, K., Takada, I., Imai, Y., Nakamura, T., Suzuki, T., Kato, S.

- S.: Jmjd5, JmjC-domain-containing protein, is an osteoclastogenic repressor. (2010.10.11-15) American Society of Bone and Mineral Research 32nd Annual Meeting, Toronto, Ontario, Canada.
57. 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.
58. 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.
59. 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.
60. 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.
61. 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.
62. 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.
63. 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.
64. 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.
65. 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. 北川浩史、山岡育子、目崎善弘、清水崇史、加藤茂明：グルココルチコイドレセプター(GR)による未知炎症制御メカニズムの解析 (2008.5.16-18) 第81回日本内分泌学会学術総会 (青森)
2. 金藤紫乃、今井祐記、高田伊知郎、中村貴、松本高広、加藤茂明：芽細胞を介したエストロゲンの直接作用—骨芽細胞特異的エストロゲン受容体欠損マウスの作出 (2008.10.29-31) 第26回日本骨代謝学会 (大阪)
3. 延珉榮、高田伊知郎、金藤紫乃、今井祐記、加藤茂明：成熟多核破骨細胞におけるエストロゲン受容体 ER α の発現解析 (2008.10.29-31) 第26回日本骨代謝学会 (大阪)
4. 北川浩史、山岡育子、岡田麻衣子、藤山沙理、加藤茂明：グルココルチコイドレセプター(GR)による未知炎症制御メカニズムの解析 (2008.11.22) 第16回日本ステロイドホルモン学会学術集会 (福井)
5. 伊藤紗弥、沢津橋俊、鈴木絵里子、趙

