

平成 21 年 5 月 13 日現在

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2004～2008

課題番号：16109003

研究課題名（和文） 老化における核内受容体とその標的因子の分子作用メカニズムの解明

研究課題名（英文） Molecular basis of nuclear receptors and their downstream targets in aging

研究代表者

井上 聡（INOUE SATOSHI）

東京大学・医学部附属病院・特任教授

研究者番号：40251251

研究成果の概要：

本研究では老化と加齢に伴い増加する疾患における核内受容体とその標的因子、共役因子、修飾因子の新規同定を行い、生理機能ならびに病態における役割を探索した、核内受容体と標的因子の新しい分子作用メカニズム、新規リガンド、シグナル経路を明らかにした。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2004 年度	24,800,000	7,440,000	32,240,000
2005 年度	21,300,000	6,390,000	27,690,000
2006 年度	17,000,000	5,100,000	22,100,000
2007 年度	15,300,000	4,590,000	19,890,000
2008 年度	10,200,000	3,060,000	13,260,000
総計	88,600,000	26,580,000	115,180,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・病態医化学

キーワード：老化、受容体、ホルモン

1. 研究開始当初の背景

社会の高齢化に伴い、老化、病的老化の防止と健やかな加齢が社会的に強く求められている。本研究では老化と老年病の鍵を握る制御因子として、ステロイドホルモン、甲状腺ホルモン、レチノイン酸や、コレステロール、脂肪酸関連の小分子を、シグナルの入力として受け止める受容体の一群、核内受容体とその作用に注目した。これら受容体は個体並びに、生体の諸臓器の老化を決める大きな因子であり、骨、血管、脳、生殖臓器の老化やその病態、診断と予防・治療に深く関わっている。実際に、老化と老化制御には性ホルモンであるエストロゲン、アンドロゲンが重要な役割を担っている。臓器の老化に関して、

骨の老化にはエストロゲン、アンドロゲンに加えてビタミン D、K が、心血管の老化にはエストロゲンや PPAR 経路が、また脳の老化にはエストロゲンやグルココルチコイドの働きが注目されている。老化における多彩な核内受容体の作用を知り、その老化、病的老化防止作用を解明するために、各受容体とその標的因子の作用メカニズム、老化ならびに病的老化との関連を明らかにすることが不可欠である。

2. 研究の目的

本研究の狙いは、1) 核内受容体の機能、及び関連因子、共役因子と、受容体の下流に存在する標的因子群の性状を分子レベルで解

明し、核内受容体の、個体ならびに臓器の生理的老化、病的老化における役割を明らかにし、2) 未解明の新たな核内受容体作用の分子メカニズムを探索し、細胞増殖、分化制御、抗老化因子としての生物学的意義について明確にし、診断・治療、老化制御への応用を探究することにある。

3. 研究の方法

細胞、組織、個体において老化、老年病と関連して、新規核内受容体標的因子、共役因子、修飾因子を同定し、その機能と病態における役割を解析した。特に、生体作用、病態における役割を知るため、遺伝子改変動物を作製し活用した。核内受容体の新しい non-genomic action や新規リガンドを探索した。これら核内受容体とその関連因子の、診断・治療への応用を目指した。備品に関しては、蛍光顕微鏡を購入し、核内受容体、標的因子、共役因子の細胞内局在を観察した。マルチラベルプレートリーダーは、核内受容体の機能計測に活用した。

