

生化学第一

1 構成員

	平成19年3月31日現在
教授	1人
助教授	1人
講師（うち病院籍）	0人（0人）
助手（うち病院籍）	2人（0人）
医員	0人
研修医	0人
特別研究員	2人
大学院学生（うち他講座から）	7人（4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）	2人
合 計	15人

2 教員の異動状況

- 北川 雅敏（教授）（H12. 10. 1～現職）
 小田 敏明（助教授）（H3. 8. 1～現職）
 内田 千晴（助手）（H2. 4. 1～現職）
 北川 恭子（助手）（H13. 3. 1～現職）

3 研究業績

数字は小数2位まで。

	平成18年度
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	6編（0編）
そのインパクトファクターの合計	35.38
(2) 論文形式のプロシーディングズ数	0編
(3) 総説数（うち邦文のもの）	2編（2編）
そのインパクトファクターの合計	0
(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

(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. Gao, Y., Kitagawa, K., Hiramatsu, Y., Kikuchi, H., Isobe, T., Shimada, M., Uchida, C., Hattori,

T., Oda, T., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Tanaka, T., Konno, H. and Kitagawa, M.: Up-regulation of GPR48 induced by down-regulation of p27^{Kip1} enhances carcinoma cell invasiveness and metastasis. *Cancer Research* 66(24):11623-11631, 2006..

2. Hiramatsu, Y., Kitagawa, K., Suzuki, T., Uchida, C., Hattori, T., Kikuchi, H., Oda, T. Hatakeyama, S., Nakayama K.I., Yamamoto, T., Konno, H. and Kitagawa, M.: Degradation of Tob1 mediated by SCF^{Skp2}-dependent ubiquitination. *Cancer Research* 66: 8477-8483, 2006.

インパクトファクターの小計 [15.23]

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. Kono, S., Suzuki, H., Oda, T., Miyajima, H., Takahashi, Y., Shirakawa, K., Ishikawa, K., and Kitagawa, M.: Biochemical features of ceruloplasmin gene mutations linked to aceruloplasminemia. *Neuromolecular Med.* 8(3):361-374, 2006..
2. Li, S., Gao, Y., Tokuyama, T., Yamamoto, J., Yokota, N., Yamamoto, S., Terakawa, S., Kitagawa, M. and Namba, H.: Genetically engineered neural stem cells migrate and suppress glioma cell growth at distant intracranial sites. *Cancer Letters*, 251 (2): 220-227, 2007.

インパクトファクターの小計 [7.12]

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. Takemura, M., Yoshida, S., Akiyama, T., Kitagawa, M., Yamada, Y.: Role of the second-largest subunit of DNA polymerase α in the interaction between the catalytic subunit and hyperphosphorylated retinoblastoma protein in late S phase. *Biochem. Biophys. Acta* 1764: 1447-1453, 2006.
2. Inoue, Y., Kitagawa, M. and Taya, Y.: Phosphorylation of pRB at Ser612 by Chk1/2 leads to a complex between pRB and E2F-1 after DNA damage. *EMBO J.* 26:2083-2093, 2007

インパクトファクターの小計 [13.03]

(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. 服部隆行, 北川雅敏 ユビキチンシステムによる細胞周期制御 「細胞周期集中マスター(北川雅敏編)」 羊土社 105-113, 2006
2. 北川雅敏 p53およびRB蛋白質のプロテアソーム依存的分解機構 「ユビキチン-プロテアソーム系とオートファジー(田中啓二, 大隅良典編)」共立出版 蛋白質核酸酵素 51 1376-1381, 2006

インパクトファクターの小計 [0.00]

(4) 著 書

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. 北川雅敏 編集 細胞周期集中マスター 羊土社 2006

4 特許等の出願状況

	平成18年度
特許取得数（出願中含む）	0件

5 医学研究費取得状況

	平成18年度
(1) 文部科学省科学研究費	7件 (1500万円)
(2) 厚生科学研究費	1件 (500万円)
(3) 他政府機関による研究助成	0件 (0万円)
(4) 財団助成金	0件 (0万円)
(5) 受託研究または共同研究	0件 (0万円)
(6) 奨学寄附金その他（民間より）	0件 (0万円)