- 越、山形薫、田辺真彦、木村周平、上田崇、藤山沙理、村田拓哉、松川紘之、林珍仙、武山健一、加藤茂明：新規クロマチン構造調節因子 BAHD1 を介した転写抑制機構の解明 (2008.12.9-12) 第 31 回日本分子生物学会年会、第 81 回日本生化学会大会合同大会 (神戸)
6. 井上和樹、松本高広、山形 薫、秋本千央、米澤正祥、加藤茂明：Y 染色体遺伝子 Dby の miRNA 産生制御における機能解析 (2008.12.9-12) 第 31 回日本分子生物学会年会、第 81 回日本生化学会大会合同大会 (神戸)
 7. Min-Young Young, Ichiro Takada, Shino Kondoh, Yuuki Imai, Shigeaki Kato: Multinuclear expression of ER α in mature osteoclasts. (2008.12.9-12) 第 31 回日本分子生物学会年会、第 81 回日本生化学会大会合同大会 (神戸)
 8. 奥野陽亮、馬場敦史、大竹史明、加藤茂明：絶食シグナルによるヒストン脱メチル化酵素 PHF2 活性制御機構の解明 (2008.12.9-12) 第 31 回日本分子生物学会年会、第 81 回日本生化学会大会合同大会 (神戸)
 9. 横山敦、竹澤慎一郎、北川浩史、加藤茂明：オーファン核内受容体 TLX の転写抑制を介した神経幹細胞未分化維持機構の解明 (2008.12.9-12) 第 31 回日本分子生物学会年会、第 81 回日本生化学会大会合同大会 (神戸)
 10. 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 (2008.12.9-12) 第 31 回日本分子生物学会年会、第 81 回日本生化学会大会合同大会 (神戸)
 11. 金藤紫乃、今井祐記、高田伊知郎、中村貴、松本高広、加藤茂明：骨芽細胞におけるエストロゲンの作用の解明—骨芽細胞特異的エストロゲン受容体欠損マウスを用いて (2008.12.9-12) 第 31 回日本分子生物学会年会、第 81 回日本生化学会大会合同大会 (神戸)
 12. 山形薫、鈴木絵里子、沢津橋俊、伊藤紗弥、藤山沙理、田辺真彦、上田崇、村田拓哉、趙越、松川紘之、林珍仙、汐崎裕美、武山健一、加藤茂明：女性ホルモン・エストロゲンによる miRNA 産生抑制機構の解析 (2008.12.9-12) 第 31 回日本分子生物学会年会、第 81 回日本生化学会大会合同大会 (神戸)
 13. 村田拓哉、沢津橋俊、伊藤紗弥、鈴木絵里子、山形薫、趙越、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：ショウジョウバエ Zn-finger タンパク Z4 の新規クロマチン凝集化機能の解析 (2008.12.9-12) 第 31 回日本分子生物学会年会、第 81 回日本生化学会大会合同大会 (神戸)
 14. 沢津橋俊、武山健一、伊藤紗弥、鈴木絵里子、田辺真彦、趙越、山形薫、木村周平、村田拓哉、藤山沙理、上田崇、松川紘之、林珍仙、多羽田哲也、伊藤敬、加藤茂明：新規ヒストンシャペロン *Drosophila* DEK はクロマチン構造変換を介してエクダイソンレセプターの転写反応を正に制御する転写共役因子である (2008.12.9-12) 第 31 回日本分子生物学会年会、第 81 回日本生化学会大会合同大会 (神戸)
 15. 高田伊知郎、須澤美幸、加藤茂明：[シンポジウム] 骨組織分化における PPAR γ 機能制御因子群の解析—組織幹細胞とニッシャー (2008.12.9-12) 第 31 回日本分子生物学会年会、第 81 回日本生化学会大会合同大会 (神戸)
 16. 大竹史明、岡田麻衣子、西川亜美、藤井義明、加藤茂明：[シンポジウム] リガンド依存性転写因子はユビキチンリガーゼ複合体として機能する—タンパク質分解を介した新たな生理機能—(2008.12.9-12) 第 31 回日本分子生物学会年会、第 81 回日本生化学会大会合同大会 (神戸)
 17. 伊藤紗弥、沢津橋俊、山形薫、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、林珍仙、武山健一、加藤茂明: 新規クロマチン構造調節因子 BAHD1 を介した転写抑制機構の解析 (2009.3.27-29) 2009 年度日本農芸化学会大会 (福岡)
18. 井上和樹、松本高広、山形薫、米沢正祥、加藤茂明: Y 染色体遺伝子 Dby の miRNA 産生制御における機能解析 (2009.3.27-29) 2009 年度日本農芸化学会大会 (福岡)
 19. 奥村知子、西川亜美、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 (2009.3.27-29) 2009 年度日本農芸化学会大会 (福岡)
 20. 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 (2009.3.27-29) 2009 年度日本農芸化学会大会 (福岡)
 21. 金藤紫乃、今井祐記、高田伊知郎、中村貴、松本高広、加藤茂明: 骨芽細胞におけるエストロゲンの作用の解明 (2009.3.27-29) 2009 年度日本農芸化学会大会 (福岡)
 22. 中村沙理、伊藤紗弥、沢津橋俊、鈴木絵里子、田辺真彦、村田拓哉、武山健一、加藤茂明: BTB タンパク質 dKLHL18/CG3571 は E3 ユビキチンリガーゼ Cul-3 複合体のアダプターとして機能する (2009.3.27-29) 2009 年度日本農芸化学会大会 (福岡)
 23. 鈴木絵里子、沢津橋俊、伊藤紗弥、山形薫、田辺真彦、木村周平、藤山沙理、上田崇、村田拓哉、松川紘之、林珍仙、武山健一、加藤茂明: 新規クロマチンバウンダリー調節因子の探索とその解析 (2009.3.27-29) 2009 年度日本農芸化学会大会 (福岡)
 24. 山本陽子、福田亨、目々澤愛、新道真代、高木健一郎、加藤茂明: 新たな VDR 転写調節機構の解明 (2009.3.27-29) 2009 年度日本農芸化学会大会 (福岡)
 25. 西川亜美、奥村知子、岡田麻衣子、大竹史明、加藤茂明: ユビキチンリガーゼ活性を有する核内受容体の機能解析 (2009.3.27-29) 2009 年度日本農芸化学会大会 (福岡)
 26. 林珍仙、沢津橋俊、伊藤紗弥、山形薫、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、武山健一、加藤茂明: 活性型クロマチン構造調節に関わる新規転写共役因子の探索の試み (2009.3.27-29) 2009 年度日本農芸化学会大会 (福岡)
 27. 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)
 28. 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)
 29. 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)
