

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)  
実施状況報告書(平成 23 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	血管内皮エピゲノム転写調節機構解明に基づくダウン症・抗がん治療へのアプローチ
研究機関・ 部局・職名	東京大学・先端科学技術研究センター・特任教授
氏名	南 敬

### 1. 当該年度の研究目的

内皮細胞における転写因子全結合ゲノムマップとヒストン修飾マップの融合: ChIP-seq を VEGF 刺激前後で行い、GATA2, NFATc1 の結合領域とヒストン(active mark: H3K4me1, H3K4me3, silence mark: H3K9me3) の状態を調べる。発現アレイと組み合わせることで、下流標的とエピゲノム変動の全貌が把握できるので、まずは HUVEC, HMVEC から始める。

ES 細胞からの内皮分化と転写因子活性相関研究: ES の内皮分化段階における epigenetic な変化を追跡し、GATA2 の発現制御と相関を解析し、内皮分化の epi-switch を同定できるデータを集積する。  
内皮特異的 Egr-3 欠損マウスの樹立: targeting vector 構築と ES 細胞への transfection が進行中である。組み換え ES 細胞からのキメラマウス作製は筑波大学資源動物センターに委託し、内皮特異的 Cre 発現マウス (Tie2-Cre, VE-cadherin-Cre) は Harvard 大学 Bill Aird から供与を受ける。

DSCR-1 欠損マウスのがん転移促進作用解明: 静注あるいは腎臓への同所性がん移植時において肺への転移は、DSCR-1 欠損であると早期に進む。そこで DSCR-1 の肺への安定発現を改変型 adenovirus や内皮特異的 DSCR-1s トランスジェニックマウス樹立によって行い、その転移防止効果と制御標的分子を確立する。

### 2. 研究の実施状況

内皮細胞における転写因子全結合ゲノムマップとヒストン修飾マップの融合: 血管内皮細胞の定常時(安定時)におけるエピゲノムヒストンコードとしてプロモーターマーク (H3K4me3), エンハンサーマーク (H3K27Ac, H3K4me1), サイレンサーマーク (H3K27me3) を次世代シーケンサーにより取得した。VEGF 早期活性化によるヒストンコード解読も進んでおり、特定の活性化領域で active mark が増大することを認めた。実際その多くが転写因子 NFATc1 が VEGF 刺激によって結合する領域と重なっており、NFATc1 のゲノム結合が VEGF 早期活性化に必須であることを見出している(下図1例)。

ES 細胞からの内皮分化と転写因子活性相関研究: ES 細胞の内皮分化開始から 0, 6, 12, 24, 48 時間後のヒストンコードを上記した 4 つの修飾ヒストン抗体で ChIP-sequence を行っている。刺激 24, 48 時間後は内皮分化が固定化され細胞数も得られるので完了したが、早期時では細胞数が少なく再検討している。一方各 time point での発現アレイデータは完成しており、GATA2 発現のみならず転写因子 Ets family の発現リレーが生じていることを見出した。

内皮特異的 Egr-3 欠損マウスの樹立: ターゲットベクターは 2 種類作製し、組み換え ES 細胞も得たがリコンビナーゼでの組み換え効率が悪く再検討中である。

DSCR-1 欠損マウスのがん転移促進作用解明: ダウン症因子で抗がん作用を示す DSCR-1 の欠損マ

様式19 別紙1

ウスと内皮特異的プロモーターを用いた DSCR-1 トランスジェニックマウスを樹立した。肺へのがん転移は、DSCR-1 の有無によって大きく進展度合いが異なることを見出した。転移標的となる肺では VEGF 量の増大と VEGF レセプター 2 の活性化が転移前の血管内皮細胞で生じていること、この VEGF-VEGFR2 ニッチ環境が NFAT の活性化を引き起こし、炎症促進効果を示す Angiopoietin2 の誘導に繋がることを見出した (下図 2 例)。

