

平成22年 5月31日現在

研究種目：特定領域研究
 研究期間：2005 ～ 2009
 課題番号：17013023
 研究課題名（和文） 発癌における核内受容体機能の解析
 研究課題名（英文） The role of the nuclear receptors in cancer development

研究代表者 加藤 茂明 (KATO SHIGEAKI)
 東京大学・分子細胞生物学研究所・教授
 研究者番号：60204468

研究成果の概要（和文）：

乳癌、子宮内膜癌、卵巣癌などのホルモン依存性癌の治療薬として用いられている「選択的エストロゲン受容体モジュレーター(SERM)」は、組織特異的な転写制御能を発揮するがその分子機構は明らかではない。我々は、SERM 依存的にエストロゲン受容体 ER α に結合するタンパク質群の精製を試み、ブロモドメインを有する BRD4 を同定した。BRD4 は positive transcription elongation factor b(P-TEFb)と共に転写伸長反応を促進する因子であることから、SERM による転写制御は、転写伸長の促進/抑制による可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Selective estrogen receptor modulator (SERM) is a well-established agent in the management of hormone-dependent cancer such as breast, endometrial and ovarian cancer. SERM liganded-ER α regulates its target genes in tissue specific manner. However, the molecular mechanism which determines the tissue specificity is not well-known. We used biochemical purification techniques to identify ER α -associated proteins dependently on SERM. Interestingly, we found that bromodomain-containing protein BRD4, which is known to recruit positive transcription elongation factor b (P-TEFb) on target gene promoters and stimulates transcriptional elongation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	10,000,000	0	10,000,000
2006年度	10,000,000	0	10,000,000
2007年度	10,000,000	0	10,000,000
2008年度	8,800,000	0	8,800,000
2009年度	8,800,000	0	8,800,000
総計	47,600,000	0	47,600,000

研究分野：発がん

科研費の分科・細目：

キーワード：転写制御、細胞周期依存的、核内因子複合体群、性ホルモン受容体、ホルモン非依存性

1. 研究開始当初の背景

エストロゲンは、女性生殖器官の発達・機能維持に必須の女性ホルモンであるが、骨、心血管系、中枢神経系、脂肪組織など広範な臓器・組織において、多種多様な生理機能を発揮することが明らかとなってきた。一方、エストロゲンは、乳癌、子宮内膜癌、卵巣癌などのホルモン依存性癌の発生・増殖・進行に促進的に作用することが知られている。

このようなエストロゲンの生理・病理作用を担う最も重要な因子が、エストロゲン受容体 $ER\alpha/\beta$ である。 ER は核内受容体スーパーファミリーに属する DNA 結合性の転写因子であり、エストロゲン依存的な標的遺伝子発現制御を介し、その作用を発揮する。

$ER\alpha$ タンパク質の構造は、N 末側から順に A~F 領域に分割され、転写活性化領域は、AB 領域(AF-1)と E 領域(AF-2)の 2 か所に存在している。AF-1 はリガンド非依存的な転写活性化能を担い、組織依存的に活性の強さが異なる。一方、AF-2 はリガンド依存的な転写活性化能を担っている。 $ER\alpha$ による転写活性化能は、転写共役因子と呼ばれる一連のタンパク質群により制御される。また、転写共役因子群による $ER\alpha$ の転写制御能には、組織特異性があることが知られている。

組織特異的な $ER\alpha$ の転写制御能を引き出す合成リガンドとして、選択的エストロゲン受容体モジュレーター(SERM)が開発されている。代表的な SERM であるタモキシフェンやラロキシフェンは、女性生殖器に対しては主にアンタゴニスト活性を示す一方、骨や心血管系に対してはアゴニスト活性を示すことが知られている。SERM の組織特異的な転写制御能を解明することは、各種ホルモン依存性癌の病態解明および新規治療薬開発の基盤となることが期待される。

2. 研究の目的

本研究では、SERM 依存的に $ER\alpha$ と相互作用する転写共役因子を取得し、同定された因子の分子機能解析を通じて、SERM 依存的な転写制御機構を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