 30. 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)
 31. 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)
32. 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)
33. 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)
34. 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)
35. 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)
36. 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)
37. 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)
38. 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)
39. 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)
40. 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)
41. 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)
42. 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)
43. 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)
44. 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)
45. 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 の性差形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)
46. 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)
47. 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)
48. 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)
49. 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)
50. 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)
51. 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)
52. 伊藤紗弥、沢津橋俊、山形薫、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、林珍仙、武山健一、加藤茂明: dBAHD1を介した細胞周期依存的なヒストン遺伝子発現制御機構の解明 (2010.3.27-30) 2010年度日本農芸化学会大会 (東京)
53. 井上和樹、松本高広、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 (2010.3.27-30) 2010年度日本農芸化学会大会 (東京)
54. 沢津橋俊、村田拓哉、林珍仙、伊藤紗弥、鈴木絵里子、藤山沙理、田辺真彦、木村周平、上田崇、武山健一、伊藤敬、加藤茂明: DEKはヒストンシャペロンとして機能する新規転写活性化共役因子である (2010.3.27-30) 2010年度日本農芸化学会大会 (東京)
55. 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レセプターのエピキチンリガーゼ活性の生理機能解明 (2010.3.27-30) 2010年度日本農芸化学会大会 (東京)
56. 中村沙理、伊藤紗弥、沢津橋俊、鈴木絵里子、田辺真彦、木村周平、上田崇、村田拓哉、松川紘之、林珍仙、武山健一、加藤茂明: 遺伝学的アプローチとプロテオミクスを連携した新規活性化クロマチン構造調節因子D12の複合体解析 (2010.3.27-30) 2010年度日本農芸化学会大会 (東京)
57. 武山健一、伊藤紗弥、沢津橋俊、鈴木絵里子、田辺真彦、木村周平、上田崇、村田拓哉、松川紘之、林珍仙、藤山沙理、大竹史明、加藤茂明: Notchシグナルを調節する細胞分化制御機構の解析 (2010.3.27-30) 2010年度日本農芸化学会大会 (東京)
58. 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 (2010.3.27-30) 2010年度日本農芸化学会大会 (東京)
59. 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)
60. 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)
61. 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)
62. 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)
63. 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)
64. 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)
65. 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)
66. 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)
67. 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)
68. 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)
69. 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)
70. 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)
71. 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)
72. 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)

