

放射線再生医学研究部門 組織再生制御研究分野研究概況

教	授	本	田	浩	章	
助	教	藤	本	成	明	
助	手	宮	崎	和	子	
C O E 研究員		小	藺	井	真	人 (平成18年4月～)
大 学 院 生		田	崎	達	也	
大 学 院 生		佐	々	木	崇	暁 (平成19年3月～)

本教室では「遺伝子改変マウスを用いた遺伝子の生物学的機能の解析」と「再生医学の臨床応用へ向けた基礎検討」を教室の柱として研究を進めている。

遺伝子改変マウスについては、現在までに本田・宮崎を中心に複数のトランスジェニックマウスとノックアウト・ノックインマウスを作製し表現型の解析を行っている。再生医学の基礎検討に関しては、藤本・小藺井がE S細胞から肺幹細胞へのin vitroでの分化誘導・単離の試みを行っている。第一外科からの大学院生の田崎達也と眼科からの大学院生佐々木崇暁はp130Cas (Cas) のコンディショナルノックアウトマウスを用いて組織特異的にCasを欠失したマウスの解析を行っている。

当研究分野における研究課題は以下のごとくである。

1. 研究課題：CMLトランスジェニックマウスモデルを用いたヒト慢性骨髄性白血病の急性転化に関わる遺伝子の解析

参加研究者：本田浩章，宮崎和子，山崎憲政，中村卓郎（（財）癌研究会，癌研究所がん研究部），小田秀明（東京女子医科大学第二病理学教室），Linda Wolff（Leukemogenesis Section, Laboratory of Cellular Oncology, National Cancer Institute, USA）

慢性骨髄球性白血病（Chronic Myelogenous Leukemia：CML）はキメラ蛋白質であるp210BCR/ABLにより形質転換した造血幹細胞の腫瘍である。CMLは臨床的には穏やかな慢性期に始まるが、不可避免的に致死的な急性転化へと進行する。付加的遺伝子異常が慢性期から急性転化への移行に関与すると考えられているが、その分子生物学的機構は不明である。我々はp210BCR/ABLのトランスジェニックマウスを作製し、再現性良くCMLを発症するモデルマウスの開発に成功した。このマウスにレトロウイルスを感染し内在性の遺伝子に取り込ませ不活化または過剰発現させることにより、CML急性転化の原因となる遺伝子変異を解析した。ウイルス感染によりp210BCR/ABLトランスジェニックマウスはコントロールマウスより早期に急性白血病を発症した。これらのマウスについてレトロウイルス特異的なプライマーを用いてウイルスが挿入された遺伝子の解析を行い、いくつかの興味ある遺伝子群が同定されている。

2. 研究課題：白血病融合転写因子産物の疾患モデルマウスの作製とその解析

参加研究者：宮崎和子，山崎憲政，本田浩章，稲葉俊哉，小田秀明（東京女子医科大学第二病理学教室），三谷絹子（獨協医科大学血液内科）

ヒト造血器腫瘍では疾患特異的な染色体異常，特に染色体転座が数多く認められ，これらのほとんどが融合遺伝子を形成することが明らかとなってきた．我々はこれらのうち， $t(9;22)$ で形成されるBCR/ABL， $t(8;21)$ で形成されるAML1/ETO， $t(3;21)$ で形成されるAML1/EVI1， $t(17;19)$ で形成されるE2A/HLF， $t(1;19)$ で形成されるE2A/PBX1などの融合遺伝子産物について新しく開発した後天的に誘導可能なノックインの手法を用いて疾患モデルマウスの作製を試みている．すでにE2A/HLFについてはノックインマウスが得られているが，後天性のE2A/HLFのみでは白血病発症に十分ではなく，2次的な遺伝子異常が必要であると考えられた．この過程を検索する目的で，E2A/HLFノックインマウスにウイルス感染を行った．ウイルス投与を受けたE2A/HLFノックインマウスは急性白血病を発症し，これらのマウスについてウイルスが挿入された遺伝子の同定を行い，いくつかの転写因子遺伝子が同定されている．

3. 研究課題：ノックインマウスを用いた造血幹細胞より単離されたMBTドメインを有する新規遺伝子Hempの機能解析

参加研究者：宮崎和子，本田浩章，宮崎正輝，菅野雅元，小田秀明（東京女子医科大学第二病理学教室），Ihor R. Lemischka（Department of Molecular Biology, Princeton University, USA）

