

令和 2 年 6 月 2 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03580

研究課題名(和文) NFAT-内皮活性化のシステム解析に基づく抗血管新生・抗がん治療法の創生

研究課題名(英文) Anti-tumor approach based on the understanding of NFAT-EC activation system

研究代表者

南 敬 (Minami, Takashi)

熊本大学・生命資源研究・支援センター・教授

研究者番号：00345141

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：ES-内皮分化におけるゲノムワイド解析を進め、内皮を規定する転写因子の発現カスケードを同定した。一方終末分化した内皮細胞において、ERGとFLI1発現を喪失させると、内皮-間葉系細胞形質転換(EndMT)現象が生じ、全ての内皮マーカーの消失と間葉系マーカーの発現上昇が認められた。これらEndMT現象ががん微小環境下、腫瘍血管内皮で進行することが実証された。更にダウン症因子(DSCR)-1を内皮特異的にダウン症様発現を行うモデルマウスを樹立した。本マウスは血管分岐異常や血管密度の低下が胎仔期に認められ、NFATシグナルが血管リモデリングにおいてその分岐形成に深く関与することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

内皮活性化に関わる NFAT/DSCR-1経路において、DSCR-1はダウン症の発症要因となる一方、DSCR-1 自体のトリソミー発現がダウン症の固形がん罹患率減少の主因となり、抗がんや抗転移における優れた有効性を持つ。また、がんの悪性化、転移において腫瘍血管内皮の EndMT 現象が関与することが考えられ、その分子メカニズムの一端が解明されたことにより、今後抗がんにおける腫瘍血管の動態解析の重要性が再認識され、新規な DSCR-1 安定化剤の創薬や臨床アプローチが進むことが期待される。

研究成果の概要(英文)：Endothelial cell (EC) plasticity in pathological settings has been recognized as a driver of disease progression. Endothelial-to-mesenchymal transition (EndMT), in which ECs acquire mesenchymal properties, has been described for a wide range of pathologies, including cancer. However, the mechanism regulating EndMT in the tumor microenvironment and the contribution of EndMT in tumor progression are not fully understood. Here we found, combined knockdown of ERG and FLI1, induces EndMT coupled with dynamic epigenetic changes in ECs. Genome-wide analyses revealed that ERG/FLI1 are critical transcriptional activators for EC-specific genes, among which miR-126 partially contributes to blocking the EndMT induction. Moreover, we demonstrated that ERG and FLI1 expression is declined in ECs within tumor by soluble factors enriched in the tumor microenvironment. These data provide new insight into the mechanism of EndMT, functions of ERG and FLI1 in EC, and its behavior in pathological condition.

研究分野：血管生物学

キーワード：血管内皮細胞 血管新生 NFAT ダウン症因子 EndMT 転写因子 ERG 転写因子 FLI1 がん微小環境

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 超高齢化社会を迎え、今や国民病と評されるがん、特に治療抵抗性・再発・転移を伴う難治性がんによる死因や脳卒中・心筋梗塞の素因となる動脈硬化・血栓症での死亡率は年々増加の一途にある。これら三大疾病(がん・脳梗塞・心疾患)には必ず血管が密接に関与しておりその根本原因となり得る一方、血管疾患は臓器や腫瘍特異的に血管恒常性の破綻した部位に局限して生じる特徴を有する。その発症機序を理解するには、まず血管構築の基礎となる内皮細胞に焦点をおき、その病的活性化原理を解明するのが急務である。体全身に行き渡る血管内皮細胞の全ゲノム情報は同一であるにも関わらず、各臓器や腫瘍の血管床に依りて特異的な遺伝子が発現する後天的制御を考慮すると、エピゲノム転写調節が多様性を示す内皮活性化の鍵を担うことが予想される。この動的な内皮活性化を網羅解析する上で血管新生誘導因子を用いた全ゲノム発現アレイや、ヒストンコードマッピングが有効であり、我々はこれまでヒト正常血管内皮細胞や ES 細胞-内皮分化系を用い、内皮を規定する転写因子 (ETV2 GATA2 FLI1 ERG) の発現カスケードや血管新生誘導転写因子に固有なエピゲノム修飾の意義を見出してきた。