(1) 文部科学省科学研究費

- 北川雅敏（代表者），北川恭子，内田千晴，小田敏明 特定領域研究「p53標的遺伝子Pirh2の新たなユビキチン化標的分子とがん化との関連」540万円（継続）
- 北川雅敏（代表者），内田千晴，北川恭子，小田敏明，服部隆行 萌芽研究「個体レベルでの細胞周期のリアルタイムイメージングの試み」130万円（継続）
- 小田敏明（代表者），北川雅敏，内田千晴 特定領域研究「タンパク質の誤局在，過剰産生ストレスに対する膜構造変化を伴う細胞応答」290万円（継続）
- 小田敏明（代表者），北川雅敏，内田千晴 基盤研究（C）「過剰産生タンパク質のユビキチン化と誘導性小胞体膜構造物による囲い込み」100万円（継続）
- 内田千晴（代表者），北川雅敏，服部隆行 基盤研究C（新規）「新規ユビキチンリガーゼによるCDK阻害蛋白質p27kip1の分解と癌化との関連」170万円（継続）
- 北川恭子（代表者），北川雅敏 基盤研究（C）「新しい癌の分子標的としてのp27発現量低下応答遺伝子の解析」100万円（継続）
- 服部隆行（代表者）若手研究（B）「CDK阻害蛋白質p27Kip1の新規ユビキチンリガーゼの細胞癌化への関与」170万円（継続）

(2) 厚生科学研究費

北川雅敏（分担者），第3次対がん総合戦略事業「細胞周期関連蛋白質の分解制御機構に関する研究」500万円 代表者 国立がんセンター研究所 田矢洋一

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	4件	1件

(3) 学会座長回数	0件	1件
(4) 学会開催回数	0件	0件
(5) 学会役員等回数	0件	1件
(6) 一般演題発表数	11件	

(1) 国際学会等開催・参加

3) 国際学会・会議等でのシンポジウム発表

1. WANG W., AMENO K., JAMAL M., KUMIHASHI M., UEKITA I., ISSE T., KAWAMOTO T., KITAGAWA K., NAKAYAMA K. and IJIRI I.: Ethanol metabolism in ALDH2 knock mouse-blood acetate levels the 8th International Symposium of Aldh2 Knockout Mouse Research (Fukuoka) 2007 Jan.
2. AMENO K., WANG W., JAMAL M., KUMIHASHI M., UEKITA I., ISSE T., KAWAMOTO T., KITAGAWA K., NAKAYAMA K. and IJIRI I.: gender difference of ethanol elimination in ALDH2 knock mouse the 8th International Symposium of Aldh2 Knockout Mouse Research (Fukuoka) 2007 Jan.
3. KUNUGITA N., ISSE T., OYAMA T., KITAGAWA K., OGAWA M., YAMAGUCHI T., KINAGA T. and KAWAMOTO T.: increased frequencies of micronucleated reticulocytes and T-cell receptor mutation in Aldh2 knockout mice exposed to acetaldehyde the 8th International Symposium of Aldh2 Knockout Mouse Research (Fukuoka) 2007 Jan.
4. WANG RS., OHTANI K., SUDA M., KITAGAWA K., NAKAYAMA K., KAWAMOTO T. and NAKAJIMA T.: Metabolism and toxicity of ethylene glycol monoethyl ether in Aldh2 knockout mice the 8th International Symposium of Aldh2 Knockout Mouse Research (Fukuoka) 2007 Jan.

5) 一般発表

口頭発表

1. KITAGAWA M.: Up-regulation of GPR48 induced by down-regulation of p27Kip1 enhances carcinoma cell invasiveness and metastasis. 2nd International Workshop on Cell Regulations in Division and Arrest (Okinawa) 2007 Mar.

