

戦略的創造研究推進事業
発展研究（SORST）

研究終了報告書

研究課題「ダイオキシン受容体の生体における本来的機能の解明」

研究期間：平成 16 年 1 月 1 日～
平成 21 年 3 月 31 日

研究代表者氏名

藤井 義明

（筑波大学先端学際領域研究センター・客員教授）

1. 研究課題名

ダイオキシン受容体の生体における本来的機能の解明

2. 研究実施の概要

ダイオキシン受容体 (DR: AhR、アリルヒドロカーボン受容体とも言う) はダイオキシン(DOX)などのハロゲン化多環性芳香族化合物あるいは多環性芳香族化合物による異物代謝酵素シトクロム P4501A1(CYP1A1)の誘導機構の研究から細胞内因子として cDNA が単離され、転写調節因子としての機能が解明された。さらに、AhR 遺伝子欠失マウスを作製し、マウスの機能欠損の解析から DOX などの外来異物の示す催奇型性、発癌作用、免疫不全、体重消耗などの多岐にわたる生体毒性を仲介する細胞内因子として AhR の役割が明らかにされて来た。しかし、AhR が哺乳動物のみでなく、線虫、昆虫、魚類など広く動物界に保存されていることや、動物の発生の初期から多くの組織で発現が見られることから、AhR は外来異物の毒性発現の細胞内因子としてのみではなく、生理、発生に重要な役割を持つ因子であることが考えられた。さらに、AhR によって誘導され、AhR の転写活性をフィードバック的に抑制する因子 AhRR(AhR repressor)の機能や作用メカニズム及び AhR と類似の構造を持ち、AhR と同じパートナー分子 Arnt(AhR nuclear translocator)を共有する HIF α (Hypoxia inducible factor α)の機能を明らかにすることによって、AhR の本来の生理機能を総合的に解明することが、この研究の目的である。また、AhR の本来的機能を明らかにすることによって外来異物の不測の侵入による生体への影響の理解がさらに深まることが期待される。

AhR の生殖機能における役割：

これまでの研究から示されていた AhR 欠失雌マウスの生殖能低下の原因が、AhR 欠失によるアロマトラーゼ (CYP19) 遺伝子の発現低下であり、その結果、エストラジオール (E2) の産生が減少していることによることが明らかになった。このために生殖周期が不順になり、卵巣の矮小化、卵胞成熟の異常、排卵数の減少が起る。CYP19 遺伝子の発現機構を検討した結果、遺伝子上流のプロモーター領域に Ad4 と XRE 配列が存在し、各々に Ad4BP/SF-1 と AhR・Arnt のヘテロ 2 量体が結合し、相乗的に CYP19 遺伝子の発現を活性化することが分かった。また、CYP19 遺伝子の発現は生殖周期に一過的に活性化されるが、活性の下降期に AhR の転写活性を抑制する AhRR 遺伝子の発現促進が認められた。AhRR 遺伝子はプロモーター領域に XRE 配列を有し、AhR によって遺伝子発現が活性化されるが CYP19 遺伝子の発現よりは遅れて発現する。また、AhR 遺伝子欠失の影響は雄の生殖能にも弱いながら認められた。すなわち、AhR 欠失マウスの精巣における精子形成には、顕著な変化は見られなかったが、附属生殖器官である精嚢腺の消失が加齢に伴って約 50%のマウスで起ることが分かり、その原因を追求したところ、精巣の Leydig 細胞において産生されるテストステロンの産生が有意に低下していることが分かった。AhR 欠失マウスの Leydig 細胞の数は野性型と較べて差はなかったが、Leydig 細胞において発現する性ホルモン産生に関わる遺伝子の発現の比較から 3 β Hsd と StAR の発現が有意に低下していることが明らかになった。

AhR と他の因子との相互作用及び AhR の E3 ユビキチンリガーゼ活性と AhRR のスモ化：

AhR は ER(Estrogen receptor)などのステロイドホルモン受容体などと相互作用して、相互の活性を干渉することが知られている。特に DOX や 3MC(3-methylcholanthrene)などの AhR のリガンドによる E2 作用の顕著な抑制効果の検討を行なった結果、リガンド結合による AhR の活性化に伴って ER α や AR(Androgen receptor)のタンパク質量が有意に減少することが明らかになった。ER や AR の mRNA の量が変わらないことから、タンパク質の分解促進によることが考えられ、プロテアソームの阻害剤である MG132 によってこのタンパク質量の減少は阻害され、さらにユビキチン化された ER α や AR の蓄積が認められた。このことは ER や AR がユビキチン化とプロテアソームによって分解されることを示

している。実際に AhR の抗体で沈降する AhR の免疫沈降複合体が AhR の自己ユビキチン化能を有しており ER, AR に対してもユビキチン化活性を持つことが分かった。FLAG タグを結合した AhR を HeLa 細胞に発現させて、リガンド依存的に AhR と複合体を形成するタンパク質を同定した結果、AhR は Cul4B, DDB1, Roc1/Rbx1, TBL3 などのユビキチン化複合体の構成成分と複合体を形成していることが判明した。さらにこれらの複合体を精製して再構成すると ER α , β や AR のユビキチン化活性を示すことが分かり、また AhR の自己ユビキチン化活性も示すことが明らかになった。さらに後述するようにこの AhR 複合体は腸において β -カテニンのユビキチン化活性を示し、癌抑制因子としても働いていることが示された。

このように AhR は遺伝子発現調節因子としてタンパク質の量的調節因子として働くばかりではなく、タンパク質の分解によってタンパク質の量的調節因子として働く多機能調節因子であることが明らかにされた。

AhR によって合成が促進され、AhR の転写活性を抑制する因子 (AhRR) を我々は AhR と類似の構造を持つタンパク質として同定した。その抑制メカニズムは Arnt とヘテロ 2 量体を形成し、XRE に結合することによって AhR と拮抗的に AhR の転写活性を抑制する。このメカニズムをさらに詳細に検討した結果、AhRR と Arnt のヘテロ 2 量体が形成されると AhRR の 542, 583, 660 の Lys 残基と Arnt の 245 の Lys 残基に SUMO 化修飾が促進され、ANKRA2, HDAC4 及び HDAC5 が呼び込まれて、転写抑制複合体が XRE 上に形成され、AhR/Arnt ヘテロ 2 量体の転写活性の抑制がおこることが示された。また、MEF 細胞を用いた実験で AhR の標的遺伝子である CYP1A1 などの発現のない細胞では AhRR/Arnt 転写抑制複合体が結合していることが証明された。

AhR のがん抑制因子としての役割：

AhR 欠失マウスの腸管を具に観察すると 11 週齢から殆どすべてのマウスの回盲部に癌が発生していることが分かった。大腸癌の原因遺伝子として知られている β -カテニンの発現を免疫組織学的方法で調べると AhR 欠失マウスの腸では、 β -カテニンのタンパク質の異常蓄積が認められた。 β -カテニンの mRNA 量を RT-PCR 法によって調べたが、AhR の欠失によって変化が認められなかったため、 β -カテニンタンパク質の異常蓄積はタンパク質の合成促進によるのではなく、分解の停止によるものと推定された。 β -カテニンの分解が AhR に依存しておきるかを大腸癌由来の細胞 DLD-1 や SW480 を用いて検討すると AhR リガンドに依存的に β -カテニンのタンパク質量の減少が促進され、MG-132 の投与によって β -カテニンの減少が止まり、 β -カテニンユビキチン化体が蓄積することが分かった。また、AhR の siRNA によっても β -カテニンの分解が阻止されることも分かった。さらに、 β -カテニンのユビキチン化は再構成した AhR/Arnt を含む ER のユビキチン化複合体でおこることが証明された。腸組織における β -カテニンの分解は家族性ポリポーシスの原因遺伝子として単離された APC 複合体によるユビキチン化とプロテアソームによる分解系が有名である。APC 遺伝子の機能欠損によってヒトでは大腸に癌が発生するが、マウスでは小腸に癌ができることが知られている。APC の機能欠損によって、動物の種類により癌の発生する組織に違いがある理由は未だ不明であるが、いずれも β -カテニンの異常蓄積が発癌の原因と考えられている。APC と AhR の β -カテニンのユビキチン化系の関係を検討するために APC^{min/+}・AhR(-/-) と APC^{min/+}・AhR(+/-) マウスの 2 重変異マウスを作製して、腸における癌の発生を検討した。回盲部及び小腸における発癌はその発症が各々 AhR や APC の単一遺伝子変異の場合に比較して顕著に早くなっており、悪性度も高まっていることが確認された。しかし、大腸における発癌は見られなかった。免疫組織学的にも、免疫 blot 法によっても β -カテニンの蓄積とその標的遺伝子で癌遺伝子として知られている cMyc や cyclinD1 の発現も各々の単一遺伝子の欠損に比較して明らかに亢進していることが分かった。従って β -カテニンのユビキチン化と分解による量的調節は、腸組織においては、少なくとも APC と AhR の 2 つの系によって行なわれており、一方が欠損すると発癌に至り、両者が欠損すると発癌の時期は早まり、悪性度も増すことが明らかになった。またこのことは APC^{min/+} マウスにおいて、AhR の分解系の活性をリガンドによって亢進すると、 β -カテニンの蓄積による発癌を抑制できる可能性を示している。

実際に APC^{min/+}マウスや APC^{min/+}・AhR^(+/)マウスの離乳期にインドールカルビノール (I3C) やジインドリルメタン (DIM) を餌に混ぜて与えると回盲部や小腸の発癌が顕著に減少することが確認された。しかし APC^{min/+}・AhR^(/)マウスの発癌は AhR リガンドを与えても何ら影響を受けないことから、これらのリガンドの癌抑制効果は AhR 依存的であることを示している。また、自然界に依存する AhR のリガンドが腸癌の予防薬として有効であることが示された。

AhR の炎症、免疫における役割：

マウスに TCDD を投与すると胸腺が縮退し、免疫不全がおきることや、免疫反応に対して抑制的に働く Treg 細胞の誘導が報告されており、AhR の免疫現象における関与が強く示唆されていた。

AhR 欠失マウスの生後 10 週齢の大腸組織を観察すると組織へのマクロファージや T 細胞の浸潤が認められ、血清の IL-1 β , TNF α , IL-18, INF γ などの炎症性サイトカインの著しい増加が観察され、免疫細胞の活性の亢進が確認された。また LPS を腹腔内投与すると AhR 欠失マウスは敗血症ショックに過敏になり、DSS(dextran sodium sulfate)による大腸炎の発症に高感受性になっていることが分かった。分離したマクロファージに LPS を投与すると、AhR 欠失マクロファージにおいて、IL-1 β の分泌の亢進が認められた。DNA マイクロアレイ法によって遺伝子発現の変化を検討すると、IL-1 β mRNA の発現は変化が認められなかったが Pai2 や Bcl2 の mRNA が著しく減少していた。Pai2 と Bcl2 は Inflammasome において caspase1 の活性を阻害することによって、IL-1 β の分泌を抑制することが知られている。AhR 欠失マクロファージにウイルスベクターによって Pai2 を発現させると、IL-1 β の分泌が抑えられることが分かり、AhR は Pai2 の発現を介して IL-1 β の分泌を負に制御していることが明らかになった。Pai2 遺伝子上流 2.7 kb 用いたレポーター遺伝子の発現で調べると -0.9 ~ -1.3 kb 上流領域に AhR と NF- κ B に応答する配列があることが分かった。Chip 解析の結果はこの領域に NF- κ B と AhR が結合することを示していた。しかしこの領域には、NF- κ B 結合配列は存在するが AhR の結合する XRE 配列は存在しないこと、Pai2 遺伝子の AhR による転写活性化には Arnt が必要でないことから、AhR による Pai2 遺伝子の転写活性化は Arnt が必要でない新しいメカニズムが働いていると考えられる。さらに AhR はマクロファージのみでなく T 細胞の分化にも鍵調節因子として働いていることも明らかにされた。ナイーブ T 細胞の Th1, Th17 あるいは Treg 細胞への分化が AhR 欠失細胞では、損なわれていることが明らかになった。ナイーブ T 細胞から TGF β による Treg 細胞への分化には、この分化に重要な転写因子である FoxP3 の発現が AhR/Arnt のヘテロ 2 量体による調節を受けていることが、他のグループによって最近報告された。Th1, Th17 細胞への分化も AhR が重要な因子として働いていることが各々持田製薬と阪大岸本研と我々の研究グループとの共同研究によって確認されているが、その詳細なメカニズムは今後の研究課題である。ナイーブ T 細胞から TGF β と IL-6 の存在下に Th17 細胞へ分化させる系では、分化の初期に AhR の顕著な誘導が見られることはこの過程における AhR の重要性を示している。

AhR が自然免疫に重要な調節因子であることの一部が明らかにされて来たが、今後の研究によってその全貌が明らかにされるであろう。

これまでの研究によって、AhR が薬物代謝から自然免疫まで広く外来異物の浸襲に対する生体防御反応の重要な調節因子として働いていることが明らかにされて来た。

AhR 類似因子の HIFs の機能：

AhR とアミノ酸配列に類似性の認められる因子として HIF α s(Hypoxia inducible factors) 因子がある。これらの因子は通常酸素下ではプロリン水酸化酵素による水酸化と VHL によるユビキチン化及びプロテアソームによる分解によって低濃度に維持されている。低酸素になると水酸化酵素の酸化活性が阻害され、HIF α s 因子は安定化され、AhR と共通のパートナー分子である Arnt とヘテロ 2 量体を形成して、HRE(Hypoxia response element) 配列に結合して標的遺伝子の発現を活性化する。HIF-2 α と HIF-3 α は我々が初めて発見した転写因子であるので、その働きを中心に研究を行なった。癌組織の血管新生において

HIF-2 α が Ephrin A1 の発現を制御することによって微小血管から大血管へのリモデリングに関わっていることが、癌の移植実験によって示された。HIF-2 α 遺伝子の欠失した宿主に、正常な HIF-2 α 遺伝子を持つ癌組織を移植すると癌及び周囲の組織に血管が誘導されるが、微小血管のみで大血管の形成が見られず、癌組織の成長が阻害されている。逆に、癌組織に HIF-2 α 遺伝子が欠失していても宿主側の HIF-2 α 遺伝子が正常であれば癌組織は野性型の癌組織と同じ早さで成長することが分かった。宿主側の HIF-2 α 欠失によって発現が抑制されている遺伝子を DNA マイクロアレイ法によって調べると、Ephrin A1, B1, B2 とその受容体である Eph A4 が顕著に減少していることが認められたが、血管新生に重要であると考えられている VEGF, Angiopoietin 1, 2 などの遺伝子発現は変わらなかった。Ephrin A1 遺伝子には HIFs の結合する HRE 配列が認められ、リポーターアッセイ法とチップアッセイ法によって HIF-2 α が働くことが確認された。*in vitro* の血管新生の系においても Ephrin A1 の阻害剤を与えると血管のリモデリングが阻害されることが確認された。

また、HIF-2 α はエリスロポイエチン(Epo)の発現制御を介して赤血球の増産に関与していることが知られているが、造血組織で赤血球分化を支持しているストローマ細胞の VCAM-1 遺伝子を活性化することによっても、赤血球分化を促進していることが明らかになった。VCAM-1 遺伝子上流には HRE 配列が存在し、HIF-2 α の結合する場として働いている。また、HIF-3 α に新しいスプライシングバリエーション(NEPAS: neonatal and embryonic PAS)が存在することを発見し、この因子がマウスの発生初期において肺血管内皮細胞で Endothelin 1 遺伝子の発現を抑制的に制御していることを証明した。この因子を欠失させると発生過程で Endothelin が過剰に生産され肺循環の血圧が高まり、肺及び心臓に形態異常が生ずることを示し、NEPAS が HIF-1 α や HIF-2 α と拮抗して Arnt とヘテロ 2 量体を形成して、標的遺伝子の発現を抑制的に調節するメカニズムが明らかにされた。

以上のように HIF 転写因子は低酸素ストレスに応答する因子として働くのみでなく、生体において多彩な機能をもっており、発生や恒常性の維持に重要な働きを担っていることが分かって来た。

3. 研究構想

本研究は 1999 年に始められ 2004 年に終了した CREST 研究“内分泌かく乱物質の生体毒性発現メカニズムとモニター系の開発”の研究成果に基づいて構想された。CREST 研究では、ダイオキシンの毒性発現における AhR の作用メカニズムの解明の研究を中心に行なわれた。その研究過程で動物の生体において AhR は予想外に多岐に亘る発生過程や生理機能に関わっていることが示唆され、ダイオキシンなどの化合物の毒性発現メカニズムを理解するためには、AhR の正常過程における機能を明らかにすることの必要性が痛感され本研究が立案された。

まず AhR の生理作用として、AhR の生殖と免疫機能への関与が、AhR 欠失マウスの具な観察から研究課題として浮上し、さらに CREST 研究から続けられている AhR と他の調節因子 ER や AR との相互作用及び AhR の類似因子 HIF α s 及び AhRR との相互作用の分子機構の研究を継続発展させることを目標とした。さらに研究を開始して一年後に、AhR 欠失マウスの腸の回盲部に癌性腫瘍が頻発することを発見し、AhR が癌抑制因子として働く可能性が考えられ、AhR 欠失による発癌のメカニズムと AhR の癌抑制因子として働くメカニズムの解明を研究課題として取り上げた。これらの研究を通して AhR の生体における機能についてのコンセプトを得ることを目標にした。

研究体制としては、AhR の生殖の研究は基礎生物学研究所の諸橋チームに大学院学生（後にポストドク）馬場崇を派遣して行い、炎症・免疫における AhR の役割については持田製薬古迫グループと藤井グループが共同して行い、皮膚における炎症、再生における AhR の機能については各々筑波大学本橋グループ及び埼玉県立がんセンター川尻グループが行った。AhR と ER 及び AR との相互作用の分子メカニズムについては、東大分生研の武山グループが主として研究を行い、AhRR による AhR 活性抑制のメカニズムは藤

井グループが主に行った。腸癌の抑制作用の研究は川尻グループが主として行い、藤井と武山グループが各々APC^{min}/+マウスと AhR 欠失マウスのかげ合わせによる 2 重遺伝子欠失マウスの作製や AhR の E3 ユビキチンリガーゼについての分子生物学的研究では協力して行った。AhR 類縁因子 HIF-2 α の機能については筑波大学大根田グループが藤井グループと共同で行った。

これらのグループは年 1 回 5 月頃に JST の八重洲事務所で班会議を開いて、一年間に得られた情報を発表・討論し、得られた情報を共有すると共に、次年度の研究方向について話合って研究調整を行い、適宜共同研究を行った。

4. 研究実施内容

4. 1 AhR の作用メカニズムと生理機能グループ (筑波大学 先端学際領域研究センター) (平成 16 年 1 月～20 年 12 月)

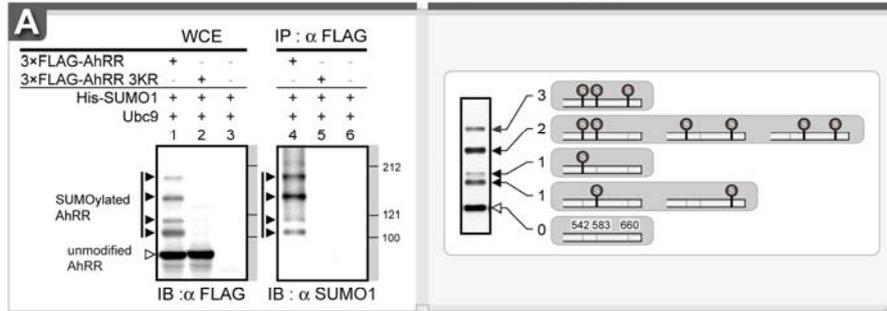
(1) 実施の内容

AhRR の作用メカニズムと AhR の炎症における役割。

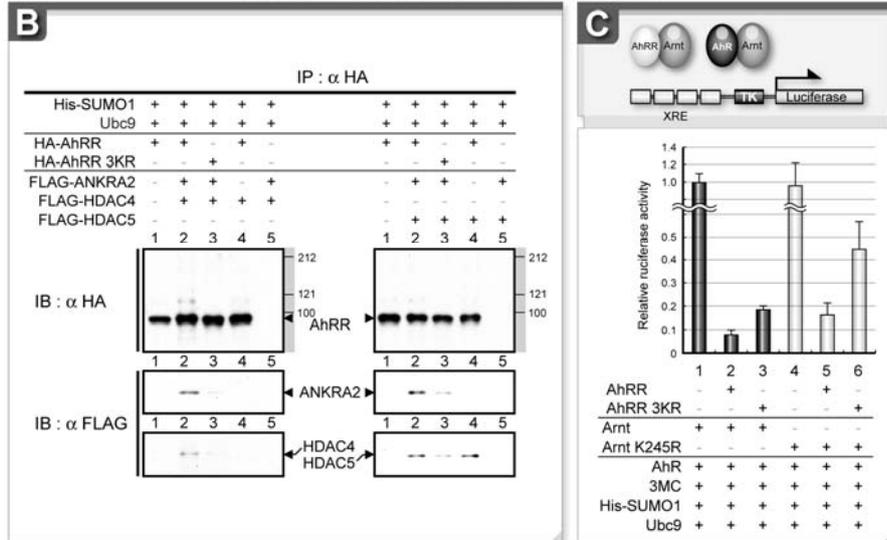
AhRR は AhR とよく似たアミノ酸配列を持ち、AhR によってその遺伝子発現が活性化され、AhR の機能を拮抗的に阻害する因子として発見された。AhRR の C 末端の約 360 アミノ酸からなる配列に阻害活性を示す領域があることが分かり、その配列を用いた two hybrid 法によって、このアミノ酸配列に相互作用するタンパク質を胸腺の cDNA 発現ライブラリーをスクリーニングして ANKRA2, HDAC4, HDAC5 の因子を釣出した。

AhRR とこれらの因子との相互作用を検討した結果、AhRR の阻害領域に ANKRA2 と HDAC5 が結合し、ANKRA2 に HDAC4 が結合して AhR の転写阻害複合体を形成することが分かった。各々の siRNA を用いて MEF 細胞を処理すると AhRR の阻害活性が減少することから、これらの因子が実際に働いていることが明らかになった。AhRR の転写阻害領域の塩基配列を見ると 3 ヶ所に SUMO 化を受ける Lys を含む共通配列があることが分かった。この配列の Lys は 3 ヶ所共に Ubc9 と SUMO ペプチドで SUMO 化修飾を受けることが分かった。この SUMO 化は 2 量体形成のパートナー分子である Arnt が存在すると促進され、Arnt にある SUMO 化配列の SUMO 化も AhRR が存在すると SUMO 化が促進される。このことは AhRR と Arnt が存在して 2 量体を形成すると相互に SUMO 化が促進されることを示している。しかし転写活性化に働くパートナー分子である AhR の存在下では、Arnt の SUMO 化は促進されないことが分かった。SUMO 化による AhRR の転写抑制活性に及ぼす影響を検討するために SUMO 化 Lys を Arg に換えると ANKRA2, HDAC4, HDAC5 との相互作用が減弱して転写抑制作用も著しく減少することが明らかになった。この事実は AhRR と Arnt が存在すると両タンパク質に SUMO 化が起り、転写抑制のコリプレッサー、ANKR2, HDAC4, HDAC5 が AhRR/Arnt 上にリクルートされ転写抑制複合体が形成されると考えられる。この両因子の SUMO 化と複合体形成は XRE 配列上で起こると考えられるが、実験的には証明されていない。AhRR と Arnt による転写抑制メカニズムは HDAC の阻害剤であるトリコスタチン A で阻害が解消されることから支持される。AhRR の機能をさらに詳しく検討するために、AhRR 遺伝子欠失マウスを homologous recombination 法によって作製した。かけ合わせによって AhRR 欠失マウスを作ったところ、マウスは見たところ正常に生まれて来て、成長、体重増加などに野性型マウスとの差は認められなかった。またマクロな解剖学的所見では欠陥は認められなかったが、3MC による薬物代謝酵素の誘導では組織によって過剰誘導が見られ、AhRR がマウス個体でも AhR の抑制因子として働いていることが示された。ベンゾピレンによる皮膚癌発症の実験では発症が有意に遅れることが観察された。AhRR 欠失マウスの機能欠損については今後さらに研究が続けられることが望ましい。

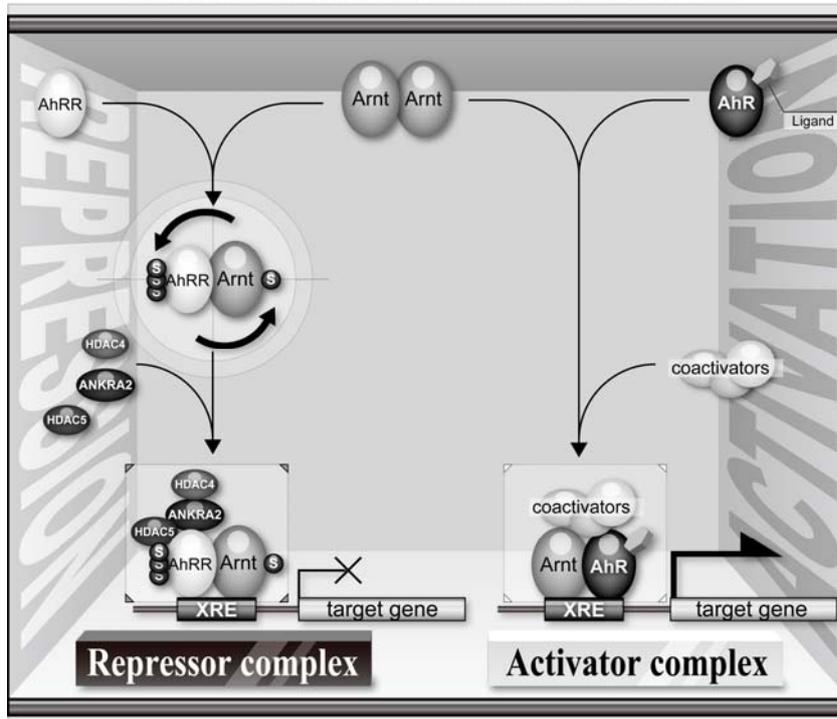
AhRR の SUMO 化とバンドの対応



共役抑制因子との相互作用と転写抑制活性



AhRR/Arnt 転写抑制複合体による転写抑制機構のモデル図

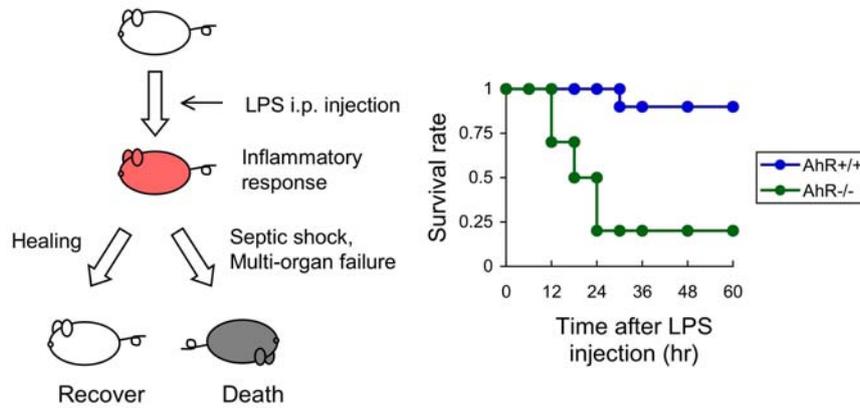


AhR 欠失マウスは感染に弱いことが認められていたが実験的に確実な証拠はなかった。AhR 欠失マウスの機能欠損を炎症の点から明らかにするために LPS (Lipopolysaccharide) を腹腔内に投与すると AhR 欠失マウスは敗血症ショックに高感受性になっていることが分かった。また DSS (Dextran sodium sulfate) を飲料水として与えると腸炎についても感受性が亢進していることが分かった。この事実は AhR が炎症や免疫に強く関与していることを示している。LPS を与えたマウスの血清における炎症性サイトカインの分泌量を ELISA 法で検討すると野性型マウスに比較して TNF- α , IL-1 β , IL-18, INF γ , IL-6 などの炎症性サイトカインの分泌が著しく亢進していることが明らかになった。炎症の引き金を引くのはマクロファージである場合が多いので AhR 遺伝子をマクロファージ特異的に欠失したマウスを用いて LPS による敗血症ショックを行ったところ、マウスはやはり LPS 処理に対する感受性が亢進していることが分かった。この事は AhR 欠失マウスの LPS 処理に対する感受性の亢進がマクロファージの AhR 欠失による機能欠損によることを示している。腹腔マクロファージを分離して培養液に LPS を加えると種々のサイトカインの分泌が促進されるが野性型に比較して IL-1 β の分泌が特に亢進していることが明らかになった。AhR 欠失によるマクロファージの機能欠損の責任遺伝子を検索するために LPS 処理マクロファージにおいて AhR 欠失によって発現の減少する遺伝子を DNA マイクロアレイ法で検討すると数十の遺伝子の発現が減少していることが判明し、その中で IL-1 β の合成と分泌に関係していると考えられる遺伝子を探すと Pai2 と Bcl2 遺伝子が顕著に減少していることが明らかになった。Pai2 と Bcl2 は Inflammasome において caspase1 の活性を抑えて IL-1 β のプロセッシングを阻害することが知られている因子である。AhR の欠失によって Pai2 や Bcl2 の減少が起こり、caspase1 の活性の抑制がなくなり IL-1 β のプロセッシングが進んで、分泌が亢進されることが考えられた。Bcl2 の遺伝子上流には XRE 配列が存在し、AhR/Arnt が転写活性化因子として働くことが考えられたが、Pai2 遺伝子には明瞭な XRE 配列の存在は認められなかった。しかし Pai2 遺伝子の上流 2.7kb の配列を用いてレポーター遺伝子を作製して発現制御に関する配列を検討すると -0.9 ~ -1.3kb の領域に NF- κ B と AhR に応答する配列があることが分かったが、この配列には NF- κ B 結合配列の存在は認められたが XRE 配列は存在しなかった。-0.9 ~ -1.3kb の領域に結合すると考えられる転写因子の動きを検討すると、NF- κ B は LPS 処理によって細胞質から核に移行することが分かったが、NF- κ B 結合配列に結合せず、AhR が存在して初めて NF- κ B も AhR もこの領域に結合することが明らかになった。AhR のこの領域の DNA 配列への結合には Arnt は必要ないことが Arnt 欠失マクロファージを用いた実験や Arnt の siRNA を用いた実験で確かめられた。これらのことから AhR と NF- κ B が相互作用して NF- κ B サイトに NF- κ B と AhR が結合し Pai2 の遺伝子発現を活性化することが考えられた。