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イド研究事業)
総合分担研究報告書

細胞内シグナル伝達・膜受容体・酵素系の
骨粗鬆症・関連疾患における機能解析と応用

分担研究者 堺 隆一

国立がん研究センター研究所転移浸潤シグナル研究分野 分野長

【研究要旨】

骨粗鬆症の原因となる骨細胞系の細胞の増殖・機能異常の本態を理解し、その異常に関わる細胞内シグナル伝達分子を明らかにすることは、その予防・診断・治療などの面でも極めて重要である。特にチロシンキナーゼである Src ファミリーの分子とその基質群は、破骨細胞・骨芽細胞においてはその分化と機能維持のために必要であると考えられる。本研究では Src ファミリーの活性変化や組織による基質特異性を解析することにより、骨細胞における 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。研究期間に我々は欠損変異体や RNAi などの手法を用いて ephrin-B1、Ossa, CDCP1, Cas, ARAP3 などの新しい機能を見出すことに成功した。これらの機能は骨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。

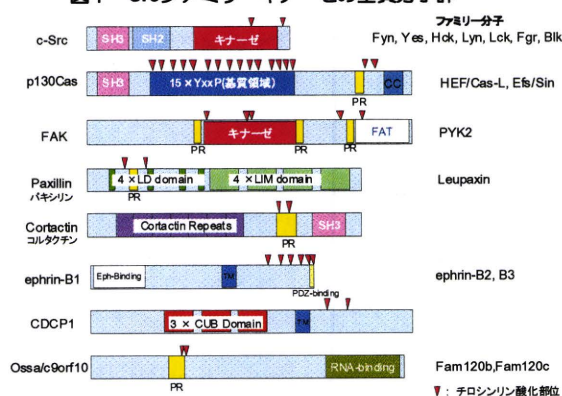
A. 研究目的

骨粗鬆症は骨吸収と骨新生による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である。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。本研究では破骨細胞の機能制御に最も深く関わり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解析を行う。このことにより、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。図 1(次頁)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 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

図1 Srcファミリーキナーゼの基質分子群



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

我々は以前、癌化した細胞の中で Src チロシンキナーゼの主要な基質となる蛋白質 Cas をクローニングしたが、Cas はインテグリンシグナルにおける Src の主要な基質として破骨細胞の分化・機能維持に重要であり、エストロゲン受容体と直接結合してその作用に関わる可能性があるなどのこれまでの研究から、骨粗鬆症においてもその成因に関与するのではないかと以前から考えていた。そのため、Cas の接着・浸潤に関わる機能解析と行うとともに、シンガポール大学の澤田泰宏先生との共同研究で、骨において重要なメカニカルストレスを細胞にかけたときに、細胞内の Cas 蛋白質のチロシンリン

酸化が大きく変化する現象について、澤田先生の開発した細胞外基質の伸長による解析法と、我々の樹立した Cas の各ドメインに対する抗体やリン酸化特異的抗体、RNAi の手法を用いて解析を進めた。

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 PKC δ 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 は細胞の運動性を制御し、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のがわかりつつある。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、さらに解析を進めた。

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た。

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した。

(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

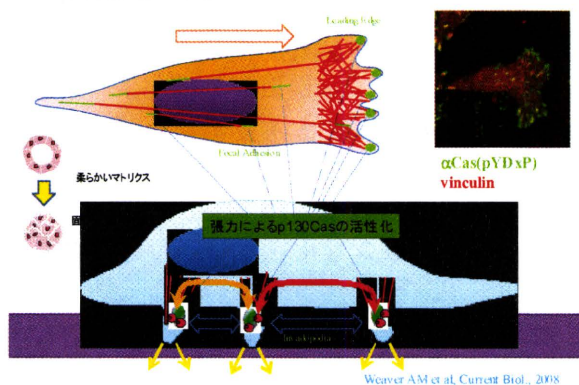
骨吸収および骨融解のモデルとして固形腫瘍の骨転移モデルを作成した。実際にはルシフェラーゼ遺伝子を発現させた高転移性の癌細胞株をヌードマウスに注射し、イメージング装置で癌細胞の動態を経時的に観察する。一度全身に回っていた癌細胞が数週間後に骨や脳に転移巣を形成することが確認されているが、骨転移巣より元のヒト癌細胞に由来する細胞をルシフェラーゼの発現を指標にして摘出し、組織培養する。これを再びマウスに注射するという操作を繰り返し行なうことで骨に強く転移する細胞株を樹立できた。形成された腫瘍や *in vivo* で継代した培養細胞を生化学的手法や細胞生物学的手法により親株と比較する。このような解析により、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た。

C. 研究結果

(1) Src の基質蛋白質群の機能解析

Src キナーゼが活性化した癌細胞などでは Cas 蛋白質の広範な恒常的なリン酸化が観察されるが、正常細胞における Cas 蛋白質のチロシンリン酸化は、接着斑などにごく限られた部位に限局してみられる。一方、このような細胞の足場をストレッチすることにより、メカニカルストレスを加えたところ、Cas 蛋白質のチロシンリン酸化が著明に亢進することがわかった。実際、蛍光分子断片によって Cas 蛋白質の N 末と C 末をラベルすることにより相互の距離を推定すると、Cas が外力により伸長しうる構造であることが示された。また Cas 蛋白質が外力による細胞の伸長を分子の構造変化として受け止め、Src キナーゼによるリン酸化の受けやすさが変化することにより、下流にメカニカルストレスのシグナルを伝える分子であることが明らかになった。腫瘍の転移浸潤において Cas は invadopodia や接着斑などにつながるアクチン束の端に位置して、このような構造体にかかる張力を感知して転移浸潤を制御するモデルが示され、実際 Cas によるメタロプロテアーゼ分泌シグナルなどがその足場となる細胞外基質の硬度依存性に伝えられることが他施設から示された(図 2)。骨など硬度