Hemp (hematopoietic expressed mammalian polycomb) はPrinceton大学のLemischkaらにより作製された高度に純化された造血幹細胞特異的cDNA libraryから単離された遺伝子であり，MBT (malignant brain tumor) ドメインを有する．この遺伝子の生物学的機能解析の目的で，我々はHempのノックアウトマウスを作製した．ノックアウトマウスでは，骨格異常，リンパ球系および顆粒球系前駆細胞の分化・増殖異常，および骨髄移植実験で長期骨髄構築能の異常を認めることが明らかとなっており，現在分子機構の解析を進めている．

4. 研究課題：コンディショナルノックアウトマウスを用いたアダプター分子Casの機能解析

参加研究者：田崎達也，佐々木崇暁，宮崎和子，本田浩章，堺 隆一（国立がんセンター研究所・細胞増殖因子研究部）

Cas (Crk-associated substrate) は癌遺伝子であるCrkおよびSrcにより形質転換した線維芽細胞で高いチロシンリン酸化を受けるアダプター蛋白質として同定された．我々はCasのノックアウトマウスを作製し，Casの生物学的機能はアクチン繊維の束状化であることを明らかにした．しかし，Casノックアウトマウスは胎生致死となってしまうため，Casが成体の様々な組織においてどのような機能を果たしているかは未だに不明のままである．この問題を解決する目的で，我々はCasのSH3 (Src homology 3) ドメインをコードするexon 2のみを欠くノックアウトマウス (Cas Δ exon 2) およびCas全長を欠くコンディショナルノックアウトマウス (Cas FL cKO) を作製した．Cas Δ exon 2は肝臓の発生異常により胎生致死と成る事が判明しており，現在原因の検索を行っており，Cas FL cKOはさまざまなCreトランスジェニックマウスとの掛け合わせを行っている．

5. 研究課題：ノックインを用いたマウスES細胞からの肺幹細胞の単離

参加研究者：小藺井真人，藤本成明，本田浩章

我々は放射線感受性臓器の再生医学の基礎検討を行うため，肺の幹細胞で発現しているSurfactant-C遺伝子座にgreen fluorescent protein (GFP) をノックインしたマウスES (embryonic stem) 細胞を作製している．相同組換えクローンを得た後，LIFおよびfeeder細胞を除去してembryoid bodyを作製しflowcytometryによるGFP陽性細胞の単離を行い細胞機能をin vitroで解析すると共に，肺に放射線照射したマウスに上記GFP

陽性細胞を移植し, in vivoでの肺再生能について検討する.

6. 研究課題: 前立腺幹細胞からの組織再生に関わる遺伝子発現

参加研究者: 藤本成明

前立腺の臓器再生過程においては幹および前駆細胞を介した活発な細胞増殖と分化がアンドロゲンに応答して行われる. それに関与する遺伝子を同定するため, マウス前立腺新生仔期におけるアンドロゲン応答する遺伝子群を, cDNAマイクロアレイにより同定した. また応答マーカーとして前立腺分泌たんぱく質をマスマスプロトメトリーにより解析, SFIGBP, EAPA2等の新規分泌タンパク質を明らかにした.

A. 原 著

1. 本田浩章「疾患モデルを用いた腫瘍発症の分子機構, 造血器腫瘍 (基礎・臨床領域における最新の研究動向)」日本臨床増刊号 (日本臨床社) p24-33, 2007
2. 本田浩章「後天性に誘導可能に目的遺伝子を発現する白血病モデルマウスの作製」放射線生物研究 41 (3) p255-263, 2006
3. Suzuki, T.^{*1}, Fujimoto, N., Kitamura, S.^{*1}, Ohta, S.^{*1} (^{*1} Dept. Xenob. Metab. Mol. Toxicol., Faculty of Pharmacy, Hiroshima University): Quantitative determination of lobe specificity of mRNA expression of androgen-dependent genes in the rat prostate gland. Endocr. J. 54, 123-132, 2007 (R, A, G, I)
4. Fujimoto, N., Akimoto, Y.^{*1}, Suzuki, T.^{*2}, Kitamura, S.^{*2}, Ohta, S.^{*2} (^{*1} Dept. Mol. Radiobiology, ^{*2} Dept. Xenob. Metab. Mol. Toxicol., Faculty of Pharmacy, Hiroshima University): Identification of prostatic-secreted proteins in mice by mass spectrometric analysis and evaluation of lobe-specific and androgen-dependent mRNA expression. J. Endo. 190, 793-803, 2006 (A, G, I)
5. Kuwahara, S.^{*1}, Ikei, A.^{*1}, Taguchi, Y.^{*1}, Tabuchi, Y.^{*1}, Fujimoto, N., Obinata, M.^{*1}, Uesugi, S.^{*1}, Kurihara, Y.^{*1} (^{*1} Dept Natural Environment and Information, Faculty of Environment and Information Sciences, Yokohama National University): PSPC1, NONO, and SFPQ are expressed in mouse Sertoli cells and may function as coregulators of androgen receptor-mediated transcription. Biol Reprod. 75, 352-359, 2006 (G, I)