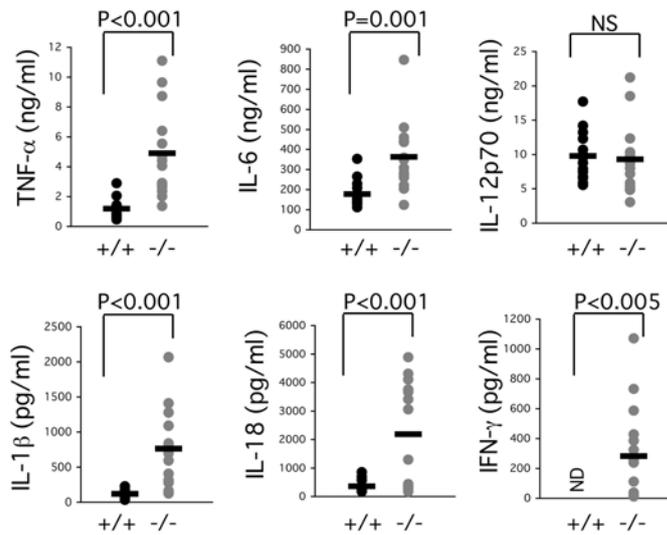
さらに AhR が、ナイーブ T 細胞から Treg, Th17, Th1 への分化にも関与することが明らかになった。ナイーブ T 細胞を CD3, CD28 抗体と TGF β の存在下に分化させると Treg に分化するが、この時に Treg 分化の鍵因子である FoxP3 の発現誘導が必要である。この FoxP3 の発現に AhR が Arnt とヘテロ 2 量体を形成して FoxP3 遺伝子のプロモーター領域に存在する XRE 配列に結合することの必要性が他のグループによって報告された。我々は大阪大学の岸本研との共同研究でナイーブ T 細胞から Th17 細胞の分化誘導に TGF β と IL-6 の存在が必要であるが、この時に AhR の顕著な誘導的発現が見られ、AhR 欠失ナイーブ T 細胞では Th17 への分化に欠陥があることから AhR が Th17 細胞の分化にも必要であることを明らかにした。AhR は Stat 転写因子との相互干渉により、Th17 細胞の分化に働くことが示された。詳細なメカニズムは今後の研究によって明らかにされるであろう。またナイーブ T 細胞の CD3 と CD28 抗体による活性化に M50367 や 3MC などの AhR のリガンドが存在すると Th1 への分化が促進され、Th2 への分化が抑制される結果、IgE の産生が低下しアレルギー反応が抑制されることが明らかになった。このことは AhR のリガンドが抗アレルギー薬となる可能性を示している。この他にも AhR 欠失マウスが生後 20 週になると自然発症的に大腸炎を惹き起すことや DSS 処理による大腸炎に過敏になっていることが分かった。これは DC 細胞の AhR 欠失による機能欠損がその原因であることから、AhR は炎症や免疫現象に深く関わっていることが示唆された。今後の研究によって更に詳

細なメカニズムが明らかになって来ると思われる。

AhR KOマウスのLPS感受性



LPS投与後のAhR WT,KOマウスの血中サイトカイン



LPS 20mg/kg BW 投与後2h plasma, n=14 NS ; not significant ND ; not detected

(2) 得られた研究成果の状況及び今後期待される効果

AhRR による AhR の転写活性抑制のメカニズムが、それ自身の AhR による合成の促進による他に SUMO 化によっても調節されることが明らかになり、実際に CYP1A1 などの AhR の標的遺伝子が発現していない組織では、AhRR が組織特異的に抑制因子として働いていることが分かった。SUMO 化による AhRR の転写抑制活性の調節については論文が印刷中であり、この研究によって AhR の転写活性化の系はフィードバック阻害によって負にも調節される精緻な転写系であることがはっきりした。また AhR がマクロファージや T 細胞の分化に重要な働きをしていることは、AhR がリガンド依存的に活性化されるので、このリガンドを用いることによってマクロファージの機能やナイーブ T 細胞の Treg や Th17 細胞への分化をコントロールできることを示しており、免疫薬の創造に結びつく可能性を

示している。実際に持田製薬のグループとの共同研究により M50367 化合物が抗アレルギー-活性を示すことを明らかにしたが、最近 Rochester 大学と Novartis のグループが共同研究で VAF347 という化合物が肺のアレルギーによる炎症作用を抑制するという報告 (Blood 112: 1158-1165 2008) を発表している。この化合物は AhR の活性化を介して DC 細胞の働きを阻害して炎症性 Th 細胞の分化を抑制するとしている。M50367 と VAF347 は同じように AhR のリガンドとして働くが、違った作用メカニズムで抗炎症性に働くらしい。今後 AhR のリガンドで免疫作用を調節する薬が出て来る可能性が十分にあることを示している。

4. 2 AhR の作用メカニズムと生理機能グループ (筑波大学 基礎医学系) (平成 17 年 4 月～平成 20 年 12 月)

(1) 実施の内容

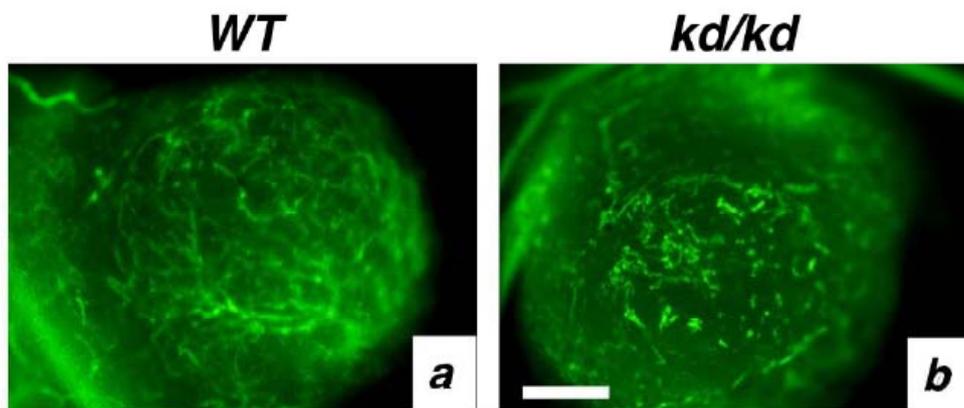
bHLH/PAS スーパーファミリーには、外来薬物に応答する AhR や低酸素刺激に応答する HIF 等が属しており生体の恒常性維持やストレス応答に働く重要な因子である。我々はこの中でも HIF の機能を解明する為に研究を行ってきた。

HIF 遺伝子には 3 つのアイソフォームが存在しており、主として血管内皮細胞で発現する HIF-2 α および抑制的に働くとされている HIF-3 α について遺伝子改変マウスを用いて解析を行った。

(2) 得られた研究成果の状況及び今後期待される効果

腫瘍血管新生における HIF-2 α の機能を解析

HIF-2 α の遺伝子発現を減弱させた HIF-2 α ノックダウンマウスを用いることにより、これまでの腫瘍における低酸素応答だけが注目されていた腫瘍血管新生の研究分野において、腫瘍でなく、宿主細胞における HIF の機能解析を可能とし、新たな低酸素応答の重要性を提唱し、このマウスを用いて、宿主血管内皮細胞における HIF-2 α の機能解析を試みた。その結果、HIF-2 α ノックダウンマウスでは腫瘍は形成されるのだが、内部の血管の構造が大きく異なることが分かった。詳細に解析を行った結果、微小血管は形成されるが径の大きな血管が形成されないというリモデリング障害を起こしていた。さらに原因となる因子を探索し ephrin A1 が HIF-2 α ノックダウンマウスの血管において低下していることを発見した。ephrin A1 の関与を培養系で実証して、宿主血管内皮細胞における HIF-2 α が ephrin A1 を制御して腫瘍血管のリモデリングに重要な役割を担っていることを証明し、本研究内容を論文として発表した。



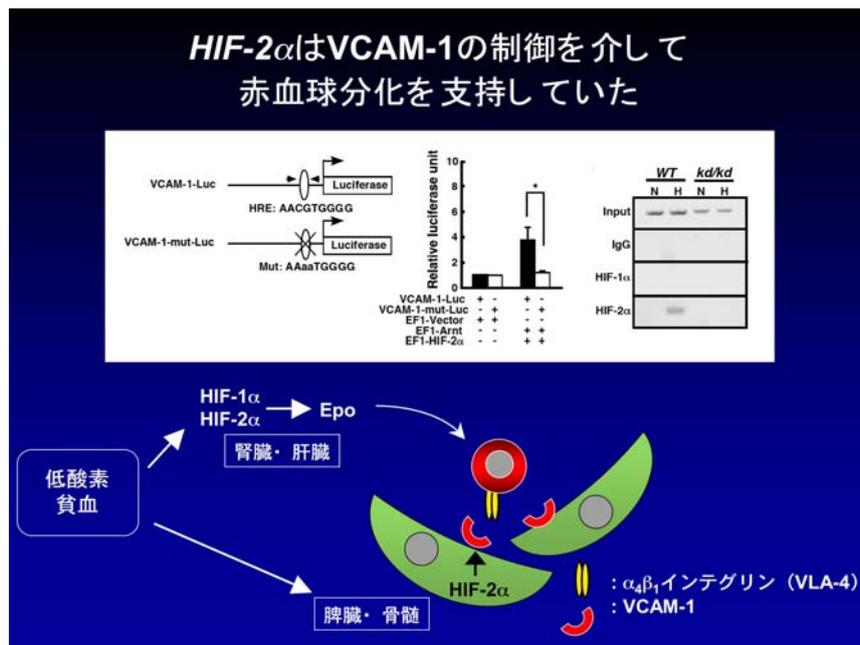
腫瘍に形成された血管.

b. kd ではリモデリング障害によって径の細い血管しか形成されていない。

赤血球造血における HIF-2 α の新しい機能の解明

HIF-2 α ノックダウンマウスでは軽度の貧血症状を示すことから、HIF-2 α の赤血球造血への関与について解析を行った。これまで一般的には貧血や低酸素状態において HIF は腎臓において Epo の転写を活性化し、赤血球造血を促進するとされていたが、HIF-2 α ノックダウンマウスにおいては Epo の発現量が野生型と同じであった。このことから HIF-2 α が関与する Epo 産生以外に原因があると考え、放射線照射マウスを用いた骨髄交換移植実験モデルで検証した。その結果、貧血の原因が血球側ではなく造血組織側つまり造血微小環境に異常があることが分かった。実際に造血組織である脾臓において赤髄が減少していることが分かった。また骨髄においても細胞数の減少が見られた。さらなる解析によって、これは赤血球造血を支持するストローマ細胞として機能する血管内皮細胞に異常があることを突き止めた。またこの時の遺伝子発現解析の結果、HIF-2 α ノックダウンマウス血管内皮細胞において VCAM-1 の発現が低下していた。そこで分子機構の解明のために脾臓より血管内皮細胞を単離し分子生物学的および細胞生物学的解析によって HIF-2 α が VCAM-1 の発現制御を介して摂家急増血に関与していることを証明した。(下図)

HIF-2 α が低酸素応答性に Epo の転写活性化によって赤血球造血を亢進するというこれまでの考え方に加えて、HIF-2 α が造血組織でストローマ細胞として機能する血管内皮細胞において VCAM-1 を制御して赤血球造血を支持するという、HIF-2 α による新しい造血機構の存在を証明することができ論文として報告した。



新規 bHLH/PAS 因子 NEPAS の発見と機能解析

胎生期から幼若期に掛けてのみ発現が見られる HIF-3 α の新規スプライシングバリエーションを発見し NEPAS (neonatal and embryonic PAS)と名付けた。またこの因子が発生期において肺血管内皮細胞で Endothelin-1 を抑制的に制御していることを示唆するデータが得られた。そこでさらなる解析のために肺血管内皮細胞を単離して分子機構の解析を試みた。その結果これは転写活性の強い HIF-1 α /2 α と転写活性の弱い NEPAS とが Arnt を奪い合う形で引き起こされる競合的な阻害機構で制御されていることが分かった。この制御機構の働きで NEPAS の標的遺伝子である Endothelin-1 が過生産され、過度の肺血管の肥厚を引き起こし肺循環の血圧調節に異常をきたし、肺および心臓の発生に異常をもたらしたことが分かった。このように NEPAS の発生期における重要性を明らかにすることができ論文として報告した。

また本研究課題より生体における HIF の抑制性制御の存在を証明することができ HIF による総合的な標的遺伝子制御の分子機構が分かり、新しい制御機構のモデルを提唱することができた。(下図、左)

このように HIF 転写因子は低酸素ストレスに応答するだけでなく、生体において多彩な機能を持っており発生や恒常性の維持に重要な役割を持っていることを分子レベルで示すことができた。(下図、右)

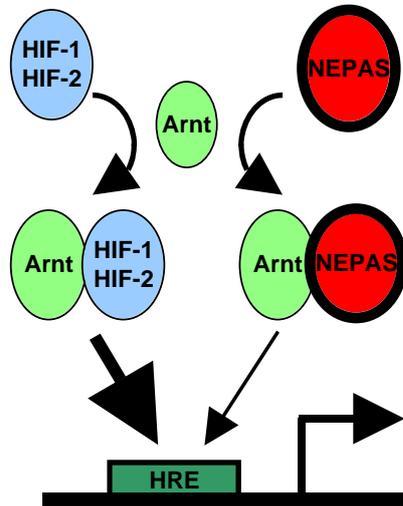


図1, 新たな抑制機構

NEPASによる標的遺伝子の抑制機構メカニズム. Arntを律速とした競合阻害.

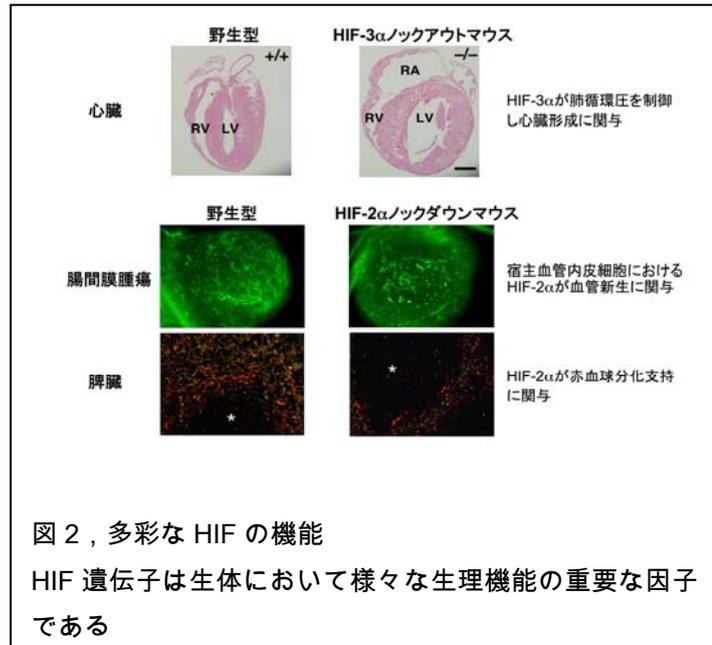


図2, 多彩な HIF の機能

HIF 遺伝子は生体において様々な生理機能の重要な因子である

4. 3 AhR の作用メカニズムと生理機能グループ

(東京大学 分子細胞生物学研究所) (平成 16 年 1 月～平成 20 年 12 月)

(1) 実施の内容

AhR と性ステロイドホルモン受容体との機能的相互作用について研究を行った。われわれは、AhR がリガンド依存的なユビキチンリガーゼ複合体を形成してエストロゲン受容体の蛋白分解を促進することを見出した。この知見は転写因子がユビキチンリガーゼとして機能する初めての事例であり、脂溶性リガンドがユビキチンリガーゼを直接制御する新規シグナル伝達経路を明らかにするものである。

エストロゲンの生理作用はエストロゲン受容体 ER α , ER β を介した標的遺伝子の転写制御により、一方ダイオキシン類の毒性はダイオキシン受容体 AhR を介した標的遺伝子の転写制御により、発揮されると考えられている。また AhR は内在性の生理機能を有していると考えられる。しかしながら AhR がエストロゲン作用を制御する分子機構は不明であった。

以前我々は、ER α と AhR との機能的相互作用を検討し、両者が AhR リガンド依存的に細胞内で直接相互作用することによりエストロゲン応答が制御されることを見出した。

そこで、ER α と AhR を含む核内複合体を同定することにより、AhR シグナルとエストロゲンシグナルとのクロストークの分子基盤の解明を試みた。

(2) 得られた研究成果の状況及び今後期待される効果

AhR は ER と直接相互作用によりその機能を調節する

AhR がエストロゲン作用を攪乱する分子機構は不明であった。そこで、ER α , ER β と AhR との転写制御段階における機能的相互作用の可能性について研究を行った。

まず乳癌細胞において、リガンド 3MC で活性化した AhR はエストロゲン非存在下において ER α , ER β を介した転写を誘導し、逆にエストロゲン存在下で活性化している ER α , ER β を抑制した。すなわち、エストロゲンによる正常な ER 活性制御が AhR によって正負に調節されるという予想外の現象が示唆された。

さらに、ER α , ER β と AhR は 3MC 依存的、エストロゲン非依存的に複合体を形成した。この複合体形成は ER-AhR の直接結合を介していた。ER-AhR 複合体はエストロゲン標的遺伝子プロモーター上において、転写共役因子 p300 をリクルートすることで転写活性を發揮することが示された。

最後に遺伝子欠損マウスにおいてこのクロストーク経路を検討した。3MC 投与によってマウス子宮でエストロゲン標的遺伝子の転写が正負に制御された。ER α あるいは AhR 遺伝子欠損マウスではこの機能制御が見られないことから、AhR は ER α とのクロストーク経路を介して子宮のエストロゲン応答に影響を及ぼすことを個体レベルで証明した。さらに、このクロストーク経路がダイオキシシン類の子宮細胞増殖作用に関与している可能性を示した。

これまで動物実験等により AhR リガンドのエストロゲン攪乱作用が報告されていたものの、その分子機構は謎に包まれていた。本研究の結果は、「リガンドにより活性化された AhR が ER とエストロゲン標的遺伝子プロモーター上で複合体を形成することで、ER を介した転写制御を正負に調節する」という、全く新規の分子メカニズムを提示するものである。

AhR はリガンド依存性ユビキチンリガーゼである

我々はさらに、リガンド結合 ER α に対する AhR の抑制作用機構を検討した。しかしながら、この抑制機構は転写制御レベルでは説明がつかず、転写制御を介さない未知の機構が示唆された。

そこで我々は、リガンド結合 ER α , AR に対する AhR の抑制効果について、その分子作用機構の解析を進めた。その結果、驚いたことに、リガンドによる AhR の活性化は ER α , AR の mRNA 量を変化させることなくタンパク質を減少させることが明らかとなった(図 1, A)。さらに、このタンパク質減少は 26S プロテアソームを介しており、AhR アゴニストによって ER α , AR のユビキチン化が誘導されることも明らかとなった(図 1, B)。

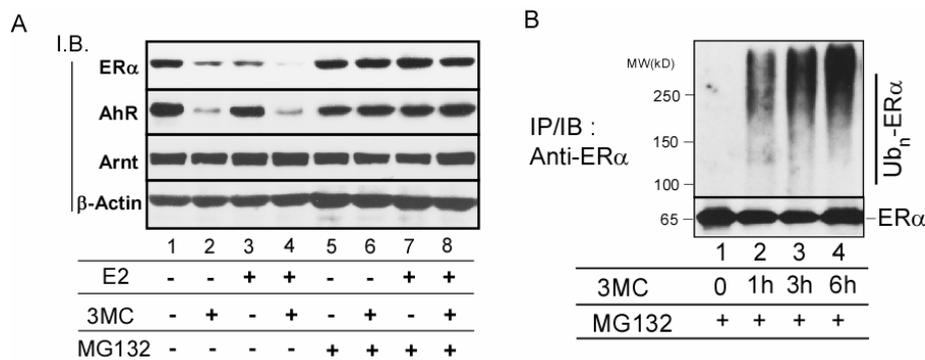


図 1 AhR はユビキチンリガーゼ様の活性を示す。

- 乳癌由来 MCF-7 細胞に ER α リガンド(E₂)または AhR リガンド(3MC)を添加、3 時間後に回収し Western blotting に供した。
- MCF-7 細胞にリガンドおよび Proteasome inhibitor MG132 添加後、抗 ER α 抗体で免疫沈降した。

ER α , AR 蛋白分解は分解基質である ER α , AR 自身のリガンド有無に関わらず、AhR アゴニストによって誘導された。先に、AhR アゴニスト依存的に AhR が ER α , AR と結合することが判明しているため、AhR は ER α , AR を結合してそのユビキチン化を促進

すると考えられた。さらに AhR 免疫沈降複合体は *in vitro* で E3 活性の指標である自己ユビキチン化能を有していたため、これらを考え合わせ、活性化型 AhR の諸性質は E3 ユビキチンリガーゼと酷似すると考えられた。

AhR と ER のクロストークを担うユビキチンリガーゼ CUL4B^{AhR} の同定

これらの知見から、AhR がユビキチンリガーゼ複合体を形成する可能性を考え、AhR 複合体の精製を試みた。FLAG タグ融合 AhR を安定発現する HeLa 細胞を、AhR リガンドで培養後、核抽出液を抗 FLAG 抗体アフィニティーカラムに供し、さらに相互作用複合体群を複合体サイズやイオン性によって分画していった。ER α を含む画分を選定し、MALDI-TOF/MS により複合体構成因子を同定した。その結果、興味深いことに、Cullin 4B (CUL4B)や Damaged DNA binding protein (DDB1)などで構成されたユビキチンリガーゼ複合体 CUL4B^{AhR} が同定された(図 2, A)。

CUL4B は複合体型ユビキチンリガーゼにおいて scaffold として機能する Cullin ファミリー蛋白の一員である。Cullin 複合体は一般に、基質認識サブユニット群が Cullin と結合することによって、多様な基質を特異的に認識する。免疫沈降法を用いた解析の結果、CUL4B^{AhR} の複合体会合は AhR リガンドに依存的であった。さらに、*in vitro* および *in vivo* において、CUL4B^{AhR} による ER α のユビキチン化は AhR リガンドに依存的であった。すなわち、CUL4B^{AhR} はリガンド依存的なユビキチンリガーゼであって、その複合体会合と活性はリガンドに依存することが明らかとなったのである。

CUL4B^{AhR} は ER をユビキチン化し蛋白分解を促進する

さらに、CUL4B^{AhR} における基質認識サブユニットを検索したところ、驚いたことに、AhR 自身が CUL4B と直接結合し、ER α , AR を分解基質として認識することを見出した(図 2, B)。すなわち、CUL4B^{AhR} においては AhR 自身がリガンド依存的な基質認識サブユニットとしての役割を担っていることが判明した。さらに CUL4B^{AhR} はリガンド依存的に ER α , AR 蛋白をユビキチン化して分解に導くことが明らかとなった(図 2, B)。

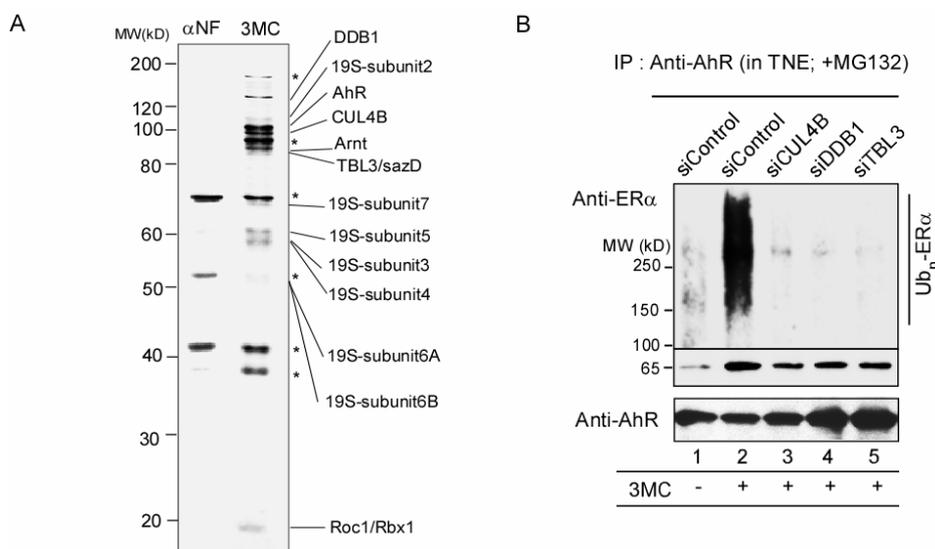


図 2. AhR と ER のクロストークを担う CUL4B^{AhR} 複合体の同定

- A. FLAG-AhR 安定発現 HeLa 細胞から抗 FLAG 抗体アフィニティー精製で複合体を単離、銀染色を行った。
- B. MCF-7 細胞にて複合体構成因子に対する siRNA を遺伝子導入し、免疫沈降法により AhR に結合した ER α のユビキチン化を検出した。

また、マウス子宮における ER α 蛋白、マウス前立腺における AR 蛋白も同様に AhR リガンド投与によって減少すること、この作用は AhR 遺伝子欠損マウスでは見られないことが明らかとなり、CUL4B^{AhR} の重要性はマウス個体においても示された。

本研究では AhR 複合体を精製した結果、AhR がユビキチンリガーゼ複合体を形成することが明らかとなった(図 3)。本研究を踏まえると、AhR の生理的な作用機構の一端は AhR のユビキチンリガーゼ活性による ER α , AR 蛋白の分解促進であると考えられる。リガンド依存性転写制御系が脂溶性リガンドによって制御されるのに対し、ユビキチン化の制御機構としては一般的に基質のリン酸化などの翻訳後修飾が代表的である。今回、AhR がユビキチンリガーゼ CUL4B^{AhR} として転写制御系と蛋白分解系の両者において標的特異性の決定に関わることを示し、ユビキチンリガーゼ自身がリガンド結合によって直接制御される哺乳類細胞では初めての事例を示した(図 3)。これまで、転写制御を介さない脂溶性リガンド情報伝達経路には不明な点が多かった。本研究は、低分子リガンドが AhR のユビキチンリガーゼ活性を惹起し、蛋白分解を直接制御する新しいシグナル伝達経路の存在を示し、AhR 生理的機能との関連は興味深い(図 3)。

