

分子生物学

1 構 成 員

	平成 28 年 3 月 31 日現在	
教授	1 人	
病院教授	0 人	
准教授	1 人	
病院准教授	0 人	
講師（うち病院籍）	0 人	(0 人)
病院講師	0 人	
助教（うち病院籍）	2 人	(0 人)
診療助教	0 人	
特任教員（特任教授、特任准教授、特任助教を含む）	0 人	
医員	0 人	
研修医	0 人	
特任研究員	2 人	
大学院学生（うち他講座から）	3 人	(3 人)
研究生	0 人	
外国人客員研究員	0 人	
技術職員（教務職員を含む）	0 人	
その他（技術補佐員等）	4 人	
合計	13 人	

2 教員の異動状況

- 北川 雅敏 (教授) (H12.10.1～現職)
丹伊田 浩行 (准教授) (H22.7.1～現職)
北川 恭子 (助教) (H13.3.1～19.3.31 助手 ; H19.4.1～現職)
大畑 樹也 (助教) (H24.9.1～現職)

3 研究業績

数字は小数 2 位まで。

	平成 27 年度	
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	4 編	(0 編)
そのインパクトファクターの合計	25.60	
(2) 論文形式のプロシーディングズ及びレター	1 編	
そのインパクトファクターの合計	3.55	
(3) 総説数（うち邦文のもの）	4 編	(0 編)
そのインパクトファクターの合計	14.09	
(4) 著書数（うち邦文のもの）	1 編	(0 編)
(5) 症例報告数（うち邦文のもの）	0 編	(0 編)
そのインパクトファクターの合計	0.00	

(1) 原著論文 (当該教室所属の者に下線)

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. Nakajima T, Kitagawa K, Ohhata T, Sakai S, Uchida C, Shibata K, Minegishi N, Yumimoto K, Matsumoto A, Nakayama KI, Masumoto K, Katou F, Niida H, Kitagawa, M: Regulation of GATA binding protein 2 levels via ubiquitin-dependent degradation by Fbw7: involvement of cyclin B-cyclin-dependent kinase 1-mediated phosphorylation of Thr176 in GATA binding protein 2. J Biol Chem 29: 10370-10381, 2015. 【分子生物学】 [4.573]
2. Ohhata T, Matsumoto M, Leeb M, Shibata S, Sakai S, Kitagawa K, Niida H, Kitagawa M, Wutz A: Histone H3 lysine 36 tri-methylation is established over the Xist promoter by antisense Tsix transcription and contributes to repressing Xist expression. Mol Cell Biol 35: 3909-3920, 2015. 【分子生物学】 [4.777]
3. Matsunuma R, Niida H, Ohhata T, Kitagawa K, Sakai S, Uchida C, Shiotani B, Matsumoto M, Nakayama KI, Ogura H, Shiiya N, Kitagawa M: UV Damage-Induced Phosphorylation of HBO1 Triggers CRL4^{DDDB2}-Mediated Degradation to Regulate Cell proliferation. Mol Cell Biol 36: 394-406, 2016. 【分子生物学】 [4.777]

インパクトファクターの小計 [14.127]

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

1. Johmura Y, Sun J, Kitagawa K, Nakanishi K, Kuno T, Naiki-Ito A, Sawada Y, Miyamoto T, Okabe A, Aburatani H, Li SF, Miyoshi I, Takahashi S, Kitagawa M Nakanishi M: SCF^{Fbxo22}-KDM4A target methylated p53 for degradation and regulate senescence. Nat Commun 7: 10574, 2016. 【分子生物学】 [11.470]

インパクトファクターの小計 [11.470]

(2-2) レター

1. Kitagawa M: Ubiquitin E3 Ligases as Molecular Targets or Tools for Advanced Cancer Therapy. Curr Cancer Drug Targets 16 (2): 100, 2016. 【分子生物学】 [3.522]

インパクトファクターの小計 [3.522]

(3) 総 説

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. Kitagawa K, Kitagawa M: The SCF-type E3 Ubiquitin Ligase as Cancer Targets. Curr Cancer Drug Targets 16 (2): 119-129, 2016. 【分子生物学】 [3.522]

2. Sakai S, Miyajima C, Uchida C, Itoh Y, Hayashi H, Inoue Y: Tribbles-Related Protein Family Members as Regulators or Substrates of the Ubiquitin-Proteasome System in Cancer Development. *Curr Cancer Drug Targets* 16 (2) : 147-156, 2016. 【分子生物学】 [3.522]

インパクトファクターの小計 [7.044]