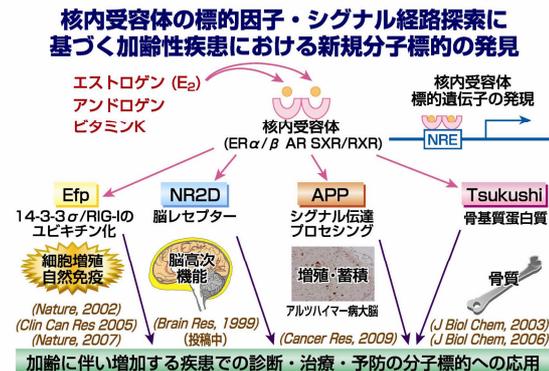
4. 研究成果

(1) 核内受容体を介する標的因子の同定とその老化と病態における役割

抗老化作用を有するエストロゲンの受容体に関し、新しい共役因子、修飾因子ならびに標的因子を探索した。エストロゲン受容体を負に調節する脱リン酸化酵素 PPS(*Mol Endocrinol* 18, 1131-1143, 2004)、膜で複合体を形成するヒストン脱アセチル化酵素 HDAC6 を同定し、エストロゲンの新しい核外作用(non-genomic action)を提唱した(*Cancer Res* 69, 2935-2940, 2009)。エストロゲン、アンドロゲンの標的遺伝子の新規同定を進め、EBAG9、Efp とその基質に関し、老化とともに激増する前立腺癌や乳癌、感染症等での機能と臨床的意義を示した(*Int J Cancer* 124, 799-805, 2009; *Nature* 446, 916-921, 2007; *Cancer Res* 65, 3700-3706, 2005; *Clin Cancer Res* 11, 6148-6154, 2005; *Clin Cancer Res* 11, 7384-7391, 2005)。アンドロゲン受容体の標的に関して ChIP-Chip 解析を進め(*Oncogene* 26, 4453-4463, 2007)、アルツハイマー病の原因遺伝子でもある APP がアンドロゲン依存性の増殖に関わり、診断と治療の標的であることを見出した(*Cancer Res* 69, 137-142, 2009)。心血管における老化(*J Biol Chem* 281, 13092-13102, 2006)、脳の老化(*J Biol Chem* 282, 5763-5748, 2007; *Endocrine J* 56, 113-120, 2009)、代謝の老化(*Biochim Biophys Acta* 1789, 71-77, 2009)と核内受容体の関連も解析が進んだ。これらの標的因子群の発見、細胞増殖、免疫制御、脳高次機能、内分泌代謝、骨代謝、心血管機能との関連は、それぞれの経路が老化制御、老年病や加齢に伴い増加する疾患と結び

つくものであり、診断治療の標的としての意義を示した。

本研究では核内受容体の標的因子の同定と、老化と病態における機能解析の双方に力を注ぎ、特に Efp、EBAG9、NR2D、APP、TSK 等の核内受容体標的因子の新しい機能と疾患における役割を示した。これらは学術上のインパクトに加え、老化制御ならびに老年者の疾患の診断と治療の分子標的としての意義を明らかにするものであり、臨床応用への発展が期待される。



(2) 抗老年病作用を有するビタミン K の核内受容体を介する新しい分子メカニズムの解明

本研究において、ビタミン K が核内受容体 SXR を介して転写調節に働き、特に骨において、コラーゲン蓄積を促し、細胞外マトリックス蛋白質を誘導する予期せぬ新規分子作用メカニズムを解明した(*J Biol Chem* 281, 16927-16934, 2006)。

ビタミン K の新規作用経路の発見は骨の老化である骨粗鬆症の病態と治療における新しい分子メカニズムを示したもので、JBC にニュース形式で取り上げられ、同誌の表紙を飾るとともに朝日新聞等でも報道され広く社会に情報を発信した。

(3) TRIMファミリーのウイルス感染防御の新規分子メカニズムの解明

当研究者が発見したエストロゲン応答遺伝子 Efp/TRIM25 は、TRIM5 とともに、インターフェロンにより誘導されること、RIG-I をユビキチン化して自然免疫を制御する新規分子メカニズムを解明し、自然免疫、ウイルス感染防御での新しい役割を示した(*Nature* 446, 916-921, 2007)。