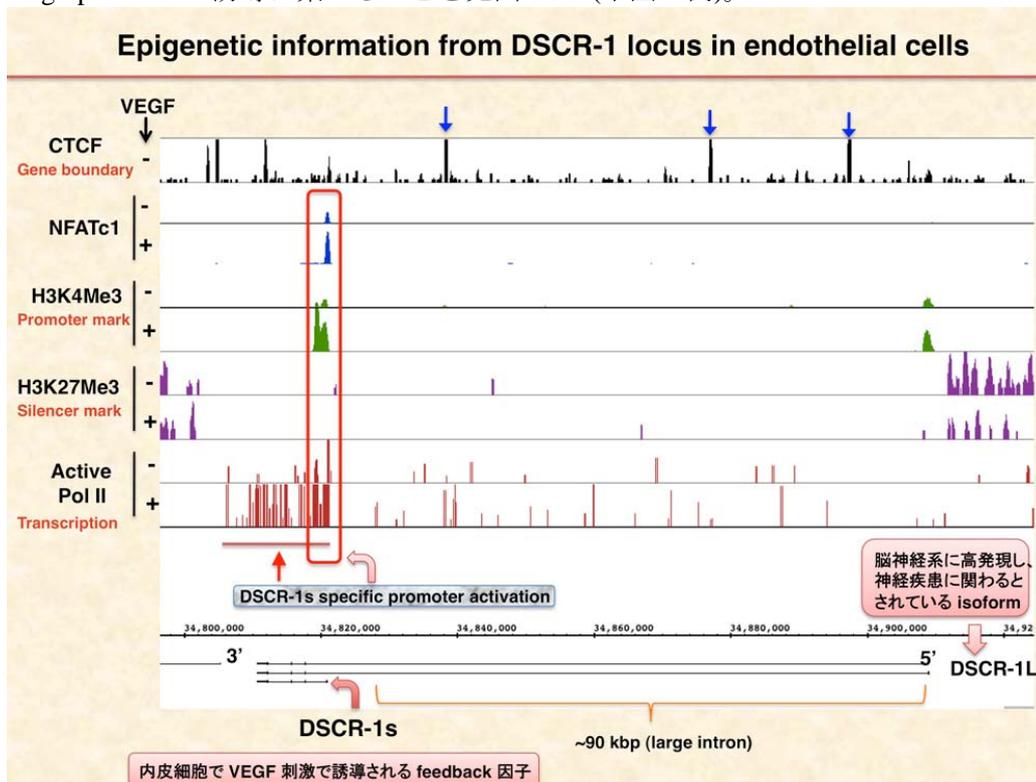


図1: DSCR-1 の内皮細胞におけるエピゲノム情報

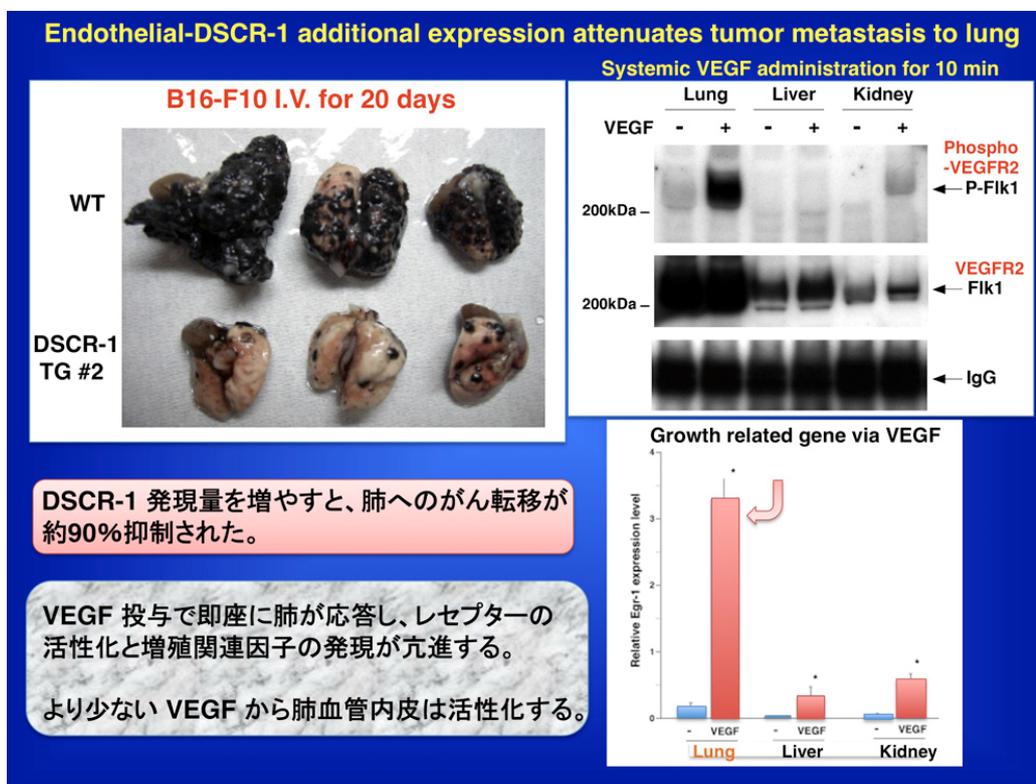


図2: DSCR-1 の肺がん転移抑制作用と肺微小環境における内皮活性化

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 10 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 9 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Endo, M., Nakano, M., Kadomatsu, T., Fukuhara, S., Kuroda, H., Mikami, S., Hato, T., Aoi, J., Tabata, M., Horiguchi, H., Kawamoto, Y., Miyata, K., Odagiri, H., Miyashita, K., Araki, K., Harada, M., Horio, H., Hishima, T., Nomori, H., Ito, T., Yamamoto, Y., <u>Minami, T.</u>, Okada, S., Takahashi, T., Iwase, H., Mochizuki, N., and Oike, Y.: A critical role for tumor cell-derived Angiopoietin-like protein 2 in metastasis. <i>Cancer Res.</i> <b>72</b>:1784-1794, 2012 (ISSN 0008-5472, <a href="http://cancerres.aacrjournals.org/">http://cancerres.aacrjournals.org/</a>)</li> <li>2. Sobrado, M., Ramirez, B.G., Neria, F., Lizasoain, I., Arbonés, M.L., <u>Minami, T.</u>, Redondo, J.M., Moro, M.A., and Cano, E.: Regulator of Calcineurin 1 (Rcan1) has a protective role in brain ischemia/reperfusion injury. <i>Journal of Neuroinflammation</i> <b>9</b>: 48, 2012 (ISSN 1742-2094, <a href="http://www.jneuroinflammation.com/">http://www.jneuroinflammation.com/</a>)</li> <li>3. Osawa, T., Muramatsu, M., Wang, F., Tsuchida, R., Kodama, T., <u>Minami, T.</u>, and Shibuya, M.: Increased expression of histone demethylase JHDM1D under nutrient starvation suppresses tumor growth via down-regulating angiogenesis. <i>Proc Natl Acad Sci U S A.</i> <b>108</b>: 20725-9, 2011 (ISSN 1091-6490, <a href="http://www.pnas.org/">http://www.pnas.org/</a>)</li> <li>4. Kanki, Y., Kohro, T., Jiang, S., Tsutsumi, S., Mimura, I., Suehiro, J.I., Wada, Y., Ohta, Y., Ihara, S., Iwanari, H., Naito, M., Hamakubo, T., Aburatani, H., Kodama, T., and <u>Minami, T.