タグ付き $ER\alpha$ を恒常的に発現する HeLa 細胞株を樹立し、各種 SERM 処理後、核抽出液中の $ER\alpha$ 相互作用因子群の精製および MALDI-TOF/MS による相互作用因子の同定を行った。

4. 研究成果

① $ER\alpha$ リガンドであるエストロゲン(E2)、および、SERM であるタモキシフェン(TAM)、ラロキシフェン(RAL)を添加し、 ER 相互作用因子の精製を行った。RAL 添加時の相互作用因子としてプロモドメインタンパク質 BRD4 を取得、同定した。

② BRD4 は、 $ER\alpha$ AF-1 と直接相互作用すること、さらに、その結合は TAM および RAL により増強されることを明らかにした。

③ BRD4 は、 $ER\alpha$ AF-1 のリガンド非依存的な転写共役活性化を促進することが明らかとなった。

④ E2/SERM 依存的に $ER\alpha$ および BRD4 が、標的遺伝子エンハンサー/プロモーター上にリクルートされ、「転写開始反応」が起きている一方で、E2 では促進される「転写伸長反応」が、SERM では抑制されていることが明らかとなった。

(2) 得られた成果の国内外における位置づけとインパクト/今後の展望

近年、BRD4 は、標的遺伝子上流に P-TEFb

をリクルートすることで、プロモーター上で静止している (promoter proximal pausing) RNA ポリメラーゼ II の遺伝子下流への移動を促し、転写伸長反応を促進することが明らかとなった。SERM の組織特異的な転写制御能の一端が、転写伸長反応の促進/抑制であるという新たな知見へとつながる結果であると考えられる。SERM が結合した AF2 が、AF-1 に結合する BRD4 および P-TEFb の機能を制御する分子機構を明らかにすることは、SERM の組織特異的な転写制御能の解明につながると期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 102 件)

1. 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. and Kato, S. Histone chaperone DEK coactivates a nuclear receptor: a functional link to leukemia. **Genes Dev.** 24, 159-170, 2010.査読有
2. 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. and Kato, S. DNA demethylation in hormone-induced transcriptional derepression. **Nature** 461, 1007-1012, 2009.査読有
3. Fujiki, R., Chikanishi, T., Hashiba, W., Ito, H., Takada, I., Roeder, R. G., Kitagawa, H. and Kato, S. GlcNAcylation of a histone methyltransferase in retinoic-acid-induced granulopoiesis. **Nature** 459, 455-459, 2009.査読有
4. Oya, H., Yokoyama, A., Yamaoka, I., Fujiki, R., Yonezawa, M., Youn, M.-Y., Takada, I., Kato, S. and Kitagawa, H. Phosphorylation of WSTF by MAPK induces a switching between two distinct chromatin remodeling complexes. **J. Biol. Chem.** 284, 32472-32482, 2009.査読有
5. Yamagata, K., Fujiyama, S., Ito, S., Ueda, T., Murata, T., Naitou, M., Takeyama, K., Minami, Y., O'Malley, B. W. and Kato, S. Maturation of microRNA is hormonally regulated by a nuclear receptor. **Mol. Cell** 36, 340-347, 2009.査読有
6. Kouzu-Fujita, M., Mezaki, Y., Mtsumoto, T., Yamaoka, I., Sawatsubashi, S., Yano, T., Taketani, Y., Kitagawa, H. and Kato, S. Coactivation of estrogen receptor β by gonadotropin-induced cofactor GIOT-4. **Mol. Cell. Biol.** 29, 83-92, 2009.査読有
7. 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, D. Y., Matsuoka, R., Takeuchi, J. K., Matsumoto, T. and Kato, S. Distinct function of 2 chromatin remodeling complexes that share a common subunit, Williams syndrome transcription factor (WSTF). **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 106, 9280-9285, 2009.査読有
8. 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, A. P., Aigaki, T., Tabata, T., Takeyama, K. and Kato, S. Aberrant E2F activation by polyglutamine expansion of androgen receptor in SBMA neurotoxicity. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 106, 3818-3822, 2009.査読有
9. Fujiyama-Nakamura, S., Ito, S., Sawatsubashi, S., Yamauchi, Y., Suzuki, E., Tanabe, M., Kimura, S.,