図2 p130Cas は細胞の運動や浸潤におけるアクチン繊維の牽引力を検知する

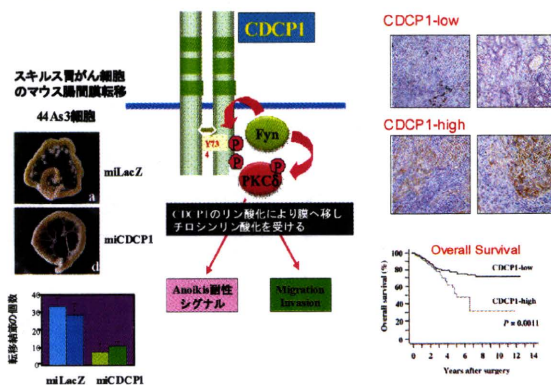


の高い組織において podosome などに局在する Cas が、未融解部位を認識して破骨細胞の融解シグナルを送る分子センサ

一としての役割を果たすのではないかと考え、解析を進めている。

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分かった。浸潤能に関しては、CDCP1-PKC δ のシグナルにより MMP-9 やその他の matrix protease による基質分解能に影響を与えることが示された。さらに、膵がん臨床検体を用いた組織染色により CDCP1 の発現率が生命予後に相関することが明らかとなり、CDCP1 が独立した生命予後因子となることが示唆された(図3)。

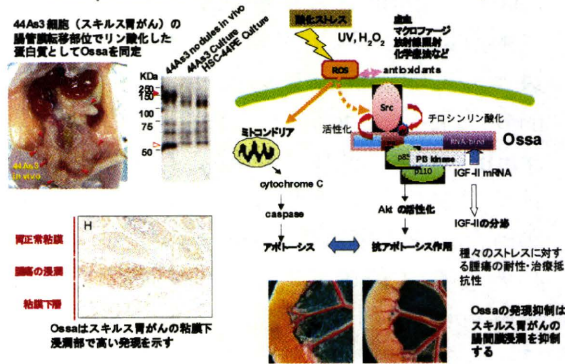
図3 固形腫瘍の足場非依存性を制御する新規蛋白質 CDCP1 と転移・浸潤・予後の関わり



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。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管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思われるため、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4にまとめる。

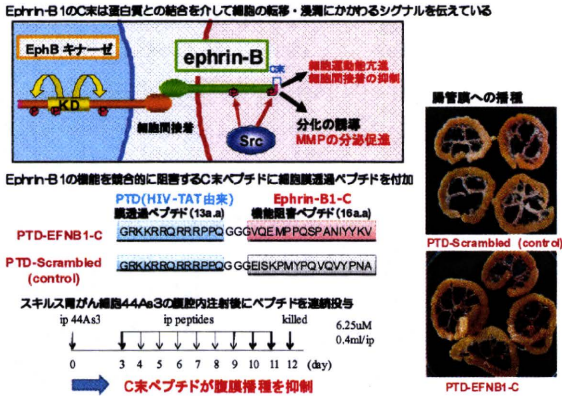
図4 腫瘍の酸化ストレスに対する抵抗性に関わる新分子 Ossa (Oxidative Stress-associated Src Activator)



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、腫瘍細胞の抑制のみならず、骨粗鬆症など老化に伴う一連の疾患に効果のある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