ポスター発表

1. KITAGAWA K., HIRAMATSU Y., SUZUKI T., UCHIDA C., HATTORI T., KIKUCHI H., ODA T., NAKAYAMA K., YAMAMOTO T., KONNO H. and KITAGAWA M.: Tob1 is a novel target for degradation by the SCF^(Skp2) ubiquitin ligase 2nd International Workshop on Cell Regulations in Division and Arrest (Okinawa) 2007 Mar.
2. UCHIDA, C., MIWA S., KITAGAWA K., HATTORI T., ISOBE T., ODA T., and KITAGAWA M.: Regulation of RB function by Mdm2 and MdmX via proteasome-dependent degradation 2nd International Workshop on Cell Regulations in Division and Arrest (Okinawa) 2007 Mar.

3. UCHIDA, C., MIWA S., ISOBE T., KITAGAWA K., HATTORI T., ODA T., YASUDA H. and KITAGAWA M.: Effects of MdmX on Mdm2-mediated down-regulation of pRB. **20th IUBMB International Congress of Biology and Molecular Biology and 11th FAOBMB congress** (Kyoto) 2006 Jun
4. ISOBE T., UCHIDA, C., HATTORI T., KITAGAWA K., ODA T., and KITAGAWA M.: Function of BS69 in the modulation of ubiquitin-dependent degradation of E1A **20th IUBMB International Congress of Biology and Molecular Biology and 11th FAOBMB congress** (Kyoto) 2006 Jun
5. SUZUKI S., FUKASAWA H., KITAGAWA K., TOGAWA A., OHASHI N., ODA T., UCHIDA, C., HATTORI T., NAKAYAMA K., YAMAMOTO T., HISHIDA A., and KITAGAWA M.: Analysis of Skp2 function in experimental nephritis using Skp2 knockout mice **20th IUBMB International Congress of Biology and Molecular Biology and 11th FAOBMB congress** (Kyoto) 2006 Jun
6. HATTORI T., ISOBE T., ABE K., KIKUCHI H., UCHIDA, C., ODA T., KITAGAWA K. and KITAGAWA M.: Isolation and functional analysis of novel ubiquitin ligase for the CDK inhibitor p27*Kip1* **20th IUBMB International Congress of Biology and Molecular Biology and 11th FAOBMB congress** (Kyoto) 2006 Jun
7. GAO Y., KITAGAWA K., HIRAMATSU Y., ISOBE T., KIKUCHI H., HATTORI T., UCHIDA, C., ODA T. and KITAGAWA M.: A gene associated with tumor invasion and metastasis, which is induced by p27-downregulation **20th IUBMB International Congress of Biology and Molecular Biology and 11th FAOBMB congress** (Kyoto) 2006 Jun
8. ODA T., HATTORI T., KITAGAWA K., UCHIDA, C., YOKOTA S. and KITAGAWA M.: Induction of novel endoplasmic reticulum membrane structure by the overproduction and inappropriate localization of proteins **20th IUBMB International Congress of Biology and Molecular Biology and 11th FAOBMB congress** (Kyoto) 2006 Jun
9. ABE K., HATTORI T., ISOBE T., KIKUCHI H., UCHIDA, C., KITAGAWA K., ODA T. and KITAGAWA M.: Functional analysis of ubiquitination of SR β by a RING finger type ubiquitin ligase **20th IUBMB International Congress of Biology and Molecular Biology and 11th FAOBMB congress** (Kyoto) 2006 Jun
10. HIRAMATSU Y., KITAGAWA K., UCHIDA, C., HATTORI T., KONNO H. and KITAGAWA M.: A novel target protein for degradation by the SCF (Skp2) ubiquitin ligase **20th IUBMB International Congress of Biology and Molecular Biology and 11th FAOBMB congress** (Kyoto) 2006 Jun

(2) 国内学会の開催・参加

3) シンポジウム発表

1. 北川雅敏 「細胞周期調節因子のユビキチン依存的発現量制御機構と癌」日本分子生物学会 2006フォーラム (名古屋) 2006 12月

4) 座長をした学会名

日本分子生物学会2006フォーラム（名古屋）2006 12月

(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 日本生化学会評議委員

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

(3) 国内外の英文雑誌のレフリー

北川雅敏 計8回 Cancer Research 1回(米国), Oncogene 2回(英国), Journal of Pathology 1回(米国), Neuroscience Letters 1回(米国), Cancer Science 1回(日本), Journal of Biochemistry 1回(日本), Genes to Cells 1回(日本),