- Murata, T., Isobe, T., Takeyama, K. and Kato, S. BTB protein, dKLHL18/CG3571, serves as an adaptor subunit for a dCul3 ubiquitin ligase complex. **Genes to Cells** 14, 965-973, 2009.査読有
10. Suzuki, H. I., Yamagata, K., Sugimoto, K., Iwamoto, T., Kato, S. and Miyazono, K. Modulation of microRNA processing by p53. **Nature** 460, 529-533, 2009.査読有
 11. Kawajiri, K., Kobayashi, Y., Ohtake, E., Ikuta, T., Matsushima, Y., Mimura, J., Pettersson, S., Pollenz, R. S., Sakaki, T., Hirokawa, T., Akiyama, T., Kurosumi, M., Poellinger, L., Kato, S. and Fujii-Kuriyama, Y. Aryl hydrocarbon receptor suppresses intestinal carcinogenesis in ApcMin/+ mice with natural ligands. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 106, 13481-13486, 2009.査読有
 12. Zhang, Z., Hener, P., Frossard, N., Kato, S., Metzger, D., Li, M. and Chambon, P. Thymic stromal lymphopoietin overproduced by keratinocytes in mouse skin aggravates experimental asthma. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 106, 1536-1541, 2009.査読有
 13. Suzuki, K., Yamaguchi, Y., Villacorte, M., Mihara, K., Akiyama, M., Shimizu, H., Taketo, M. M., Nakagata, N., Tsukiyama, T., Yamaguchi, T. P., Birchmeier, W., Kato, S. and Yamada, G. Embryonic hair follicle fate change by augmented beta-catenin through Shh and Bmp signaling. **Development** 136, 367-372, 2009.査読有
 14. Iwasawa, M., Miyazaki, T., Nagase, Y., Akiyama, T., Kadono, Y., Nakamura, M., Oshima, Y., Yasui, T., Matsumoto, T., Nakamura, T., Kato, S., Hennighausen, L., Nakamura, K. and Tanaka, S. The antiapoptotic protein Bcl-xL negatively regulates the bone-resorbing activity of osteoclasts in mice. **J. Clin. Invest** 119, 3149-3159, 2009.査読有
 15. Tanabe, M., Kouzmenko, A., Ito, S., Sawasubashi, S., Suzuki, E., Fujiyama, S., Yamagata, K., Zhao, Y., Kimura, S., Ueda, T., Murata, T., Matsukawa, H., Takeyama, K. and Kato, S. Activation of facultatively silenced *Drosophila* loci associates with increased acetylation of histone H2AvD. **Genes to Cells** 13, 1279-1288, 2008.査読有
 16. Zhao, Y., Lang, G., Ito, S., Bonnet, J., Metzger, E., Sawatsubashi, S., Suzuki, E., Le Guezennec, X., Stunnenberg, H. G., Krasnov, A., Georgieva, S. G., Schüle, R., Takeyama, K., Kato, S., Tora, L. and Devys, D. A TFTC/STAGA module mediates histone H2A and H2B deubiquitination, coactivates nuclear receptors, and counteracts heterochromatin silencing. **Mol. Cell** 29, 92-101, 2008.査読有
 17. Okada, M., Takezawa, S., Mezaki, Y., Yamaoka, I., Takada, I., Kitagawa, H. and Kato, S. Switching of chromatin-remodelling complexes for oestrogen receptor-alpha. **EMBO Rep.** 9, 563-568, 2008.査読有
 18. Yokoyama, A., Takezawa, S., Schüle, R., Kitagawa, H. and Kato, S. Transrepressive function of TLX requires the histone demethylase LSD1. **Mol. Cell. Biol.** 28, 3995-4003, 2008.査読有
 19. Kimura, S., Sawatsubashi, S., Ito, S., Kouzmenko, A., Suzuki, E., Zhao, Y., Yamagata, K., Tanabe, M., Ueda, T., Fujiyama, S., Murata, T., Matsukawa, H., Takeyama, K., Yaegashi, N. and Kato, S. *Drosophila* arginine methyltransferase 1 (DART1) is an ecdysone receptor co-repressor.