TRIMファミリーがインターフェロンにより誘導され、自然免疫を制御する新規分子メカニズムを解明した。Efpは、インフルエンザウイルスの防御に関わり(*Cell Host & Microbe*, in press)、高齢者の健康上の重大な脅威であり、国内外の社会的な大きな課題に対する学問上の貢献に加え、製薬産業上、一般社会へのインパクトが大きい成果である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 60 件)

1. Gack MU, Albrecht RA, Urano T, Inn KS, Huang IC, Carnero E, Farzan M, Inoue S, Jung JU, García-Sastre A: Influenza A virus NS1 targets the ubiquitin ligase TRIM25 to evade recognition by RIG-I. *Cell Host & Microbe*, in press, 査読有.
2. Suzuki H, Inoue S, Hayashizaki Y(他 157 名、56 番目): The transcriptional network that controls growth arrest and differentiation in a human myeloid leukemia cell line. *Nat Genet*, in press, 査読有.
3. Takeo C, Ikeda K, Horie-Inoue K, Inoue S: Identification of Igf2, Igfbp2 and Enpp2 as estrogen-responsive genes in rat hippocampus. *Endocrine J*, in press, 査読有.
4. Azuma K, Urano T, Horie-Inoue K, Hayashi S, Sakai R, Ouchi Y, Inoue S: Association of estrogen receptor α and histone deacetylase 6 causes rapid decetylation of tubulin in breast cancer cell. *Cancer Res* 69, 2935-2940, 2009, 査読有.
5. 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, Inoue S: Amyloid precursor protein is a primary androgen target gene that promotes prostate cancer growth. *Cancer Res* 69, 137-142, 2009, 査読有.
6. Kubo M, Ijichi N, Ikeda K, Horie-Inoue K, Takeda S, Inoue S: Modulation of adipogenesis-related gene expression by estrogen-related receptor γ during adipocytic differentiation. *Biochim Biophys Acta - Gene Regulatory Mechanisms* 1789, 71-77, 2009, 査読有.
7. Gack MU, Shin YC, Joo CH, Urano T, Liang C, Sun L, Takeuchi O, Akira S, Chen Z, Inoue S, Jung JU: TRIM25 RING-finger E3 ubiquitin ligase is essential for RIG-I-mediated antiviral activity. *Nature* 446, 916-921, 2007, 査読有.
8. Ichikawa T, Horie-Inoue K, Ikeda K, Blumberg B, Inoue S: Vitamin K2 induces phosphorylation of protein kinase A and expression of novel target genes in osteoblastic cells. *J Mol Endocrinol* 39, 239-247, 2007, 査読有.
9. Fujita M, Sugama S, Nakai M, Takenouchi T, Wei J, Urano T, Inoue S, Hashimoto M: α -synuclein stimulates differentiation of osteosarcoma cells: Relevance to downregulation of proteasome activity. *J Biol Chem* 282, 5736-5748, 2007, 査読有.
10. Ichikawa T, Horie-Inoue K, Ikeda K, Blumberg B, Inoue S: Steroid and xenobiotic receptor SXR mediates vitamin K2-activated transcription of extracellular matrix-related genes and collagen accumulation in osteoblastic cells. *J Biol Chem* 281, 16927-16934 and *Cover*, 2006, 査読有.
11. Urata Y, Ihara Y, Murata H, Goto S, Koji T, Yodoi J, Inoue S, Kondo T: 17β -estradiol protects against oxidative stress-induced cell death through the glutathione/glutaredoxin-dependent redox regulation of Akt in myocardial H9c2 cell. *J Biol Chem* 281, 13092-13102, 2006, 査読有.
12. Ogushi T, Takahashi S, Takeuchi T, Urano T, Horie-Inoue K, Kumagai J, Kitamura T, Ouchi Y, Muramatsu M, Inoue S: Estrogen receptor-binding fragment-associated antigen 9 is a tumor-promoting and prognostic factor for renal cell carcinoma. *Cancer Res* 65, 3700-3706, 2005, 査読有.
13. Suzuki T, Urano T, Tsukui T, Horie-Inoue K, Moriya T, Ishida T, Muramatsu M, Ouchi Y, Sasano H, Inoue S: Estrogen-responsive finger protein as a new potential biomarker for breast cancer. *Clin Cancer Res* 11, 6148-6154, 2005, 査読有.
14. Ito K, Suzuki T, Akahira J, Sakuma M, Saitou S, Okamoto S, Niikura H, Okamura K, Yaegashi N, Sasano H, Inoue S: 14-3-3 σ in endometrial cancer - A possible prognostic marker in early stage cancer -. *Clin Cancer Res* 11, 7384-7391, 2005, 査読有.
15. Ikeda K, Ogawa S, Tsukui T, Horie-Inoue K, Ouchi Y, Kato S, Muramatsu M, Inoue S: Protein phosphatase 5 is a negative regulator of estrogen receptor-mediated transcription. *Mol Endocrinol* 18, 1131-1143, 2004, 査読有.