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）

1. Uchida C, Kitagawa M: RING-, HECT-, and RBR-type E3 Ubiquitin Ligases: Involvement in Human Cancer. *Curr Cancer Drug Targets* 16: 157-174, 2016. 【分子生物学】 [3.522]
2. Masumoto K, Kitagawa M: E3 Ubiquitin Ligases as Molecular Targets in Human Oral Cancers. *Curr Cancer Drug Targets* 16: 130-135, 2016. 【分子生物学】 [3.522]

インパクトファクターの小計 [7.044]

(4) 著 書

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

1. Kotake Y, Kitagawa M: Regulation of pRB and p53 Pathways by the Long Noncoding RNAs *ANRIL*, *lincRNA-p21*, *lincRNA-RoR*, and *PANDA*. *Long Noncoding RNAs*, edited by Kurokawa R, Springer, 175-189, 2015. 【分子生物学】

4 特許等の出願状況

	平成 27 年度
特許取得数（出願中含む）	0 件

5 医学研究費取得状況

(万円未満四捨五入)

	平成 27 年度
(1) 科学研究費助成事業（文部科学省、日本学術振興会）	4 件 (820 万円)
(2) 厚生労働科学研究費	0 件 (0 万円)
(3) 日本医療研究開発機構(AMED)による研究助成	1 件 (765 万円)
(4) 科学技術振興機構(JST) による研究助成	0 件 (0 万円)
(5) 他政府機関による研究助成	0 件 (0 万円)
(6) 財団助成金	1 件 (200 万円)
(7) 受託研究または共同研究	0 件 (0 万円)
(8) 奨学寄附金	0 件 (0 万円)

(1) 科学研究費助成事業（文部科学省、日本学術振興会）

1. 北川雅敏（代表者） 挑戦的萌芽研究 H26-H27年度「癌幹細胞の形成、維持に機能する長鎖ノンコーディングRNAの同定」H27年度140万円（継続）

2. 北川雅敏(代表者) 松本雅記 基盤研究(B) H25-H27 年度「DNA 障害応答とシグナル伝達をクロストークする新規分子機構の解明」 H27 年度 380 万円 (継続)
3. 北川恭子(代表者) 基盤研究(C) H27-H29 年度 「ユビキチンリガーゼ Fbw7 の炎症反応調節機能」 H27 140 万円 (新規)
4. 大畑樹也 (代表者) 若手研究 (B) H26-H27 年度 「X 染色体不活性化に必要な Xist 機能付加因子及びリプログラミング因子の同定」 H26 年度 160 万円 (継続)

(3) 日本医療研究開発機構 (AMED) による研究助成

1. 北川雅敏(分担者) 厚生労働省 B型肝炎創薬実用化等研究事業「B型肝炎ウイルスの完全排除等、完治を目指した新規治療法の開発に関する包括的研究」(研究代表者:東京大学医学部 感染制御学 森屋恭爾) H27 年度北川分担金 765 万円

(6) 財団助成金

1. 北川雅敏 (代表者) 高松宮妃癌研究基金 H27 年度研究助成金 「肝がん細胞の運命を制御する新規長鎖 non-coding RNA」 200 万円

6 新学術研究などの大型プロジェクトの代表, 総括

7 学会活動

	国際学会	国内学会
(1) 特別講演・招待講演回数	0 件	0 件
(2) シンポジウム発表数	0 件	0 件
(3) 学会座長回数	0 件	0 件
(4) 学会開催回数	0 件	0 件
(5) 学会役員等回数	0 件	3 件
(6) 一般演題発表数	2 件	

(1) 国際学会等開催・参加

5) 一般発表

ポスター発表

1. Tatsuya Ohhata: Histone H3 lysine 36 tri-methylation is established over the *Xist* promoter by antisense *Tsix* transcription and has a role in preventing *Xist* expression. International Symposium on Non-coding DNA and Chromosomal Integrity. 7th of August, 2015, Awaji-shi, Hyogo-ken, JAPAN.
2. Hiroyuki Niida: DDB2-dependent HBO1 recruitment is required for efficient repair of UV-induced cyclobutane pyrimidine dimmer. IMB conference, 2015 May, University of MAINZ. (ドイツ)

(3) 役職についている国際・国内学会名とその役割

北川雅敏：日本生化学会 評議員、日本癌学会 評議員、日本細胞生物学会 評議員

8 学術雑誌の編集への貢献

	国内	外国
学術雑誌編集数（レフリー数は除く）	0件	0件

(1) 国内の英文雑誌等の編集

(2) 外国の学術雑誌の編集

(3) 国内外の英文雑誌のレフリー

北川雅敏：5回 Nat Commun（英国）, Carcinogenesis（米国）, PLoS ONE（米国）, Mol. Ther.（米国）, JB（日本）.