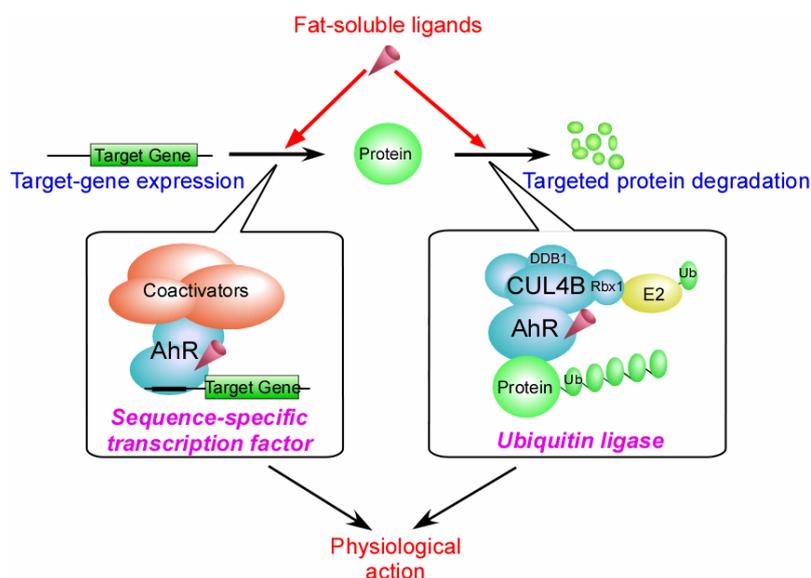


図 3 ユビキチンリガーゼを介した脂溶性リガンドの新規シグナル伝達経路
AhR はリガンド依存的にユビキチンリガーゼ複合体を形成することで、標的選択的なタンパク質分解を制御する。転写制御系を介さない、脂溶性低分子リガンドの新たな作用経路である。

4. 4 AhR の作用メカニズムと生理機能グループ (埼玉県立がんセンター) (平成 16 年 4 月～平成 20 年 12 月)

(1) 実施の内容

AhR はリガンド依存的転写因子として転写反応を調節し、リガンド依存的 E3 ユビキチンリガーゼとして蛋白質を分解することにより、特定の蛋白質の細胞内レベルを調節している。従来 AhR は、環境中の化学発がん物質 (ベンゾピレンなど) を外来性リガンドとして、その代謝的活性化に関与する P450 を誘導することにより最終的に発がんを促進することが予測されており、実際に AhR 遺伝子欠損 (*AhR*^{-/-}) マウスにおいてはベンゾピレン投与による皮膚がんの発生がみられなくなることが証明された。一方、SORST での本研究において *AhR*^{-/-} マウスでは大腸、特に盲腸部において腫瘍が自然発症し、最終的にヒトの大腸がんで多く観察される管状腺がんに至ることを見出した。AhR による発がん抑制の中心的な分子機構は AhR E3 ユビキチンリガーゼによる AhR リガンド依存的な β -カテニ

ンの分解であることを明らかにした。その活性化には腸内細菌で産生される AhR ナチュラルリガンドが関与することが示され、実際、これらのリガンドにより APC^{Min/+}マウスでの発がんが抑制される結果が得られた。AhR 経路によるβ-カテニン分解は従来の APC 経路による分解とは独立的に、しかも協調的に働くことにより発がんを抑制していることが示された。これらの研究成果から新たなヒト大腸がんの化学予防の可能性が示唆された。

皮膚における AhR の機能についても検討を加えた。皮膚において AhR と Blimp が組織化学的に共発現していることを発見し、Blimp 遺伝子の発現メカニズムを検討した。Blimp は AhR によって、その発現がコントロールされていることが示された。

(2) 得られた研究成果の状況及び今後期待される効果

AhR の大腸がんの抑制機能について

1) *AhR*^{-/-}マウスでは生後10週齢以降で盲腸部に腫瘍が自然発症し (図1)、最終的には管状腺がんに至る。2) AhRは小腸、盲腸のCryptの底部に存在して腸内細菌に対する生体防御反応に関与しているパネート細胞に主に発現している。3) *AhR*^{-/-}マウスではβ-カテニンの異常蓄積がみられる (図2)。AhRはリガンド依存的なE3ユビキチンリガーゼ複合体の構成成分であり、プロテアソーム依存的な蛋白質分解を促進するが、β-カテニンをその基質とすることを培養細胞の系 (図3) 及びマウス個体レベルで明らかにした。また、AhRによるリガンド依存的なβ-カテニン分解は従来の大腸がん抑制の中心的な分子機構であるAPC-依存的なβ-カテニン分解系とは独立していることが示された。4) 腸におけるAhRの活性化はトリプトファン誘導体であるインドール-3 酢酸(IAA)や緑黄色野菜に含まれるグルコシノレートなどの代謝産物[インドール-3-カルビノール(I3C)、3,3'-ジインドイルメタン(DIM)など]がAhRナチュラルリガンドとして働き、外来性リガンドと同様にβ-カテニンの分解を促進する (図3)。5) 動物個体におけるAhR-及びAPC-依存的なβ-カテニン分解系の相互関連性を二重遺伝子欠損マウスによる発がん感受性の視点より明らかにした (図4)。6) AhRナチュラルリガンドであるI3CやDIMを含む飼料によってAPC^{Min/+}マウスでの発がんが有意に抑制され (図5)、腸上皮細胞でのβ-カテニンレベルは普通飼料で飼育したマウスに比べ低下していることが免疫染色により示された (図6)。7) AhRのがん抑制機構にはAPC経路とは独立したAhRリガンド依存的なβ-カテニンのユビキチン化と分解が含まれている。APCによる分解は細胞質で起こるがAhRでの分解は核内で生じており、そのモデルを提起した (図7)。8) ヒトの盲腸がんではAhRの発現低下とβ-カテニンの異常蓄積が観察されたがAhR遺伝子のメチル化による遺伝子不活性化は見られない。

皮膚における AhR の機能解析

我々は、皮膚における AhR の役割を検討する目的で、マウス皮膚組織を用いて AhR の発現部位を調べてきた。その結果、表皮の基底細胞に、また毛包の上部や皮脂腺に AhR の発現を認めた (図 8a)。転写抑制因子である Blimp1 は、脂腺前駆細胞の増殖・分化を調節する因子として報告されている。我々は、マウス皮膚において Blimp1 と AhR を同時に発現する細胞があること (図 8b) に注目し、両者の関連性をヒト皮脂腺細胞株またはヒト表皮角化細胞株を用いて検討した。AhR リガンドである 3MC やβNF は Blimp1 mRNA 量を増加させ、さらに細胞内で AhR リガンドを生じるとされる紫外線照射でも同じ効果がみられた (図 9a-c)。siRNA によって AhR または ARNT の発現を抑制すると Blimp1 を上昇させる作用は低下した (図 10a, b)。これらより、AhR リガンド依存的な Blimp1 発現調節機構が示された。3MC による Blimp1 mRNA の増加は、actinomycin D 感受性であったことから、この反応は転写の活性化であることが示唆された。ヒト Blimp1 遺伝子の 5' 上流領域および intron 領域を PCR で増幅し、Blimp1-Luciferase 発現ベクターを作成した。この領域には複数の XRE モチーフが存在するが、3MC に反応する領域を見つける事はできなかった。この理由は不明である。Kinase 阻害剤であるスタウロスポリンは 3MC による CYP1A1 転写活性化に影響しなかったが、Blimp1 mRNA の上昇を抑制した。また、TPA 処理は CYP1A1 発現に影響しなかったが、Blimp1 の発現を活性化した (図 11)。これらより、

AhR リガンドによる Blimp1 mRNA の増加は、スタウロスポリン感受性である。

Blimp1 は皮膚においても複数の遺伝子の転写を抑制していることが報告されている。その標的の一つである c-myc は、上皮幹細胞から表皮基底細胞や脂腺細胞への分化に重要な因子である。脂腺細胞や表皮角化細胞で、AhR 活性と細胞の増殖・分化との関連について検討することが今後の課題である。

図1 盲腸がんの発生



図2 β-カテニンの異常蓄積

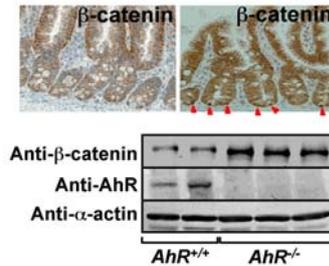


図3 AhRによるβ-カテニン分解

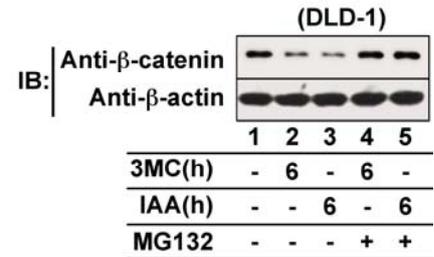


図4 *Apc*・*AhR*二重遺伝子欠損マウスでの発がん感受性

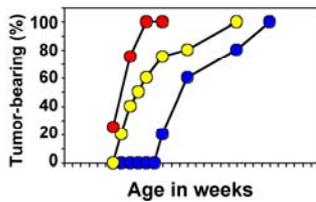


図5 AhRナチュラルリガンドによる*Apc*^{Min/+}マウス発がん抑制

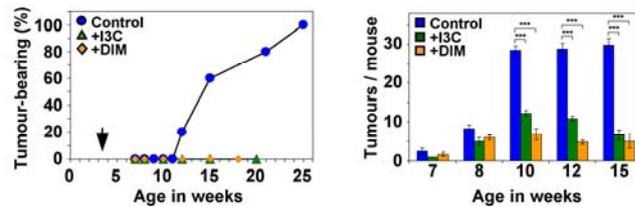


図6 リガンドによるβ-カテニン分解

(I3C又はDIMを含む飼料で15週飼育した*Apc*^{Min/+}マウスでのβ-カテニンレベル)

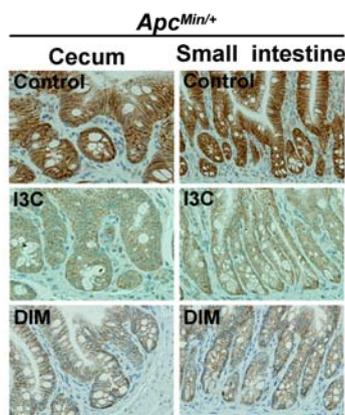


図7 AhRによるβ-カテニン分解の模式図

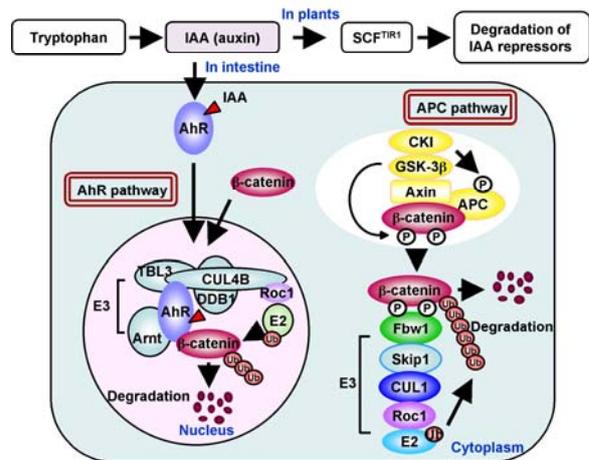


図 8 AhR の発現部位

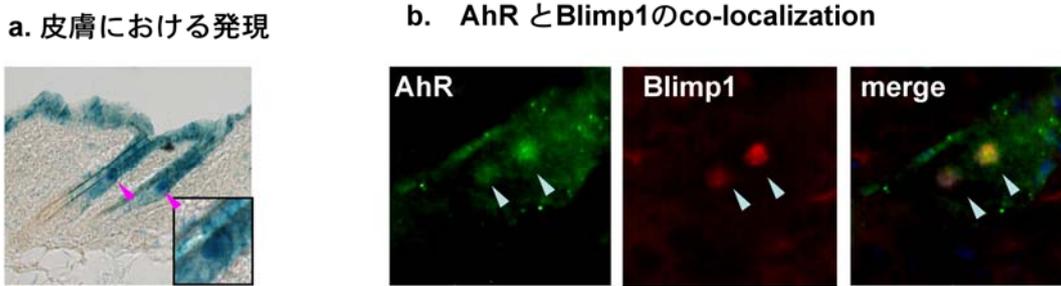


図 9 AhRリガンドによるBlimp1 の誘導

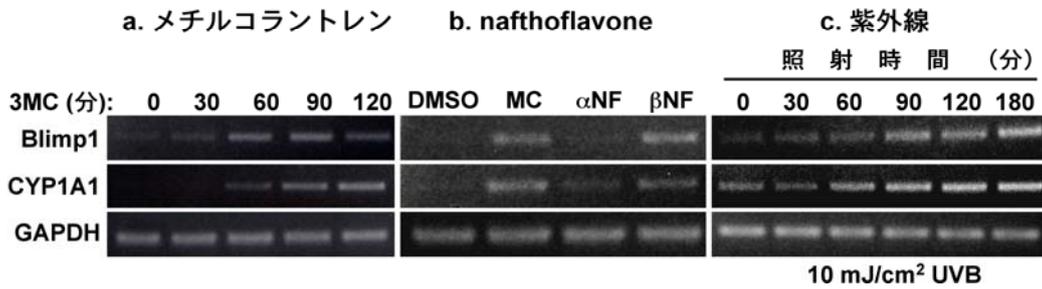


図 10 siRNAの効果

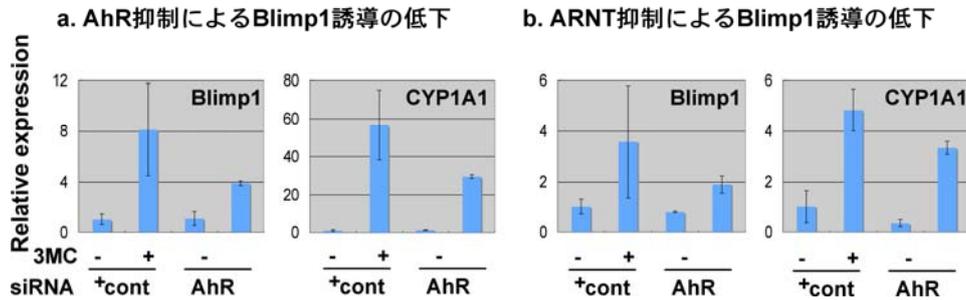
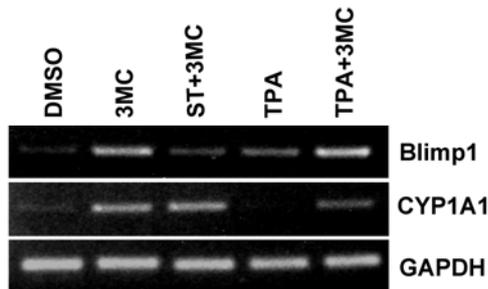


図 11 スタウロスポリンによる抑制効果



[今後の展望]

AhR^{-/-}マウスの腸管においては炎症性サイトカインの高発現が見られるので盲腸がん発生における炎症の関与について明らかにすること、また、APC と AhR は共にβ-カテニンを分解するがその遺伝子欠損マウスでの発がんはそれぞれ小腸及び盲腸であり、その発がん部位の特異性の分子機構を解明することが必要である。*AhR*^{-/-}マウスはヒトの大腸がんの代表的な組織型である管状腺がんを発生することが確認された最初のマウスモデルであり、ヒト大

腸がんの発がんメカニズムやその予防、治療などの研究に有効であろう。

4. 5 AhR の作用メカニズムと生理機能グループ

(持田製薬株式会社) (平成 16 年 1 月～平成 20 年 12 月)

(1) 実施の内容

我々は以前、ベンゾイミダゾール骨格を持つ合成化合物M50367およびその活性代謝物M50354が抗アレルギー活性を持つことを報告した。本化合物はマウスアレルギーモデルにおいて、IgE産生抑制、気道過敏抑制、好酸球浸潤抑制活性を示す。また、M50354はヘルパーT細胞に直接作用して、Th1細胞分化の亢進、Th2細胞分化の抑制を引き起こす。よって本化合物は生体内のTh1/Th2バランスをTh1優位にシフトさせることで種々の抗アレルギー活性を発揮していると考えられる。本化合物の作用メカニズムが明らかになれば化合物の最適化のために有用な情報となるばかりではなく、T細胞分化機序の解析に非常に大きな貢献ができると考えられる。

一方で、M50367経口投与マウスの肝臓およびM50354処理した肝細胞株で第一相薬物代謝酵素CYP1A1の誘導が認められた。このことは本化合物がAhRのリガンドとして機能しうる可能性を示唆している。また抗アレルギー活性においてもAhRが何らかの関与をしている可能性も否定できない。

本研究は、抗アレルギー活性を有する化合物M50367の作用機序にAhRが関与するか否かを明らかにし、その作用機序を解析することを目的としている。

(2) 得られた研究成果の状況及び今後期待される効果

最初にM50354 (M50367の代謝活性体) がAhRリガンドとして機能するか否かを解析するために、レポーター遺伝子アッセイおよびゲルシフトアッセイを実施した。次にM50367の薬理作用発揮にAhRが関与するか否かを明らかにするために、AhR欠損マウスを用いて*in vivo*および*in vitro*の薬理評価を実施した。また、M50367の作用機序を明らかにするために、種々の遺伝子発現に対するM50367の効果を定量PCR法により解析した。

M50354がAhRリガンドとして機能しうるか否かを調べるために、レポーターアッセイおよびゲルシフトアッセイを実施した。この結果、M50354によるCYP1A1プロモーターからの転写促進とAhRのDNA結合活性の増大とが認められた (Fig. 1)。

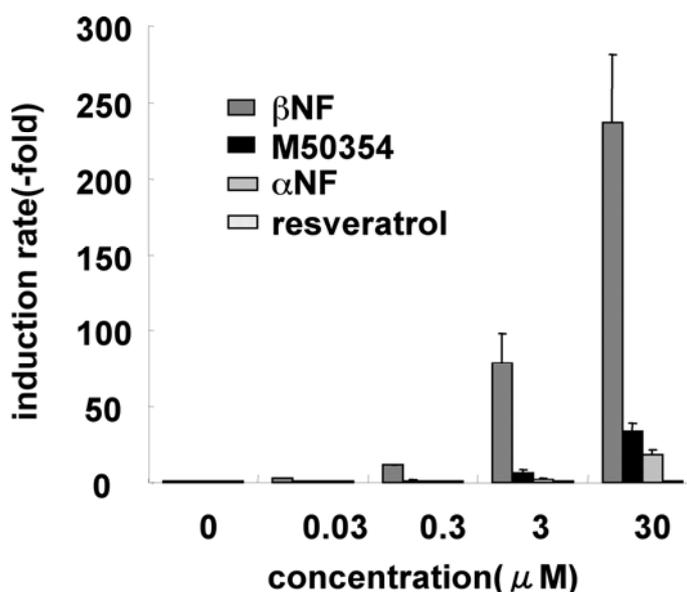


Fig.1 Induction of CYP1A1 expression by

さらには³H標識体を用いた結合活性測定法により、M50354のAhRに対する直接的な結合も確認できた。よってM50354がAhRリガンドとして機能しうることが明らかとなった。

次にAhR欠損マウスを用いてM50367の薬理評価を実施した。この結果、*in vivo*および*in vitro*評価系どちらにおいてもAhR欠損マウスではM50367の薬理作用が認められなかった (Fig. 2, 3)。

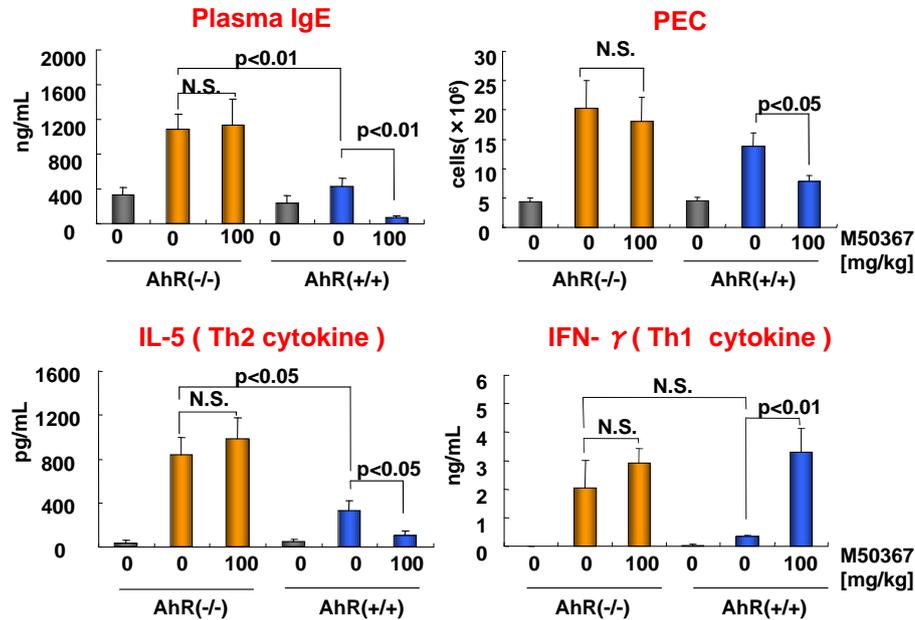


Fig. 2 Effects of M50367 in vivo allergic models using AhR (-/-) and wild type mice sensitized with DNP-Ascaris

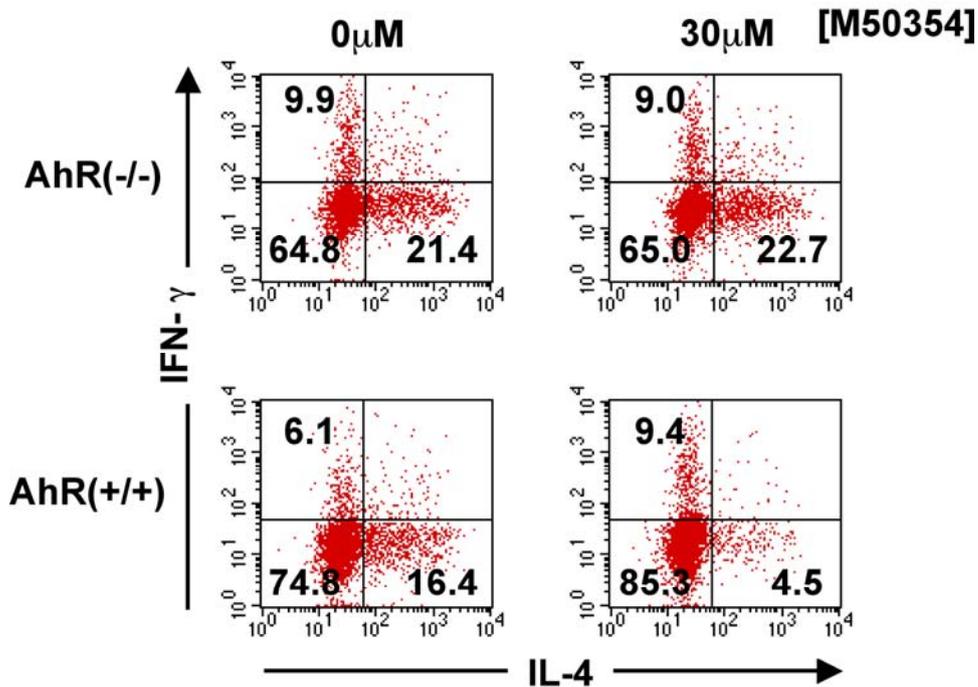


Fig. 3 Effects of M50354 on in vitro differentiation of Th1 and Th2 cells from naive Th cells of AhR (-/-) and wild type mice

このことはM50367の抗アレルギー活性にはAhRが必須であることを示している。また、

T細胞に恒常的活性型AhRを発現させたところ、Th1分化の亢進が認められた。更には分化初期段階のT細胞で一過性にAhRの発現が増強することも確認できた。以上によりM50367の抗アレルギー活性にはAhRの活性化が必要十分条件であることが明らかとなった。

M50367によるAhRを介したTh1/Th2分化制御機構を解析するために、Th1/Th2分化に関与する代表的な因子の遺伝子発現に対する薬剤の効果を調べた。この結果、GATA-3発現がM50354処理により有意に抑制されることが分かった (Fig. 4)。

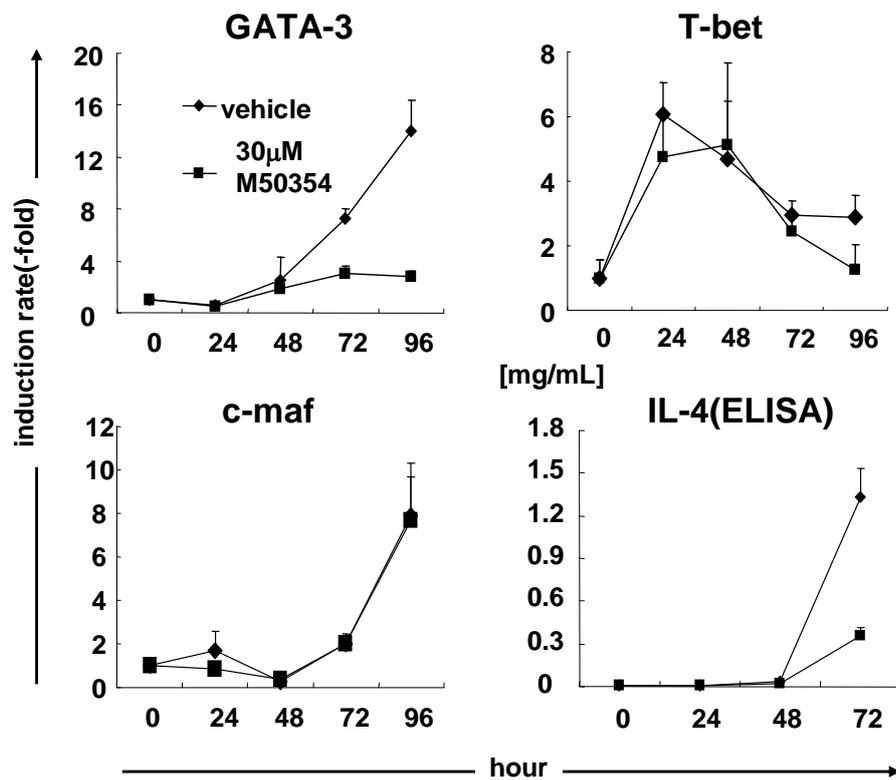


Fig. 4 Effects of M50354 on GATA-3 and T-bet gene expression

本研究において、抗アレルギー活性をもつ化合物M50367がAhRの活性化を介してその効果を発揮していることが明らかとなった。一方でAhR欠損マウスでは野生型マウスと比較して抗体値およびサイトカイン産生量が亢進しており、また脾臓重量の増加も認められた。これらのことはAhRが免疫機構の制御において重要な役割を担っている可能性を示唆している。AhRはダイオキシンの受容体として知られており、免疫系はダイオキシンによる毒性を最も強く受ける組織の一つとして知られている。このことはAhRが免疫系において重要な役割を担っていることの証拠なのかもしれない。また、Weisglas-Kuperusらは胎児期にダイオキシンに暴露された子供ではアレルギー罹患率が低いことを報告している。これはAhR活性化により、Th1優位な体質となったためかもしれない。

GATA-3はTh2分化のマスター転写因子として知られている。今回の解析により、M50354処理によりGATA-3の発現が抑制されることが明らかとなった。現在のところGATA-3の詳細な発現制御機構は未解決であり、GATA-3の発現を制御する薬物も知られていない。よって本化合物によるGATA-3発現制御機構を明らかにすることができれば、T細胞分化制御機構の解析に大きな貢献ができると思われる。

抗アレルギー活性をもつ化合物 M50367 は AhR の活性化を介してその効果を発揮していることが明らかとなった。また、AhR は免疫機構の制御において重要な役割を担っている可能性が示唆された。

