

生化学第一

1 構成員

	平成20年3月31日現在
教授	1人
准教授	1人
講師（うち病院籍）	0人（0人）
助教（うち病院籍）	2人（0人）
助手（うち病院籍）	0人（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）	4人（2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	12人

2 教員の異動状況

- 北川 雅敏（教授）（H12. 10. 1～現職）
 小田 敏明（准教授）（H 3. 8. 1～H19. 3. 31 助教授；19. 4. 1～現職）
 内田 千晴（助教）（H 2. 4. 1～H19. 3. 31 助手；19. 4. 1～現職）
 北川 恭子（助教）（H13. 3. 1～H19. 3. 31 助手；19. 4. 1～現職）

3 研究業績

数字は小数2位まで。

	平成19年度
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	14編（0編）
そのインパクトファクターの合計	59.05
(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（1編）
そのインパクトファクターの合計	0.958
(4) 著書数（うち邦文のもの）	0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. Abe K, Hattori T, Isobe T, Kitagawa K, Oda T, Uchida C, Kitagawa M: Pirh2 interacts with and ubiquitylates signal recognition particle receptor beta subunit. *Biomed Res.* 29:53-60, 2008.
2. Hattori T, Isobe T, Abe K, Kikuchi H, Kitagawa K, Oda T, Uchida C, Kitagawa M: Pirh2 Promotes Ubiquitin-Dependent Degradation of the CDK Inhibitor p27Kip1. *Cancer Research* 67:10789-10795, 2007.
3. Suzuki S, Fukasawa H, Kitagawa K, Uchida C, Hattori T, Isobe T, Oda T, Misaki T, Ohashi N, Nakayama K, Nakayama KI, Hishida A, Yamamoto T, Kitagawa M: Renal damage in obstructive nephropathy is decreased in Skp2-deficient mice. *Am. J. Pathol.* 171:473-483, 2007.
4. Kikuchi H, Uchida C, Hattori T, Isobe T, Hiramatsu Y, Kitagawa K, Oda T, Konno H, Kitagawa M: ARA54 is involved in transcriptional regulation of the *cyclin D1* gene in human cancer cells. *Carcinogenesis* 28:1752-1758, 2007.

インパクトファクターの小計 [19.591]

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, Takahashi Y, Shirakawa K, Takahashi Y, Kitagawa M, Miyajima H: Cys-881 is essential for the trafficking and secretion of truncated mutant ceruloplasmin in aceruloplasminemia. *J. Hepatology* 47:844-850, 2007.
2. Kikuchi H, Yamamoto M, Hiramatsu Y, Baba M, Ohta M, Kamiya K, Tanaka T, Suzuki S, Sugimura H, Kitagawa M, Kanai T, Kitayama Y, Kanda T, Nishikura K, Konno H: Effect of loss of heterozygosity of the c-kit gene on prognosis after hepatectomy for metastatic liver gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Sci.* 98: 1734-1739, 2007.

インパクトファクターの小計 [9.807]

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. Hayakawa M, Matsushima M, Hagiwara H, Oshima T, Fujino T, Ando K, Kikugawa K, Tanaka H, Miyazawa K, Kitagawa M: Novel insights into FGD3, a putative GEF for Cdc42, that undergoes SCFFWD1/b-TrCP-mediated proteasomal degradation analogous to that of its homologue FGD1 but regulates cell morphology and motility differently from FGD1. *Genes to Cells* 13: 329-442 2008.
2. Kurata K, Yanagisawa R, Ohira M, Kitagawa M, Nakagawara A, Kamijo T: Stress via p53 pathway causes apoptosis by mitochondrial Noxa upregulation in doxorubicin-treated neuroblastoma cells. *Oncogene* 27: 741-754, 2008.
3. Kunugita N, Isse T, Oyama T, Kitagawa K, Ogawa M, Yamaguchi T, Kinaga T, Kawamoto T: Increased frequencies of micronucleated reticulocytes and T-cell receptor mutation in