</u>: Epigenetically coordinated GATA2 binding is necessary for endothelium specific endomucin expression <i>EMBO. J.</i> <b>30</b>: 2582-95, 2011 (ISSN 0261-4189, <a href="http://www.nature.com/emboj/index.html">http://www.nature.com/emboj/index.html</a>)</li> <li>5. Tozawa, H., Kanki, Y., Suehiro, J.I., Tsutsumi, S., Kohro, T., Aburatani, H., Aird, W.C., Kodama, T., and <u>Minami, T.</u>: Genome-wide approaches reveal functional IL-4 inducible STAT6 binding to the vascular cell adhesion molecule-1 promoter. <i>Mol Cell Biol.</i> <b>31</b>: 2196-209, 2011 (ISSN 1098-5549, <a href="http://mcb.asm.org/">http://mcb.asm.org/</a>)</li> <li>6. Yoshimatsu, Y., Yamazaki, T., Mihira, H., Itoh, T., Suehiro, J., Yuki, K., Harada, K., Morikawa, M., Iwata, C., <u>Minami, T.</u>, Morishita, Y., Kodama, T., Miyazono, K., and Watabe, T.: Ets family members induce lymphangiogenesis through physical and functional interaction with Prox1. <i>J. Cell. Sci.</i> <b>124</b>: 2753-62, 2011 (ISSN 0021-9533, <a href="http://jcs.biologists.org/">http://jcs.biologists.org/</a>)</li> <li>7. Shioyama, W., Nakaoka, Y., Higuchi, K., <u>Minami, T.</u>, Taniyama, Y., Nishida, K., Kidoya, H., Sonobe, T., Naito, H., Arita, Y., Hashimoto, T., Kuroda, T., Fujio, Y., Shirai, M., Takakura, N., Morishita, R., Yamauchi-Takahara, K., Kodama, T., Hirano, T., Mochizuki, N., and Komuro, I.: Docking Protein Gab1 Is an Essential Component of Postnatal Angiogenesis After Ischemia via HGF/c-Met Signaling. <i>Circ. Res.</i> <b>108</b>: 664-75, 2011 (ISSN 0009-7300, <a href="http://circres.ahajournals.org/">http://circres.ahajournals.org/</a>)</li> <li>8. Liu, J., Yuan, L., Molema, G., Regan, E., Janes, L., Beeler, D., Spokes, K.C., Okada, Y., <u>Minami, T.