4. 6 AhR の作用メカニズムと生理機能グループ

(筑波大学 基礎医学系) (平成 16 年 1 月度～平成 18 年 3 月)

(1) 実施の内容

近年、喘息、アトピー性皮膚炎、花粉症などのアレルギー性疾患の罹患率は上昇しており、いずれかのアレルギー性疾患を有する患者は、国民の 3 割以上に上るといわれている (平成十六年版厚生労働白書)。こうしたアレルギー性疾患のリスクファクターの一つとして、環境中の化学物質への曝露が挙げられる。中でも、芳香族炭化水素類は、排気ガスやたばこの煙に含まれており、気道系の炎症をひきおこすことが報告されている。また、芳香族炭化水素類に接触することによる接触性皮膚炎の発症も報告されている。

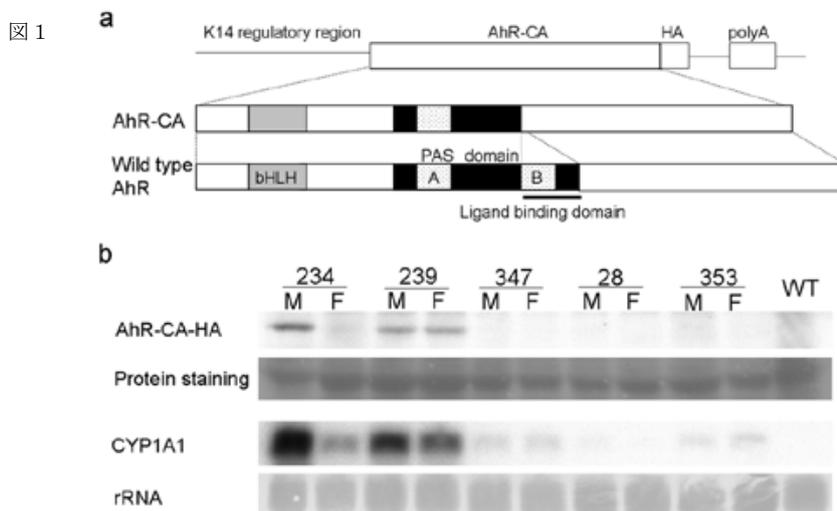
一方、芳香族炭化水素は、AhR のリガンドとして結合し、AhR の機能依存的に発癌や奇形をもたらすことが、これまでの生化学的解析や、マウスを用いた遺伝学的解析から明らかにされている。AhR のリガンドの代表例であるダイオキシン類への曝露によってもたらされる皮膚症状 (クロールアクネ) が、接触性皮膚炎とは異なる病像であること、ダイオキシン類での曝露は免疫系の機能を抑制し、アレルギー反応を軽減するという報告が散見されることなどにより、芳香族炭化水素類がもたらす炎症反応における AhR の関与は、あまり重要視されていなかった。すなわち、これらの化学物質が炎症を引き起こすメカニズムとしては、それ自身やその代謝産物が有する刺激性や抗原性によるとするもの、あるいは、その酸化物により活性酸素種が発生し、炎症を増悪させるというもの、などが想定されてきた。

我々は、芳香族炭化水素曝露時には、AhR を介する制御系が活性化されているはずであると考え、炎症の惹起における同制御系の機能的貢献を明らかにしたいと考えた。外来の化学物質の直接的な影響を除外するために、恒常的活性化型 AhR 分子を利用し、外来化学物質の非存在下において、AhR 制御系を活性化することとし、細胞系列としては、観察が容易な皮膚を選択した。そこで、恒常的活性化型 AhR 分子を皮膚ケラチノサイトにおいて過剰発現するトランスジェニックマウスを作成し、その皮膚への効果を検討した。

(2) 得られた研究成果の状況及び今後期待される効果

恒常的活性化型 AhR 過剰発現マウスの作成

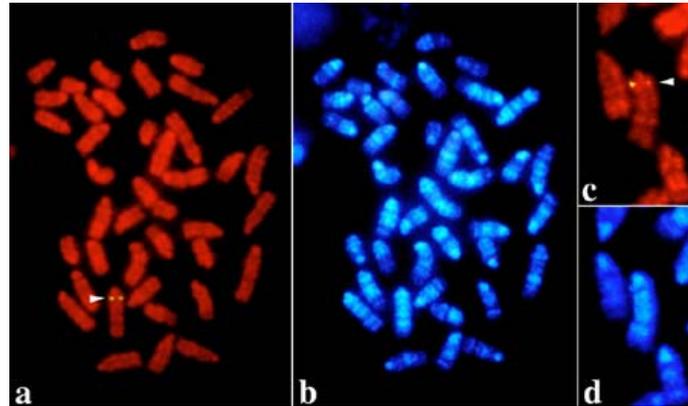
マウス AhR 分子から、リガンド結合領域である PAS-B ドメインを欠失させると、リガンド非依存的に転写を活性化できる恒常的活性化型 AhR となる (AhR-CA)。ヒトケラチン 14 遺伝子の制御領域に、AhR-CA の cDNA を連結し、トランスジーンを作成し、マウス受精卵に導入してトランスジェニックマウスを樹立した (図 1)。



独立した 5 ラインが得られたが、皮膚においてトランスジーン発現が確認できたの

は、2ライン (ライン 239, ライン 234) であった。AhR の典型的な標的遺伝子である CYP1A1 の発現を調べたところ、AhR-CA の発現量との非常によい相関が認められた。ライン 239 では、雌雄に差は認められなかったが、ライン 234 では、常に雌の方がトランスジーンが発現も、標的遺伝子の発現も低かった。我々は、トランスジーンが X 染色体に挿入され、雌ではライオニゼーションがおこる結果、トランスジーンが発現するケラチノサイトが半分になってしまうからではないかと予想した。そこで、トランスジーンをプローブとしてライン 234 について FISH を行ったところ、予想通り、X 染色体へのトランスジーン挿入が確認された (図 2)。

図 2

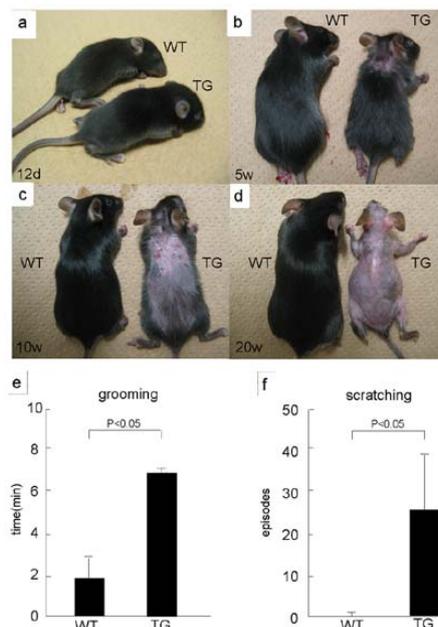


ライン 234 の雄では、生後 10 日目前後で皮膚の落屑が観察され始め、それから間もなく死亡してしまうことがわかったが、これは、X 染色体上の重要な遺伝子が、トランスジーンにより破壊されたためであると推測された。

トランスジェニックマウスにおける掻痒を伴う皮膚炎の発症

雌雄ともに安定したトランスジーンが発現をみとめたライン 239 について、皮膚症状の詳細な解析を行った。出生時には、肉眼的な異常は観察されなかったが、生後約 1 ヶ月を経過する頃になると、背部の皮膚に痂皮形成、脱毛が認められるようになった。さらに、数ヶ月を経ると、湿疹様の変化と掻爬によると思われる出血が認められ、痂皮形成、脱毛の範囲が拡大し、やがては全身の脱毛が認められるに至った (図 3 a-d)。この皮膚炎には、掻痒が伴うのではないかと予想し、引っ掻き行動を観察したところ、トランスジェニックマウスでは、期待通り著明な引っ掻き行動の増加が認められた (図 3 e, f)。

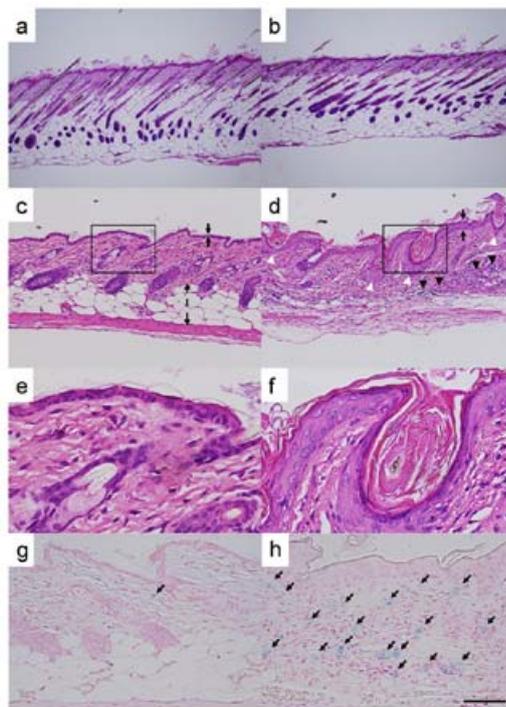
図 3



次に皮膚の組織学的な解析を行った。生後 10 日齢あたりまでは、組織学的にも、めだ

った異常はなかったが、3週目付近から、皮下組織に炎症性細胞浸潤が認められ、表皮の肥厚、角化層の増大、毛嚢の拡大が明らかとなった（図4 a-f）。また、肥満細胞を染色してみたところ、トランスジェニックマウスの皮下組織において、多数の肥満細胞が観察され（図4 g, h）、掻痒の原因となっているものと理解された。

図4

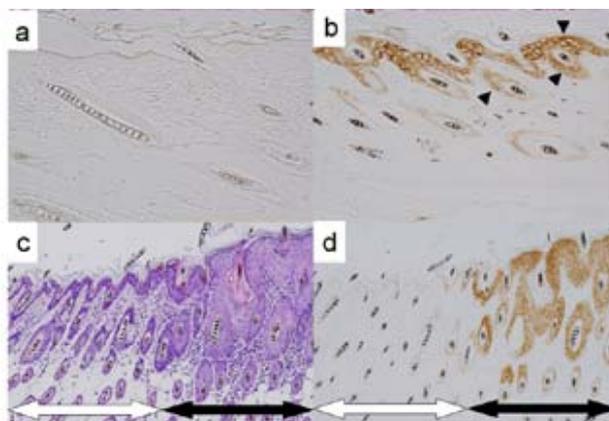


ライン234の雄の皮膚を生後10日目で観察すると、前述のライン239で認められた所見と共通する炎症像が観察された。ライン234の雄では、トランスジーンが発現が多く、皮膚炎の発症時期がライン239よりも早いものと推測された。一方、ライン234雌の皮膚を観察すると、炎症像が認められる場所と、そうでない場所がキメラに存在していることが明らかになった。我々が、当初予想したとおり、X染色体のライオニゼーションにより、トランスジーンが、機能している部分と、機能していない部分が存在するためであると予想された。

皮膚炎の発症と AhR 機能亢進との相関

トランスジーン機能と、皮膚炎の因果関係を確認するために、AhRの典型的標的遺伝子である CYP1A1 の発現を、免疫組織学的に解析した（図5）。

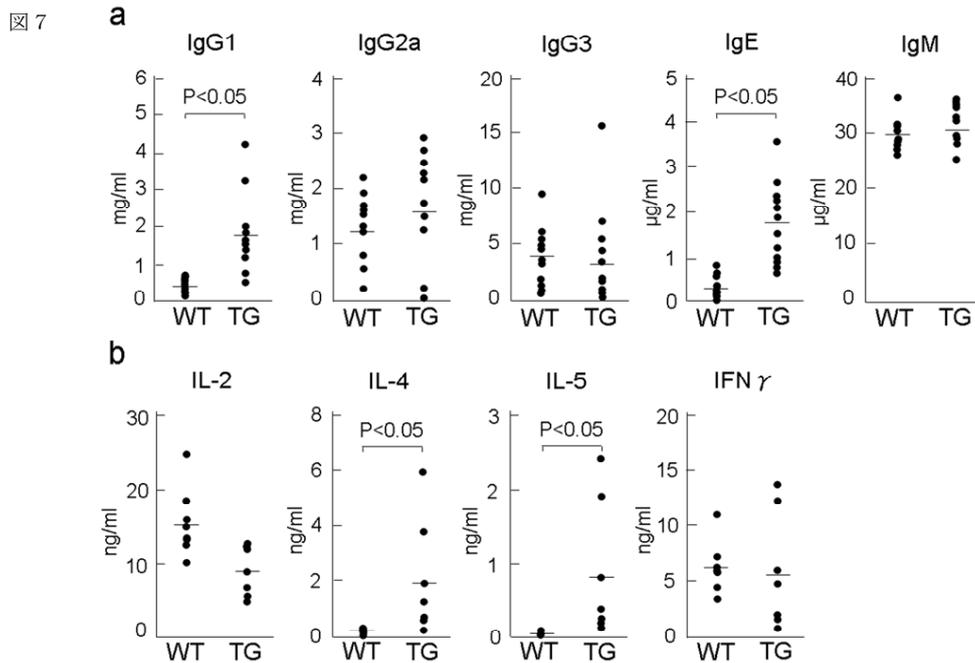
図5



ライン239の生後10日目の皮膚では、表皮の全層の細胞が、抗CYP1A1抗体に反応し、

免疫系との関係

局所の炎症は、全身的な免疫系のバランスの偏りと密接に関係していることが、ヒトのアトピー性皮膚炎、喘息、乾癬などの症例報告から、強く示唆されている。そこで、AhR-CA マウスの末梢血中の免疫グロブリンを調べたところ、IgE と IgG1 が高値を示し、いわゆる Th2 優位の反応がおこなっていることが示唆された (図 7 a)。そこで、脾細胞を単離して、*in vitro* で刺激した場合に産生されるサイトカインの量を検討した。その結果、IL-4 と IL-5 が高値を示し、やはり、Th2 優位の反応であることが確認された (図 7 b)。



これは、アトピー性皮膚炎でみとめられる免疫系のバランスの偏りの特徴と一致するものであった。

本研究において、我々は、外来の化学物質の投与をすることなく、AhR が制御する下流の遺伝子を活性化するだけで、アトピー性皮膚炎類似の皮膚炎を発症させることに成功した。このことは、近年増加しつつあるアレルギー性疾患に、炎症局所の AhR の活性化が関与している可能性を示唆するものである。そして、炎症局所の AhR の活性化を防ぐ、つまり、外来の化学物質への曝露から、局所を防護することが、炎症の軽減に有効である可能性を示唆している。

4. 7 生殖と AhR の役割グループ

(岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所) (平成 16 年 1 月～平成 18 年 3 月)

(1) 実施の内容

ダイオキシンによる毒性 (催奇形性・免疫抑制・発ガンのプロモーション・女性ホルモン様作用等) は、受容体型転写因子である AhR によって仲介されることが遺伝子破壊マウスを用いた研究から明らかとなっている。しかし、AhR 遺伝子が種を超えて保存されているという事実は、TCDD による毒性発現の仲介以外の AhR の生体内における重要な機能の存在を示唆するものであった。そのような AhR の生理的機能を明らかにするため、私たちは AhR 遺伝子破壊 (AhRKO) マウスを作成し、その生殖能に関して詳細な解析を行った。その結果、雌雄生殖腺における AhR の生理的な機能を分子レベルで明らかに

することができた。

AhRKO 雌マウスは野生型と比較して産仔数の顕著な低下を示した。AhRKO マウスの卵巣機能について解析した結果、卵胞成熟の異常、排卵数の減少、卵巣の矮小化、また性周期の異常が観察された。AhRKO 雌マウスにおけるこれらの異常は、卵巣内におけるエストロゲン合成の低下が妊性の低下の原因であることが分かった (図1)。

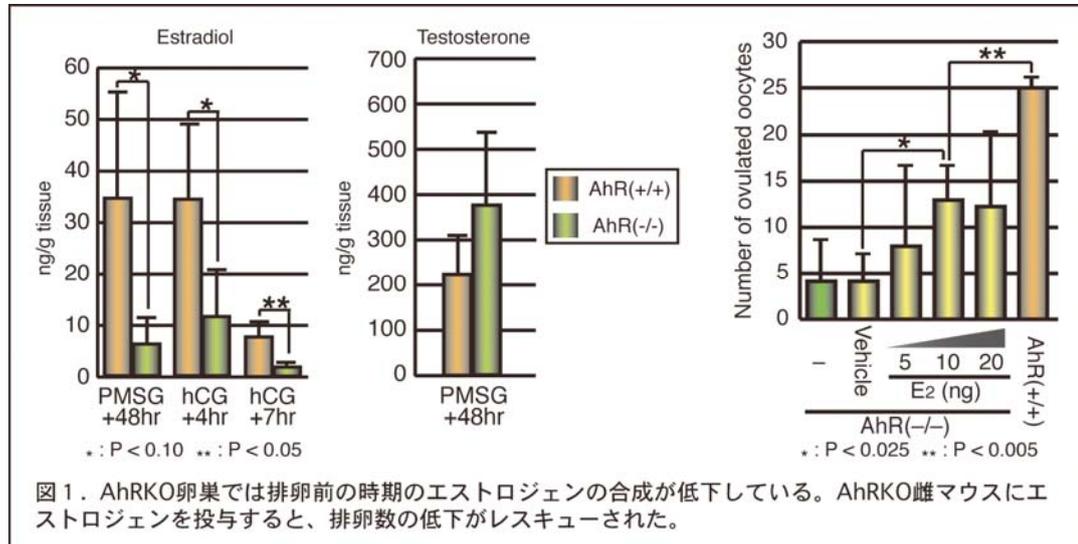


図1. AhRKO卵巣では排卵前の時期のエストロジェンの合成が低下している。AhRKO雌マウスにエストロジェンを投与すると、排卵数の低下がレスキューされた。

そこで、テストステロンからエストロジェンを合成する酵素である P450 アロマターゼをコードする遺伝子 (*Cyp19*, *P450arom*) の発現について解析したところ、野生型で観察される排卵前の時期の一過的な *Cyp19* の発現上昇が AhRKO 卵巣では観察されなかった。AhR は転写因子であるため、AhR が *Cyp19* の転写を直接制御している可能性が示唆された。そこで *Cyp19* 上流領域をルシフェラーゼ遺伝子に結合したレポーターを用いたルシフェラーゼレポーターアッセイを行った。その結果、AhR は *Cyp19* プロモーターに対して弱い転写活性化能を有することが分かった。これまでの研究から、*Cyp19* の転写活性化には核内受容体型転写因子 Ad4BP/SF-1 が必要不可欠である事が知られている。そこで、レポーターアッセイの実験系で AhR と Ad4BP/SF-1 を同時に作用させたところ、これら 2つの転写因子は協調的に *Cyp19* プロモーターの転写を活性化する事が明らかとなった。また、共免疫沈降法により AhR と Ad4BP/SF-1 の物理的相互作用を明らかにした。以上に示した培養細胞内での *Cyp19* プロモーターに対する AhR および Ad4BP/SF-1 の作用が実際に生体内でも行われていることを示すために、マウスの卵巣顆粒層細胞より可溶性クロマチンを精製し、AhR および Ad4BP/SF-1 の抗体を用いたクロマチン免疫沈降アッセイを行った。その結果、生体内においても AhR および Ad4BP/SF-1 は *Cyp19* 上流に結合しており、AhR および Ad4BP/SF-1 を含む転写調節複合体を形成していることを明らかにした (図2)。

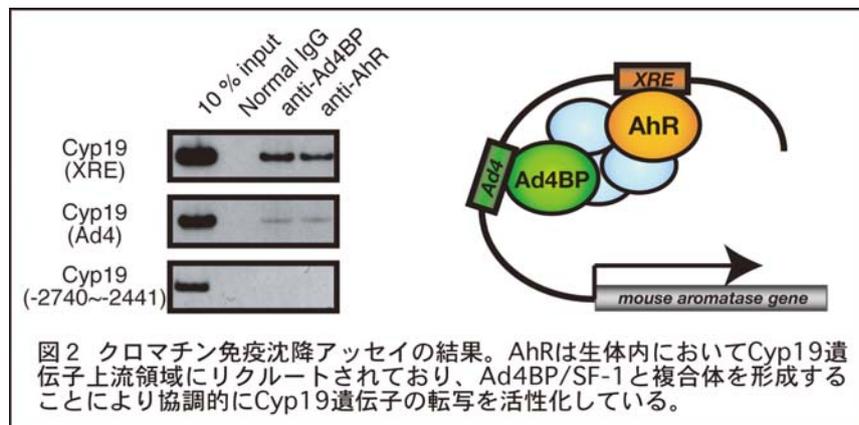


図2 クロマチン免疫沈降アッセイの結果。AhRは生体内においてCyp19遺伝子上流領域にリクルートされており、Ad4BP/SF-1と複合体を形成することにより協調的にCyp19遺伝子の転写を活性化している。

以上の結果より、AhRはAd4BP/SF-1と協調的にCyp19の転写を調節することにより、卵巣における女性ホルモン（エストロゲン）産生に重要な役割を果たしている事が明らかとなった。

TCDDは女性ホルモン様作用を示すという報告がある。私たちはTCDDをはじめとするAhRのリガンドによる女性ホルモン様作用発現のメカニズムは、AhRの活性化を介した時を誤ったCyp19の転写活性化、すなわちエストロゲン合成であると考えた。そこで、性周期の時期を特定した雌マウスにAhRのリガンドのひとつであるDMBAを投与し、投与後のCyp19 mRNAの発現を検討した。その結果、通常は排卵前の時期(proestrus)に一過的に上昇しているCyp19の発現が、DMBA投与により通常は発現していない発情間期(diestrus)の時期においても顕著に誘導されることが明らかとなった。AhRのリガンドによるエストロゲンの異常な産生が、女性ホルモン様作用を引き起こすことが示唆された(図3)。

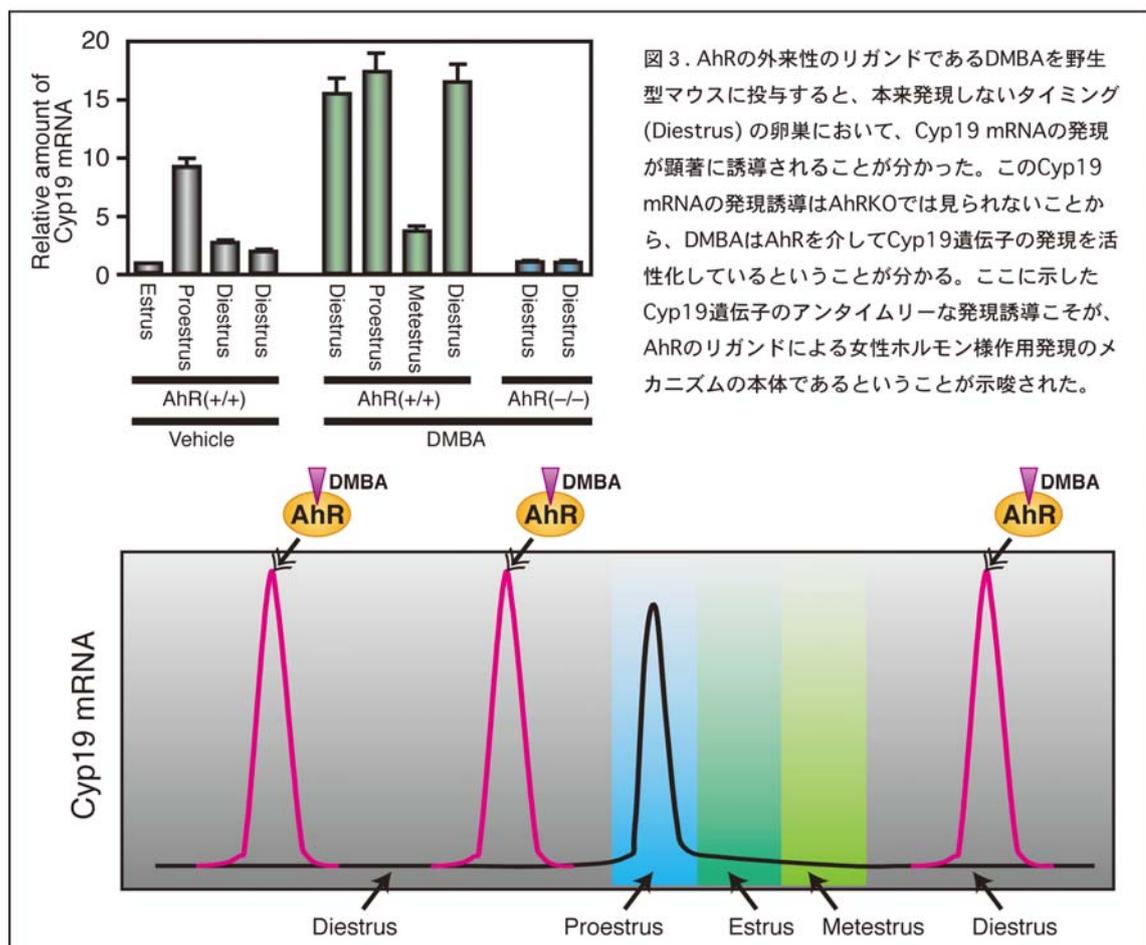
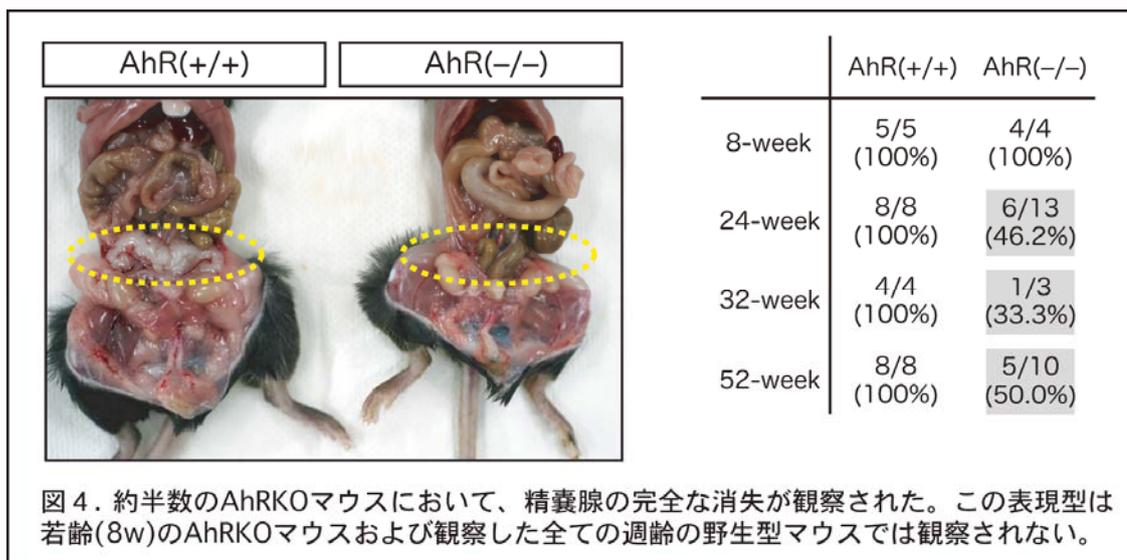
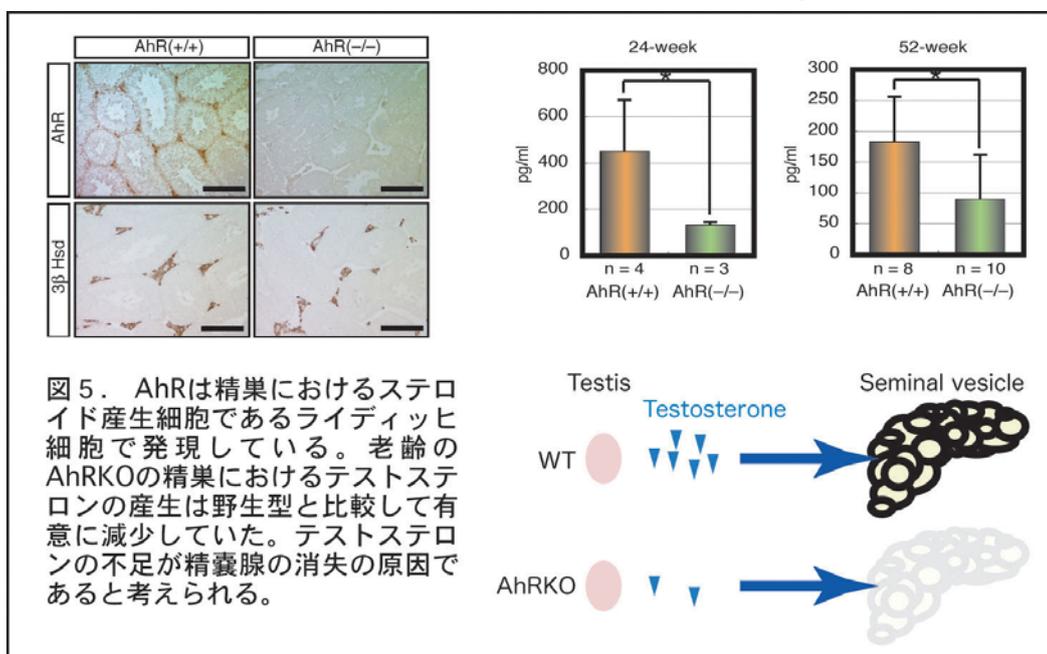