[学会発表](計 195 件)

1. Inoue S: [Symposium, Invited Talk] New estrogen target genes. (2008.11.8-12) 13th International Congress of Endocrinology, Rio de Janeiro, Brazil.
2. Inoue S: [Invited Talk] New Target Genes for Steroid Hormones. (2008.10.22-24) CBI Annual Meeting 2008 International Symposium, Tokyo, Japan.
3. 井上 聡: [特別講演] 女性ホルモンの作用機構とホルモン補充療法 (2008.8.30-31) 第26回日本美容皮膚科学会総会(大阪)
4. Inoue S: [Invited Talk] Protein modification of 14-3-3 σ by TRIM E3 ligase. (2008.2.24-29) Biology of 14-3-3 Proteins, Gordon Research Conferences, Ventura,

California, USA.

5. Inoue S: [Invited Talk] Novel Vitamin K action via transcriptional regulation. (2007.8.24) 4th Meeting of Bone Biology Forum, Shizuoka, Japan.
6. Inoue S: [Invited Talk] Post-translational modification of 14-3-3sigma by E3 ligase Efp. (2006.8.27-9.1) 2006 GRC on Biology of 14-3-3 Protein, Gordon Research Conference, Oxford, UK.
7. 井上聡: [研究奨励賞受賞講演] エストロゲン標的遺伝子の同定とその機能の解明 (2006.5.19) 第 79 回日本内分泌学会学術総会 (神戸)
8. 井上聡: [学術賞受賞講演] 骨代謝疾患の治療薬作用機構ならびに疾患遺伝子の探索 (2006.7.6-8) 第 24 回日本骨代謝学会 (東京)
9. Inoue S: [Luncheon Seminar] Novel mechanism of vitamin K action via transcriptional regulation. (2005.11.7-11) International Interdisciplinary Conference on Vitamins, Coenzymes, and Biofactors 2005, Awaji, Japan,
10. Inoue S: [Symposium] "Molecular and cellular analysis of steroid hormone receptor: Expression and its role in reproductive organs" Estrogen receptors and their downstream targets in breast tumors. (2004.8.22-27) 16th International Congress of the IFAA (International Federation of Associations of Anatomists), Kyoto, Japan.

〔図書〕(計 9 件)

1. 井上聡: 40 歳からの女性の医学 骨粗鬆症 - 骨のアンチエイジング - 岩波書店 全 111 頁 (2008.10.16 刊)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.h.u-tokyo.ac.jp/center22/koukar ei.html>

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

井上 聡(INOUE SATOSHI)

東京大学・医学部附属病院・特任教授

研究者番号：40251251

(2) 研究分担者

浦野 友彦(URANO TOMOHIKO)

東京大学・医学部附属病院・特任助教

研究者番号：20334386

津久井 通(TSUKUI TORU)

埼玉医科大学・医学部・講師

研究者番号：10333006