</u>, Oettgen, P., and Aird, W.C.: Vascular bed-specific regulation of the von Willebrand factor promoter in the heart and skeletal muscle. <i>Blood</i> <b>117</b>:342-51, 2011 (ISSN 0006-4971, <a href="http://bloodjournal.hematologylibrary.org/">http://bloodjournal.hematologylibrary.org/</a>)</li> <li>9. Omori, Y., Katoh, K., Sato, S., Muranishi, Y., Chaya, T., Onishi, A., <u>Minami, T.</u>, Fujikado, T., and Furukawa, T.: Analysis of transcriptional regulatory pathways of photoreceptor genes by expression profiling of the Otx2-deficient retina. <i>PLoS One.</i> <b>6</b>: e19685. 2011 (ISSN 1932-6023, <a href="http://www.plosone.org/">http://www.plosone.org/</a>)</li> </ol> <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 1 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Yae, T., Tsuchihashi, K., Ishimoto, T., Motohara, T., Yoshikawa, M., Yoshida, G.J., Wada, T., Masuko, T., Mogushi, K., Tanaka, H., Osawa, T., Kanki, Y., <u>Minami, T.</u>, Aburatani, H., Ohmura, M., Kubo, A., Suematsu, M., Takahashi, K., Saya, H., and Nagano, O. : Alternative splicing of CD44 mRNA by ESRP1 enhances lung colonization of metastatic cancer cell. <i>Nat. Commun.</i>, 2012 (<b>in press</b>) (ISSN 2041-1723, <a href="http://www.nature.com/ncomms/index.html">http://www.nature.com/ncomms/index.html</a>)</li> </ol>
<p>会議発表 計 9 件</p>	<p>専門家向け 計 7 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <u>Minami, T.</u>, Vascular bed specific Down Syndrome Critical Region-1 short isoform modulates tumor microenvironment. 9<sup>th</sup> Korea-Japan Joint Symposium on Vascular Biology (Aug. 25-27, 2011) Busan Westin Hotel, Korea. The Society of Korean Vascular Biology and Medicine</li> <li>2. <u>Minami, T.</u>, Vascular bed specific NFAT/Down Syndrome Critical Region-1 signaling modulates tumor microenvironment. Asia-Pacific 2 Cancer symposium (Dec. 8-10, 2011) 東京ステーションカンファレンス, Tokyo. The 1<sup>st</sup> Asia-Pacific Vascular Biology Meeting</li> <li>3. 南 敬、「活性化血管内皮細胞におけるエピゲノム転写機構解析」愛媛大学プロテオ医学研究センター 学術講演会 2011 年 5 月 11 日、愛媛</li> </ol>