図3. AhRの外来性のリガンドであるDMBAを野生型マウスに投与すると、本来発現しないタイミング(Diestrus)の卵巣において、Cyp19 mRNAの発現が顕著に誘導されることが分かった。このCyp19 mRNAの発現誘導はAhRKOでは見られないことから、DMBAはAhRを介してCyp19遺伝子の発現を活性化しているということが分かる。ここに示したCyp19遺伝子のアンタイムリーな発現誘導こそが、AhRのリガンドによる女性ホルモン様作用発現のメカニズムの本体であるということが示唆された。

AhRKO雄マウスは野生型と比較してわずかな生殖能の低下を示した。そこでまずAhRKOマウスの精巣における精子形成を観察したが、精子形成過程において顕著な欠陥は見られなかった。次に付属生殖器官の観察を行ったところ、一部のAhRKOマウスにおいて精嚢腺の消失が観察された。さらに詳細に観察を行ったところ、AhRKOにおける精嚢腺の消失は加齢に伴って引き起こされることが分かった(図4)。

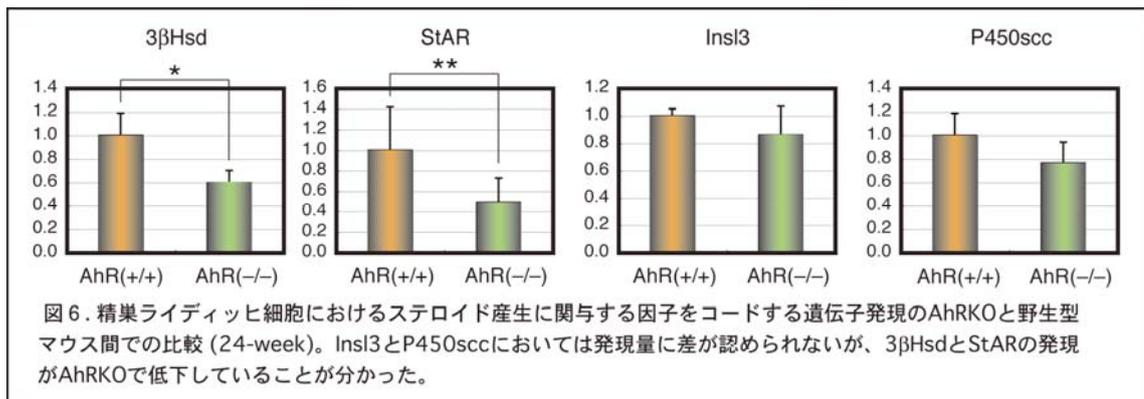


精嚢腺は去勢によって退縮することから、その維持にはテストステロンによるシグナル伝達が重要であることが知られている。そこで、精嚢腺におけるAR (Androgen receptor) の発現を野生型とAhRKOで比較した。ところが、精嚢腺におけるARの発現量に差異は認められなかった。テストステロンは主に精巣のライディッチ細胞において産生される。AhRはライディッチ細胞で発現していることから精巣におけるテストステロン産生に関与している可能性が考えられる。そこで、AhRKOマウスにおいて精嚢腺の消失が観察される24-weekおよび52-weekにおいて血中のテストステロン濃度を野生型と比較したところ、AhRKOにおいて有意に低下している事が分かった(図5)。



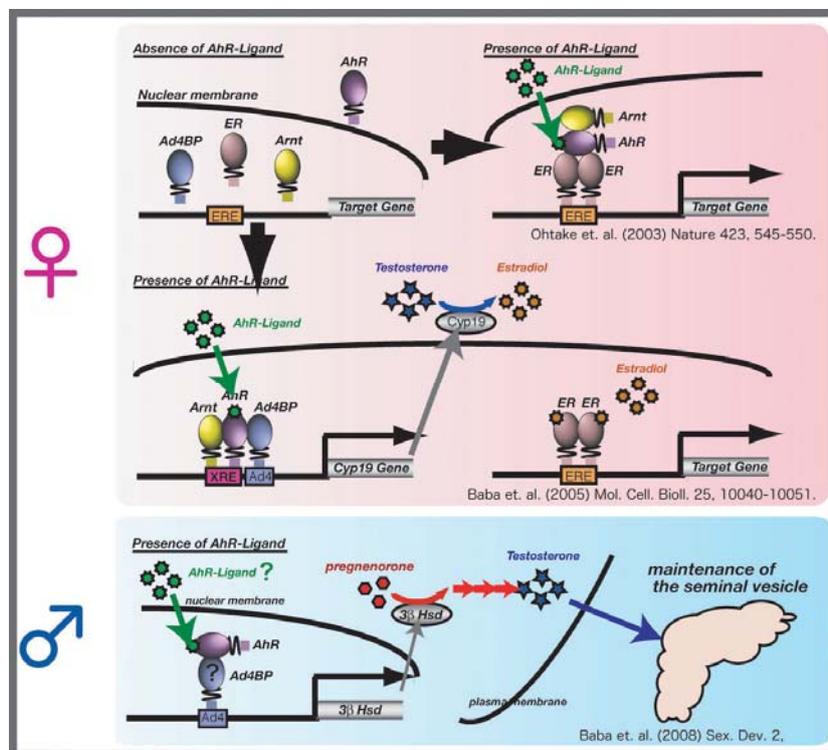
次に、老齢AhRKOマウスにおけるテストステロン産生低下の原因について検討を行った。まず、ライディッチ細胞の数をAhRKOと野生型で比較した。ところがその数に差異は認められなかったことから、ライディッチ細胞の数ではなく、その性ホルモン産生能に原因があると考えた。そこで、ライディッチ細胞において発現する性ホルモン産生に関わる因子をコードする遺伝子の発現の比較を行った。すると、*P450scc*や*Ins13*といった遺伝子の発現には変化が認められなかったものの、*3βHsd*および*StAR*の発現がAhRKO

で有意に低下している事が明らかとなった (図6)。



AhRKOにおける3βHsdの発現低下に関しては蛋白質レベルでも明らかにし、さらに精巣腺の消失が観察されない若齢(8-week)のマウスにおいてはAhRKOと野生型でその発現量に差が見られないものの、加齢に伴い、AhRKOで発現が低下することを明らかにした。以上の結果より、AhRは精巣ライディッヒ細胞において3βHsdおよびStARの発現を調節することにより、男性ホルモン(テストステロン)の産生に重要な役割を果たしているということが明らかとなった。

以上に概説した雌雄AhRKOマウスの生殖腺に着目した研究から、AhRは雌雄の生殖腺において雌雄それぞれの性ホルモンの産生に重要な役割を果たしているという事を明らかにすることができた。このようなAhRの生理的機能の解明が、TCDDをはじめとするAhRのリガンドによって引き起こされる様々な毒性の発現メカニズムの解明に繋がると信じている。



5. 類似研究の国内外の研究動向・状況と本研究課題の位置づけ

AhR が転写因子のみでなく AR や ER の E3 ユビキチンリガーゼとして働くことの発見は我々の研究によって初めて明らかにされたものである。本研究によって S. Safe (Texas A&M 大)らのグループなど多くの研究グループが TCDD によって ER の生物活性が阻害されることを発表していたが、その分子メカニズムが初めて明らかにされた。それまで AhR は転写因子として働くことのみが報告されて来たが、AhR の全く新しい機能を発見したものとして画期的なことであった。AhR の E3 ユビキチンリガーゼとしての働きは ER のみでなく AR にも働くことが分かり、さらに最近では腸において β -カテニンの E3 ユビキチンリガーゼとして働くことが分かった。腸において APC が癌抑制因子として β -カテニンのユビキチンリガーゼ複合体を形成して働いていることが知られている。AhR 欠失マウスでは、腸の回盲部に自然発生的に癌を発症することが分かり、AhR が癌抑制因子として働いていることが明らかになった。腸においては、AhR の E3 リガーゼ複合体と APC の E3 リガーゼ複合体が独立に、そして協同して β -カテニンの量的調節因子として働き、癌抑制因子としての役割を営んでいることを証明することが出来た。APC と AhR の 2 重遺伝子欠失マウスを作製すると腸癌の発症が促進されることから、この事実の正しさが確かめられた。これまでインドール酢酸 (IAA)、インドール 3 カルビノール (I3C)、ジインドリルメタン (DIM) などのトリプトファン誘導体やグルコシノレートなどのインドール誘導体の含量の多いことが知られているアブラナ科の植物が腸癌の予防薬として働くことが報告されている。これらの化合物は天然に存在する AhR のリガンドであるが、我々の研究成果によって AhR のリガンドが腸癌の予防薬として働く作用メカニズムが明らかにされた。実際に APC^{min/+}マウスに I3C や DIM を餌に混ぜて与えると、顕著に腫瘍の発生が抑えられることが観察された。今後 AhR のリガンドとなることを標的にして腸癌の予防薬が開発される可能性を示している。また、AhR による E3 ユビキチンリガーゼの基質として、他の生体成分が発見される可能性があり、新たな生理的調節系が発見される可能性を孕んでいる。

AhR の転写因子としての研究は、薬物代謝酵素 CYP1A1 の誘導的発現に関わる転写因子としてその cDNA が我々によって分離され、その構造が明らかにされた 1992 年以来、生化学や、薬理学分野の研究者によって多くの研究が成されて来た。その主なものは TCDD や PCB などによる毒性発現を仲介する生体内因子としての働きが中心であり、我々のグループの他にカロリンスカ研究所の L. Poellinger, ウィスコンシン大学の C. Bradfield, スタンフォード大学の J. Whitlock, UCLA の O. Hankinson, Pennsylvania 大学の G. Perdew らに代表される多くの研究者の名前を挙げる事が出来る。しかし、2000 年以後は AhR の生殖、免疫、脂肪細胞分化、日周リズムなどの生理機能に関わる研究に研究の興味が移りつつある。AhR の欠失によって生殖能が低下することを発見したのは B. Abbot と L. S. Birnbaum のノースカロライナ大学のグループが初めてと考えられるが、我々は卵巣におけるコレステロールからエストロゲンを合成する合成系に置いて律速反応を触媒する CYP19 (アロマターゼ)の遺伝子発現を AhR が直接転写因子として制御する分子メカニズムを明らかにした。また AhR の欠失が雄の生殖にも Leydig 細胞におけるテストステロン合成の減少の原因となって雄の生殖能力を低下させることを示した。ステロイドホルモンの合成に AhR が関与していることは、AhR リガンドの内分泌かく乱作用の分子基盤の一つである。イリノイ大学の J. A. Flaws のグループも AhR 欠失マウスの生殖能力の低下について、我々と同様の報告をしている。

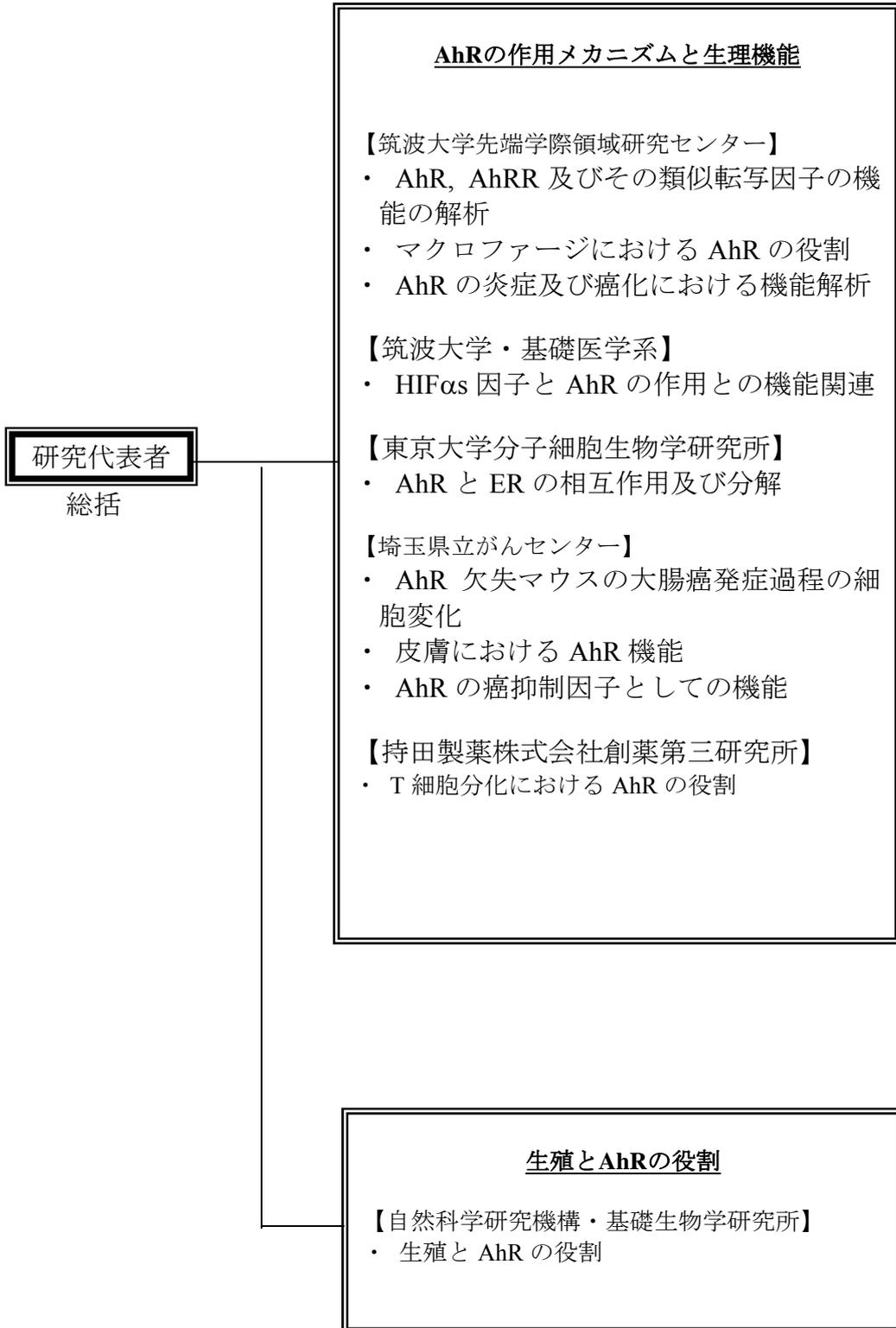
AhR の免疫機能における役割を、組織的に研究を始めたのはオレゴン大学の N. Kerkvliet

のグループと考えられる。彼女らのグループは TCDD によって Treg の分化が促進されることを最初に報告したが、ハーバード大学の H. L. Weiner らと MRC の B. Stockinger らのグループ及び我々との共同研究によって阪大、岸本らのグループが、Th17 細胞と Treg の分化に AhR が関与していることの分子メカニズムを明らかにした。また我々は持田製薬の古迫らのグループとの共同研究により、AhR のリガンド (M50367) がナイーブ T 細胞から Th1, Th2 に分化する時に、Th1 の分化を偏重的に促進して、抗アレルギー作用を示すことを明らかにした。Novartis の Woisetschläger のグループも AhR のリガンド (VAF347) は抗炎症作用があることを報告している。また我々は AhR がマクロファージにおいて炎症性サイトカイン IL-1 β の分泌を抑制する因子である Pai2, Bcl2 の発現を活性化することによって抗炎症的に働くことを明らかにした。このことは AhR が Th 細胞の分化によって抗炎症作用を示すのみでなく、マクロファージにおいて炎症性サイトカインの分泌をコントロールする因子の発現に直接働くことによって抗炎症作用を示すことを明らかにしたものである。今後 AhR の免疫細胞における作用メカニズムがさらに詳細に解明されれば AhR のリガンドによって免疫反応を適切に制御する薬の開発に繋がる可能性がある。これらの研究によって、AhR が薬物代謝酵素の誘導から自然免疫の調節まで外来異物の浸襲に対する防御機構の調節に中心的な働きをする因子であることが明らかになった。

HIF α s のグループは AhR のパートナー分子である Arnt と 2 量体を構成して遺伝子の上流にある HRE 配列に結合して標的遺伝子の遺伝子発現を活性化する転写因子である。HIF-1 α と HIF-2 α が主な因子であるが HIF-1 α の cDNA クローンが、Johns Hopkins 大学 G. Semanza らによって初めて単離され、低酸素に反応して解糖系の酵素や VEGF の誘導などを仲介する転写因子としての役割が明らかにされた。その後癌転移における血管新生、脳梗塞、炎症性疾患など酸素不足による疾病のメカニズムの解明に、国内外で非常に多くの研究者が取り組んでいる。我々は、我々の発見した HIF-1 α に類似の因子 HIF-2 α の機能解析を中心に行い、HIF-2 α が HIF-1 α と同じ調節配列 (HRE) を認識して働くが、HIF-1 α とは異なった標的遺伝子の活性化に関与していることを示した。HIF-1 α が正常でも HIF-2 α の発現を低下させた (ノックダウン) マウスでは、貧血が見られるが、この原因は赤血球造血を支持するストローマ細胞として機能する血管内皮細胞の VCAM-1 の発現低下によることを突き止めた。また移植癌における血管新生では、宿主の HIF-2 α の発現低下が血管のリモデリングの障害を起こして微小血管のみが形成され、大きな血管が形成されなくなり、癌の成長を遅くすることが分かった。この原因は ephrin A1 の発現低下によることが示された。最近 HIF-2 α の PAS-B の構造が HIF-1 α の PAS-B と異なり、 β -シートで囲まれた空洞が広く、リガンドが結合する可能性をテキサス大学の K. Gardner らが指摘しており、リガンド結合によって HIF-2 α の転写活性をコントロールすることが出来る可能性を報告している。

AhRR は我々によって AhR の転写活性が負に調節される因子として cDNA が分離され、構造が明らかにされた。この因子はコリプレッサーとして ANKRA2, HDAC4, HDAC5 をリクルートして AhR の転写抑制複合体を形成するが、その複合体形成には AhRR と Arnt の SUMO 化を必要とすることを明らかにした。AhRR はマウスの遺伝学的な研究から慶応大学の N. Kosaki らによって micropenis の原因遺伝子であることが示唆されている。また NIH の F. Cuttitta のグループはヒトの遺伝学から AhRR が癌抑制因子であることを示唆しているが、その作用メカニズムについては今後の研究の発展を待たなければならない。

6. 研究実施体制
(1)体制



(2)メンバー表

① AhR の作用メカニズムと生理機能グループ

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
藤井 義明	筑波大学 先端学際領域 研究センター	客員教授	研究班の総括	平成 16 年 1 月～ 平成 20 年 12 月
三村 純正	筑波大学 先端学際領域 研究センター	JST 研究員	AhR の癌抑制因子と しての役割	平成 16 年 1 月～ 平成 19 年 9 月
高田 智成	筑波大学 先端学際領域 研究センター	JST 研究員	AhR 及びその関連転 写因子の本来的役割 の研究	平成 16 年 4 月～ 平成 18 年 3 月
Bhinu, V. S.	筑波大学 先端学際領域 研究センター	JST 研究員	AhR シグナル伝達メ カニズムの研究	平成 16 年 6 月～ 平成 18 年 6 月
大川 裕美	筑波大学 先端学際領域 研究センター	JST 研究員	AhR の抗炎症作用の 役割と大腸癌の抑制 メカニズム	平成 18 年 4 月～ 平成 20 年 12 月
関根 弘樹	筑波大学 先端学際領域 研究センター	JST 研究員	AhR の炎症抑制作用 の分子メカニズムの 研究	平成 16 年 1 月～ 平成 20 年 12 月
大島 基彦	筑波大学 先端学際領域 研究センター	JST 研究員	AhRR 及び AhR の分解 過程の研究	平成 16 年 1 月～ 平成 20 年 12 月
大庭 沙織	筑波大学 先端学際領域 研究センター	JST 研究 補助員	実験補助、実験器具の 洗浄、実験動物の飼 育・管理	平成 16 年 1 月～ 平成 20 年 7 月
渡辺 要平	筑波大学 先端学際領域 研究センター	JST 研究 補助員	実験補助、実験器具の 洗浄、実験動物の飼 育・管理	平成 20 年 7 月～ 平成 20 年 12 月
根本 洋子	筑波大学 先端学際領域 研究センター	JST チーム 事務員	研究チーム事務	平成 16 年 1 月～ 平成 21 年 3 月
大根田 修	筑波大学 大学院人間総 合科学研究科	教授	HIFs と AhR の機能相 関	平成 17 年 4 月～ 平成 20 年 12 月

山下 年晴	筑波大学 大学院人間総合科学研究科	助教	HIFs の標的遺伝子の探索	平成 18 年 4 月～ 平成 20 年 12 月
長野 真澄	筑波大学 大学院人間総合科学研究科	研究員	ストローマ細胞株を用いた解析	平成 18 年 4 月～ 平成 20 年 12 月
崎山 愛	筑波大学 大学院人間総合科学研究科	院生	マウスにおける血液学的解析	平成 18 年 4 月～ 平成 19 年 3 月
中井 秀人	筑波大学 大学院人間総合科学研究科	院生	マウスにおける新規 NEPS 遺伝子の機能解析	平成 19 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
木村 健一	筑波大学 大学院人間総合科学研究科	院生	マウスにおける血液学的解析	平成 19 年 4 月～ 平成 20 年 12 月
本橋 ほづみ	筑波大学基礎 医学系	助教授	AhR の活性化機能の解析	平成 16 年 1 月～ 平成 18 年 3 月
大根田 絹子	筑波大学基礎 医学系	講師	bHLH-PAS 蛋白質の機能解析	平成 16 年 1 月～ 平成 18 年 3 月
小林 聡	筑波大学基礎 医学系	講師	Nrf2 と AhR の活性化機構の解析	平成 16 年 1 月～ 平成 18 年 3 月
日田 安寿美	筑波大学基礎 医学系	研究員	AhR の活性化機構の解析	平成 16 年 1 月～ 平成 16 年 3 月
原田 伸彦	筑波大学基礎 医学系	院生	AhR 及び Nrf2 ノックアウトマウスの解析	平成 16 年 1 月～ 平成 18 年 3 月
田内 雅史	筑波大学基礎 医学系	院生	AhR の活性化機能の解析	平成 16 年 4 月～ 平成 18 年 3 月
金子 直美	筑波大学基礎 医学系	JST 技術員	遺伝子改変マウスの組織標本の作製	平成 16 年 1 月～ 平成 17 年 3 月
武山 健一	東京大学 分子細胞生物学研究所	講師	AhR と核内ステロイドホルモン受容体の相互作用	平成 16 年 1 月～ 平成 20 年 12 月

小川 智子	東京大学大学院農学生命科学研究科	特別研究学生	核内エストロゲン受容体に対する内分泌攪乱物質の作用	平成16年1月～平成15年12月
大竹 史明	東京大学大学院農学生命科学研究科	院生	AhR に結合する細胞内因子の単離精製に対する内分泌攪乱物質の作用	平成16年1月～平成17年3月
三木 ひろみ	東京大学大学院農学生命科学研究科	院生	AhR の脂肪細胞分化抑制を担う複合体の単離	平成17年4月～平成20年3月
馬場 敦史	東京大学大学院農学生命科学研究科	院生	AhR による ER α および AR の機能制御を担うユビキチンリガーゼ複合体の解析	平成17年4月～平成20年3月
岡田 麻衣子	東京大学大学院農学生命科学研究科	院生	AhR による ER α および AR の機能制御を担うユビキチンリガーゼ複合体の解析	平成20年4月～平成20年12月
竹内 一翔	東京大学大学院農学生命科学研究科	院生	AhR の脂肪細胞分化抑制を担う転写抑制制御複合体の単離	平成20年4月～平成20年12月
川尻 要	埼玉県立がんセンター臨床腫瘍研究所	主幹	細胞内局在性に基づく AhR の生理的機能の解明・大腸癌発症に至る細胞生物学的研究	平成16年4月～平成20年12月
生田 統悟	埼玉県立がんセンター臨床腫瘍研究所	主任研究員	細胞内局在性に基づく AhR の生理的機能の解明	平成16年4月～平成20年12月
小林 康人	埼玉県立がんセンター臨床技術部	副技師長	大腸癌発症の細胞生物学的研究	平成17年4月～平成20年12月
黒住 昌史	埼玉県立がんセンター病理部	部長	大腸癌の病理学的研究	平成18年4月～平成20年12月
篠永 文子	埼玉県立がんセンター臨床腫瘍研究所	JST 研究補助員	研究データの収集、解析・研究チームでの研究事務	平成16年5月～平成20年12月
篠田 なほみ	埼玉県立がんセンター臨床腫瘍研究所	JST 研究補助員	分子生物学的研究補助業務	平成16年5月～平成20年12月

宮浦 陽子	埼玉県立がんセンター臨床腫瘍研究所	JST 研究補助員	培養細胞研究補助業務	平成 16 年 5 月～平成 20 年 12 月
古迫 正司	持田製薬株式会社創薬第三研究所	所長	ヘルパーT細胞の分化における AhR の役割	平成 16 年 1 月～平成 20 年 12 月
根岸 孝昭	持田製薬株式会社創薬第三研究所	係長	ヘルパーT細胞の分化における AhR の役割	平成 16 年 1 月～平成 20 年 12 月

② 生殖における AhR の役割グループ

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
諸橋 憲一郎	岡崎国立共同機構基礎生物学研究所	教授	研究班の総括	平成 16 年 1 月～平成 18 年 3 月
小川 英知	岡崎国立共同機構基礎生物学研究所	助手	FSH、LH シグナル伝達経路と AhR の関係	平成 16 年 1 月～平成 18 年 3 月
馬場 崇	岡崎国立共同機構基礎生物学研究所	研究員	生殖サイクルにおける AhR の役割	平成 16 年 1 月～平成 18 年 3 月
モハマド・ズバイル	岡崎国立共同機構基礎生物学研究所	JST 研究員	AhR KO マウスを用いた精子形成過程の変化	平成 16 年 1 月～平成 18 年 3 月
杉浦 未央	岡崎国立共同機構基礎生物学研究所	JST 研究補助員	研究データの収集、解析	平成 16 年 4 月～平成 18 年 3 月

7. 研究期間中の主な活動

(1) ワークショップ・シンポジウム等

年月日	名称	場所	参加人数	概要
平成 16 年 6 月 9 日	平成 16 年度 藤井チーム班会議	(独) 科学技 術 振 興 機 構 発 展 ・ 継 続』 第 一 研 究 事 務 所 6 階 会 議 室	8 名	各グループの進捗状況報 告及び今後の研究の進め 方について討論。
平成 17 年 6 月 17 日	平成 17 年度 藤井チーム班会議	(独) 科学技 術 振 興 機 構 発 展 ・ 継 続』 第 一 研 究 事 務 所 9 階 会 議 室	10 名	各グループの進捗状況報 告及び今後の研究の進め 方について討論。
平成 18 年 5 月 24 日	平成 18 年度 藤井チーム班会議	(独) 科学技 術 振 興 機 構 発 展 ・ 継 続』 第 一 研 究 事 務 所 9 階 会 議 室	9 名	各グループの進捗状況報 告及び今後の研究の進め 方について討論。
平成 19 年 1 月 31 日	第 6 回 SORST ジョイントシンポ ジウム	コクヨホー ル (品川)	300 名	CREST、SORST、先端計測 機器開発、ベンチャー企 業合同シンポジウム。
平成 19 年 5 月 29 日	平成 19 年度 藤井チーム班会議	(独) 科学技 術 振 興 機 構 発 展 ・ 継 続』 第 一 研 究 事 務 所 9 階 会 議 室	9 名	各グループの進捗状況報 告及び今後の研究の進め 方について討論。
平成 20 年 4 月 25 日	平成 20 年度 藤井チーム班会議	(独) 科学技 術 振 興 機 構 発 展 ・ 継 続』 第 一 研 究 事 務 所 6 階 会 議 室	10 名	各グループの進捗状況報 告及び研究のまとめ方に ついて討論。