- Aldh2 knockout mice exposed to acetaldehyde. *J Toxicol Sci.* 33(1):31-36, 2008.
4. Nishikawa T., Hagihara K., Serada S., Isobe T., Matsumura A., Song J., Tanaka T., Kawase T., Yoshizaki K.: Transcriptional complex formation of c-fos, STAT3 and HNFalpha is essential for cytokine driven CRP gene expression. *J Immunol* 180: 3492-3501, 2008.
 5. Ohoka N, Hattori T., Kitagawa M., Onozaki K, Hayashi H: Critical and functional regulation of CHOP (C/EBP homologous protein) through the N-terminal portion. *J Biol Chem.* 282: 35687-35694, 2007.
 6. Arakawa T, Yamamura T, Hattori T., Hayashi H, Mori A, Yoshida A, Uchida C., Kitagawa M., Onozaki K: Contribution of Extracellular Signal-Regulated Kinases to the IL-1-induced Growth Inhibition of Human Melanoma Cells A375. *International Immunopharmacology* 8: 80-89, 2007.
 7. Wang RS, Ohtani K, Suda M, Kitagawa K., Nakayama K, Kawamoto T, Nakajima T: Reproductive toxicity of ethylene glycol monoethyl ether in Aldh2 knockout mice. *Ind Health* 45: 574-8, 2007.
 8. Matsuda T, Matsumoto A, Uchida M, Kanaly RA, Misaki K, Shibutani S, Kawamoto T, Kitagawa K., Nakayama KI, Tomokuni K, Ichiba M: Increased formation of hepatic N2-ethylidene- 2'-deoxyguanosine DNA adducts in aldehyde dehydrogenase 2-knockout mice treated with ethanol. *Carcinogenesis* 28:2363-2366, 2007.

インパクトファクターの小計 [29.652]

(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. 北川雅敏 ユビキチン-プロテアソームと細胞周期 ニューサイエンス社「細胞」40, 42-46
105-113, 2006

インパクトファクターの小計 [0.00]

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. Fukasawa H, Yamamoto T, Kitagawa M., Hishida A: Regulation of TGF-beta signaling by Smads and its roles in tissue fibrosis. *Current signal transduction therapy* 3: 1-6, 2008.

インパクトファクターの小計 [0.958]

4 特許等の出願状況

	平成19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19年度
(1) 文部科学省科学研究費	5件 (3,370万円)
(2) 厚生科学研究費	0件 (0万円)
(3) 他政府機関による研究助成	0件 (0万円)
(4) 財団助成金	1件 (40万円)
(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), 渡邊信元 特定領域研究「ユビキチンシステムによる細胞周期制御」1580万円 (新規)
- 北川雅敏 (代表者) 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」560万円 (継続)
- 北川雅敏 (代表者) 基盤研究 (B)「p27低下で誘導される癌転移亢進遺伝子の機能解析と医学的応用」820万円 (新規)
- 内田千晴 (代表者), 北川雅敏 基盤研究C「ユビキチン (様) 修飾によるDNA複製・修復の制御とがん化との関連」180万円 (新規)
- 北川恭子 (代表者), 北川雅敏 基盤研究 (C)「癌悪性化に関与するGPR48の新規分子標的としての評価」230万円 (新規)

(4) 財団助成金

- 内田千晴 (財) 金原一郎記念医学医療振興財団 第22回基礎医学医療研究助成金「癌治療を目指したRBタンパク質分解の特異的阻害法の開発」40万円

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	6件
(3) 学会座長回数	0件	2件
(4) 学会開催回数	0件	1件
(5) 学会役員等回数	0件	2件
(6) 一般演題発表数	1件	

(1) 国際学会等開催・参加

5) 一般発表

ポスター発表

- Kitagawa M., Gao Yun and Kitagawa K.: Up-regulation of GPR48 induced by down-regulation of p27^{Kip1} enhances carcinoma cell invasiveness and metastasis. 5th International Symposium on Receptor Mechanisms, signal transduction and Drug Effects: 2007 May 10-11.