丹伊田浩行：1回 JB（日本）

大畑樹也：2回 Stem Cell and Development（米国）, Journal of Human Genetics（米国）.

9 共同研究の実施状況

	平成27年度
(1) 国際共同研究	1件
(2) 国内共同研究	7件
(3) 学内共同研究	2件

(1) 国際共同研究

Anton Wutz（ケンブリッジ大学/英国、ETH/スイス）: X染色体不活性機構の解析

(2) 国内共同研究

中山敬一、松本雅記（九大）: KOマウスを用いた疾患発症機構の解析

増殖因子シグナリングの制御機構の解析

複製ライセンシング機構の解析

塩谷文章（広大）: 複製ライセンシング機構の解析

西谷秀男（兵庫県立大）: 複製ライセンシング機構の解析

荻朋男（長崎大学）: ヌクレオチド除去修復機構の解析

森脇真一（大阪医科大学）: ヌクレオチド除去修復機構の解析

木村宏（東京工業大学）: 条件的ヘテロクロマチン形成機構の解析

関田洋一（北里大学）: 条件的ヘテロクロマチン形成機構の解析

(3) 学内共同研究

須田隆文（2内）: 細胞癌化、間質性肺炎発症メカニズムの研究

鈴木哲朗、伊藤昌彦（感染症）: HBVの複製に関与するノンコーディングRNAの解析

10 産学共同研究

	平成27年度
産学共同研究	0件

11 受賞

12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

1. SCF-Fbw7 ユビキチンリガーゼの新規標的の探索

SCF-Fbw7 ユビキチンリガーゼは白血病や乳がん細胞等で変異している癌抑制遺伝子として注目されている。c-Myc, c-Jun, c-fos, Notch, cyclin E などの増殖関連因子を分解の標的としている事が報告されているが、SCF-Fbw7 の機能の全容はまだ明らかとはいえない。これまでの研究で我々は血球系細胞の増殖・分化に重要な転写因子の一つである c-Myb (Kitagawa et al, Oncogene 2009)、GATA3 (Kitagawa et al, Mol Cell Biol 2014)が新たな SCF-Fbw7 の標的である事を報告した。最近我々は、SCF-Fbw7 の新規標的として血液系転写因子 GATA2 を見出した。さらに、Cyclin B-CDK1 による GATA2 の Thr176 のリン酸化が Fbw7 との結合の引き金となり、GATA2 が Fbw7 によりユビキチン依存的分解を受けることを見いだした。Fbw7 ノックアウトマウスの解析により、この Fbw7 依存的な GATA2 の分解機構は造血幹細胞の分化制御に関与していることが明らかになった (Nakajima et al. J Biol Chem 2015)。

(北川恭子、中嶋友美 (口外)、北川雅敏)

2. DNA 複製の新規制御機構の解析

真核生物の DNA 複製制御機構は生命現象の基盤メカニズムであり、その解明は極めて重要である。我々は DNA 障害時において pre-replication complex の co-factor として機能する histone acetyltransferase (HAT)の抑制機構について解析を行った。この HAT は紫外線照射により DNA ダメージチェックポイントによるリン酸化を受け分解されることが明らかとなった。分解にはヌクレオチド除去修復に関わる CRL^{DDb2} がユビキチン化修飾を行うことも明らかにした。この DNA 損傷に応答した分解機構はヒストンアセチル化を抑制し細胞周期を G1 期に停止させるために重要であることを証明した。

(Matsunuma et al. Mol. Cell Biol. 2015)

(丹伊田浩行、松沼亮一 (1 外)、北川雅敏)