(2) 招聘した研究者等

氏 名 (所属、役職)	招聘の目的	滞在先	滞在期間

8. 発展研究による主な研究成果

(1) 論文発表 (英文論文 122 件 邦文論文 7 件)

【英文論文】

Fujii-Kuriyama Y. and Mimura J., Transcriptional roles of AhR in expression of biological effects induced by endocrine disruptors. *Pure Appl. Chem.*, **75**, 1819-1826 (2003)

Kikuchi Y., Ohsawa S., Mimura J., Ema M., Takasaki C., Sogawa K., Fujii-Kuriyama Y., Heterodimers of bHLH-PAS Protein Fragments Derived from AhR, AhRR, and Arnt Prepared by Co-Expression in Escherichia coli: Characterization of Their DNA Binding Activity and Preparation of a DNA Complex. *J. Biochem.*, **134**, 83-90 (2003)

○Ohtake F., Takeyama K., Matsumoto T., Kitagawa H., Yamamoto Y., Nohara K., Tohyama C., Krust A., Mimura J., Chambon P., Yanagisawa J., Fujii-Kuriyama Y., Kato S., Modulation of oestrogen receptor signalling by association with the activated dioxin receptor. *Nature*, **423**, 545-550 (2003)

Morita M., Ohneda O., Yamashita T., Takahashi S., Suzuki N., Nakajima O., Kawauchi S., Ema M., Shibahara S., Udono T., Tomita K., Tamai M., Sogawa K., Yamamoto M. and Fujii-Kuriyama Y., HLF/HIF2 α is a key factor in retinopathy of prematurity in association with erythropoietin. *EMBO J.*, **22**, 1134-1146 (2003)

Mimura J., Fujii-Kuriyama Y., Functional role of AhR in the expression of toxic effects by TCDD, *Bioch. Biophys. Acta*, **1619**, 263-268 (2003)

Kwak M.K., Wakabayashi N., Itoh K., Motohashi H., Yamamoto M. and Kensler T.W., Modulation of gene expression by cancer chemopreventive dithiolethiones through the Keap1-Nrf2 pathway: Identification of novel gene clusters for cell survival. *J. Biol. Chem.* **278**, 8135-8145 (2003)

Katsuoka F., Motohashi H., Tamagawa Y., Kure S., Igarashi K., Engel J.D. and Yamamoto M., Small Maf compound mutants display CNS neuronal degeneration, aberrant transcription and Bach protein mislocalization coincident with myoclonus and abnormal startle response. *Mol. Cell. Biol.* **23**, 1163-1174 (2003)

Noda S., Harada N., Hida A., Fujii-Kuriyama Y., Motohashi H. and Yamamoto M., Gene expression of detoxifying enzymes in AhR and Nrf2 compound null mutant mouse. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **303**, 105-111 (2003)

Moriguchi T., Motohashi H., Hosoya T., Nakajima O., Takahashi S., Ohsako S., Aoki Y., Nishimura N., Tohyama C., Fujii-Kuriyama Y. and Yamamoto M., Distinct response to dioxin in an arylhydrocarbon receptor (AhR)-humanized mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100**, 5652-5657 (2003)

Suzuki N., Suwabe N., Ohneda O., Obara N., Imagawa S., Pan X., Motohashi H. and Yamamoto M., Identification and characterization of two types of erythroid progenitors that express GATA-1 at distinct levels. *Blood* **102**, 3575-3583 (2003)

Wakabayashi N., Itoh K., Wakabayashi J., Motohashi H., Noda S., Takahashi S., Imakado S., Kotsuji T., Otsukua F., Roop D.R., Harada T., Engel J.D. and Yamamoto M., Keap1-null mutation leads to postnatal lethality due to constitutive Nrf2 activation. *Nat. Genet.* **35**, 238-245 (2003)

Kitagawa H., Fujiki R., Yoshimura K., Mezaki Y., Uematsu Y., Matsui D., Ogawa S., Unno K., Okubo M., Tokita A., Nakagawa T., Ito T., Ishimi Y., Nagasawa H., Matsumoto T.,

- Yanagisawa J., Kato S., The chromatin remodeling complex WINAC targets a nuclear receptor to promoters and is impaired in Williams Syndrome. *Cell*, **113**, 905-917 (2003)
- Suzawa M., Takada I., Yanagisawa J., Ohtake F., Ogawa S., Yamauchi T., Kadowaki T., Takeuchi Y., Shibuya H., Gotoh Y., Matsumoto K., Kato S., Cytokines suppress adipogenesis and PPAR-gamma function through the TAK1/TAB1/NIK cascade. *Nature Cell Biol.*, **5**, 224-230 (2003)
- Ogiso H., Kagi N., Matsumoto E., Nishimoto M., Arai R., Shirouzu M., Mimura J., Fujii-Kuriyama Y., Yokoyama S., Phosphorylation analysis of 90 kDa heat shock protein within the cytosolic arylhydrocarbon receptor complex. *Biochemistry*. **43**, 15510-15519 (2004)
- Nakatsuru Y., Wakabayashi K., Fujii-Kuriyama Y., Ishikawa T., Kusama K., Ide F., Dibenzo[A,L]pyrene-induced genotoxic and carcinogenic responses are dramatically suppressed in aryl hydrocarbon receptor-deficient mice. *Int J Cancer*. **112**, 179-183 (2004)
- Fukuzawa N.H., Ohsako S., Wu Q., Sakaue M., Fujii-Kuriyama Y., Baba T., Tohyama C., Testicular cytochrome P450scc and LHR as possible targets of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in the mouse. *Mol Cell Endocrinol*. **221**, 87-96 (2004)
- Kinoshita K., Kikuchi Y., Sasakura Y., Suzuki M., Fujii-Kuriyama Y., Sogawa K., Altered DNA binding specificity of Arnt by selection of partner bHLH-PAS proteins. *Nucleic Acids Res*. **32**, 3169-3179 (2004)
- Sogawa K., Numayama-Tsuruta K., Takahashi T., Matsushita N., Miura C., Nikawa J., Gotoh O., Kikuchi Y., Fujii-Kuriyama Y., A novel induction mechanism of the rat CYP1A2 gene mediated by Ah receptor-Arnt heterodimer. *Biochem Biophys Res Commun*. **318**, 746-755 (2004)
- Sugihara K., Kitamura S., Yamada T., Okayama T., Ohta S., Yamashita K., Yasuda M., Fujii-Kuriyama Y., Saeki K., Matsui S., Matsuda T., Aryl hydrocarbon receptor-mediated induction of microsomal drug-metabolizing enzyme activity by indirubin and indigo. *Biochem Biophys Res Commun* **318**, 571-578 (2004)
- Fetissov S.O., Huang P., Zhang Q., Mimura J., Fujii-Kuriyama Y., Rannug A., Hokfelt T., Ceccatelli S., Expression of hypothalamic neuropeptides after acute TCDD treatment and distribution of Ah receptor repressor. *Regul Pept*. **119**, 113-124 (2004)
- Shimada T. and Fujii-Kuriyama Y., Metabolic activation of polycyclic aromatic hydrocarbons to carcinogens by cytochromes P450 1A1 and 1B1. *Cancer Sci*. **95**, 1-6 (2004)
- Yamamoto J., Ihara K., Nakayama H., Hikino S., Satoh K., Kubo N., Iida T., Fujii Y., Hara T., Characteristic expression of aryl hydrocarbon receptor repressor gene in human tissues: Organ-specific distribution and variable induction patterns in mononuclear cells. *Life Sci*. **74**, 1039-1049 (2004)
- Kyo M., Yamamoto T., Motohashi H., Kamiya T., Kuroita T., Tanaka T., Engel J.D., Kawakami B. and Yamamoto M., Evaluation of MafG interaction with Maf recognition element arrays by surface plasmon resonance imaging technique. *Genes Cells* **9**, 153-164 (2004)
- Ito T., Tsukumo S.I., Suzuki N., Motohashi H., Yamamoto M., Fujii-Kuriyama Y., Mimura J., Lin T.M., Peterson R.E., Tohyama C. and Nohara K., A constitutively active arylhydrocarbon receptor induces growth inhibition of Jurkat T cells through changes in the expression of genes related to apoptosis and cell cycle arrest. *J. Biol. Chem*. **279**, 25204-25210 (2004)

- Motohashi H., Katsuoka F., Engel J.D. and Yamamoto M., Small Maf proteins serve as transcriptional cofactors for keratinocyte differentiation in the Keap1-Nrf2 regulatory pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 6379-6384 (2004)
- Yamamoto T., Yoh K., Kobayashi A., Ishii Y., Kure S., Koyama A., Sakamoto T., Sekizawa K., Motohashi H. and Yamamoto M., Identification of polymorphisms in the promoter region of the human *NRF2* gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **321**, 72-79 (2004)
- Murayama A., Kim M., Yanagisawa J., Takeyama K., Kato, S., Transrepression by a liganded nuclear receptor via a bHLH activator through co-regulator switching. *EMBO J.*, **23**, 1598-1608 (2004)
- Kouzmenko A.P., Takeyama K., Ito S., Furutani T., Sawatsubashi S., Maki A., Suzuki E., Kawasaki Y., Akiyama T., Tabata T., Kato S., Wnt/ β -catenin and estrogen signaling converge *in vivo*. *J. Biol. Chem.*, **279**, 40255-40258 (2004)
- Maki A., Sawatsubashi S., Ito S., Shiode Y., Suzuki E., Zhao Y., Yamagata K., Kouzmenko A., Takeyama K. Kato S., Juvenile hormones antagonize ecdysone actions through co-repressor recruitment to EcR/USP heterodimers. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **320**, 262-267 (2004)
- Sawatsubashi S., Maki A., Ito S., Shiode Y., Suzuki E., Zhao Y., Yamagata K., Kouzmenko A., Takeyama K., Kato S., Ecdysone receptor-dependent gene regulation mediates histone poly (ADP-ribosylation). *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **320**, 268-272 (2004)
- Takeyama K., Ito S., Sawatsubashi S., Shiode Y., Yamamoto A., Suzuki E., Maki A., Yamagata K., Zhao Y., Kouzmenko A., Tabata T., Kato S., A novel genetic system for analysis of co-activators for the N-terminal transactivation function domain of the human androgen receptor. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **68**, 1209-1215 (2004)
- Ito S., Takeyama K., Yamamoto A., Sawatsubashi S., Shiode Y., Kouzmenko A., Tabata T., Kato S., *In vivo* potentiation of human oestrogen receptor α by Cdk7-mediated phosphorylation. *Genes to Cells*, **9**, 983-992 (2004)
- Matsumoto T., Kawano H., Sato T., Takeyama K., Function of androgen receptor in gene regulations. *J. Steroid Biochem. & Mol. Biol.*, **89-90**, 627-633 (2004)
- Hasegawa T., Fukami M., Sato N., Sasaki G., Fukutani K., Morohashi K. and Ogata T., Testicular dysgenesis without adrenal insufficiency in a 46,XY patient with a heterozygous inactive mutation of Steroidogenic Factor-1. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **89**, 5930-5935 (2004)
- Komatsu T., Mizusaki H., Mukai T., Ogawa H., Baba D., Shirakawa M., Hatakeyama S., Nakayama K., Yamamoto H., Kikuchi A. and Morohashi K., SUMO-1 modification of the synergy control motif of Ad4BP/SF-1 regulates synergistic transcription between Ad4BP/SF-1 and Sox9. *Mol. Endocrinol.*, **18**, 2451-2462 (2004)
- Ogawa H., Yu R.T., Haraguchi T., Hiraoka Y., Nakatani Y., Morohashi K. and Umesono K., Nuclear structure-associated TIF2 interacts with glucocorticoid receptor and its target DNA. *Biochem. Biophys. Res Commun.*, **320**, 218-225 (2004)
- Mitsunaga K., Araki K., Mizusaki H., Morohashi K., Haruna H., Nakagata N., Giguere V., Yamamura K. and Abe K., Loss of PGC-specific expression of the orphan nuclear receptor ERR-b results in regulation of germ cell number in mouse embryos. *Mech of Dev.*, **121**, 237-246 (2004)
- Toda K., Okada Y., Zubair M., Morohashi K., Saibara T. and Okada T., Aromatase-knockout

mouse carrying an estrogen-inducible enhanced green fluorescent protein gene facilitates detection of estrogen actions in vivo. *Endocrinol.*, **145**, 1880-1888 (2004)

Kato M., Das S., Petras K., Kitamura K., Morohashi K., Abuelo D.N., Barr M., Bonneau D., Brady A., Carpenter N.J., Frisone F., Fukuda T., Guerrini R., Iida E., Itoh M., Lewanda A.F., Nanba Y., Oka A., Proud V.K., Russel K.L., Saugier-veber P., Schelley S.L., Selicorni A., Shaner R., Silengo M., Stewart F, Sugiyama N., Toyama J., Toutain A., Vargas A.L., Yanazawa M, Zackai E.H. and Dobyns W.B., Mutations of *ARX* are associated with striking pleiotropy and consistent genotype-phenotype correlation. *Human Mutation*, **23**, 147-159 (2004)

Ikuta T., Kobayashi Y. and Kawajiri K., Phosphorylation of nuclear localization signal inhibits the ligand-dependent nuclear import of aryl hydrocarbon receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **317**, 545-550 (2004)

Ikuta T., Kobayashi Y. and Kawajiri K., Cell density regulates intracellular localization of aryl hydrocarbon receptor. *J. Biol. Chem.*, **279**, 19209-19216 (2004)

Kawajiri K. and Ikuta T., Regulation of nucleo-cytoplasmic transport of the aryl hydrocarbon receptor. *J. Health Science*, **50**, 215-219 (2004)

○ Negishi T., Kato Y., Ooneda O., Mimura J., Takada T., Mochizuki H., Yamamoto M., Fujii-Kuriyama Y., and Furusako S., Effects of aryl hydrocarbon receptor signaling on modulation of Th1/Th2 balance, *J. Immunol.*, **175**, 7348-7356 (2005)

○ Baba T., Mimura J., Nakamura N., Harada N., Yamamoto M., Morohashi K. and Fujii-Kuriyama Y., Ah (dioxin) receptor as a key factor in the regulation of female reproduction. *Mol. Cell. Biol.* **25**, 10040-10051 (2005)

Fujii-Kuriyama Y. and Mimura J., Molecular Mechanisms of AhR Functions in the Regulation of Cytochrome P450 Genes, *Biochem Biophys Res Commun*, **338**, 311-317 (2005)

Tanaka G., Kanaji S., Hirano A., Arima K., Shinagawa A., Goda C., Yasunaga S., Ikizawa K., Yanagihara Y., Kubo M., Kuriyama-Fujii Y., Sugita Y., Inokuchi A., Izuhara K., Induction and activation of the aryl hydrocarbon receptor by IL-4 in B cells. *Int Immunol.* **17**, 797-805 (2005)

Nishimura N., Yonemoto J., Miyabara Y., Fujii-Kuriyama Y., Tohyama C., Altered thyroxine and retinoid metabolic response to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in aryl hydrocarbon receptor-null mice. *Arch Toxicol.* **79**, 260-267 (2005)

Nohara K., Pan X., Tsukumo S., Hida A., Ito T., Nagai H., Inouye K., Motohashi H., Yamamoto M., Fujii-Kuriyama Y., Tohyama C., Constitutively active aryl hydrocarbon receptor expressed specifically in T-lineage cells causes thymus involution and suppresses the immunization-induced increase in splenocytes. *J Immunol.* **174**, 2770-2777 (2005)

Kuroda M., Oikawa K., Ohbayashi T., Yoshida K., Yamada K., Mimura J., Matsuda Y., Fujii-Kuriyama Y., Mukai K., A dioxin sensitive gene, mammalian WAPL, is implicated in spermatogenesis. *FEBS Lett.* **579**, 167-172 (2005)

Katsuoka F., Motohashi H., Engel J.D. and Yamamoto M., Nrf2 transcriptionally activates the mafG gene through an antioxidant response element. *J. Biol. Chem.* **280**, 4483-4490 (2005)

Katsuoka F., Motohashi H., Ishii T., Aburatani H., Engel. J.D. and Yamamoto M., Genetic evidence that small Maf proteins are essential for the activation of antioxidant response element-dependent genes. *Mol. Cell. Biol.* **25**, 8044-8051 (2005)

Tauchi M., Hida A., Negishi T., Katsuoka F., Noda S., Mimura J., Hosaya T., Yanaka A., Aburatani H., Fujii-Kuriyama Y., Motohashi H. and Yamamoto M., Constitutive expression of

aryl hydrocarbon receptor in keratinocytes causes inflammatory skin lesions. *Mol. Cell. Biol.* **25**, 9360-9368 (2005)

Masuihiro Y., Mezaki Y., Sakari M., Takeyama K., Yoshida T., Inoue K., Yanagisawa J., Hanazawa S., O'Malley B.W., Kato S., Splicing potentiation by growth factor signals via estrogen receptor phosphorylation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 8126-8131 (2005)

Furutani T., Takeyama K., Koutoku H., Ito S., Taniguchi N., Suzuki E., Kudoh M., Shibasaki M., Shikama H., Kato S., Human expanded polyQ androgen receptor mutants in neurodegeneration as a novel ligand target. *J. Pharm. Experim. Therapeutics*, **315**, 545-552 (2005)

Furutani T., Takeyama K., Koutoku H., Ito S., Taniguchi N., Suzuki E., Kudoh M., Shibasaki M., Shikama H., 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)

Unno A., Takada I., Takezawa S., Oishi H., Baba A., Shimizu T., Tokita A., Yanagisawa J., Kato S., TRRAP as a hepatic coactivator of LXR and FXR function. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **327**, 933-938 (2005)

Matsumoto T., Takeyama K., Sato T., Kato S., Study of androgen receptor functions by genetic models. *J. Biochem.*, **138**, 105-110 (2005)

Shima Y., Zubair M., Ishihara S., Shinohara Y., Oka S., Kimura S., Suita S. and Morohashi K., VMH specific enhancer of *Ad4BP/SF-1* gene. *Mol. Endocrinol.*, **19**, 2812-2823 (2005)

Katoh-Fukui Y., Owaki A., Sotoyama Y., Kusaka M., Shinohara Y., Maekawa M., Toshimori K. and Morohashi K., Mouse *Polycomb M33* is required for splenic vascular and adrenal gland formation through regulating *Ad4BP/SF-1* expression. *Blood*, **106**, 1612-1620 (2005)

Kamei Y., Aoyama Y., Fujimoto T., Kenmotsu N., Kishi C., Koushi M., Sugano S., Morohashi K., Kamiyama R., Asakai R., A steroidogenic cell line with differentiation potential from mouse granulosa cells, transfected with *Ad4BP* and *SV40 large T antigen* genes. *J. Endocrinol.*, **185**, 187-195 (2005)

Matsuyama M., Mizusaki H., Shimono A., Mukai T., Okumura K., Abe K., Shimada K. and Morohashi K., Novel isoform of vinexin, vinexin g, regulates *Sox9* gene expression through activation of MAPK cascade in mouse fetal gonad. *Genes Cells*, **10**, 421-434 (2005)

Yoshioka H., Ishimaru Y., Sugiyama N., Tsunekawa N., Noce T., Kasahara M. and Morohashi K., Mesonephric *FGF* signaling is associated with the development of sexually indifferent gonadal primordium in chick embryos. *Dev. Biol.*, **280**, 150-161 (2005)

Ishihara S. and Morohashi K., Identification of the boundary for histone acetylation between nuclear receptor genes, *Ad4BP/SF-1* and *GCNF*, aligned in tandem. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **329**, 554-562 (2005)

Toda K., Hayashi Y., Okada T., Morohashi K. and Saibara T., Expression of the estrogen-inducible EGFP gene in aromatase-deficient mice reveals differential tissue-response to estrogenic compounds. *Mol. Cell. Endocrinol.*, **229**, 119-126 (2005)

Iseki M., Ikuta T., Kobayashi T. and Kawajiri K., Growth suppression of Leydig TM3 cells mediated by aryl hydrocarbon receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **331**, 902-908 (2005)

Sagredo C., Ovrebø S., Haugen A., Fujii-Kuriyama Y., Baera R., Botnen I.V., Møllerup S.,

Quantitative analysis of benzo[a]pyrene biotransformation and adduct formation in Ahr knockout mice. *Toxicol Lett.*, **167**, 173-182 (2006)

Sekine H., Mimura J., Yamamoto M., Fujii-Kuriyama Y., Unique and overlapping transcriptional roles of Arnt(Arylhydrocarbon receptor nuclear translocator) and Arnt2 in xenobiotic and hypoxic responses. *J Biol Chem.*, **281**, 37507-37516 (2006)

Okawa H., Motohashi H., Kobayashi A., Aburatani H., Kensler T.W. and Yamamoto M., Hepatocyte-specific deletion of the *keap1* gene activates Nrf2 and confers potent resistance against acute drug toxicity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **339**, 79-88 (2006)

Yamamoto T., Kyo M., Kamiya T., Tanaka T., Engel. J.D., Motohashi H. and Yamamoto M., Predictive base substitution rules that determine the binding and transcriptional specificity of Maf recognition elements. *Genes Cells* **11**, 575-591 (2006)

Motohashi H., Katsuoka F., Miyoshi C., Uchimura Y., Saitoh H., Francastel C., Engel. J.D. and Yamamoto M., MafG Sumoylation Is Required for Active Transcriptional Repression. *Mol. Cell. Biol.* **26**, 4652-4663 (2006)

Mukai H.Y., Motohashi H., Ohneda O., Suzuki N., Nagano M. and Yamamoto M., Transgene insertion into the proximity of the *c-myb* gene disrupts erythroid-megakaryocytic lineage bifurcation. *Mol. Cell. Biol.* **26**, 7953-7965 (2006)

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 (2006)

Yamaoka K., Kim M.-S., Takada I., Takeyama K., Kamimura T. and Kato S., Culture serum-induced conversion from agonist to antagonist of a Vitamin D analog, TEI-9647. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **100**, 177-183 (2006)

Fukami M., Wada Y., Miyabayashi K., Nishino I., Hasegawa T., Camerino G., Kretz C., Buj-Bello A., Laporte J., Yamada G., Morohashi K. and Ogata T., CXorf6 is a causative gene for hypospadias. *Nature Genetics*, **38**, 1369-1371 (2006)

Kojima Y., Sakaki S., Hayashi Y., Umemoto Y., Morohashi K. and Kohri K., Role of transcription factors Ad4BP/SF-1 and DAX-1 in steroidogenesis and spermatogenesis in human testicular development and idiopathic azospermia. *Int. J. Urol.*, **13**, 785-793 (2006)

Zubair M., Ishihara S., Oka S., Okumura K. and Morohashi K., Two-step regulation of *Ad4BP/SF-1* gene transcription during fetal adrenal development; initiation by a Hox-Pbx1-Prep1 complex and maintenance via autoregulation by Ad4BP/SF-1. *Mol. Cell. Biol.*, **26**, 4111-4121 (2006)

Zubair F.M., Shima Y., Oka S., Ishihara S., Fukui-Katoh Y. and Morohashi K., Differential gene dosage effects of Ad4BP/SF-1 on target tissue development. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **341**, 1036-1045 (2006)

Honsei N., Ikuta T., Kawana K., Kaneko Y. and Kawajiri K., Participation of nuclear localization signal 2 in the 3'-ETS domain of FLI1 in nuclear translocation of various chimeric EWS-FLI1 oncoproteins in Ewing tumor. *Int. J. Oncol.*, **29**, 689-693 (2006)

Ikuta T. and Kawajiri K., Zinc finger transcription factor Slug is a novel target gene of aryl hydrocarbon receptor. *Exp. Cell Research*, **312**, 3585-3594 (2006)

Oshima M., Mimura J., Yamamoto M., Fujii-Kuriyama Y., Molecular mechanism of

transcriptional repression of AhR repressor involving ANKRA2, HDAC4, and HDAC5. *Biochem Biophys Res Commun.* **364**, 276-282 (2007)

Nangaku M., Izuhara Y., Takizawa S., Yamashita T., Fujii-Kuriyama Y., Ohneda O., Yamamoto M., van Ypersele de Strihou C., Hirayama N., Miyata T., A Novel Class of Prolyl Hydroxylase Inhibitors Induces Angiogenesis and Exerts Organ Protection Against Ischemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **27**, 2548-2554 (2007)

Matsumoto Y., Ide F., Kishi R., Akutagawa T., Sakai S., Nakamura M., Ishikawa T., Fujii-Kuriyama Y., Nakatsuru Y., Aryl hydrocarbon receptor plays a significant role in mediating airborne particulate-induced carcinogenesis in mice. *Environ Sci Technol.* **41**, 3775-3780 (2007)

Kawajiri K. and Fujii-Kuriyama Y., Cytochrome P450 Gene Regulation and Physiological Functions mediated by the Aryl Hydrocarbon Receptor, *Arch. Biochem. Biophys.* **464**, 207-212 (2007)

Goryo K., Suzuki A., Carpio C.A., Siizaki K., Kuriyama E., Mikami Y., Kinoshita K., Yasumoto K., Rannug A., Miyamoto A., Fujii-Kuriyama Y., Sogawa K., Identification of amino acid residues in the Ah receptor involved in ligand binding. *Biochem Biophys Res Commun.* **354**, 396-402 (2007)

Nangaku M., Izuhara Y., Takizawa S., Yamashita T., Fujii-Kuriyama Y., Ohneda O., Yamamoto M., van Ypersele de Strihou C., Hirayama N., Miyata T., A novel class of prolyl hydroxylase inhibitors induces angiogenesis and exerts organ protection against ischemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **27**, 2548-2554 (2007)

Nagano M., Yamashita T., Hamada H., Ohneda K., Kimura K., Nakagawa T., Shibuya M., Yoshikawa H., Ohneda O., Identification of functional endothelial progenitor cells suitable for the treatment of ischemic tissue using human umbilical cord blood. *Blood.* **10**, 151-160 (2007)

Kojima I., Tanaka T., Inagi R., Kato H., Yamashita T., Sakiyama A., Ohneda O., Takeda N., Sata M., Miyata T., Fujita T., Nangaku M., Protective role of hypoxia-inducible factor-2alpha against ischemic damage and oxidative stress in the kidney. *J Am Soc Nephrol.* **18**, 1218-1226 (2007)

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)

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- α transactivation. *Nat. Cell Biol.*, **9**, 1273-1285 (2007)

Nakamura T., Imai Y., Matsumoto T., Sato S., Takeuchi K., Igarashi K., Harada Y., Azuma Y., Krust A., Yamamoto Y., Nishina H., Takeda S., Takayanagi H., Metzger D., Kanno J., Takaoka K., Martin T.J., Chambon P. and Kato S., Estrogen prevents bone loss via estrogen receptor α and induction of Fas ligand in osteoclasts. *Cell*, **130**, 811-823 (2007)

○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)

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)

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)

Kim M.-S., Fujiki R., Murayama A., Kitagawa H., Yamamoto K., Yamamoto Y., Mihara M., Takeyama K. and Kato S., $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -induced transrepression by vitamin D receptor through E-box-type elements in the human parathyroid hormone gene promoter. *Mol. Endocrinol.*, **21**, 334-342 (2007)

Memezawa A., Takada I., Takeyama K., Igarashi M., Ito S., Aiba S., Kato S. and Kouzmenko A.P., Id2 Gene targeted crosstalk between Wnt and retinoid signaling regulates proliferation in human keratinocytes. *Oncogene*, **26**, 5038-5045 (2007)

Kimura S., Matsumoto T., Matsuyama R., Shiina H., Sato T., Takeyama K. and Kato S., Androgen receptor function in folliculogenesis and its clinical implication in premature ovarian failure. *Trends Endocrinol. Metab.*, **18**, 183-189 (2007)