北川恭子 計1回 Clinica Chimica Acta 1回(オランダ)

9 共同研究の実施状況

	平成18年度
(1) 国際共同研究	0件
(2) 国内共同研究	5件
(3) 学内共同研究	4件

(1) 国内共同研究

中山敬一（九大），中山啓子（東北大） Skp2/p27経路を介した細胞悪性化機構

上條岳彦（信州大） Mdm2の細胞がん化能の解析

林 秀敏（名市大） TGF-β-Smad 系におけるユビキチンシステムの関与

早川摩紀男（東京薬科大） FGD蛋白の分解機構

横田貞記（山梨大・医） 蛋白質過剰産生による誘導性小胞体膜構造物に関する研究

(2) 学内共同研究

中村悟己（3内） 血液細胞分化因子の発現制御機構

山本龍夫，菱田明（1内） TGF-β-Smad系を介した腎炎発症の分子機構

今野弘之（2外） 細胞周期制御因子の異常を介した消化器腫瘍形成および転移亢進の研究

宮嶋裕明（1内） C末欠損型変異セルロプラスミンの細胞内移行と細胞応答

10 産学共同研究

	平成18年度
産学共同研究	1件

1. 安田秀世（日本製粉） Mdm2/MdmXの機能とその制御機構の解析

12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

1. 癌抑制遺伝子産物Tob1の分解機構の研究

ユビキチン-プロテアソームシステムは特異的蛋白質分解機構として細胞周期調節因子や癌関連核内因子等、細胞内の多くの機能分子の量的制御に関与している。その特異性はユビキチンリガーゼ (E3) の基質認識によって保証され、ユビキチン化された基質分子は巨大分解工場であるプロテアソームで速やかに分解される。癌遺伝子産物においてそのE3遺伝子の変異等による安定性の増大が細胞悪性化の原因となる。一方で癌抑制遺伝子産物はE3の高発現等による分解亢進がその原因となる。

我々は癌抑制遺伝子産物Tob1のE3を同定に成功した。Tob1はサイクリンD1のプロモーター活性を抑制し、G1-S進行を負に制御している。これまでTob1はユビキチン-プロテアソーム経路により分解されることは知られていたが、そのE3は不明であった。我々は、Skp2がTob1と結合し、Tob1のユビキチン化を促進することを見いだした。Skp2のノックダウンによりTob1が安定化して、サイクリンD1の発現が抑制されることからSCF-Skp2がTob1のE3であることが明らかになった (Hiramatsu et al. *Cancer Res* 66, 2006)。サイクリンD1-Cdk4活性はCDK阻害タンパク質p27によって阻害的に制御されているが、SCF-Skp2はこのp27の分解を通じてサイクリンD1-Cdk4活性化に寄与する一方で、Tob1の分解を介してサイクリンD1の発現を誘導しサイクリンD1-Cdk4活性化を促進している。

(平松良浩, 北川恭子, 北川雅敏)

2. CDK阻害タンパク質p27の発現低下によって誘導される転移促進遺伝子の研究

高転移癌に代表される予後不良の癌においてp27の分解亢進が広く報告されているがp27の発現低下と癌の悪性化とをつなぐ分子メカニズムは不明である。我々は、p27発現低下のモデル細胞 (p27-hKO) を樹立し、マイクロアレイによりp27-hKOで発現が上昇している遺伝子GPR48を見出した。GPR48遺伝子の発現はp27ノックアウトおよびノックダウン細胞においても亢進していた。この遺伝子の強制発現により細胞の浸潤能および転移能に有意な亢進が見られ、ノックダウンにより抑制された。また、ヒトの大腸癌検体でGPR48の発現量とリンパ節転移が有意に相関した。よってGPR48はp27発現低下に伴って誘導される新たな転移促進遺伝子であることが明らかとなった (Gao et al. *Cancer Res* 66, 2006)。