(2) 人類遺伝学上最も高頻度に生じる染色体異常症であるダウン症は認知・神経疾患や白血病のリスクが極めて高いにも関わらず、成人期においては固形がんや高血圧・動脈硬化などの血管病変に対し強い抵抗性を有することが知られている。我々は固形がんの増殖低下に最も密接に関与する因子がヒト 21 番染色体上に位置するダウン症因子 (DSCR)-1 であり、特に DSCR-1 安定発現により病的血管新生や腫瘍進展が顕著に抑制され、敗血症などの急性期血管疾患にも防護因子として有効性を示す一方、DSCR-1 がないと内皮不安定性やバリアー機能不全から逆に原発腫瘍の退縮が生じることを報告してきた。又 NFAT 活性化には臓器特異性が存在し、強く作用する肺血管で転移ニッチが優先して生じ、NFAT 下流の Angiopoietin (ANG)-2 が転移を誘発すること、ANG-2 blocker 投与により肺転移が抑制されることを示してきた。しかし一方で、DSCR-1 と同じ 21 番染色体に位置する NFAT kinase DYRK1A の双方の過発現によって NFAT の不可逆的な機能破綻が生じ、ダウン症が発症する事実や抗がん剤同様、DSCR-1 をダウン症のように生理的 feedback 制御を超えて発生期から恒常的に過発現すると血管が逆に不安定化する負の側面も新たに見出されている。

### 2. 研究の目的

(1) 我々はがん微小環境下 NFAT 持続的活性化や GATA2 ロスを引き金として腫瘍血管内皮細胞が部分的に形質転換してがん関連線維芽細胞 (CAF) 様の性質になる (EndMT) 現象を初めて報告した (Kanki, et.al. *EMBO J* 2017) が、その際に内皮規定性 Ets 転写因子 FLI1/ERG が共に発現減少すること、FLI1/ERG ロスのみで EndMT 現象を再現でき、これががん細胞の血管内浸潤を促す要因となる予備的知見を得ていた。そこで、初代培養内皮細胞を用いて転写因子 ERG や FLI1 がゲノム上に結合する領域、エピゲノム動態変化への影響、ERG/FLI1 のノックダウンによって発現変動する遺伝子の網羅解析を通じて、腫瘍血管が EndMT に至る病態変化やがん微小環境に与える影響について解明することを目的とした。

(2) DSCR-1 locus 全体のトランスジェニック (Tg) マウスは幾つかの遺伝的背景で確認しても必ず胎生致死となることが報告されている (Kluetzmann, et.al. *BBRC* 2005)。また DSCR-1 自体には主に二つの isoform が発現しており、より 5' 側の promoter から発現する long variant (DSCR-1L) は神経系や白血病細胞で高発現している一方、血管系では低い発現しか示さない。又 DSCR-1 intergenic promoter には NFAT 結合部位が複数並んでおり、NFAT/GATA 依存性に内皮で強力に誘導される short variant (DSCR-1s) が NFAT/DSCR-1 フィードバックシグナルの本体となる。そこで、DSCR-1s を内皮特異的にコンディショナル発現するモデルマウスを作製し、胎仔期と生後の NFAT 恒常的阻害に基づく血管動態や内皮恒常性への寄与を解析すると共にがん形成時に血管内皮の NFAT 活性を特異的に抑制することによる抗血管新生への有効性を確認する。更に DSCR-1s, L 両方の欠損マウスは一部脳血管からの出血を原因とし、胎生致死 (partial lethal) となるが、DSCR-1s, L 各々の欠損における影響は詳細に解明されていない。そこで、各々の欠損マウスを作製して血管新生や腫瘍形成に与える影響を解明することを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 免疫沈降や組織染色が可能な ERG, FLI1 高機能抗体を探し、これら転写因子抗体での内皮細胞 HUVEC を用いた ChIP-seq とヒストンマップを組み合わせる。ERG/FLI1 結合領域がエピゲノム上開いているところに限定されているのか、あるいは閉じた領域をヒストン修飾因子と共役して空けていく pioneer ファクターの機能を有するのか検証する。また HUVEC を用い、これら ERG/FLI1 を siRNA にてノックダウンし、その DNA マイクロアレイからゲノムワイドに下流標的を探索する。得られた下流標的候補が逆にどの程度 ERG/FLI1 ロスによる EndMT 様事象を再現しうるのか解析し、がん微小環境における動態との関連を検証する。一方 EndMT 現象自体ががん転移に促進的か抑制的か不明なため、ERG/FLI1 の内皮特異的発現 Tg マウスを樹立し、解析準備を整える。