様式19 別紙1

	<p>4. Kanki, Y., Kohro, T., Tsutsumi, S., Minura, I., Wada, Y., Hamakubo, T., Aburatani, H., Kodama, T., and <u>Minami, T.</u>: Epigenetically coordinated GATA2 binding regions are necessary for the determination of the endothelial cell specificity (Oct. 30-Nov. 2, 2011) Shilla Hotel Jeju Island, Korea, Korea The second pacific symposium on vascular biology</p> <p>5. <u>Minami, T.</u>, Genome-wide gene regulation in activated endothelium by the tumor-related transcription factors、第70回日本癌学会学術総会、(Oct. 3-5, 2011) 名古屋国際会議場、名古屋、日本がん学会</p> <p>6. Symposium organizer, <u>Minami, T.</u>, Epigenetically coordinated IL-4-inducible STAT6 binding is necessary for the Atherosclerosis-related VCAM-1 expression、第34回日本分子生物学会 (2011年12月13-16日、パシフィコ横浜、横浜、日本分子生物学会)</p> <p>7. <u>南 敬</u>、「ダウン症因子 DSCR-1 の抗血管疾患活性と網羅解析アプローチ」2012年3月22日、神戸大学医学部講堂、神戸、シグナル伝達医学グローバル COE 学術講演会</p> <p>一般向け 計2件</p> <p>1. <u>南 敬</u>、腫瘍微小環境下活性化される血管内皮細胞の包括的エピゲノム転写制御機構、「がん微小環境」第1回公開ワークショップ 東京大学弥生講堂一条ホール、東京、2011年6月17日、文部科学省・新学術領域研究</p> <p>2. <u>南 敬</u>、活性化内皮細胞におけるエピゲノム転写制御機構～ダウン症因子 DSCR-1 の抗血管疾患活性と網羅解析アプローチ～、2011年9月14日、岡山大学医学部、岡山、第29回岡山 Vascular Biology</p>
<p>図書 計9件</p>	<p>1. <u>Minami, T.</u> Down syndrome expressed protein; DSCR-1 deters cancer and septic inflammation 'GENETICS AND ETIOLOGY OF DOWN SYNDROME' <i>InTech</i> p.121-136, ISBN 979-953-307-012-3, 2011</p> <p>2. 血管生物医学事典 p. 347-408 第5章転写因子、朝倉書店、ISBN 978-4-254-30108-3, 2011</p> <p>3. The Future of Vascular Biology Begins! p22-23, MRCITR, 2011</p> <p>4. The 19<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Vascular Biology and Medicine Organization. p82, 日本血管生物医学学会, 2011</p> <p>5. 分子病態の解明と展開医療応用: ニューパラダイムの模索, p46, メディカルトリビューン, 2011</p> <p>6. がん微小環境ネットワークの統合的研究、p6-7, がん微小環境班、2011</p> <p>7. The 2<sup>nd</sup> Pacific Symposium on Vascular Biology, p147, PSVB, 2011</p> <p>8. がん研究の躍進—共存から克服へ、そして未来へ—, Pages 124, 398, 及び 431、日本がん学会, 2011</p> <p>9. 分子からヒトへ、p61、第34回日本分子生物学会年会, 2011</p>
<p>産業財産権 出願・取得状況 計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p><a href="http://www.vb.rcast.u-tokyo.ac.jp">http://www.vb.rcast.u-tokyo.ac.jp</a></p> <p><a href="http://www.lsbm.org/site_e/staff/minami.html">http://www.lsbm.org/site_e/staff/minami.html</a> (English)</p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>「血管の病気に立ち向かう」研究を目指して、2011年6月3日、東京大学先端科学技術研究センター 2階大講堂、高校生以上から近隣一般市民対象とし、血管の仕組みや血管異常が3大疾患(がん、脳血管障害、心筋梗塞)に繋がることなどを約30分講演した。記名参加者は102名であった。</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載 計2件</p>	<p>1. 日経産業新聞、2011年6月21日、p9、血管保つ遺伝子特定・東大、マウス細胞で観察</p> <p>2. 日経バイオテク ONLINE 2011.6.24 Vol 28, <a href="http://biotech.nikketbp.co.jp/bionews/">http://biotech.nikketbp.co.jp/bionews/</a></p>
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

## 実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

## 1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	108,000,000	36,000,000	0	72,000,000	0
間接経費	32,400,000	10,800,000	0	21,600,000	0
合計	140,400,000	46,800,000	0	93,600,000	0

## 2. 当該年度の収支状況

23

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を 除く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	36,000,000	0	0	36,000,000	34,780,140	1,219,860	0
間接経費	10,800,000	0	0	10,800,000	10,800,000	0	0
合計	46,800,000	0	0	46,800,000	45,580,140	1,219,860	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	20,798,441	実験試薬、極微量分光光度計、マウス飼料 等
旅費	1,463,644	研究成果発表旅費(日本癌学会) 等
謝金・人件費等	11,067,882	特任研究員人件費、講演謝金
その他	1,450,173	出版費(The EMBO journal)、マウス輸入費 等
直接経費計	34,780,140	
間接経費計	10,800,000	
合計	45,580,140	

## 4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
微量高速遠心機	日立工機(株) CFT15RX II	1	764,400	764,400	2011/5/18	東京大学
Elix Advantage 3	ミリポア社製 ZRXV003JP	1	870,345	870,345	2011/5/13	東京大学
クリーンベンチ	十慈フィールド社 製 NS-10BS	1	981,750	981,750	2011/5/10	東京大学
フリーズ超低温槽	日本フリーザー 社製 CLN-31U	1	1,050,000	1,050,000	2011/6/1	東京大学
Human Genome U133 Plus 2.0	アフィメトリクス社 製	1	1,417,500	1,417,500	2011/11/24	東京大学
極微量分光光度 計NanoDrop2000	Thermo Fisher Scientific社製	1	1,428,000	1,428,000	2011/12/19	東京大学
Human Genome U133 Plus 2.0	アフィメトリクス社 製	1	1,417,500	1,417,500	2012/3/8	東京大学
ImageQuant LAS 4000 miniシステム	GEヘルスケア社 製	1	3,995,775	3,995,775	2012/3/9	東京大学