

「生命活動のプログラム」
平成 9 年度採択研究代表者

加藤 茂明

(東京大学分子細胞生物学研究所 教授)

「遺伝情報制御分子としてのステロイドレセプター」

1. 研究実施の概要

核内ステロイドレセプターの転写制御能を解析することを目的に、核内ステロイドレセプターと相互作用する転写共役因子群の同定・性状解析を行なった。今年度は、ヒトエストロゲンレセプター (hERα) に相互作用する転写共役因子p72を同定した。p72は、既に我々が報告したp68RNAヘリケースと同様の機能を有すること、更に昨年見出されたRNA共役因子の結合タンパクであることを証明した。その他、いくつかの転写共役因子候補因子群の性状解析を行なっている。

2. 研究実施内容

「目的」

核内ステロイドレセプターによる転写促進制御の分子メカニズム解明を目的に、新規核内ステロイドレセプター転写共役因子群の同定及び性状解析を行なった。同定された転写共役因子群の機能をin vitro系及びin vivo系で評価する。

「方法」

ヒトステロイドレセプター (ERα)、ヒトアンドロゲンレセプター (AR)、ミネラルコルチコイドレセプター (MR) の 2 ヶ所にある転写促進領域のうち、レセプタータンパクN末端A/B領域に存在するAF-1に相互作用する因子群の同定を酵母two-hybrid法や生化学的手法により試みた。同様の手法により転写共役因子 (AIB1) の相互作用因子の同定を試みた。

「結論」

ERα、AR、MRのAF-1に相互作用するいくつかの転写共役因子候補因子群を取得し、その性状解析を行なっているところである。一方、AIB1の相互作用因子の 1 つ、p72DEAD-boxタンパクは、我々が既に報告したERαAF-1転写共役因子p68と構造と機能が酷似した 1 つのサブファミリーを形成することが判明した。p72/p68は、ともにDEAD-boxを持ちRNA結合能を有するが、実際RNA転写共役因子SRAと直接結合し、SRAと協調的にERαの機能を亢進することも見出した。このことから、p72/p68は、ERαAF-1と既知AF-2転写共役因子AIB1と機能的な橋渡しをするとともにSRAとも転写共役因子複合体を形成すると考えられた。

3 . 主な研究成果の発表（論文発表）

- Yanagi, Y., Masuhiro, Y., Mori, M., Yanagisawa, J., Kato, S.: p300/CBP Acts as a coactivator of the cone-rod homeobox transcription factor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 269, 410-414, 2000.
- Tai, H., Kubota, N., Kato, S.: Involvement of nuclear receptor coactivator SRC-1 in estrogen-dependent cell growth of MCF-7 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 267, 311-316, 2000.
- Sekine, K., Ohuchi, H., Fujiwara, M., Yamasaki, M., Yoshizawa, T., Sato, T., Yagishita, N., Matsui, D., Koga, Y., Itoh, N., Kato, S.: FGF10 is essential for the limb and lung formation. *Nature Genetics*, 21, 138-141, 1999.
- Takeyama, K., Masuhiro, Y., Fuse, H., Endoh, H., Murayama, A., Kitanaka, S., Suzawa, M., Yanagisawa, J., Kato, S.: Selective interaction of vitamin D receptor with transcriptional coactivators by a vitamin D analog. *Mol. Cell. Biol.*, 19, 1049-1055, 1999.
- Endoh, H., Maruyama, K., Masuhiro, Y., Kobayashi, Y., Goto, M., Tai, H., Yanagisawa, J., Metzger, D., Hashimoto, S., Kato, S.: Purification and identification of p68 RNA helicase acting as a transcriptional coactivator specific for the activation function 1 of human estrogen receptor α . *Mol. Cell. Biol.*, 19, No. 8, 1999.
- Yanagisawa, J., Yanagi, Y., Masuhiro, Y., Suzawa, M., Toriyabe, T., Kashiwagi, K., Watanabe, M., Kawabata, M., Miyazono, K., Kato, S.: Convergence of TGF β and vitamin D signaling pathways on SMAD proteins acting as common transcriptional co-activators. *Science*, 283, 1317-1321, 1999.
- Yanagi, Y., Suzawa, M., Kawabata, M., Miyazono, K., Yanagisawa, J., Kato, S.: Positive and negative modulation of vitamin D receptor function by transforming growth factor- β signaling through Smad proteins. *J. Biol. Chem.*, 274, 12971-12974, 1999.
- Kitanaka, S., Murayama, A., Sakaki, T., Inoue, K., Seino, Y., Fukumoto, S., Shima, M., Yukizane, S., Takayanagi, M., Niimi, H., Takeyama, K., Kato, S.: No enzyme activity of 25-hydroxyvitamin D3 1 α -hydroxylase gene product in pseudovitamin D-deficiency rickets including that with mild clinical manifestation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 84, 4111-4117, 1999.
- Sasaki-Iwaoka, H., Maruyama, K., Endoh, H., Komori, T., Kato, S., Kawashima, H.: A trans-acting enhancer modulates estrogen-mediated transcription of reporter genes in osteoblasts. *J. Bone Miner. Res.*, 14, 248-255, 1999.
- Murayama, A., Takeyama, K., Kitanaka, S., Koderu, Y., Kawacushi, Y., Hosoya, T., Kato, S.: Positive and negative regulations of the renal 25-hydroxyvitamin D3 1 α -