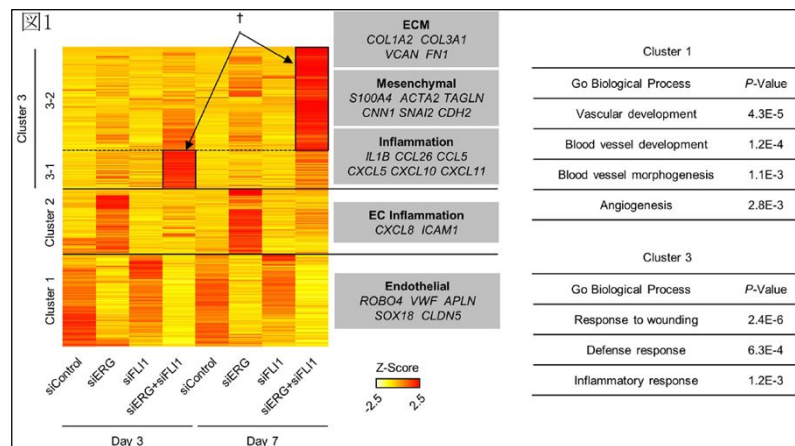
(2) 血管内皮特異的な VE-cadherin promoter にドキシサイクリン (Dox) 抑制性の rtTA を繋いだもの (Eli Lilly.com, USA から供与) と Dox 応答性プロモーターに *Dscr-1* と *LacZ* マーカー配列を繋いだものを掛け合わせた内皮特異的 conditional Tg マウスを樹立する。この Dox ON/OFF

時での内皮発現を臓器毎に解析し、また発生期から adult マウスにおける血管動態がどのように変化するか、*lacZ* マーカーや CD31 による内皮特異的染色を基に解析する。また DSCR-1L 特異的な領域を用いて CRISPR/Cas9 系による受精卵での迅速ノックアウトマウスを作製する。一方 DSCR-1s 特異的な領域は 27 アミノ酸しか存在せず、疎水的な領域が多い。そこで特異的な guide RNA の選定が困難であったため、広島大学山本 卓先生の TALEN 技術を用いて DSCR-1s 特異的欠損マウスの樹立に取り組む。

#### 4. 研究成果

##### (1) 内皮細胞での ERG と FLI1 の共通のノックダウンは EndMT を引き起こした。

siRNA を用い、HUVEC に ERG, FLI1 単独及び共通のノックダウンからゲノムワイド解析を行った。ERG は内皮マーカーとしてもよく使われており、ノックダウンにより間葉系マーカーの発現亢進と内皮マーカー遺伝子の減少、内皮炎症関連遺伝子の発現上昇を引き起こす一方、FLI1 ノックダウンだけでは CD31 や VE-cadherin などの幾つかの内皮マーカーの発現減少以外有意な遺伝子の変化は認められない結果を得た。興味深いことに ERG/FLI1 の共通のノックダウンでは、ERG 単独ノックダウンよりも顕著な EndMT を引き起こし、ほぼ全ての内皮マーカーの喪失と EMT, EndMT を引き起こす転写因子 SNAI2 の発現亢進、ERG ノックダウンでみられた内皮での炎症関連遺伝子とは異なる通常内皮では発現しない炎症関連遺伝子 (図 1 中クラスター3-1) の発現増加が初期(ノックダウン 3 日目)にみられ、EndMT が完結する時期、ノックダウン 7 日目では多くの間葉系マーカーの発現亢進が認められた (図 1)。発現クラスターにおいて、GO 解析を行ったところ、ERG/FLI1 siRNA により最も発現低下するもの (クラスター 1) は血管形成、血管新生に関与する内皮マーカーで専有しており、逆に ERG/FLI1 siRNA により最も発現上昇するもの (クラスター3-2) では創傷応答や感染防護、炎症などに関与する間葉系遺伝子が有意に濃縮される結果となった。また EndMT の兆候は細胞染色や FACS データでも確認された。