Japan

(2) 国内学会の開催・参加

1) 主催した学会名

北川雅敏, シンポジウム「Nuclear signaling JAPAN 2007」2007年7月13日（東京丸の内）

3) シンポジウム発表

1. 北川雅敏: Ubiquitin dependent degradation of p27Kip1: Mechanisms and disease BMB2007 (日本分子生物学会 日本生化学会合同大会) ワークショップ「細胞増殖停止と生命現象」2007年12月12日 (横浜)
2. 北川雅敏: 癌が悪化するしくみ 第12回静岡健康・長寿フォーラム 2007年10月19日 (静岡)
3. Kitagawa M, Hiramatsu Y, Konno H: Novel mechanisms of Cyclin D1 expression. ワークショップ「Cell cycle regulation」日本癌学会学術総会 2007年10月5日 (横浜)
4. 北川雅敏: 癌関連核内因子のユビキチン依存的制御機構 シンポジウム「Nuclear signaling JAPAN 2007」2007年7月13日 (東京丸の内)
5. 小田敏明, 服部隆行, 北川恭子, 内田千晴, 横田貞記, 北川雅敏: 誘導性小胞体膜構造物による培養細胞内過剰発現蛋白質の質と量の認識. (第40回日本発生生物学会・第59回日本細胞生物学会 合同大会) ワークショップ「タンパク質の一生」2007年5月28日 (福岡)
6. 小田敏明, 服部隆行, 磯部智康, 北川恭子, 内田千晴, 横田貞記, 北川雅敏: 細胞質タンパク質の質と量に依存した特異小胞体膜構造物の誘導. (第30回日本分子生物学会・第80回日本生化学会 合同大会) ワークショップ「タンパク質の品質管理とオルガネラダイナミクス」2007年12月12日 (横浜)

4) 座長をした学会名

1. 北川雅敏: シンポジウム「Nuclear signaling JAPAN 2007」2007年7月13日 (東京丸の内)
2. 竹内隆 北川雅敏: BMB2007 (日本分子生物学会 日本生化学会合同大会) ワークショップ「細胞増殖停止と生命現象」2007年12月12日 (横浜)

(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, 日本癌学会評議委員

8 学術雑誌の編集への貢献

	国内	外国
学術雑誌編集数 (レフリース数は除く)	0件	0件

(3) 国内外の英文雑誌のレフリース

Masatoshi Kitagawa: Mol Cell (USA) 1回, Mol Cell Biol (USA) 1回, Cancer Res (USA) 3回, Oncogene (Eng) 1回, Cell Death Diff (USA) 1回, J Biochem (Jpn) 1回, Cancer Sci (Jpn) 3回, Gene Cell (Jpn) 2回

9 共同研究の実施状況

	平成19年度
(1) 国際共同研究	0件
(2) 国内共同研究	4件
(3) 学内共同研究	3件

(2) 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

(3) 学内共同研究

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19年度
産学共同研究	2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
2. 竹内隆 (三菱生命研) Cyclin D1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. 腎炎進行におけるp27の分解因子Skp2の関与

我々は腎炎発症に関与するユビキチンリガーゼの同定を片側の尿管を結紮して腎障害の発症させるUUOモデルを用い, 定量的RT-PCR法によって半網羅的に行なった。その結果, Skp2とCks1の発現が腎炎進行に伴って著明に増加することを見いだした。Skp2とCks1は協力してCDK阻害タンパク質p27を基質として認識し, ユビキチン依存的分解を実行する特異的因子である。我々はSkp2/Cks1によるp27の分解制御と腎炎との関係を明らかにするため, Skp2ノックアウトマウス (Skp2-KO) を用いて腎炎進行状態を解析した。その結果, Skp2-KOマウスはコントロールマウスに比べて腎炎進行に従い尿細管の拡張と線維化が阻害され, 腎炎の進行が著明に抑制されることが判明した。腎炎進行に際し尿細管上皮細胞の増殖を伴う尿細管拡張が起こるが, Skp2-KOではp27の蓄積と尿細管上皮細胞の分裂阻害を認めた。Skp2は尿細管上皮細胞におけるp27の分解因子として腎炎進行に重要な働きをしていることが明らかになった (Suzuki *et al. Am J Pathol* 2007)。

(鈴木小由里, 深澤洋敬, 山本龍夫, 菱田明, 北川雅敏)

2. CDK阻害タンパク質p27の新たな分解因子Pirh2の同定

高転移癌に代表される予後不良の癌においてCDK阻害タンパク質p27の分解亢進が広く報告されておりその分解機構の全容の解明は重要である。我々はp27をbaitとして酵母two-hybrid法を行った結果、新規p27結合分子として、Pirh2を同定した。Pirh2はRING型ユビキチンリガーゼとしてin vitro, in vivoの系でp27と結合しユビキチン化することがわかった。Pirh2のノックダウンによりp27は安定化した。さらにPirh2ノックダウン細胞の同調実験により、Pirh2ノックダウンによりp27がG1期で安定化し、細胞周期のG1/S進行が抑制されることがわかった。以上よりPirh2はG1/Sを制御するp27の新たなユビキチンリガーゼであることが証明された (Hattori *et al. Cancer Res*, 2007)。

(服部隆行, 磯部智康, 北川雅敏)