Mezaki Y., Yoshikawa K., Yamaguchi N., Miura M., Imai K., Kato S. and Senoo H., Rat hepatic stellate cells acquire retinoid responsiveness after activation *in vitro* by post-transcriptional regulation of retinoic acid receptor alpha gene expression. *Arch. Biochem. Biophys.*, **465**, 370-379 (2007)

Kawajiri K. and Fujii-Kuriyama Y., Cytochrome P450 gene regulation and physiological function mediated by aryl hydrocarbon receptor. *Arch. Biochem. Biophys.*, **464**, 207-212 (2007)

○ Yamashita T., Ohneda O., Sakiyama A., Iwata F., Ohneda K., Fujii-Kuriyama Y., The microenvironment for erythropoiesis is regulated by HIF-2{alpha} through VCAM-1 in endothelial cells. *Blood*. **112**, 1482-1492 (2008)

Yamashita T., Ohneda K., Nagano M., Miyoshi C., Kaneko N., Miwa Y., Yamamoto M., Ohneda O., Fujii-Kuriyama Y., HIF-2alpha in endothelial cells regulates tumor neovascularization through activation of ephrin A1. *J Biol Chem*. **283**, 18926-18936 (2008)

Yamashita T., Ohneda O., Nagano M., Iemitsu M., Makino Y., Tanaka H., Miyauchi T., Goto K., Ohneda K., Fujii-Kuriyama Y., Poellinger L., Yamamoto M., Abnormal heart development and lung remodeling in mice lacking the hypoxia-inducible factor-related basic helix-loop-helix PAS protein NEPAS. *Mol Cell Biol*. **28**, 1285-1297 (2008)

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)

Ohtake F., Fujii-Kuriyama Y. and Kato S., AhR acts as an E3 ubiquitin ligase to modulate steroid receptor functions. *Biochem. Pharmacol.*, **77**, 474-484 (2008)

Kimura A., Naka T., Nohara K., Fujii-Kuriyama Y., Kishimoto T. Aryl hydrocarbon receptor regulates Stat1 activation and participates in the development of Th17 cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **105**, 9721-9726 (2008)

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)

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)

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)

Kouzmenko A.P., Takeyama K., Kawasaki Y., Akiyama T. and Kato S., Ligand-dependent interaction between estrogen receptor α and adenomatous polyposis coli. *Genes to Cells*, **13**, 723-730 (2008)

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)

Ikuta T. Namiki T. Fujii-Kuriyama Y. and Kawajiri K., AhR protein trafficking and function in the skin. *Biochem. Pharmacol.*, **77**, 588-596 (2008)

Ema M, Mori D, Niwa H, Hasegawa Y, Yamanaka Y, Hitoshi S, Mimura J., Kawabe Y, Hosoya T, Morita M, Shimosato D, Uchida K, Suzuki N, Yanagisawa J, Sogawa K, Rossant J, Yamamoto M, Takahashi S, Fujii-Kuriyama Y. Krüppel-like factor 5 is essential for blastocyst development and the normal self-renewal of mouse ESCs. *Cell Stem Cell*. **3**, 555-567 (2008)

Kouzu-Fujita M., Mezaki Y., Mtsumoto T., Yamaoka I., Sawatsubashi S., Yano T., Taketani Y., Kitagawa H. and Kato S., Co-activation of ER α by a gonadotropin-induced cofactor. *Mol. Cell Biol.*, **29**, 83-92 (2009)

Shimada T., Hiramatsu N., Hayakawa K., Takahashi S., Kasai A., Tagawa Y., Mukai M., Yao J., Fujii-Kuriyama Y., Kitamura M. Dual suppression of adipogenesis by cigarette smoke through activation of the aryl hydrocarbon receptor and induction of endoplasmic reticulum stress. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* in press

Oshima M., Mimura J., Sekine H., Okawa H., and Fujii-Kuriyama Y. SUMO modification regulates the transcription repressor function of AhR repressor. *J. Biol. Chem.*, **284**, 11017-26 (2009)

Nakata A., Urano D., Fujii-Kuriyama Y., Mizuno N., Tago K., and Itoh H. G-protein negatively regulates the stability of aryl hydrocarbon receptor. *EMBO Rep.*, **10**, 622-8 (2009)

Torii S., Kobayashi K., Takahashi M., Katahira K., Goryo K., Matsushita N., Yasumoto K., Fujii-Kuriyama Y., and Sogawa K. Magnesium deficiency causes loss of response to intermittent hypoxia in paraganglion cells. *J. Biol. Chem.*, **284**, 19077-89 (2009)

Scobie KN., Hall BJ., Wilke SA., KLeinhagen KC., Fujii-Kuriyama Y., Ghosh A., Hen R., and Sahay A. Kruppel-like factor 9 is necessary for late-phase neuronal maturation in the developing dentate gyrus and during adult hippocampal neurogenesis . *J. Neurosci.* **29**, 9875-87 (2009)

Nohara K., Suzuki T., Ao K., Mukai H., Mitamoto Y., Inouye K., Pan X., Motohashi H., Fujii-Kuriyama Y., Yamamoto M., and Tohyama C. Constitutively active aryl hydrocarbon receptor expressed in T cells increases immunization-induced IFN-gamma production in mice but does not suppress T(h)2 cytokine production or antibody production. *Int. Immunol.* **21**, 769-77 (2009)

Funatake C.J., Ao K., Suzuki T., Mukai H., Yamamoto M., Fujii-Kuriyama Y., Kerkvliet N.,

Nohara K., Expression of constitutively-active arylhydrocarbon receptor in T-cells enhances the down-regulation of CD62L, but does not alter expression of CD25 or suppress the allogenic CTL response. *J. Immunotoxicol.* In press.

Kawajiri K., Kobayashi Y., Ohtake F., 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 *Apc^{Min/+}* Mice with Natural Ligands. *Proc. Natl. Acad. Sci.* in press.

Kimura A., Naka T., Taisuke T., Chen I., Masuda K., Nohara K., Fujii-Kuriyama Y., and Kishimoto T. Aryl hydrocarbon receptor in combination with Stat1 regulates LPS-induced inflammatory response. *J. Exp. Med.* In press.

Sekine H., Mimura J., Oshima M., Okawa H., Kanno J., Igarashi K., Gonzalez F. J., Kawajiri K., Ikuta T., and Fujii-Kuriyama Y. Hypersensitivity of AhR-deficient mice to LPS-induced septic shock. Submitted.

【国内出版物】

大村恒雄, 石村 巽, 藤井義明, 編集 P450 の分子生物学, 講談社サイエンティフィック (2003.10.10)

三村純正, 藤井義明, 薬物受容体シグナル系, 受容体がわかる (わかる実験医学シリーズ), 羊土社, 82-90 (2003.11.1)

三村純正, 藤井義明, 薬物異物と転写制御, 蛋白質核酸酵素, 共立出版, **48**, 2261-2266 (2003)

三村純正, 藤井義明, ダイオキシンの毒性はどのように発現するのか, 現代化学, 東京化学同人, **394**, 62-66 (2004)

大竹史明, 藤井義明, 加藤茂明, 転写因子であるダイオキシン受容体はユビキチンリガーゼとして機能する, 蛋白質核酸酵素, 2007年12月号 Vol. **52**, 1973-9

山下年晴, 大根田修, HIFの*in vivo*モデルによる機能解析, 実験医学, **25**, 2127-2131 (2007)

川尻 要, AhRによる異物代謝調節の分子機構, 細胞工学, **26**, 1358-1361 (2007)

大村恒雄, 石村 巽, 藤井義明, 編集 P450 の分子生物学, 講談社サイエンティフィック (2009. 8. 20)

(2) 口頭発表

①学会

②その他

国内 111 件、 国際 51 件

【国内】

諸橋憲一郎, 教育講演「性分化の分子メカニズム」, ステロイドホルモンを考える会 第3回研究発表会, 2004年2月20日~21日 (東京)

藤井義明, 持田製薬総合研究所セミナー, 「AhRを介した生体における外来異物応答のメカニズム」, 2004年4月26日, 持田製薬株式会社・創薬第三研究所 (御殿場)

藤井義明, 第241回CBI学会研究講演会, 「AhR研究の最近の進歩」, 2004年4月27日, 日本化学会化学会館 7Fホール (お茶の水)

本橋ほづみ, 小Maf群因子が担う生命現象と転写制御機構, 日本生化学会関東支部会, 2003年4月26日(国立感染症研究所)

藤井義明, 第81回日本生理学会, 「生体の環境適応と遺伝子発現制御」, 内分泌攪乱物質の生物作用発現と雌マウス生殖におけるAhRの役割, 2004年6月3日, 北海道札幌コンベンションセンター(札幌)

諸橋憲一郎, 吉岡秀文, 福井由宇子, シンポジウム「内分泌代謝学におけるシグナル伝達と臨床応用」, 第77回日本内分泌学会, 2004年6月24日~26日(京都)

諸橋憲一郎, 「卵巣機能とダイオキシン」, 「生殖腺の分化(性分化)メカニズム」 第5回Women's Health Forum, 2004年6月25日(京都)

藤井義明, 第77回日本生化学会大会マスターズレクチャー講演, “Molecular mechanisms of mammalian responses to environmental pollutants”, 2004年10月13日(パシフィコ横浜)

諸橋憲一郎, 転写群因子による生殖腺の分化, 及び性分化制御機構, 第1回特定領域「性分化機構の解明」シンポジウム, 2004年10月20日(東京)

諸橋憲一郎, 招請講演「性分化の分子メカニズム」, 第9回日本生殖内分泌学会, 2004年11月27日(大阪)

三村純正, 大島基彦, 山本雅之, 藤井義明, AhRRのSUMO化とその意義, 第27回日本分子生物学会年会, 2004年12月8日(神戸国際会議場)

岩田典子, 大根田修, 山下年晴, 藤井義明, 山本雅之, HIF-2 α 遺伝子ノックダウンマウスにみられる貧血に対する解析, 第27回日本分子生物学会年会, 2004年12月8日(神戸国際会議場)

山下年晴, 大根田修, 長野真澄, 岩田典子, 藤井義明, 山本雅之, IPAS/HIF-3 α は低酸素刺激によるエリスロポエチン産生に関与している, 第27回日本分子生物学会年会, 2004年12月8日(神戸国際会議場)

大竹史明, 馬場敦史, 三木ひろみ, 高田伊知郎, 藤井義明, 加藤茂明, ダイオキシン受容体とエストロゲン受容体のクロストークを制御するユビキチンリガーゼ複合体の精製, 第27回日本分子生物学会年会, 2004年12月9日(神戸国際会議場)

諸橋憲一郎, モハammadズバイル, 嶋雄一, 日下雅友, 杉山紀之, 小川英知, 福井由宇子, Ad4BP/SF-1 遺伝子の組織特異的発現制御機構, 第27回日本分子生物学会 ワークショップ「核内レセプター研究の最前線」, 2004年12月8日~11日(神戸国際会議場)

生田統悟, 川尻 要, 表皮角化細胞におけるAhR/ARNT の標的遺伝子, 第27回日本分子生物学会年会, 2004年12月8日~11日(神戸国際会議場)

本橋ほづみ, 勝岡史城, 山本雅之, SUMO化による転写因子MafGの機能変換, 第27回日本分子生物学会年会, ワークショップ, 2004年12月8日~11日(神戸国際会議場)

勝岡史城, 本橋ほづみ, 石井哲郎, 山本雅之, 酸化ストレス応答・異物代謝系遺伝子の発現制御に対する小Maf群因子の多様な貢献, 第 27 回日本分子生物学会年会, 2004 年 12 月 8 日～11 日 (神戸国際会議場)

山本多恵, 京基樹, 紙谷光恵, 田中俊之, 勝岡史城, James Douglas Engel, 本橋ほづみ, 山本雅之, 表面プラズモン共鳴イメージングを用いたMafGのホモ 2 量体とヘテロ 2 量体の認識配列の網羅的評価, 第 27 回日本分子生物学会年会, 2004 年 12 月 8 日～11 日 (神戸国際会議場)

山本多恵, 若林順子, 小林聡, 本橋ほづみ, 山本雅之, トランスジェニックレスキュー法を用いたKeap1 の個体レベルでの機能解析, 第 27 回日本分子生物学会年会, 2004 年 12 月 8 日～11 日 (神戸国際会議場)

大川裕美, 本橋ほづみ, 小林聡, 山本雅之, 肝臓特異的keap1 欠損マウスはアセトアミノフェン肝毒性に抵抗性を示す, 第 27 回日本分子生物学会年会, 2004 年 12 月 8 日～11 日 (神戸国際会議場)

鈴木隆史, Vincent Kelly, 中島 修, 本橋ほづみ, 西村 暹, 山本雅之, SeCys tRNA 遺伝子条件付きノックアウトマウスのマクロファージの解析. 第 27 回日本分子生物学会年会. 2004 年 12 月 8 日～11 日 (神戸国際会議場)

向井陽美, 本橋ほづみ, 鈴木教郎, 大根田修, 山本雅之, c-myc遺伝子近傍へのトランスジーン挿入がもたらした造血異常, 第 27 回日本分子生物学会年会, 2004 年 12 月 8 日～11 日 (神戸国際会議場)

藤井義明, 第 7 回内分泌攪乱化学物質問題に関する国際シンポジウム, “多環性芳香族化合物の内分泌攪乱作用におけるAhRの役割, Roles of AhR in endocrine disruptive effects by polycyclic aromatic hydrocarbons”, 2004 年 12 月 15 日～17 日 (名古屋国際会議場)

藤井義明, 日本薬学会関東支部第 29 回学術講演会「化学物質の毒性メカニズムとリスク評価」“生体の外来異物応答におけるAhRの役割”, 2005 年 1 月 18 日 (国立環境研究所)

Motohashi H., SUMO-2/3 modification confers positive and negative bidirectional regulator property on MafG. Nagasaki symposium on the nuclear system to decipher operation code (DECODE) for biological responses. February 28-March 1, 2005. (Nagasaki University)

Okawa H., Motohashi H., Kobayashi A. and Yamamoto M., *Hepatocyte-specific Disruption of keap1 Gene Confers Resistance against Acetaminophen-induced Liver Injury*. JST-ERATO, Yamamoto Environmental Response Project International Symposium. March 10-12, 2005. (Tsukuba)

Suzuki T., Kelly V., Nakajima O., Motohashi H., Nishimura S. and Yamamoto M., *Macrophage-specific disruption of SeCys tRNA gene revealed Nrf2-mediated compensatory mechanisms*. JST-ERATO, Yamamoto Environmental Response Project International Symposium. March 10-12, 2005. (Tsukuba)

Yamamoto T., Kobayashi A., Wakabayashi J., Motohashi H., and Yamamoto M. *In vivo analysis of Keap1 function by using transgenic complementation rescue method*. JST-ERATO, Yamamoto Environmental Response Project International Symposium. March 10-12, 2005. (Tsukuba)

Katsuoka F., Motohashi H., Engel J.D. and Yamamoto M. *Nrf2 Transcriptionally Activates*

the mafG Gene through an Antioxidant Response Element. JST-ERATO, Yamamoto Environmental Response Project International Symposium. March 10-12, 2005. (Tsukuba)

諸橋憲一郎, 教育講演「性決定の分子メカニズム」, 第78回日本内分泌学会学術総会, 2005年7月1日~3日(東京)

諸橋憲一郎, オーガナイザー 性を決める役者(遺伝子)たち, 特定領域研究 市民公開シンポジウム「性の不思議」, 2005年8月2日(東京)

向井陽美, 本橋ほづみ, 長澤俊郎, 山本雅之, 転写因子c-Mybによる新たな巨核球系造血制御機構, 第67回日本血液学会年会, 2005年9月17日~19日(パシフィコ横浜)

山下年晴, 長野真澄, 牧野雄一, 田中廣壽, 藤井義明, Lorenz Poellinger, 山本雅之, 大根田修: 新規bHLH/PAS転写因子の機能解析, 第4回がんとハイポキシア研究会, 2006年11月17日(京大会館)

本橋ほづみ, AhR制御系の機能と炎症性疾患. SORSTジョイントシンポジウム: クロスオーバーする生命と化学, 2005年11月28日~29日(大阪千里ライフサイエンスセンター)

藤井義明, 「アрилハイドロカーボン(ダイオキシン)受容体の薬理的及び生理学的機能」, 第3回ながの遺伝子発現調節研究会, 2005年12月17日(松本市)

川尻 要, Aryl hydrocarbon Receptorの機能解析, 第3回ながの遺伝子発現調節研究会, 2005年12月17日(松本)

山下年晴, 長野真澄, 家光素行, 牧野雄一, 田中廣壽, 宮内卓, 後藤勝年, 藤井義明, Lorenz Poellinger, 山本雅之, 大根田修, 新規bHLH/PAS転写因子の機能解析, 日本分生学会2006フォーラム, 2006年12月6日~8日(名古屋国際会議場)

生田統悟, 川尻 要, 培養表皮角化細胞におけるAh receptorを介したslugの誘導, 第28回日本分子生物学会年会, 2005年12月7日~10日(福岡)

本橋ほづみ, 勝岡史城, 三好千香, 斉藤寿人, 山本雅之, 両方向性転写因子MafGのSUMO-2/3修飾, 第28回日本分子生物学会年会. 2005年12月7日~10日(ヤフードーム, 福岡)

京基樹, 紙谷光恵, 山本多恵, 稲森和紀, 本橋ほづみ, 山本雅之, PCR産物を固定化したアレイを使った転写因子結合サイト同定方法の検討, 第28回日本分子生物学会年会. 2005年12月7日~10日(ヤフードーム, 福岡)

鈴木隆史, 山本多恵, 木村桃子, 小林聡, 若林順子, 本橋ほづみ, 山本雅之, トランスジェニックレスキュー法を用いたKeap1とメイン機能解析系の確立, 第28回日本分子生物学会年会, 2005年12月7日~10日(ヤフードーム, 福岡)

田内雅史, 勝岡史城, 谷中昭典, 本橋ほづみ, 山本雅之, トランスジェニックマウスを用いたNrf2活性化のin vivoイメージング, 第28回日本分子生物学会年会, 2005年12月7日~10日(ヤフードーム, 福岡)

勝岡史城, 玉川優奈, 大根田修, 西川光郎, 加藤尚志, 本橋ほづみ, 山本雅之, mafG::mafK複合変異マウス巨核球で減少している新規遺伝子clone-325の機能解析,

第 28 回日本分子生物学会年会, 2005 年 12 月 7 日~10 日 (ヤフードーム, 福岡)

諸橋憲一郎, 東大先端研セミナー 2006 年 2 月 6 日 (東京)

諸橋憲一郎, 大阪大学医学部セミナー 2006 年 2 月 8 日 (大阪)

藤井義明, ミニ国際シンポジウム「PharmacogenomicsとToxicogenomics」, 2006 年 2 月 11 日 (札幌)

諸橋憲一郎, 東京工業大学セミナー 2006 年 2 月 17 日 (東京)

諸橋憲一郎, 性と性腺の分化の遺伝子制御, 第 10 回日研シンポジウム「生命科学の最前線」, 2006 年 3 月 4 日 (福岡)

本橋ほづみ, 動物における異物代謝と酸化ストレス応答機構のクロスオーバー, 第 47 回日本植物生理学会年会, 2006 年 3 月 19 日~21 日 (筑波大学)

山形 薫, 福田 亨, 藤山沙理, 越田伊織, 武山健一, 松本高広, 北川浩史, 加藤茂明, DEAD Box RNA helicase p72/p68 による miRNA processing の機能解析, 2006 年度日本農芸化学会, 2006 年 3 月 25 日~28 日 (京都)

馬場敦史, 大竹史明, 三木ひろみ, 北川浩史, 高田伊知郎, 加藤茂明, 肝臓特異的 FXR 転写共役因子複合体精製の新たな試み, 2006 年度日本農芸化学会, 2006 年 3 月 25 日~28 日 (京都)

岡田麻衣子, 竹澤慎一郎, 目崎善弘, 高田伊知郎, 北川浩史, 加藤茂明, 細胞周期依存的な ER α の機能解析, 2006 年度日本農芸化学会, 2006 年 3 月 25 日~28 日 (京都)

伊藤紗弥, 武山健一, 沢津橋俊, 鈴木絵里子, Yue Zhao, 山形 薫, 田辺真彦, Alexander Kouzmenko, 城出裕子, 多羽田哲也, 加藤茂明, 分子遺伝学的アプローチによるヒト核内レセプター新規転写共役因子 BAHD1 の機能解析, 2006 年度日本農芸化学会, 2006 年 3 月 25 日~28 日 (京都)

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, 城出裕子, 多羽田哲也, 加藤茂明, クロマチン構造を介したエクダイソンレセプター転写制御機構の解明に関する研究, 2006 年度日本農芸化学会, 2006 年 3 月 25 日~28 日 (京都)

小川英知, 小松朋子, 諸橋憲一郎, SUMO 化修飾を介した転写因子のクロマチン制御機構, 第 79 回日本内分泌学会学術総会 シンポジウム「SUMO 化とユビキチン化による遺伝子転写因子活性化機構」, 2006 年 5 月 19 日~21 日 (神戸)

諸橋憲一郎, ちょっと変わったニワトリの卵巣, 第 7 回 Women's Health Forum, 2006 年 5 月 20 日 (神戸)

諸橋憲一郎, モハammadズバイル, 福井由宇子, 石丸善康, 吉岡秀文, シンポジウムオーガナイザー ステロイド産生組織の形成機構, シンポジウム「内・外環境と生物応答」, 2006 年 7 月 27 日~28 日 (福岡)

小林康人, 川尻 要, Aryl hydrocarbon Receptor 欠損マウスにおける大腸がんの自

然発生, シンポジウム「内・外環境と生物応答」, 2006年7月27日~28日(福岡リーセントホテル)

生田統悟, 川尻 要, Ah レセプターによるSlugの誘導, シンポジウム「内・外環境と生物応答」, 2006年7月27日~28日(福岡リーセントホテル)

川尻 要, Aryl hydrocarbon Receptor の大腸がん抑制機能, シンポジウム「内・外環境と生物応答」, 2006年7月27日~28日(福岡リーセントホテル)

諸橋憲一郎, 招待講演「性の不思議」性分化機構の解明に向けて, 第164回 生命科学フォーラム, 2006年12月11日(日本記者クラブ, 東京)

諸橋憲一郎, 特別講演「ステロイドホルモン産生組織特異的エンハンサーの機能」, 第4回ながの遺伝子発現調節研究会, 2006年11月11日~12日(松本)

川尻 要, 小林康人, 生田統悟, 松島芳文, 三村純正, 黒住昌史, 藤井義明, Aryl hydrocarbon Receptor欠損マウスにおける大腸がんの自然発症, 第6回 SORSTジョイントシンポジウム, 2007年1月30日~31日(コクヨホール, 品川)

武山健一, 伊藤紗弥, 沢津橋俊, Alexander Kouzmenko, 鈴木絵里子, 山形薫, 趙 越, 田辺真彦, 木村周平, 上田崇, 村田拓也, 藤山沙理, 加藤茂明, Notchシグナル伝達依存的な新規転写抑制因子の同定と機能解析, 2007年度日本農芸化学会, 2007年3月24日~27日(東京)

小林康人, 生田統悟, 黒住昌史, 藤井義明, 川尻 要, ヒト盲腸癌発生におけるAryl hydrocarbon Receptor(AhR)の役割, 第96回日本病理学会総会, 2007年3月13日~15日(大阪国際会議場)

鈴木絵里子, 沢津橋 俊, 伊藤紗弥, 田辺真彦, 木村周平, 趙 越, 山形 薫, 上田 崇, 村田拓也, Alexander Kouzmenko, 武山健一, 加藤茂明, 未知クロマチンバウンダリー制御因子の新たな探索法確立の試み, 2007年度日本農芸化学会, 2007年3月24日~27日(東京)

諸橋憲一郎, 嶋雄一, モハマドズバイル, 岡早苗, 福井由宇子, シンポジウム「脳下垂体, 副腎, 視床下部, 生殖腺特異的転写制御の実体」, 転写因子ネットワーク第22回 脳下垂体研究会, 2007年8月24日~26日(湘南国際村センター)

諸橋憲一郎, シンポジウム 循環器領域における性差医療「性分化の分子メカニズム」, 第55回日本心臓病学会, 2007年9月10日~12日(東京)

Yamashita T, Nagano M, Yamamoto M, Ohneda O, and Fujii-Kuriyama Y. HIF-2alpha in endothelial cells regulates tumor neovascularization through activation of ephrin A1. 第66回日本癌学会学術総会, 2007年10月3日~5日(パシフィコ横浜)

川尻 要, AhRによる大腸癌抑制の分子機構, 第5回ながの遺伝子発現調節研究会, 2007年11月(諏訪)

三村純正, 関根弘樹, 大川裕美, 藤井義明, 第30回日本分子生物学会年会, 第80回日本生化学会大会 合同大会, AhRとLPSシグナル伝達系のクロストーク, 2007年12月12日(パシフィコ横浜)

藤井義明, マスターズレクチャー, シトクロムP450 とその転写因子ダイオキシン受容体 (AhR) の生理機能について, 第 30 回日本分子生物学会年会, 第 80 回日本生化学会大会 合同大会, 2007 年 12 月 15 日 (パシフィコ横浜)

加藤茂明, 藤井義明, 大竹史明, 転写因子AhRはCUL4B型のリンド依存的ユビキチンリガーゼである, 第 30 回日本分子生物学会年会, 第 80 回日本生化学会大会 合同大会, 2007 年 12 月 14 日 (パシフィコ横浜)

大竹史明, 馬場敦史, 高田伊知郎, 藤井義明, 加藤茂明, 脂溶性低分子リガンドによるユビキチン依存性蛋白分解の直接制御機構, 第 30 回日本分子生物学会年会, 第 80 回日本生化学会大会 合同大会, 2007 年 12 月 14 日 (パシフィコ横浜)

三村純正, 関根弘樹, 大川裕美, 藤井義明, 第 30 回日本分子生物学会年会, 第 80 回日本生化学会大会 合同大会, 2007 年 12 月 11 日~15 日 (パシフィコ横浜)

関根弘樹, 三村純正, 加納和彦, 竹田-志鷹真由子, 梅山秀明, 山本雅之, 藤井義明, 第 30 回日本分子生物学会年会, 第 80 回日本生化学会大会 合同大会, 2007 年 12 月 11 日~15 日 (パシフィコ横浜)

馬場崇, 嶋雄一, 大脇亜希子, 三村純正, 大島基彦, 藤井義明, 諸橋憲一郎, 第 30 回日本分子生物学会年会, 第 80 回日本生化学会大会 合同大会, 2007 年 12 月 11 日~15 日 (パシフィコ横浜)

大島基彦, 三村純正, 山本雅之, 藤井義明, 第 30 回日本分子生物学会年会, 第 80 回日本生化学会大会 合同大会, 2007 年 12 月 11 日~15 日 (パシフィコ横浜)

金 美善, 高田伊知郎, 武山健一, 加藤茂明, ビタミンD一位水酸化酵素遺伝子の活性型ビタミンD依存的な転写抑制解除にはDNA脱メチル化機構が関与する, 第 30 回日本分子生物学会年会, 第 80 回日本生化学会大会合同大会, 2007 年 12 月 11 日~15 日 (パシフィコ横浜)

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, 武山健一, 加藤茂明, エストロゲン応答miRNA発現のプロファイリング, 第 30 回日本分子生物学会年会, 第 80 回日本生化学会大会合同大会, 2007 年 12 月 11 日~15 日 (パシフィコ横浜)

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 の機能解析, 第 30 回日本分子生物学会年会, 第 80 回日本生化学会大会合同大会, 2007 年 12 月 11 日~15 日 (パシフィコ横浜)

馬場敦史, 大竹史明, 高田伊知郎, 加藤茂明, グルカゴン/PKAシグナル依存的なFXR新規転写共役因子複合体の解析, 第 30 回日本分子生物学会年会, 第 80 回日本生化学会大会合同大会, 2007 年 12 月 11 日~15 日 (パシフィコ横浜)

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, 武山健一, 加藤茂明, 染色体構造変換を介した新規転写共役抑制因子の探索と機能解析, 第 30 回日本分子生物学会年会, 第 80 回日本生化学会大会合同大会, 2007 年 12 月 11 日~15 日 (パシフィコ横浜)

Yue Zhao, Ken-ichi Takeyama, Shun Sawatsubashi, Saya Ito, Eriko Suzuki, Kaoru Yamagata, Yuko Shirode, Masahiko Tanabe, Shuhei Kimura, Sari Fujiyama, Takashi