##### (2) 内皮細胞での ERG や FLI1 は共に overlap した Ets 結合領域に結合し、内皮特異的発現様式を有する遺伝子発現促進に寄与した。

ERG, FLI1 抗体を用いた ChIP-seq を各々2 回行い、ERG 濃縮領域 77,467 ピークと FLI1 濃縮領域 47,002 ピークを得た。これらのうち多く (45,767 ピーク) は overlap が認められ、転写開始点 (TSS) から 1Mb 以内の top 2000 ピークを基にゲノム上では遺伝子間イントロン領域、遠位遺伝子間領域、プロモーター領域の順に濃縮が認められた。また結合ピークを有する遺伝子をもとに GO 解析を進めると、ERG/FLI1 siRNA での発現アレイと同様に、血管形成・血管新生に関わる内皮発現遺伝子が有意に存在する結果となった。次に内皮でのヒストンプロファイルと合わせて観察したところ、ERG/FLI1 共に H3K4me3 プロモーターマークや H3K27Ac エンハンサーマークの濃縮している転写活性可能なところに結合しており、H3K27me3 サイレンサーマークの濃縮している抑制クロマチン領域には結合していない結果となった。また ERG/FLI1 siRNA 処理により、活性化クロマチンにおける H3K4me3, H3K27Ac の濃縮ピークが有意に減少することから、内皮を規定する転写因子 ERG と FLI1 は共に転写可能なクロマチンに結合し、その内皮マーカー遺伝子の発現上昇に寄与するが、それ自身転写が抑制されたクロマチンに結合し、クロマチン状態を変換させうる pioneer 因子にはなり得ないこと、受動的な転写活性化因子であることが判明した。

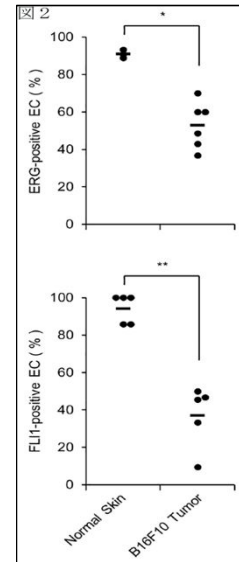
##### (3) ERG, FLI1 の下流標的である SMAD1、マイクロ RNA (miR-216) は ERG/FLI1 欠損依存性の EndMT を防護した。

ではその ERG/FLI1 の下流標的で重要な遺伝子は存在するのか？我々はまず ERG/FLI1 の結合領域が遺伝子制御領域に認められること その結合ピークがエンハンサーマーク H3K27Ac と overlap していること si-ERG/FLI1 にてその H3K27Ac の濃縮量が減少すること si-ERG/FLI1 にて発現量が 70%以上減少すること si-ERG/FLI1 での発現減少量が各々の si-RNA 単独処理に比べ有意に大きいこと、これら 5 つのクライテリアで絞り込み、293 個の遺伝子を同定した。このうち SMAD1 は EMT, EndMT に強く関与する TGF-β2 や calponin1 の発現制御領域に結合し、その SMAD1 発現抑制によってこれら EndMT が促進する結果を得た。但し、本解析中に Anna Randi 博士らにより、BMP-SMAD1 経路が TGF-β-SMAD3 経路の EndMT を防護する報告がなされた (Ref)。そこで、我々は新たな標的として miRNA に着目した。上述 5 つ

のクライテリアに miRNA のターゲット scan のデータも交え、miR-216 が最も ERG/FLI1 の下流標的になり得ることを見出した。miR-216 は同じく内皮特異的発現を有する EGFL7 遺伝子のイントロン 7 に存在する non-code RNA である。miR-216 mimic を加えることで、ERG/FLI1 ノックダウンによる VE-cadherin や CD31 の減少効果や間葉系マーカーである ACTA2, COL1A1, SNAI2 の発現上昇を部分的に阻害し、かつ、miR-216 inhibitor の投与は VE-cadherin の減少や COL1A1, SNAI2 の発現上昇をもたらした。これらのことから ERG/FLI1 の下流標的である miR-216 がその部分的な EndMT に少なくとも有意に関与することが判明した。