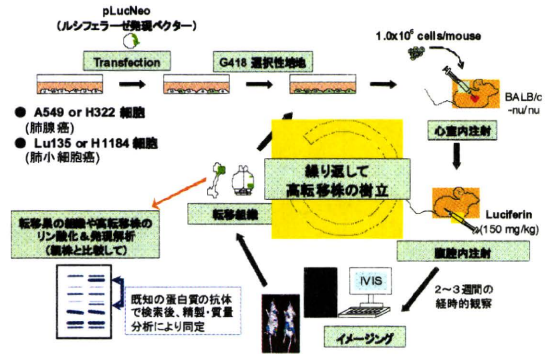
ドを合成してその生理活性を解析中した。スキルス胃癌細胞を腹腔内に注射したのち、この融合ペプチドの反復投与を行うと腹膜播種が著明に抑制されることが示された(図5)。このようなペプチドは破



骨細胞と骨芽細胞の相互調節にも関わる ephrin-B1 の機能抑制分子として、骨粗鬆症の治療にも応用できる可能性がある。(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

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週間の意向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、親株に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6)。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、

図6 肺がんの骨転移モデルの作成



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 や Erk の活性変化が見られないなどの特徴がみられた。親株と蛋白質のチロシンリン酸化を比較すると、幾つかリン酸化の変化する蛋白質が認められるので、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

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メカニカルフォースの伝達、運動能など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。

また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の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。本研究によって、肺腺がん細胞の骨転移実験動物モデル系を作製することができた。このモデル系では個体差なく、ほぼ同様の時期に同様の位置に転移巣を形成し、同様な腫瘍の進展が認められたこと、骨以外への転移がほとんど認められなかったことから、骨転移に対する薬剤や分子治療ターゲットの評価やスクリーニングに使用できる可能性がある。

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、「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かけるだけでなく、疾患の状態を生み出しているエフェクターとしての複数の蛋白質群の量的・質的变化が重要になると考える。Src キナーゼ群もその種々の多彩な基質を介した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。Src キナーゼと特定の基質と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できる可能性があると考え。多