Ueda, Takuya Murata, Hiroyuki Matsukawa, Alexander P. Kouzmenko, Shigeaki Kato, Identification of MDC1 that enhances androgen receptor transactivation, 第30回日本分子生物学会年会, 第80回日本生化学会大会合同大会, 2007年12月11日～15日 (パシフィコ横浜)

山岡育子, 北川浩史, 秋本千央, 加瀬郁子, 目崎善弘, 清水崇史, 加藤 茂明, 酸化還元刺激によるグルココルチコイドレセプター転写制御メカニズムの解析, 第30回日本分子生物学会年会, 第80回日本生化学会大会合同大会, 2007年12月11日～15日 (パシフィコ横浜)

藤山沙理, 沢津橋俊, 鈴木絵里子, 伊藤紗弥, 田辺真彦, 趙 越, 木村周平, 上田崇, 山形 薫, 村田拓哉, 松川紘之, 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の網羅的探索と機能解析, 第30回日本分子生物学会年会, 第80回日本生化学会大会合同大会, 2007年12月11日～15日 (パシフィコ横浜)

三木ひろみ, 太竹史明, 高田伊知郎, 藤井義明, 加藤茂明, ダイオキシン受容体による脂肪細胞分化抑制作用機構の解明, 第30回日本分子生物学会年会, 第80回日本生化学会大会合同大会, 2007年12月11日～15日 (パシフィコ横浜)

鈴木絵里子, 沢津橋俊, 伊藤紗弥, 趙 越, 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, Alexander Kouzmenko, 武山健一, 加藤茂明, 未知クロマチンバウンダリー制御因子の新たな探索法確立の試み, 第30回日本分子生物学会年会, 第80回日本生化学会大会合同大会, 2007年12月11日～15日 (パシフィコ横浜)

生田統悟, 川尻 要, 皮膚組織におけるAH receptorの発現, 第30回日本分子生物学会年会・第80回日本分子生物学会年会合同大会, 2007年12月11日～15日 (パシフィコ横浜)

小川英知, 小松朋子, 諸橋憲一郎, ワークショップ SUMO化依存的なクロマチン構造変換を介した転写制御システムの解析, 第30回日本分子生物学会, 第80回日本生化学会合同大会, 2007年12月11日～15日 (パシフィコ横浜)

伊藤紗弥, 沢津橋 俊, 山形 薫, 鈴木絵里子, 趙 越, 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, 新規クロマチン構造調節因子を介した転写抑制機構の解析, 2008年度日本農芸化学会大会, 2008年3月26日～29日 (名古屋)

山岡育子, 北川浩史, 目崎善弘, 清水崇史, 加藤茂明, 酸化還元刺激によるグルココルチコイドレセプター転写制御メカニズムの解析, 2008年度日本農芸化学会大会, 2008年3月26日～29日 (名古屋)

藤山沙理, 沢津橋 俊, 伊藤紗弥, 木村周平, 村田拓哉, 鈴木絵里子, 田辺真彦, 趙 越, 上田 崇, 松川紘之, 山形 薫, 武山健一, 加藤茂明, 分子遺伝学とプロテオミクスのアプローチによる新規 BTB/POZ タンパク質群の網羅的機能解析, 2008年度日本農芸化学会大会, 2008年3月26日～29日 (名古屋)

武山健一, 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, 村田拓也, 松川紘之, Alexander Kouzmenko, 加藤茂明, 分子遺伝学的手法による新規転写共役因子の網羅的探索法の構築と機能解析,

2008年度日本農芸化学会大会, 2008年3月26日~29日(名古屋)

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, 武山健一, 加藤茂明, ショウジョウバエ分子遺伝学とプロテオミクス解析による新規転写共役抑制因子 Z4 の解析, 2008年度日本農芸化学会大会, 2008年3月26日~29日(名古屋)

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, 第81回日本内分泌学会学術総会, 2008年5月16日~18日(青森)

馬場崇, 藤井義明, 諸橋憲一郎, ダイオキシン受容体(AhR)の生殖腺における機能: 性ステロイドホルモンの合成, 第9回 Endocrine Forum on Women's Health, 2008年5月17日(青森)

川尻 要, Aryl hydrocarbon Receptor (AhR) の大腸がん抑制機能について, 第14回日本家族性腫瘍学会学術集会・シンポジウム, 2008年6月21日(東京)

山下年晴, 大根田絹子, 大根田修, 赤血球分化における低酸素応答転写因子 HIF-2 α の機能解析. 第70回日本血液学会総会, 2008年10月10日~12日(国立京都国際会館)

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, 第16回日本ステロイドホルモン学会学術集会, 2008年11月22日(福井)

山下年晴, 植田崇史, 長野真澄, 大根田修, HIF-3 α による負の転写制御機構解明, 第6回がん&ハイポキシア研究会, 2008年11月29日~30日(広島市南区民文化センター)

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, 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, 2008年12月9日~12日(神戸)

奥野陽亮, 馬場敦史, 太竹史明, 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, 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, 2008年12月9日~12日(神戸)

岡田麻衣子, 太竹史明, 加藤茂明, ER α はM期特異的にE3 ligase複合体を形成する, 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, 2008年12月9日~12日(神戸)

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, 2008年12月9日~12日(神戸)

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, 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, 2008年12月9日~12日(神戸)

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, 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, 2008年12月9日~12日(神戸)

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「タンパク質分解を介した新たな生理機能」, 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, 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, 2008年12月9日~12日(神戸)

生田統悟, 大場 基, 川尻 要, Ahレセプター(AhR)リガンドによるBlimpp1 mRNAの誘導, 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, 2008年12月9日~12日(神戸)

大島基彦, 三村純正, 関根弘樹, 山本雅之, 藤井義明, SUMO化によるAhRを介した転写抑制機構の制御, 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, 2008年12月9日~12日(神戸)

【国際】

Ito T, Tsukumo S, Yamamoto M, Motohashi H, Suzuki N, Fujii-Kuriyama Y, Tohyama C and Nohara K., A constitutively active aryl hydrocarbon receptor mutant induces growth inhibition by cell cycle arrest and apoptosis in Jurkat T cells. Society of Toxicology Annual Meeting, 2003-3. (Saltlake City, U.S.A.)

Nohara K, Tsukumo S, Ito T, Yamamoto M, Motohashi H, Hida A, Fujii-Kuriyama Y, Inouye K, Nagai H and Tohyama C., Thymocyte alterations in CD2-driven constitutively active arylhydrocarbon receptor (AhR) transgenic mice. Society of Toxicology Annual Meeting, 2003-3. (Saltlake City, U.S.A.)

Morohashi K, Baba T, Miura J, Nakamura N, Harada N, Yamamoto M, Fujii-Kuriyama Y, Organizer, Ah (dioxin) Receptor as a Key Factor in the Regulation of Female Reproduction, The 3rd International Nuclear Receptor Meeting in Japan, 2004.4.15-17 (Osaka, Japan)

Morohashi K, Ishimaru Y, Sugiyama N, Yoshioka H., Growth factors from mesonephros implicated in gonadal and adrenal differentiation, The 11th Adrenal Cortex Conference, Symposium/Invited, 2004.6.12-15 (New Orleans, U.S.A.)

Fujii-Kuriyama Y, "3000 and more Cytochromes P450: where to go now?", Workshop in Saarbrücken Germany, 2004.7.1-3 (Saarbrücken, Germany)

Ikuta T, Kobayashi Y, Kawajiri K., Cell density regulates intracellular localization of aryl hydrocarbon receptor. 15th International Symposium on Microsomes and Drug Oxidations, 2004.-7 (Mainz, Germany)

Fujii-Kuriyama Y, 15th International Symposium on Microsomes and Drug Oxidations (MDO2004), 2004.7.4-9 (Mainz, Germany)

Morohashi K, Transcription factors in gonadal sex differentiation, Symposium 'Genetic Mechanisms Regulating Sex Determination'/Invited, The 12th International Congress of Endocrinology, 2004.8.31-9.4 (Lisbon, Portugal)

Motohashi H, Katsuoka F, Francastel C, Engel JD and Yamamoto M. Identification of a novel functional domain conferring positive and negative bidirectional regulator property on MafG in megakaryocytes. The 14th Conference on Hemoglobin Switching, Rosario Report, 2004.9.10-14 (Orcas Island, Washington, U.S.A.)

Katsuoka F, Motohashi H, Engel, JD and Yamamoto M. Small Maf proteins are dispensable for the expression of globin genes in primitive hematopoiesis. The 14th Conference on Hemoglobin Switching, Rosario Report, 2004.9.10-14 (Orcas Island, Washington, U.S.A.)

Fujii-Kuriyama Y, The Nobel-conference on Oxygen Biology “Functional role of Hif-2 α in tumor angiogenesis” Karolinska Institutet in Stockholm, Sweden. 2004.11.11-13 (Stockholm, Sweden)

Motohashi H, Functional conversion of MafG in megakaryocytes by post-translational modification. Godon Research Conference; Cell Biology of Megakaryocytes and Platelets, Santa Ynez Valley Marriott, Buellton, 2005.3.6-11 (California, U.S.A.)

Fujii-Kuriyama Y, “Physiological role of AhR in reproductive process of female mice” Sixth Duesseldorf Symposium on Immunotoxicology (AHR 2005 in Dusseldorf) Biochemistry and Function of the Arylhydrocarbon Receptor and other PAS-bHLH Proteins, 2005.9.28-30 (Duesseldorf, Germany)

Morohashi K, Ishimaru Y, Zubair M, Oka S, Miyabayashi K, Kusaka M, Shima Y, Baba T, Ogawa H, Yoshioka H, Katho-Fukui Y., Invited Speaker, Genetic Program of Gonad Differentiation, The 52nd NIBB conference, Reproductive Strategies, 2006.1.20-23 (Okazaki, Japan)

E. Suzuki, S. Ito, S. Sawatsubashi, Y. Shiode, A. Maki, Y. Zhao, K. Yamagata, T. Furutani, A. Kouzmenko, M. Tanabe, K. Takeyama, S. Kato, E2F transcriptional activation as a potential mechanism of neurodegeneration of polyglutamine expansion androgen receptor mutants. Keystone Symposia (Nuclear Receptors), 2006.3.18-23 (Banff, Canada)

K. Takeyama, S. Ito, S. Sawatsubashi, Y. Shiode, E. Suzuki, Y. Zhao, K. Yamagata, M. Tanabe, A. Kouzmenko, S. Kato, *Drosophila* genetic system as a powerful tool for identification of novel co-regulators of human nuclear receptors. Keystone Symposia (Nuclear Receptors), 2006.3.18-23 (Banff, Canada)

A. Baba, F. Ohtake, S. Kato, Modulation of estrogen signaling by dioxin receptor and associated complexes. Keystone Symposia (Nuclear Receptors), 2006.3.18-23 (Banff, Canada)

A. Yokoyama, S. Takezawa, M. Okada, R. Fujiki, H. Kitagawa, S. Kato, Identification and functional analysis of cell-cycle specific co-repressor complex, Dev-CoR complex. Keystone Symposia (Nuclear Receptors), 2006.3.18-23 (Banff, Canada)

Y. Zhao, K. Takeyama, S. Ito, E. Suzuki, S. Sawatsubashi, Y. Shiode, K. Yamagata, A. Kouzmenko, M. Tanabe, S. Kato, Isolation of androgen receptor co-regulators regulating the alteration of chromatin structure using modified position effect variegation system in *Drosophila*. Keystone Symposia (Nuclear Receptors), 2006.3.18-23 (Banff, Canada)

Ken-ichirou Morohashi, Masatomo Kusaka, Kana Miyabayashi, Yoshiyasu Ishimaru, Zubair Mohamad, Hidesato Ogawa, Hidefumi Yoshioka, Yuko Katoh-Fukui, Invited Speaker, Transcriptional Regulation of Genes implicated in Gonad Development, Fourth International Symposium on the Biology of Vertebrate Sex Determination, 2006.4.10-14 (Hawaii, U.S.A.)

S. Ito, K. Takeyama, S. Sawatsubashi, E. Suzuki, A. Kouzmenko, Y. Zhao, K. Yamagata, M. Tanabe, Y. Shirode, T. Tabata, S. Kato, Identification of a novel co-regulator of nuclear receptors by *Drosophila* genetic system. Keystone Symposia (Regulation of Eukaryotic Transcription), 2006.4.21-26 (New Mexico, U.S.A.)

S. Sawatsubashi, K. Takeyama, S. Ito, E. Suzuki, M. Tanabe, Y. Zhao, K. Yamagata, Y. Shirode, T. Tabata, S. Kato, Functional analysis of ecdysone receptor-mediated transcription through alteration of chromatin structure. Keystone Symposia (Regulation of Eukaryotic Transcription) 2006.4.21-26 (New Mexico, U.S.A.)

Motohashi H., Players regulating and supporting cytoprotective function of Nrf2. 1st Asia Pacific International Society for the Study of Xenobiotics. 2006.5.24-27 (Jeju, Korea)

Komatsu T, Tsuchiya M, Ogawa H, Morohashi, K., Invited Speaker, Regulation of orphan nuclear receptor, Ad4BP/SF-1, by SUMO, 17th International Symposium of the Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 2006.5.31-6.3 (Seefeld, Austria)

Ken-ichirou Morohashi, Invited Speaker, Mechanism for asymmetric development of the avian ovary, Special developmental biology seminar, Institute for Molecular Bioscience, Univ. Queensland, 2006.8.9 (Queensland, Austria)

M.-S. Kim, A. Murayama, R. Fujiki, K. Takeyama, S. Kato, $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -induced DNA methylation mediates the transrepression by VDR. ASBMR 28th Annual Meeting, 2006.9.15-19 (Philadelphia, U.S.A.)

Hidafumi Yoshioka, Yoshiyasu Ishimaru, Tomoko Komatsu, Megumi Kasahara, Yuko Katoh-Fukui, Ken-ichirou Morohashi, Organizer, Invited Speaker, Mechanism for asymmetric gonad development in birds, International Symposium on "Molecular Mechanisms of Sex Determination and Differentiation" at the 77th Annual Meeting of the Zoological Society of Japan, 2006.9.21 (Matsue, Japan)

Fujii-Kuriyama Y., Physiological roles of AhR in murine reproductive and immunological processes, EUROTOX 2006/6CTDC Congress (43rd Congress of the European Societies of Toxicology and 6th Congress of Toxicology in Developing Countries), 2006.9.20-24 (Cavtat/Dubrovnik, Croatia)

Toshiharu Yamashita, Analysis of a novel splicing variant of mouse HIF-3 α , NEPAS. The 8th AEARU Joint Workshop on Life Sciences, 2006.11.4-6 (Tsukuba, Japan)

Osamu Ohneda, A role of HIF-2 α in hematopoietic cell development. The 8th AEARU Joint Workshop on Life Sciences, 2006.11.4-6 (Tsukuba, Japan)

Masumi Nagano, Identification of functional endothelial progenitor cells suitable for the treatment of ischemic tissue using human umbilical cord blood. The 8th AEARU Joint Workshop on Life Sciences, 2006.11.4-6 (Tsukuba, Japan)

Ken-ichirou Morohashi, Invited speaker, Function of AhR in the Ovary, International Symposium on the Environmental Risks of Chemicals, 2006.11.12-14 (Kushiro, Japan)

Komatsu T., Ogawa H., Morohashi K. Organizer Regulation of Ad4BP/SF-1 by SUMO, The 4th International Nuclear Receptor Meeting in Japan, 2007.2.1-2 (Osaka, Japan)

Morohashi K., From Ad4BP/SF-1 to cell and tissue differentiation. Society for Endocrinology BES 2007, UK, Asia and Oceania Medal lecture, 2007.3.5-8 (Birmingham, U.K.)

Ohtake E., Takada I., Fujii-Kuriyama Y., Kato S., Dioxin (Ah) receptor assembles a

ligand-dependent E3 ubiquitin ligase complex. EMBO Conference 2007, 2007.5.2-5 (Gardon Riviera, Italy)

Fujii-Kuriyama Y., Molecular mechanisms of AhR action in physiological and toxicological responses”6th World Congress on Alternative & Animal Use in the Life Sciences, “, 2007.8.21-25), Tokyo

Fujii-Kuriyama Y., Plenary lecture “Mechanisms of Toxicological and Physiological Action of Ah receptor”, DIOXIN 2007 27th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, 2007.9.2-7 (Tokyo, Japan)

Fujii-Kuriyama Y., Mimura J., Baba T., Morohashi K., Ohtake F., Kato S., Kobayashi Y., Kawajiri K. Mechanisms of Toxicological and Physiological Actions of Arylhydrocarbon Receptor (AhR) in Mice. Dioxin 2007 International Symposium, 2007.9.2-7 (Tokyo, Japan)

M.-S. Kim, I. Takada, K. Takeyama, S. Kato, Derepression of CYP27B1 gene expression mediates DNA-demethylation. ASBMR 29th Annual Meeting, 2007.9.16-19 (Hawaii, U.S.A.)

Fujii-Kuriyama Y., Physiological and toxicological functions of arylhydrocarbon (dioxin) receptor in mice, 8th International ISSX Meeting, 2007.10.9-12 (Sendai, Japan)

Kawajiri K., Aryl hydrocarbon receptor-null mice spontaneously develop colon cancer with abnormal accumulation of β -catenin. IBD Think Tank 2007, Nobel Forum, Karolinska Institute, 2007.11.12-15, (Stockholm, Sweden)

Ken Morohashi, Plenary Session International Conference on Molecular Biology of Life Sciences 2007, Molecular mechanism of sex differentiation. 2007.11.19-21, (Malang, Indonesia)

T. Komatsu, M. Tsuchiya, H. Ogawa, and K. Morohashi. Invited Speaker, Regulation of Ad4BP/SF-1 by SUMO, Biology of Protein Conjugation – Structure and Function, The Fourth NIBB-EMBL Symposium, 2007.12.3-5 (Okazaki, Japan)

Morohashi K., Ishimaru Y., Zubair M., Oka S., Miyabayashi K., Kusaka M., Shima Y., Baba T., Ogawa H., Yoshioka H., Katoh-Fukui Y., Invited Speaker, Genetic program of gonad differentiation. 16th Lake Shirakaba Conference, 2007.12.6-7 (Grenada)

E. Suzuki, S. Sawatsubashi, S. Ito, Y. Zyo, K. Yamagata, M. Tanabe, S. Kimura, T. Ueda, T. Murata, S. Fujiyama, H. Matsukawa, A. Kouzmenko, K. Takeyama, Y. Tomari, H. Siomi, S. Kato, Identification of novel insulator function to regulate chromatin formation through Dcr-2/Ago2 pathway. 2008 Keystone Symposia Conference (RNAi, MicroRNA, and Non-Coding RNA), 2008.3.25-4.1 (Whistler, Canada)

K. Takeyama, S. Ito, S. Sawatsubashi, A. Kouzmenko, E. Suzuki, Y. Zhao, K. Yamagata, M. Tanabe, S. Kimura, T. Ueda, T. Murata, H. Matsukawa, S. Fujiyama, Y. Hirabayashi, Y. Gotoh, S. Kato, Novel corepressor, SNASH induces neurogenesis through the transcriptional repressing for notch signaling. 2008 Keystone Symposia Conference (Nuclear Receptors: Orphan Brothers), 2008.3.25-4.1 (Whistler, Canada)

T. Ueda, S. Ito, S. Sawatsubashi, A. Kouzmenko, E. Suzuki, K. Yamagata, Y. Zhao, M. Tanabe, S. Kimura, T. Murata, H. Matsukawa, S. Fujiyama, T. Miki, K. Takeyama, S. Kato, Aberrant expression of a novel androgen corepressor in testicular tumors. 2008 Keystone Symposia Conference (Nuclear Receptors: Orphan Brothers), 2008.3.29-4.5 (Whistler, Canada)

M. Okada, S. Takezawa, Y. Mezaki, I. Yamaoka, I. Takada, H. Kitagawa, S. Kato, Switching of chromatin-remodeling complexes for estrogen receptor α . 2008 Keystone Symposia Conference (Molecular Basis for Chromatin Modifications and Epigenetic Phenomena), 2008.4.7-13 (Snowmass, U.S.A.)

T. Murata, S. Sawatsubashi, S. Ito, Y. Zhao, K. Yamagata, E. Suzuki, M. Tanabe, S. Fujiyama, S. Kimura, T. Ueda, H. Matsukawa, K. Takeyama, S. Kato, Analysis of a novel co-repressor, Z4 with *Drosophila* molecular genetics and proteomics. 2008 Keystone Symposia Conference (Nuclear Receptors: Orphan Brothers), 2008.3.29-4.5 (Whistler, Canada)

Kimura, S., Ito, S., Sawatsubashi, S., Kouzmenko, A., Suzuki, E., Zhao, Y., Yamagata, K., Tanabe, M., T. Ueda, S. Fujiyama, T. Murata, H. Matsukawa, K. Takeyama, S. Kato, *Drosophila* arginine methyltransferase 1 (DART1) modulates ecdysone receptor-mediated transcription in *Drosophila* metamorphosis. 2008 Keystone Symposia Conference (Nuclear Receptors: Orphan Brothers), 2008.3.29-4.5 (Whistler, Canada)

Fujii-Kuriyama Y., Molecular mechanisms of AhR function in physiological and toxicological processes, 11th SAC Seminar New Trends in Chemical Toxicology, 2008.9.22-25 (Moscow, Russia)

(3) 特許出願 (SORST 研究の成果に関わる特許 (出願人が JST 以外のものを含む))

	件数
国内出願	0
海外出願	0
計	0

(4) その他特記事項

所属	記事題名	報道媒体名	掲載日
東京大学分子細胞 生物学研究所	男性ホルモン早期閉経防ぐ？不妊 症で東大教授ら	朝日新聞 (夕刊)	H18.1.13
東京大学分子細胞 生物学研究所	性ホルモン阻害「受け皿」を分解 ダイオキシン	朝日新聞 (朝刊)	H19.3.29
東京大学分子細胞 生物学研究所	生体内のダイオキシン受容体 性 ホルモン分解促す 東大が解明	日刊工業新聞 (朝刊)	H19.3.29
東京大学分子細胞 生物学研究所	環境汚染物質 新たな作用機序発 見	科学新聞	H19.4.6
東京大学分子細胞 生物学研究所	東大は発信する ダイオキシンの 悪影響を証明	東京大学新聞	H19.5.1
東京大学分子細胞 生物学研究所	「骨壊し屋」女性ホルモンが抑制	朝日新聞 (朝刊)	H19.9.7
東京大学分子細胞 生物学研究所	骨粗しょう症のメカニズム解明	読売新聞 (朝刊)	H19.9.7
東京大学分子細胞 生物学研究所	女性ホルモンが骨量維持	毎日新聞 (朝刊)	H19.9.7
東京大学分子細胞 生物学研究所	閉経後の骨粗しょう症 女性ホル モンが細胞の寿命調節 東大グル ープ	日本経済新聞 (朝刊)	H19.9.7
東京大学分子細胞 生物学研究所	女性ホルモンが骨破壊抑制	東京大学新聞	H19.10.30
東京大学分子細胞 生物学研究所	骨量と脂肪のバランス, メタボ予 防・治療薬の開発	知的情報局 (インターネット)	H19.11.30

2009年8月1日、毎日新聞“緑黄色野菜食べると大腸癌予防に効果～世界発、科学的に証明”、読売新聞“大腸がん 緑黄色野菜で予防～メカニズム解明”、産経新聞“緑黄色野菜でがん予防～仕組み発見”、埼玉新聞“緑黄色野菜の効果解明”埼玉がんセンター(川尻)と筑波大学 TARA センター(藤井)の共同研究

9. 結び

本研究はダイオキシンなどの化合物が示す多岐に亘る生体毒作用 (toxicological effects) が、AhR の関与する多彩な生理作用の裏返しの作用であるという考えに基づいて始められたものである。AhR 欠失マウスを具に観察した結果、生殖、炎症・免疫において AhR が重要な役割を果たしていることが予想され、研究の課題として取り上げた。さらにダイオキシンなどの示すエストロゲン作用、抗エストロゲン作用などから予想される AhR と他の因子との相互作用を研究課題として研究をスタートさせた。研究がスタートしてからさらに AhR 欠失マウスの全身を病理学的に詳細に調べた結果、可成りの頻度で腸の回盲部に癌が発見された。この事実は、AhR が CYP1A1 の発現を介して発癌遺伝子として働くことが知られていたもので、逆に AhR が癌抑制因子としての役割を示すものと

して興味があり研究課題に取り上げることにした。

これまで AhR が転写調節因子としての機能のみしか報告されていなかったもので、AhR と ER の相互作用の研究からダイオキシンによって活性化された AhR が ER の E3 リガーゼとして働きプロテアソームによる分解によって抗エストロゲン作用を示すことを明らかにしたことは驚きであった。この発見は AhR が性質の全く異なる 2 つの作用、遺伝子発現調節とタンパク質分解によって細胞内のタンパク質量の調節をしている点で画期的である。また、AhR 欠失マウスの大腸癌の解析から、腸において β -カテニンが異常に蓄積していることが発見され、AhR が腸においても β -カテニンの E3 ユビキチン化反応による分解の機能を果たしていることが明らかになった。すなわち腸においては APC 複合体が β -カテニンのユビキチン化と分解の役割を担っていることがよく知られている事実であるが、我々の新しい発見によって腸において β -カテニンの分解系に APC と AhR による 2 つの系があって、一方の機能が変異で働かなくなると癌が発症することが明らかにされた。APC と AhR の 2 重欠失マウスでは、さらに癌の発症と悪性化が促進されること、逆に APC^{min/+}マウスや APC^{min/+}・AhR(+/-)マウスにおいて腸癌が発生する場合には、AhR のリガンドを餌に与えて AhR の活性を亢進させると β -カテニンの分解が進んで癌の発症が抑制されることが分かった。この発見は今後癌の予防を考える上で非常に重要な意味を持つ発見であり、研究の開始時に予想出来なかったことである。

また AhR の炎症・免疫における働きについては、AhR が調節性 T 細胞の分化に鍵因子として働いている事実とマクロファージにおいて抗炎症的に働いていることの発見は他の研究グループの貢献もあるが、非常に大きな研究の発展であると考えられる。この研究成果によって AhR が外来異物の浸襲に対して異物代謝から自然免疫まで広く生体の防御機能をコントロールしている中枢的な調節因子の一つであることが明らかにされた。AhR の炎症・免疫における働きの研究は、AhR の発現パターンや多くの免疫関連遺伝子に XRE 配列が認められること (N. I. Kerkvliet, *Biochem, Pharmacol.* 77: 746-60, 208) から、これからまだ発展する分野と思われる。我々がもう少し炎症・免疫の研究に堪能であればもっとこの分野を発展させることが出来たのではないかと思われる。

AhR の生殖における役割については、研究をスタートして 2 年目に、この研究の中心的な研究者であった諸橋が「性分化」の特定領域研究の研究代表者に選ばれたので、全面的な協力が得られなくなったことは、本研究の遂行には残念なことであった。しかし研究の当初に考えていた程の成果は得られなかったにしても、一定の成功は納めたのではないかと考えられる。生殖サイクルに於ける AhR と AhRR のフィードバック阻害のメカニズムなど興味ある問題が残されているように考える。

研究の当初に研究プロジェクト運営について考えたことは、私の研究グループは私の東北大学退官後のグループであるため、比較的少人数なので、各々の研究テーマに関連している分野で優れた研究をしている研究室の協力を得て行き、一年に一度、成果報告、次年度の研究計画を参加者全員で検討して相互の情報交換を密にして効率的に研究することであった。得られた研究成果から見て一定の成功を納めたと考えている。若手の教育については、私に直接関係する研究で 5 名の博士を出すことが出来た。東北大学では AhR のダイオキシン、PCB などによる生体毒性発現に関する作用メカニズムの研究で終わってしまい、最も重要な生理機能については、手を付けたばかりであった。この 5 年間の SORST 研究で、研究の当初に予想もしなかった AhR の多機能で重要な生理作用を明らかにすることが出来たことは、大変に幸運であったと思います。研究援助して頂いた JST 及び研究協力者に深く感謝致します。SORST 研究による援助が無ければ AhR の生理機能の研究はもっと遅れていたと思います。