3. Pirh2の新たなユビキチン化標的の同定

Pirh2はRINGフィンガードメインを持つユビキチンリガーゼであり、我々の見いだした上記のp27の他、p53等、細胞周期、転写、メンブレントラフィックに参与する分子がユビキチン化ターゲット基質として報告されている。このようにPirh2は生体内で様々な生理活性機能を持つ、極めて重要な分子であると考えられた。そこで、我々はこのPirh2の新たな基質を見つけるために、Pirh2をbaitとして酵母two-hybrid法を行った結果、Pirh2新規結合分子として、分泌蛋白質合成に参与している小胞体膜蛋白質であるSRbetaを同定した。Pirh2とSRbetaは動物細胞内でも結合し、またRING finger domain依存的にSRbetaをユビキチン化することが明らかとなった。さらにこのユビキチン化はSRbetaをプロテアソーム依存的な分解に導くものではなく、ユビキチン鎖内のK6とK29を介したポリユビキチン化であった。以上の結果からPirh2はSRbetaの量的な変化ではなく、むしろ質的な変化を賦与することにより、分泌蛋白質の合成量を調節している可能性が考えられた (Abe *et al. Biomedical Res*, 2008)。

(安倍健滋, 服部隆行, 北川雅敏)

4. サイクリンD1転写調節機構の研究

我々は細胞周期のアクセルであるサイクリンD1の転写に機能未知なARA54というアンドロゲン受容体結合蛋白質が必要であることを見いだした。まず、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。このとき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。一方でnuclear run-on assayではARA54をノックダウンによりcyclin D1遺伝子の転写活性の低下が見られた。以上よりARA54はサイクリンD1の転写の正の制御因子であることがわかった。また、ARA54をノックダウンすると細胞増殖の遅延が観察され、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。以上のことからARA54がcyclin D1の転写を促進する癌遺伝子様の機能を持っていることが示唆された (Kikuchi *et al. Carcinogenesis*, 2007)。

(菊池寛利, 内田千晴, 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. 腎炎進行の新たなキーマediatorとしてのSkp2の同定

上記のように我々はSkp2ノックアウトマウスにおいて腎炎の進行が著明に抑えられることを見いだした。本研究成果は腎炎進行の新たなキーマediatorとしてSkp2を同定したことを意味する。Skp2阻害薬が腎炎治療薬に繋がる可能性が本研究により強く示唆された。

2. CDK阻害タンパク質p27のユビキチンリガーゼPirh2の同定

高転移癌に代表される予後不良の癌においてp27の分解亢進が相関しており、p27の分解機構の解明は極めて重要である。上記のように我々は新たなp27の分解因子としてPirh2を同定した。Pirh2はp27のユビキチンリガーゼとしてG1/Sでのp27の分解を司り、細胞周期進行の正の調節因子であることが判明した。この知見は細胞周期研究において極めて重要な発見である。一方で、p27のユビキチンリガーゼの一つであるSkp2は癌で高発現しているが、p27の発現量と有意な相関がないという報告もある。Pirh2は癌におけるp27の主要分解因子である可能性が高く、悪性度の高い癌に対する分子標的診断治療の新たなターゲットとして重要と考えている。

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、ユビキチンリガーゼの異常と癌や種々の疾患との関連も深い。このシステムの発見者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、腎障害をキーワードに先端的研究を実行してきた。そしてp27、RBタンパク質、Tob1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可能性を示してきた。特に本年度はp27の新たなユビキチンリガーゼとしてPirh2を同定した。p27の分解亢進が癌の予後の悪さと相関することから、Pirh2は悪性度の高い癌における新たな分子標的として診断や治療への展開も期待出来る。

さらに我々は癌だけでなく腎炎の進行においてp27のユビキチンリガーゼのひとつSkp2が著明に増加することを見だし、Skp2が腎炎の進行に深く関与することをSkp2ノックアウトマウスを用いて証明した。これまでプロテアソーム阻害剤が腎炎の進行を抑制することが報告されていたが、その原因、分解抑制の標的は不明であった。我々の発見によりプロテアソーム阻害剤の腎炎進行を抑制するメカニズムはSkp2を介したp27の分解を阻害であることが示唆された。ユビキチン-プロテアソーム系は多くの重要な細胞内タンパク質の分解に関与することから、プロテアソーム阻害剤自身は強い毒性が懸念される。本研究はSCF-Skp2ユビキチンリガーゼの特異的阻害薬が腎炎の治療薬となることを示した独創的で重要な研究であると考えている。