くの Src チロシンキナーゼの基質が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いる。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障害する分子の設計と、長い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。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Nakamoto, T., Seo, S., Sakai, R., Kato, T., Kutsuna, H., Kurokawa, M., Noda, M., Miyasaka, N., Kitagawa, S.: Expression and tyrosine phosphorylation of Crk-associated substrate lymphocyte type (Cas-L) protein in human neutrophils. *J Cell Biochem* 105: 121-128, 2008.
2. Uekita, T., Tanaka, M., Takigahira, M., Miyazawa, Y., Nakanishi, Y., Kanai, Y., Yanagihara, K., Sakai, R.: CUB-domain containing protein 1 regulates peritoneal dissemination of gastric scirrhus carcinoma. *Am J Pathol* 172: 1729-1739, 2008.
3. Jia, L., Uekita, T., Sakai, R.: Hyperphosphorylated cortactin in cancer cells plays an inhibitory role in cell motility by regulating tyrosine phosphorylation of p130Cas. *Mol Cancer Res* 6: 654-662, 2008.
4. Futami, H., Sakai, R.: RET protein promotes non-adherent growth of NB-39-nu neuroblastoma cell line. *Cancer Sci* 100: 1034-1039, 2009.
5. 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.
6. 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.
 7. Miyake, I., Ohira, M., Nakagawara, A., Sakai, R.: Distinct role of ShcC docking protein in the differentiation of neuroblastoma. *Oncogene* 28: 662-673, 2009.
 8. 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.
 9. 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.
 10. 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.
 11. 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.
 12. Yamaguchi, H., Yoshida, S., Muroi E., Kawamura, M., Kouchi, Z., Nakamura, Y., Sakai, R., Fukami, K.: Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate and PIP5-kinase I α are required for invadopodia formation in human breast cancer cells. *Cancer Sci* 101: 1632-1638, 2010.
 13. Tanaka, M., Kamata, R., Yanagihara, K., Sakai, R.: Suppression of gastric cancer dissemination by ephrin-B1-derived peptide. *Cancer Sci* 101: 87-93, 2010.
 14. 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.
2. 学会発表
【国際学会】
1. Sakai, R., Ohira, M., Nakagawara, A., Miyake, I.: ShcC protein controls differentiation of neuroblastoma cells. (2008.5.21-24) Advances in Neuroblastoma Research 2008, Chiba, Japan.
 2. Sakai, R.: Roles of phosphotyrosine-containing molecules in tumor progression. (2008.11.12) Kyoto Prize 2008 Memorial Workshop, Kyoto, Japan.
 3. 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.
 4. Sakai, R.: Role of membrane protein, CDCP1 in tumor metastasis and invasion. (2009.9.16-19) Japanese-German Cancer Workshop, Hamburg, Germany.
 5. 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.
6. 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.
 7. 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. 堺隆一: 肺癌細胞の足場非依存性と転移能を制御する新規蛋白質 CDCP1 の解析 (2008.7.24-25) 第 17 回日本がん転移学会学術集会・総会 (鹿児島)
 2. 田中正光、鎌田礼子、佐々木一樹、堺隆一: スキルス型癌の間質浸潤におけるリン酸化蛋白質の解析 (2008.10.28-30) 第 67 回日本癌学会総会 (名古屋)
 3. 東浩太郎、浦野友彦、林慎一、堺隆一、大内尉義、井上聡: 乳癌細胞におけるエストロゲン受容体 α /HDAC6 複合体による新規 nongenomic 作用 (2008.10.28-30) 第 67 回日本癌学会総会 (名古屋)
 4. 森井英一、池田純一郎、上北尚正、堺隆一、青笹克之: 肺腺癌における新規レセプター CDCP1 の発現意義 (2008.10.28-30) 第 67 回日本癌学会総会 (名古屋)
 5. 宮澤悠里、上北尚正、堺隆一: CDCP1 によるがん細胞の運動能・浸潤能制御機構の解析 (2008.10.28-30) 第 67 回日本癌学会総会 (名古屋)
 6. 上北尚正、堺隆一: がん細胞の足場非依存性増殖を制御する CDCP1 の機能ドメインの解析 (2008.10.28-30) 第 67 回日本癌学会総会 (名古屋)
 7. 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)
 8. 上北尚正、堺隆一: CDCP1 は膀胱癌の転移・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)
 9. 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)
 10. 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)
 11. 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)
 12. 宮澤悠里、上北尚正、堺隆一: 膀胱がんにおける 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)
 13. 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)
 14. 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)
 15. 東浩太郎、浦野友彦、堺隆一、大内尉義、井上聡: [YIA 受賞] エストロゲンの新規 nongenomic 作用である tubulin 脱アセチル化の乳癌の進展・ホルモン療法耐性化に対する役割 (2010.3.25-28) 第 83 回日本内分泌学

- 会学術総会（京都）
16. 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）
 17. 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）
 18. 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）
 19. 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）
 20. 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）
 21. 宮澤悠里、上北尚正、山口英樹、堺隆一：
二：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）
 22. 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）
 23. 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）

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)
総合分担研究報告書

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 部長

研究要旨

骨粗鬆症の薬物療法はビスホスホネート製剤を中心して発展してきたが、いまだその効果は不十分であり全ての骨折を防ぐには至っていない。我々は薬物療法によるさらなる骨折予防効果を得るために骨代謝関連遺伝子の機能的遺伝子多型を活用する研究を進めた。本研究では、ビスホスホネート製剤不応例の臨床的特徴を検討し、ビタミン K2 製剤の併用に関する方針決定に際しての標的 SNP としてガンマカルボキシラーゼ(GGCX)遺伝子の機能的一塩基置換多型性(single nucleotide polymorphism: SNP)を用いることの意義を確認した。さらにこの SNP がビタミン K 摂取状況と骨代謝関連ビタミン K 依存性蛋白質 (オステオカルシン) との関連に影響を及ぼすことを検討した上で、骨粗鬆症と診断され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 遺伝子等の多型性を利用することオーダーメイド医療を立案した。

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1000万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(図1)。

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る。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、特にビスホスホ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

