

—千里ライフサイエンス新適塾—  
「難病への挑戦」第18回会合

『血管新生：内皮細胞の増殖促進と抑制のバランス制御』

講師 東山 繁樹 (ひがしやま しげき)

愛媛大学大学院医学系研究科 生化学・分子遺伝学分野  
愛媛大学プロテオサイエンスセンター 細胞増殖・腫瘍制  
御部門  
教授

日時 2014年5月29日(木) 18:00~20:00

場所 千里ライフサイエンスセンタービル

講演会 8階 801・802号室 (18:00~19:00)

懇親会 6階 603・604号室 (19:00~20:00)

講演・懇親会ともに参加費無料

コーディネーター

菊池 章 (大阪大学大学院医学系研究科 分子病態生化学 教授)

山下 俊英 (大阪大学大学院医学系研究科 分子神経科学 教授)

主催：公益財団法人 千里ライフサイエンス振興財団

〒 560-0082 大阪府豊中市新千里東町1丁目4番2号

千里ライフサイエンスセンタービル20階

E-mail : [dsp@senri-life.or.jp](mailto:dsp@senri-life.or.jp) Tel:06-6873-2001

<http://www.senri-life.or.jp>

## 『血管新生：内皮細胞の増殖促進と抑制のバランス制御』

愛媛大学大学院 医学系研究科 生化学・分子遺伝学分野  
愛媛大学プロテオサイエンスセンター 細胞増殖・腫瘍制御部門  
教授 東山 繁樹

血管新生は固形腫瘍増殖や組織損傷時の修復過程には必須であり、その制御は血管内皮細胞の増殖促進と抑制のバランス制御で成立している。私どものこれまでの研究から得られた『増殖因子シグナルは抑制シグナルを解除する』といった考えに基づき、血管内皮細胞の増殖促進（VEGF シグナル）と抑制（Notch シグナル）のバランスを制御する分子の探索とその分子機構の解析を進めている。

これまでに、Zn フィンガータンパク質 BAZF を同定し、その機能発現における分子機序の一端を解明してきた。即ち、BAZF 発現は VEGF 刺激下で誘導され、Notch シグナル下流分子 CBF1 に結合し、これを分解に導くことで Notch シグナルを遮断する。さらに、CBF1 分解の本体としてユビキチン E3 リガーゼ Cullin3 (CUL3) を同定し、BAZF-CUL3 複合体が、CBF1 特異的なユビキチンリガーゼとして機能することを明らかにしてきた。これらの知見に基づき、マウス網膜での遺伝子ノックダウン法により、BAZF および CUL3 が等価の血管新生活性を有するかどうか評価したところ、BAZF ノックダウンに比べ CUL3 ノックダウンで極めて強い血管崩壊の表現系が現れた。このことは、CUL3 は BAZF 以外にも異なる複合体のパートナーや標的基質が存在し、血管新生に複合的に絡む因子であることを強く示唆している。そこで、CUL3 の新たな標的基質を探索するために、コラーゲンゲル三次元培養法を用いたタイムラプスイメージング解析を行った結果、コントロール群では、VEGF-A の濃度勾配に従って内皮細胞伸長が誘導されるのに対して、CUL3 ノックダウン群では、増殖抑制と共に、伸展阻害が起こることで、血管形成抑制に至ることが示された。このことは、細胞の伸展や接着に関与する因子が CUL3 によって制御を受けている事を示唆している。以上のことから、血管新生において CUL3 は BAZF を介した VEGF-Notch シグナルのバランス調節に加えて、細胞伸展や細胞外マトリクスへの接着にも重要な役割を担うことが新たに示唆された。

一方、BAZF のように BTB ドメインを持つタンパク質は、CUL3 と基質を繋ぐリンカーとしての機能を持つことがこれまでにいくつか報告されている。また、ヒト BTB ドメインタンパク質は現在までに 183 種の存在が報告されている。現在、無細胞タンパク質合成系を用いて、CUL3 - BTB ドメインタンパク質相互作用を再構築系において検証を進め、新たな基質の探索を目指している。

【主な原著論文】(\*corresponding author)

1. Taira N, Yamaguchi T, Kimura J, Lu ZG, Fukuda S, Higashiyama S, Ono M, Yoshida K. Induction of amphiregulin by p53 promotes apoptosis via control of microRNA biogenesis in response to DNA damage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 111(2):717-22. 2014.
2. Nanba D, Toki F, Matsushita N, Matsushita S, Higashiyama S, Barrandon Y. Actin filament dynamics impacts keratinocyte stem cell maintenance. *EMBO Mol Med*. 5(4):640-53. 2013.
3. Inoue A, Ishiguro J, Kitamura H, Arima N, Okutani M, Shuto A, Higashiyama S, Ohwada T, Arai H, Makide K, Aoki J. TGF $\alpha$  shedding assay: an accurate and versatile method for detecting GPCR activation. *Nat Methods*. 9(10):1021-9. 2012.
4. Ohnuki H, Inoue H, Takemori N, Nakayama H, Sakaue T, Fukuda S, Miwa D, Nishiwaki E, Hatano M, Tokuhisa T, Endo Y, Nose M, Higashiyama S\* BAZF, a novel component of cullin3-based E3 ligase complex, mediates VEGFR and Notch cross-signaling in angiogenesis. *Blood*. 119(11):2688-98. 2012.
5. Hieda M, Isokane M, Koizumi M, Higashi C, Tachibana T, Shudou M, Taguchi T, Hieda Y, Higashiyama S\* Membrane-anchored growth factor, HB-EGF, on the cell surface targeted to the inner nuclear membrane. *J Cell Biol*. 180(4):763-9, 2008.
6. Nanba D, Mammoto A, Hashimoto K, Higashiyama S\* Proteolytic release of the carboxy-terminal fragment of proHB-EGF causes nuclear export of PLZF. *J Cell Biol*. 163(3):489-502, 2003.
7. Asakura M, Kitakaze M, Takashima S, Liao Y, Ishikura F, Yoshinaka T, Ohmoto H, Node K, Yoshino K, Ishiguro H, Asanuma H, Sanada S, Matsumura Y, Takeda H, Beppu S, Tada M, Hori M, Higashiyama S\* Cardiac hypertrophy is inhibited by antagonism of ADAM12 processing of HB-EGF: metalloproteinase inhibitors as a new therapy. *Nat Med*. 8(1):35-40. 2002.
8. Miyagawa J, Higashiyama S, Kawata S, Inui Y, Tamura S, Yamamoto K, Nishida M, Nakamura T, Yamashita S, Matsuzawa Y, Taniguchi N. Localization of heparin-binding EGF-like growth factor in the smooth muscle cells and macrophages of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest*. 95(1):404-11, 1995.
9. Higashiyama S, Abraham JA, Klagsbrun M. Heparin-binding EGF-like growth factor stimulation of smooth muscle cell migration: dependence on interactions with cell surface heparan sulfate. *J Cell Biol*. 122(4):933-40. 1993.
10. Higashiyama S, Lau K, Besner GE, Abraham JA, Klagsbrun M. Structure of heparin-binding EGF-like growth factor. Multiple forms, primary structure, and glycosylation of the mature protein. *J Biol Chem*. 267(9):6205-12, 1992.
11. Higashiyama S, Abraham JA, Miller J, Fiddes JC, Klagsbrun M. A heparin-binding growth factor secreted by macrophage-like cells that is related to EGF. *Science*. 251(4996):936-9, 1991.