3. X 染色体不活性化機構の解析

X 染色体不活性化は X 連鎖遺伝子量を性差間で補償するために、雌の二本ある X 染色体のうち一本が不活性化する現象であり、エピジェネティクス研究の重要なモデルの一つである。X 染色体不活性化は非コード RNA である *Xist* によって開始される。*Tsix* は *Xist* のアンチセンス RNA であり、*Xist* の発現をシスに抑制し X 染色体不活性化(XCI)の開始を制御する。H3K36me3 修飾は転写の伸張に伴い導入され、転写伸張領域のスプライシングや、疑似プロモーター配列からの発現抑制に関与していると考えられている。本研究では、*Tsix* による *Xist* の抑制に、H3K36me3 修飾が機能的に関与しているかを検討した。結果、*Tsix* の転写に伴う *Xist* プロモーター周辺への H3K36me3 修飾の導入が観察された。さらに、ヒストン修飾の優性阻害変異体であるヒストン H3.3 K36M を強制発現し、細胞内の K36 メチル化酵素の酵素活性を特異的に阻害したところ、*Xist* 発現の部分的な脱抑制が観察された。これらの事より、*Tsix* は *Xist* プロモーター周辺に H3K36me3 修飾を導入し、それが *Xist* の発現を機能的に抑制している事を明らかにし、発表した (Ohhata et al. Mol Cell Biol 2015)。

さらに、*Tsix* の発現誘導可能なエピブラスト幹細胞を樹立した。現在その細胞を用いて各種ヒストン修飾や転写因子の ChIP アッセイなどを用いて *Tsix* の分子機構の解析を行っている。また、今後 X 染色体不活性化機構に関与する分子の機能的単離、X 染色体不活性化と発癌との関わり等、重要な研究テーマを遂行するための幹細胞の樹立、実験マウスの導入、繁殖、系統維持及び新たな系統の作製

を引き続き行っている。

(大畑樹也、北川雅敏)

4. HBV 複製に関与するノンコーディング RNA の探索

HBV の再活性化や HBV が原因となる肝がんの発生機構は不明の点が多い。そこで我々は HBV 複製に関与するノンコーディング RNA の探索を本学感染症学講座と共同で行っている。その結果、HBV 複製が作動することに伴って発現が変動する長鎖ノンコーディング RNA(lncRNA)を見いだした。現在、この lncRNA の機能と発現誘導機構を解析中である。

(大畑樹也、酒井聡、鈴木哲朗 (感染症)、伊藤昌彦 (感染症)、北川雅敏)

13 この期間中の特筆すべき業績、新技術の開発

1. 細胞周期の新規制御機構の解明：

上記 12-2 の論文 Matsunuma et al. *Mol. Cell Biol.* 2015 では、DNA 障害によりヒストンアセチル化酵素 HBO1 がリン酸化されて、クロマチンのアセチル化を促進する。その後は E3 リガーゼ CRL4-DDB2 によって HBO1 がユビキチン依存分解を受け、細胞増殖の停止制御に関わることを見いだした。また、名古屋市立大学との共同研究論文 Johmura et al *Nat Commun* 2016 では、Fbxo22 が p53 の新規ユビキチンリガーゼとして機能し、老化を負に制御していることを見いだした。これらの成果は、DNA 障害応答と細胞増殖制御および老化機構のクロストークの分子機構として新たな概念をもたらし、その学術的意義は大きいと考えられる。

2. 長鎖ノンコーディング RNA(lncRNA)を介した細胞運命制御の分子機構の解明

上記 12-3 の論文 Ohhata et al. *Mol Cell Biol* 2015 では、X 染色体の活性制御に関与する長鎖 ncRNA である *Xist* のアンチセンスである *Tsix* による *Xist* の転写抑制機構をエピジェネティックな観点から明らかにした。この成果は、X 染色体不活性化制御機構の解析に留まらず、広くアンチセンス lncRNA の作用機構の理解に繋がると考えられる。

14 研究の独創性、国際性、継続性、応用性

我々は長年にわたりユビキチンシステムの研究を継続してきた。昨年度は、血液系転写因子 GATA3 が CDK2 によるリン酸化が引き金となり、ユビキチンリガーゼ SCF-Fbw7 によって認識され、ユビキチン依存的な分解制御を受けていること、それが T 細胞分化に重要であることを見いだした (Kitagawa et al. *Mol Cell Biol* 2014)。本年度は同じ GATA ファミリーの転写因子 GATA2 がサイクリン B-CDK1 によってリン酸化されることにより SCF-Fbw7 によって認識され、ユビキチン依存的な分解制御を受けていること、それが造血幹細胞の分化制御に重要であることを見いだした (Nakajima et al. *J Biol Chem* 2015)。興味深いことにほとんどの Fbw7 の基質は GSK3 によるリン酸化が引き金となるが、GATA ファミリーはサイクリン依存性キナーゼによるリン酸化が引き金となる。このことは GATA ファミリーが細胞周期依存的に分解されることを意味し興味深い。これらの研究成果は、ユビキチンシステムの生理機能および分解制御機構の全容解明に一石を投じるものと考えている。

15 新聞、雑誌等による報道