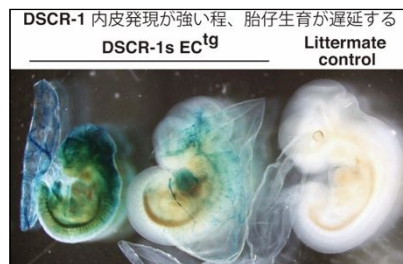
**(4) ERG, FLI1 はがん微小環境において血管内皮での発現が低下した。**

がん微小環境での EndMT についてさらに検証するため、実際の腫瘍環境下で腫瘍血管内皮に発現する ERG, FLI1 が正常血管内皮に比べその発現量が変化するか免疫染色して確認した。その結果、皮膚での正常血管内皮では ERG, FLI1 共に内皮層の核内に連続して発現するのにに対し、B16F10 メラノーマにおいては、極めて内皮での発現が低下しており、patchy に内皮核内に染色像がみられるだけであった。内皮細胞全体にて定量した結果でも 50%以上の有意な低下が認められた(図 2)。また B16 メラノーマや E0771 乳がん細胞、3LL 肺がん細胞での培養上清を用いた condition media を加えることでも ERG, FLI1 の発現量は低下すること、そのがん由来の condition media により ERG/FLI1 欠損のマーカー遺伝子である ACTA2, COL1A1, TAGLN, SNAI2 の発現が有意に上昇することが明らかとなった。このことから、がん微小環境下、血管内皮上での ERG, FLI1 が発現低下し、EndMT 様の状態を引き起こすことが示唆された。次にがん転移において原発巣での血管状態がどのように影響するのか、EndMT 自体が転移を促進する結果となるのか、それを防護する mouse Erg 及び Fli1 の内皮特異的安定発現マウスの作製に取り組んだ。そこで Erg/Fli1 の cDNA を Rosa locus に Flox-stop-Flox を導入した場所の下流に guide RNA を用いて knock-in したマウスを作製することとした。Fli1 は未完成であるが、Erg は VE-cadherin promoter-CreERT2 を交配し、タモキシフェン投与することで内皮での mRNA やタンパクが内因性発現の 8 倍増大することを確認した。現在 COVID-19 のためマウス解析が滞っているが、解消してから今後研究を展開していく予定にしている。



**(5) DSCR-1 内皮構成的発現にて NFAT 活性を恒常的に阻害すると血管分岐異常となった。**

これまで、造血幹細胞と内皮細胞特異的な Tie2-short promoter を用いてヒト DSCR-1s cDNA を導入した Tg マウスでは DSCR-1 の発現の高いものは germ line に載らず、発現の低いもの、内因性発現の 3 倍程度増強する低程度のもののみが line 化される結果となった。本マウスでの抗血管新生能は既に論文にて報告している。そこで次に、より内皮特異性を高い VE-cadherin promoter を用いてドキシサイクリン有無にてコンディショナル発現を制御し、更にその発現を IRES で繋いだ LacZ にてトレース出来る Tg マウスを作製した。独立した 3 系統を樹立したが、いずれも制御カセットをホモアレールに有するマウスは産まれてこず、ヘテロアレールに存在するもの(ダウン症様発現をしたもの)、あるいはドキシサイクリン負荷にて DSCR-1s 発現を抑制したものしか出生出来ないことが判明した。この胎生致死の原因を探るため、体外受精を行い多数の胚をもちいて解析したところ、E8-9 の間に血管が形成出来ないことが原因で致死となること、また、DSCR-1s の内皮発現が強い程、ダウン症モデルマウス同様胎仔発育が遅延する結果となった。更に DSCR-1s のダウン症様発現をもつマウス胎仔では分岐パターンが異常となり、血管密度も減少していること、その病態の顕著な部位では代償的に血管径が太くなっている現象も観測された。次に血管分岐が異常となる仕組みを探索するため、ピースに HUVEC をコーティングした *in vitro* 系にて sprouting アッセイを行った。DSCR-1s 安定発現 HUVEC やシクロスポリンを添加して NFAT 活性を抑制した場合には同じように血管様の発芽が抑制され、また発芽した内皮と内皮基底層に存在する内皮をもとに発現アレイを行ったところ、発芽領域には calcium-NFAT シグナル、Notch シグナルに関連する遺伝子が最も強く誘導されることが判明した。また、その発芽内皮や zebrafish での血管分岐先端 (Tip 細胞)には NFAT の核内局在が認められている。また NFAT の ChIP-seq データ解析からも Notch リガンドである Dll4 が下流標的となり得ることが判明した、これらのことから、血管分岐においては NFAT/DSCR-1s のシグナル経路が重要であること、NFAT 活性化が分岐の始まりに関与することが示唆された。