- Biochem. Biophys. Res. Commun.** 371, 889-893, 2008. 査読有
20. Ohtake, F., Baba, A., Fujii-Kuriyama, Y. and Kato, S. Intrinsic AhR function underlies cross-talk of dioxins with sex hormone signalings. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 370, 541-546, 2008. 査読有
21. Akimoto, C., Kitagawa, H., Matsumoto, T. and Kato, S. Spermatogenesis-specific association of SMCY and MSH5. **Genes to Cells** 13, 623-633, 2008. 査読有
22. Kouzmenko, A. P., Takeyama, K., Kawasaki, Y., Akiyama, T. and Kato, S. Truncation mutations abolish chromatin-associated activities of adenomatous polyposis coli. **Oncogene** 27, 4888-4899, 2008. 査読有
23. Kitagawa, H., Yamaoka, I., Akimoto, C., Kase, I., Mezaki, Y., Shimizu, T. and Kato, S. A reduction state potentiates the glucocorticoid response through receptor protein stabilization. **Genes to Cells** 12, 1281-1287, 2007. 査読有
24. Takada, I., Mihara, M., Suzawa, M., Ohtake, F., Igarashi, M., Takeyama, K., Nakamura, T., Mezaki, Y., Takezawa, S., Yogiashi, Y., Kitagawa, H., Yamada, G., Takada, S., Minami, Y., Shibuya, H., Matsumoto, K. and Kato, S. A histone lysine methyltransferase activated by non-canonical Wnt signaling suppresses PPAR- γ transactivation. **Nat. Cell Biol.** 9, 1273-1285, 2007. 査読有
25. Igarashi, M., Yogiashi, Y., Mihara, M., Takada, I., Kitagawa, H. and Kato, S. Vitamin K induces osteoblast differentiation through PXR-mediated transcriptional control of the Msx2 gene. **Mol. Cell. Biol.** 27, 7947-7954, 2007. 査読有
26. Ohtake, F., Baba, A., Takada, I., Okada, M., Iwasaki, K., Miki, H., Takahashi, S., Kouzmenko, A., Nohara, K., Chiba, T., Fujii-Kuriyama, Y. and Kato, S. Dioxin receptor is a ligand-dependent E3 ubiquitin ligase. **Nature** 446, 562-566, 2007. 査読有
27. Fukuda, T., Yamagata, K., Fujiyama, S., Matsumoto, T., Koshida, I., Yoshimura, K., Mihara, M., Nakamura, T., Akimoto, C., Yamamoto, Y., Katagiri, T., Foulds, C., Takezawa, S., Kitagawa, H., Takeyama, K., O'Malley, B. W. and Kato, S. DEAD-box RNA helicase subunits of the Drosha complex are required for processing of rRNA and a subset of MicroRNAs. **Nat. Cell Biol.** 9, 604-611, 2007. 査読有
28. Takezawa, S., Yokoyama, A., Okada, M., Fujiki, R., Iriyama, A., Yanagi, Y., Ito, H., Takada, I., Kishimoto, M., Miyajima, A., Takeyama, K., Umesono, K., Kitagawa, H. and Kato, S. A cell cycle-dependent co-repressor for photoreceptor cell-specific nuclear receptor function. **EMBO J.** 26, 764-774, 2007. 査読有
29. Miyamoto, J., Matsumoto, T., Shiina, H., Inoue, K., Takada, I., Ito, S., Itoh, J., Minematsu, T., Sato, T., Yanase, T., Nawata, H., Osamura, R. Y. and Kato, S. Pituitary function of androgen receptor constitutes a glucocorticoid production circuit. **Mol. Cell. Biol.** 27, 4807-4814, 2007. 査読有
30. Kim, M.-S., Fujiki, R., Kitagawa, H. and Kato, S. 1 α ,25(OH)2D3-induced DNA methylation suppresses the human CYP27B1 gene. **Mol. Cell. Endocrinol.** 265-266, 168-173, 2007. 査読有
31. Kim, M.-S., Fujiki, R., Murayama, A., Kitagawa, H., Yamamoto, K., Yamamoto, Y., Mihara, M., Takeyama, K. and Kato, S. 1 α , 25(OH)2D3-induced transrepression by vitamin