- hydroxylase gene by parathyroid hormone, calcitonin, and 1 α , 25(OH) $_2$ D $_3$ in intact animals. *Endocrinology*, 140, 2224-2231, 1999.
- Suzawa, M., Takeuchi, Y., Fukumoto, S., Kato, S., Ueno, Naoto, Miyazono, K., Matsumoto, T., Fujita, T.: Extracellular matrix-associated bone morphogenetic proteins are essential for differentiation of murine osteoblastic cells in vitro. *Endocrinology*, 140, 2125-2133, 1999.
 - Takeda, S., Yoshizawa, T., Nagai, Y., Yamato, H., Fukumoto, S., Sekine, K., Kato, S., Matsumoto, T., Fujita, T.: Stimulation of osteoclast formation by 1,25-dihydroxyvitamin D requires its binding to vitamin D receptor (VDR) in osteoblastic cells: Studies using VDR knockout mice. *Endocrinology*, 140, 1005-1008, 1999.
 - Sakaki, T., Sawada, N., Takeyama, K., Kato, S., Inouye, K.: Enzymatic properties of mouse 25-hydroxyvitamin D $_3$ 1 α -hydroxylase expressed in *Escherichia coli*. *Eur. J. Biochem.*, 259, 731-738, 1999.
 - Okuno, M., Sato, T., Kitamoto, T., Imai, S., Kawada, N., Suzuki, Y., Yoshimura, H., Moriwaki, H., Onuki, K., Masushige, S., Muto, Y., Friedman, S. L., Kato, S., Kojima, S.: Increased 9,13-di-cis-retinoic acid in rat hepatic fibrosis: implication for a potential link between retinoid loss and TGF- β mediated fibrogenesis in vivo. *J. Hepatol.*, 30, 1073-1080, 1999.
 - Kato, S., Takeyama, K., Kitanaka, S., Maruyama, A., Sekine, K., Yoshizawa, T.: In vivo function of VDR in gene expression-VDR knock-out mice. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 69, 247-251, 1999.
 - Nagai, Y., Miyazaki, M., Aoki, R., Zama, T., Inoue, S., Hirose, K., Iino, M., Hagiwara, M.: Detection of cAMP-induced phosphorylation with a novel fluorescent indicator. *Nat. Biotechnol.*, 18, 313-316, 2000.
 - Sakaguchi, H., Wada, K., Maekawa, M., Watsuji, T., Hagiwara, M.: Song-induced phosphorylation of cAMP response element binding protein in the songbird brain. *J. Neuroscience*, 19, 3973-3981, 1999.
 - Koizumi, J., Okamoto, Y., Onogi, H., Mayeda, A., Krainer, A., Hagiwara, M.: The subcellular localization of SF2/ASF is regulated by the direct interaction with SR protein kinases (SRPKs). *J. Biol. Chem.*, 274, 11125-11131, 1999.
 - Sanchez, I., Xu, C.-J., Juo, P., Kakizuka, A., Blenis, J., Yuan, J.: Caspase-8 is required for cell death induced by expanded polyglutamine repeats. *Neuron*, 22, 623-633, 1999.
 - Yasuda, S., Inoue, K., Hirabayashi, M., Higashiyama, H., Yamamoto, Y., Fuyuhiko, H., Komure, O., Tanaka, F., Sobue, G., Tsuchiya, K., Hamada, K., Sasaki, H., Takeda, K., Ichijo, H., Kakizuka, A.: Triggering of neuronal cell death by accumulation of activated

- SEK1 on nuclear polyglutamine aggregations in PML bodies. *Genes to Cells*, 4, 743-756, 1999
- Kyo, S., Takakura, M., Kanaya, T., Zhuo, W., Fujimoto, K., Nishio, Y., Orimo, A., Inoue, M.: Estrogen activates telomerase. *Cancer Res.*, 59, 5917-5921, 1999.
 - Orimo, A., Inoue, S., Minowa, O., Tominaga, N., Tomioka, Y., Sato, M., Kuno, K., Hiroi, H., Shimizu, Y., Suzuki, M., Noda T., Muramatsu, M.: Underdeveloped uterus and reduced estrogen responsiveness in mice with disruption of the estrogen-responsive finger protein (efp) gene, which is a direct target of estrogen receptor α (ER α). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 96, 12027-12032, 1999.
 - Inoue, S., Urano, T., Ogawa, S., Saito, T., Orimo, A., Hoshio, T., Ouchi, Y., Muramatsu, M.: Molecular cloning of rat efp: expression and regulation in primary osteoblasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 261, 412-418, 1999.
 - Orimo, A., Tominaga, N., Suzuki, M., Kawakami, T., Kuno, J., Sato, M., Minowa, O., Inoue, S., Kato, S., Noda, T., Muramatsu, M.: Successful germ-line transmission of chimeras generated by coculture aggregation with J1 ES cells and eight-cell embryos. *Anal. Biochem.*, 269, 204-207, 1999.
 - Hiroi, H., Inoue, S., Watanabe, T., Goto, W., Orimo, A., Momoeda, M., Tsutsumi, O., Taketani, Y., Muramatsu, M.: Differential immunolocalization of estrogen receptor α and β in rat ovary and uterus. *J. Mol. Endocrinol.*, 22, 37-44, 1999.
 - Watanabe, T., Inoue, S., Hiroi, H., Orimo, A., Muramatsu, M.: NMDA receptor type 2D gene as target for estrogen receptor in the brain. *Brain Res. Mol. Brain Res.*, 63, 375-379, 1999.

※本プロジェクトの研究代表者であった加藤茂明 氏については、同氏が主宰する研究室において論文の不正行為があったことが東京大学において認定されています。認定された不正行為には、本プロジェクトの研究成果とされた論文の一部が含まれています。

詳細は、下記をご参照下さい。

http://www.u-tokyo.ac.jp/public/public01_261226_j.html

<http://www.u-tokyo.ac.jp/content/400007786.pdf>

http://www.jst.go.jp/osirase/20160325_oshirase-2.html