**(6) DSCR-1s, DSCR-1L のアイソフォーム特異的欠損マウスの樹立に成功した。**

CRISPR/Cas9, TALEN 技術を用いて各々 DSCR-1s, L の発現喪失を特異的に行うコンストラクトを作製し、受精卵にインジェクションすることでマウス化を試みた。オフターゲット効果をなるべく下げる目的で各々片側アレールのみ欠損がはいったヘテロマウスを維持し、それらを交配することでホモ化を行ったところ、DSCR-1s 欠損では胎仔発育、次世代への維持に問題がなく、ライン化することに成功したが、DSCR-1L ホモ欠損では雌において neglect や行動異常が

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

生じ、ホモライン化することが困難であった。そこで、DSCR-1L ではヘテロマウス同士を掛け合わせることで随時ホモ欠損マウスを作製することで維持することとした。また DSCR-1s, L 共に反応するマウスモノクロナール抗体に加え、DSCR-1L のみに反応し、その内因性発現を検出可能なモノクロナール抗体の作出にも成功したので、今後これらのモデルマウスや抗体をもとに、DSCR-1L が白血病細胞のみならず、固形がんにも発現するのか、またこれらアイソフォーム特異的欠損マウスでの表現型と既存の DSCR-1 欠損マウスでのデータと比較して、どの程度 DSCR-1 アイソフォームでの固有の違いとして存在するのか検証するツールとして利用する。

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Minami Takashi, Muramatsu Masashi, Kume Tsutomu	4. 巻 42
2. 論文標題 Organ/Tissue-Specific Vascular Endothelial Cell Heterogeneity in Health and Disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 1609 ~ 1619
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1248/bpb.b19-00531	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Sato Michio, Miyata Keishi, Tian Zhe, Kadomatsu Tsuyoshi, Ujihara Yoshihiro, Morinaga Jun, Horiguchi Haruki, Endo Motoyoshi, Zhao Jiabin, Zhu Shunshun, Sugizaki Taichi, Igata Kimihiro, Muramatsu Masashi, Minami Takashi, Ito Takashi, Bianchi Marco E, Mohri Satoshi, Araki Kimi, Node Koichi, Oike Yuichi	4. 巻 83
2. 論文標題 Loss of Endogenous HMGB2 Promotes Cardiac Dysfunction and Pressure Overload-Induced Heart Failure in Mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Circulation Journal	6. 最初と最後の頁 368 ~ 378
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1253/circj.CJ-18-0925">https://doi.org/10.1253/circj.CJ-18-0925</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 南 敬	4. 巻 270
2. 論文標題 血管形成・血管新生を担う転写因子ネットワーク 内皮エピゲノム環境に基づく転写カスケード	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 医学のあゆみ 血管新生	6. 最初と最後の頁 51-56
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kanki Yasuharu, Nakaki Ryo, Shimamura Teppei, Matsunaga Taichi, Yamamizu Kohei, Katayama Shiori, Suehiro Jun-ichi, Osawa Tsuyoshi, Aburatani Hiroyuki, Kodama Tatsuhiko, Wada Youichiro, Yamashita Jun K., Minami Takashi	4. 巻 45
2. 論文標題 Dynamically and epigenetically coordinated GATA/ETS/SOX transcription factor expression is indispensable for endothelial cell differentiation	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 4344 ~ 4358
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkx159	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakamura Shinya, Koyama Takuma, Izawa Naohiro, Nomura Seitaro, Fujita Takanori, Omata Yasunori, Minami Takashi, Matsumoto Morio, Nakamura Masaya, Fujita-Jimbo Eriko, Momoi Takashi, Miyamoto Takeshi, Aburatani Hiroyuki, Tanaka Sakae	4. 巻 12
2. 論文標題 Negative feedback loop of bone resorption by NFATc1-dependent induction of Cadm1	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0175632
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175632">https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175632</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Baba Masaya, Endoh Mitsuhiro, Minami Takashi, Ishii Masaru, Suda Toshio など	4. 巻 33
2. 論文標題 Folliculin Regulates Osteoclastogenesis Through Metabolic Regulation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Bone and Mineral Research	6. 最初と最後の頁 1785 ~ 1798
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1002/jbmr.3477">https://doi.org/10.1002/jbmr.3477</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ogura S, Kurata K, Hattori Y, Takase H, Ishiguro T, Hwang Y, Ahn S, Park I, Ikeda W, Kusuhara S, Fukushima Y, Nara H, Sakai H, Fujiwara T, Matsushita J, Ema M, Hirashima M, Minami T, Shibuya M, Takakura N, Kim P, Miyata T, Ogura Y, Uemura A	4. 巻 2
2. 論文標題 Sustained inflammation after pericyte depletion induces irreversible blood-retina barrier breakdown	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁 e90905
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1172/jci.insight.90905">https://doi.org/10.1172/jci.insight.90905</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 7件)