- D receptor through E-box-type elements in the human parathyroid hormone gene promoter. **Mol. Endocrinol.** 21, 334-342, 2007.査読有
32. Matsumoto, T., Kawano, H., Shiina, H., Sato, T. and Kato, S. Androgen receptor functions in male and female reproduction. **Reproductive Med. Biol.** 6, 11-17, 2007.査読有
33. Oishi, H., Kitagawa, H., Wada, O., Takezawa, S., Tora, L., Kouzu-Fujita, M., Takada, I., Yano, T., Yanagisawa, J. and Kato, S. An hGCN5/TRRAP HAT complex coactivates BRCA1 transactivation function through histone modification. **J. Biol. Chem.** 281, 20-26, 2006.査読有
34. Unno, A., Takada, I., Takezawa, S., Oishi, H., Baba, A., Shimizu, T., Tokita, A., Yanagisawa, J. and Kato, S. TRRAP as a hepatic coactivator of LXR and FXR function. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 327, 933-938, 2005.査読有
35. Furutani, T., Takeyama, K., Koutoku, H., Ito, S., Taniguchi, N., Suzuki, E., Kudoh, M., Shibasaki, M., Shikama, H. and Kato, S. A role of androgen receptor protein in cell growth of an androgen-independent prostate cancer cell line. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** 69, 2236-2239, 2005.査読有
36. Nakagawa, K., Kawaura, A., Kato, S., Takeda, E. and Okano, T. 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ is a preventive factor in the metastasis of lung cancer. **Carcinogenesis** 26, 429-440, 2005.査読有
37. Wada-Hiraike, O., Yano, T., Nei, T., Matsumoto, Y., Nagasaka, K., Takizawa, S., Oishi, H., Arimoto, T., Nakagawa, S., Yasugi, T., Kato, S. and Taketani, Y. The DNA mismatch repair gene hMSH2 is a potent coactivator or oestrogen receptor α . **Br. J. Cancer** 92, 2286-2291, 2005.査

読有

6. 研究組織

(1) 研究代表者

加藤 茂明 (KATO SHIGEAKI)
東京大学・分子細胞生物学研究所・教授
研究者番号：60204468

(2) 研究分担者

武山 健一 (TAKEYAMA KEN-ICHI)
東京大学・分子細胞生物学研究所・講師
研究者番号：30323570

北川 浩史 (KITAGAWA HIROCHIKA)
東京大学・分子細胞生物学研究所・特任講師
研究者番号：20345234

高田 伊知郎 (TAKADA ICHIRO)
東京大学・分子細胞生物学研究所・助教
研究者番号：50361655

大竹 史明 (OHTAKE FUMIAKI)
東京大学・分子細胞生物学研究所・助教
研究者番号：60447373

(3) 連携研究者

武山 健一 (TAKEYAMA KEN-ICHI)
東京大学・分子細胞生物学研究所・講師
研究者番号：30323570

北川 浩史 (KITAGAWA HIROCHIKA)
東京大学・分子細胞生物学研究所・特任講師
研究者番号：20345234

大竹 史明 (OHTAKE FUMIAKI)
東京大学・分子細胞生物学研究所・助教
研究者番号：60447373