原著: 書籍

1. Kitamura, S.^{*1}, Sugihara, K.^{*1}, Fujimoto, N. (^{*1} Dept. Xenob. Metab. Mol. Toxicol., Faculty of Pharmacy, Hiroshima University): Endocrine Disruption by organophosphate and Carbamate pesticides In: R. C. Gupta (ed.) Toxicology of organophosphate and carbamate compounds, Elsevier Academic Press, London, pp481-494, 2006

B. 学会発表

1. 瀬尾幸子¹, 中元哲也¹, 竹下昌孝¹, 鈴木隆浩¹, 市川 幹¹, 千葉 滋¹, 本田浩章, 小川誠司¹, 小田秀明, 黒川峰夫¹ (¹ 東京大学医学部血液・腫瘍内科, ² 東京女子医・第2病理): Cas-L はBcr/Abl陽性白血病の進行を抑制する 第68回日本血液学会総会, 福岡, 2006. 10. (R, A, G)
2. 藤本成明, 秋元志美^{*1}, 鈴木文男^{*1} (^{*1} ゲノム応答): プロテオーム解析による新規マウス前立腺分泌タンパ

ク質同定とそのアンドロゲン依存性前立腺増殖への関与 第65回日本癌学会学術総会 横浜, 2006 (R, A, G)

3. 藤本成明, 鈴木智晴^{*1} (^{*1}広島大学医歯薬学総合研究科薬学): マウス前立腺分泌タンパク質の同定とそのアンドロゲン応答性転写, 前立腺生物学シンポジウム2006, 鳥羽, 2006 (R, A, G)
4. 藤本成明: シンポジウム10: マススペクトロメトリー (MS) 解析によるマウス前立腺分泌タンパク質の同定, 第79回日本内分泌学会学術総会 (日本内分泌学会雑誌82 S10-1), 神戸, 2006 (R, A, G)
5. Fujimoto, N.: *In vivo* functional analysis of the estrogen receptor beta gene promoter, Symposium 2, 13th Asia-Oceania Congress of Endocrinology (Abstract book S2-1) Tehran, Iran, 2006 (R, A, G)
6. 北村繁幸^{*1}, 杉原数美^{*1}, 藤本成明, 太田 茂^{*1} (^{*1}広島大学医歯薬学総合研究科薬学): プロム化難燃剤の甲状腺ホルモン攪乱作用の構造的要因 第9回日本環境ホルモン学会研究発表会 (要旨集PB-15), 東京, 2006 (G)
7. 丹下智子^{*1}, 中村優里^{*1}, 杉原数美^{*1}, 藤本成明, 太田 茂^{*1}, 北村繁幸^{*1} (^{*1}広島大学医歯薬学総合研究科薬学): pyrethroids およびcarbamate系殺虫剤の代謝とそれに伴う内分泌攪乱活性変動 第9回日本環境ホルモン学会研究発表会 (要旨集PB-16), 東京, 2006 (G)
8. 柳田真希^{*1}, 杉原数美^{*1}, 山崎 岳^{*1}, 藤本成明, 北村繁幸^{*1}, 太田 茂^{*1} (^{*1}広島大学医歯薬学総合研究科薬学): 環境化学物質曝露によるラット新生仔脳および生殖器官におけるエストロゲンレセプターの発現への影響 第9回日本環境ホルモン学会研究発表会 (要旨集PD-35), 東京, 2006 (G)