(高 芸, 北川恭子, 北川雅敏)

3. サイクリンD1転写調節機構の研究

我々はARA54というアンドロゲン受容体結合蛋白質がRINGフィンガー構造をもつことに注目し、機能未知なこの蛋白質の機能解析を行い次の結果を得た。1) T98G等種々の培養癌細胞においてsiRNAによるARA54のノックダウンを行ったところ、タンパクおよびmRNAレベルでcyclin D1の発現が低下した。2) T98G細胞においてARA54をノックダウンしても、cyclin D1タンパク分解速度およびcyclin D1 mRNAの安定性への影響はみられなかった。3) T98G細胞においてARA54をノックダウンし、nuclear run-on assayを施行したところARA54の発現抑制に伴うcyclin D1遺伝子の転写活性の低下が見られた。4) T98G細胞にてARA54をノックダウンし、細胞周期および

細胞増殖の変化を観察したところ、ARA54の発現抑制によるS期への進行および細胞増殖の遅延が観察された。5) ヒト大腸癌臨床検体を用いた解析では、ARA54のmRNA発現と、cyclin D1 mRNAの発現との間に正の相関がみられた。

(菊池寛利, 内田千晴, 北川雅敏)

4. 蛋白質過剰産生による誘導性小胞体膜構造物に関する研究

小胞体膜酵素を培養細胞内に過剰発現させると特異膜構造物（クリスタロイド小胞体, cER）の形成が誘導されることはこれまで報告されていたが、我々はミトコンドリア移行型セリン：ピルビン酸アミノ転移酵素前駆体（SPT45K）の過剰発現でも同様の膜構造物の形成が誘導されることを見いだした。産物の発現量、細胞内分布、cER形成の有無について相互の関係を蛍光により解析したところ、cERを誘導していない細胞では、産物は本来の局在場所（ALDHでは小胞体膜、SPT45Kではミトコンドリア）のみに局在していたが、cERが誘導されている細胞では、産物が細胞全体（本来の局在場所+誘導されたcER+細胞質）に発現しており、その量もcERが誘導されていない細胞に比べ、格段に多かった。これらの結果より、細胞質のタンパク質の「質」「量」は細胞により厳密に監視され、その異常は特殊な小胞体（cER）の誘導により是正されるのではないかと考えられた。小胞体由来の特異膜構造物形成は細胞質におけるある種の（例えば、細胞にとって不都合な）タンパク質の認識・隔離機構である可能性が高いと考えている。

(小田敏明, 横田貞記¹, 北川雅敏) ¹山梨大

13 この期間中の特筆すべき業績、新技術の開発

1. 癌の新規分指標的の同定

上述したように、我々はこれまでTob1やp27, RBといった癌抑制活性を持つ蛋白質がユビキチン-プロテアソームシステムを介して量的制御されていることに注目し、ユビキチンリガーゼを同定してきた。癌抑制蛋白質のユビキチンリガーゼは癌抑制蛋白質を分解に導く癌遺伝子としての性質を有しており癌の新規分子標的と考えられる。これらをターゲットとした癌の診断, 治療への展開が期待される。また一方で我々は、GPR48が癌転移促進活性を持つことを見だし、GPR48をターゲットとした癌転移診断, 転移治療への展開が示唆された。

14 研究の独創性, 国際性, 継続性, 応用性

ユビキチン-プロテアソームシステムは特異的で積極的なタンパク質分解機構である。このシステムは増殖, 分化など細胞内の様々な生理機能を緻密に制御しており, このメカニズムの発見者3人に対し2004-5年度にノーベル賞が与えられたことからその重要性, 注目度の高さが伺える。我々はこのユビキチン-プロテアソームシステムに加え, 細胞周期, 癌をキーワードに先端的研究を実行してきた。そしてRBタンパク質, p27などの癌抑制遺伝子産物の分解のメカニズムを明らかにし, その分解の異常亢進が発癌や細胞の悪性癌形質獲得に繋がるメカニズムを示してきた。この成果は新たな癌の分子標的を見いだしたことを意味し, 診断や治療への展開も視野に入れて研究している。