1. 発表者名 Minami, T
2. 発表標題 Uncovering VEGF-stimulated variable epigenome landscape in endothelium
3. 学会等名 Gordon Research Conference 2019 Epigenetic Regulation of Cardiovascular Disease (国際学会) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Muramatsu M., Ryeom S., Uemura A., and Minami T.
2. 発表標題 Homeostasis in NFAT1-Down syndrome critical region-1 signaling is critical for regulation of proper vessel formation and vascular integrity
3. 学会等名 第3回Asia Australia Vascular Biology Meeting(AAVBM) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Minami, T
2. 発表標題 Homeostasis in NFAT-DSCR-1 signaling is critical for initial epigenetic conversion and the following proper vessel formation
3. 学会等名 NIH Vascular Annual Seminar series (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yasuharu Kanki, Yuri Miyamura, Masashi Muramatsu, and Takashi Minami
2. 発表標題 Epigenetic modifier regulates accurate transcription on the bivalent histone marked angiogenic genes in endothelium
3. 学会等名 Cell Symposium_2019_Epigenetics (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 南 敬
2. 発表標題 VEGF 刺激によるヒストンダイナミクスを介した内皮分化 及び血管分岐応答制御機構の解明
3. 学会等名 CVMW2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 Yuri Miyamura, Masashi Muramatsu, Takashi Minami
2. 発表標題 A novel endothelial cell specific-gene, DESM, regulated pathological angiogenesis
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Minami T
2. 発表標題 Homeostasis in NFAT-Down syndrome critical region-1 signaling is critical for regulation of proper vessel formation and vascular integrity.
3. 学会等名 Ts21 International conference 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Minami T
2. 発表標題 Endothelial cell heterogeneity
3. 学会等名 Korea-Japan Joint symposium for Vascular Medicine (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 南 敬
2. 発表標題 ダウン症因子 DSCR-1 による 血管恒常性制御と加齢病態
3. 学会等名 Con Bio 2017 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 南 敬
2. 発表標題 NFAT/ダウン症因子 (DSCR-1) シグナルに基づく 内皮活性化と病的血管新生制御
3. 学会等名 日本薬学会 (招待講演)
4. 発表年 2017年～2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

ES 細胞から内皮分化におけるゲノムワイドな解析を報告しました  
<http://irda-vascular.kuma-u.jp/news/2017/03/es-nucleicacidsresearch.html>  
 血管分化を導く遺伝プログラムの一部を解明 血管分化におけるヒストンと転写のはたらきを同定  
<http://irda-vascular.kuma-u.jp/news/2017/03/es-nucleicacidsresearch.html>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	村松 昌  (Muramatsu Masashi)	熊本大学・助教  (17401)	
研究協力者	神吉 康晴  (Kanki Yasuharu)	東京大学・助教  (12601)	
研究協力者	植村 明嘉  (Uemura Akiyoshi)	名古屋市立大学・特命教授  (23903)	

## 6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	永井 直  (Nagai Nao)		
研究協力者	仲木 亮  (Nakaki Ryo)		
研究協力者	油谷 浩幸  (Aburatani Hiyoyuki)	東京大学・先端科学技術研究センター・教授  (12601)	