

生化学第一

1 構成員

	平成21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	1人
大学院学生（うち他講座から）	3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	10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）（H3. 8. 1～19. 3. 31 助教授；19. 4. 1～現職）
 内田 千晴（助教）（H2. 4. 1～19. 3. 31 助手；助教H19. 4. 1～20. 8. 31退職）
 北川 恭子（助教）（H13. 3. 1～19. 3. 31 助手；H19. 4. 1～現職）
 神武洋二郎（助教）（H20. 9. 1～現職）

3 研究業績

数字は小数2位まで。

	平成20年度
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	5編（0編）
そのインパクトファクターの合計	28.700
(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）	0編（0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（1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. Kotake Y, Zeng Y, Xiong Y: DDB1-CUL4 and MLL1 mediate oncogene-induced p16INK4a activation. Cancer Res 69:1809-1814, 2009.
2. Shimada M, Kitagawa K, Dobashi Y, Isobe T, Hattori T, Uchida C, Abe K, Kotake Y, Oda T, Suzuki H, Hashimoto K, Kitagawa M: High expression of Pirh2, an E3 ligase for p27, is associated with low expression of p27 and poor prognosis in head and neck cancers. Cancer Sci 100: 866-872, 2009.

インパクトファクターの小計 [10.837]

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. Yamamoto M, Kikuchi H, Ohta M, Kawabata T, Hiramatsu Y, Kondo K, Baba M, Kamiya K, Tanaka T, Kitagawa M, Konno H: TSU68 prevents liver metastasis of colon cancer xenografts by modulating the pre-metastatic niche. Cancer Res 68: 9754-9762, 2008.
2. Ohashi N, Yamamoto T, Huang Y, Misaki T, Fukasawa H, Suzuki H, Togawa A, Suzuki S, Fujigaki Y, Nakagawa T, Nakamura Y, Suzuki F, Kitagawa M, Hishida A: Intrarenal RAS activity and urinary angiotensinogen excretion in anti-thymocyte serum nephritis rats. Am J Physiol Renal Physiol 295: F1512-1518, 2008.

インパクトファクターの小計 [12.088]

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. Matsumoto A, Kawamoto T, Mutoh F, Isse T, Oyama T, Kitagawa K, Nakayama K-I, Ichiba M: Effects of 5-week ethanol feeding on the liver of aldehyde dehydrogenase 2 knockout mice. Pharmacogenet Genomics 18(10): 847-52, 2008.

インパクトファクターの小計 [5.775]

(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. 北川雅敏 (訳) 分担 癌の細胞周期 中山敬一, 中山啓子監訳 「カラー図説 細胞周期 -細胞増殖の制御メカニズム」 メディカル・サイエンス・インターナショナル社 東京 2008年

4 特許等の出願状況

	平成20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20年度
(1) 文部科学省科学研究費	7件 (2892万円)
(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 (150万円)
(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」1680万円(継続)
- 北川恭子(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」300万円(新規)
- 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」610万円(継続)
- 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」170万円(継続)
- 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」110万円(継続)
- 北川雅敏(分担者) 土橋洋(代表者 自治医科大学) 基盤研究(C)「癌遺伝子の異常によるシグナル伝達系の特異的活性化の解析と多分子標的療法への展開」H20 180万円(分担金7.8万円)(新規)
- 北川雅敏(分担者) 井原勇人(代表者 生理学第二) 基盤研究(C)「線溶阻害因子PAI-1による血管老化促進機構の解析 H20 170万円(分担金15万円)(新規)

(4) 財団助成金

- 神武洋二郎 財団法人 東京生化学研究会 研究奨励金「癌化シグナルによるCDKインヒビター-p16の転写活性化機構の解明」150万円

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	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	2件
(6) 一般演題発表数	0件	

(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: Oncogene (Eng) 1回, J Biochem (Jpn) 2回, Cancer Sci (Jpn) 3回

9 共同研究の実施状況

	平成20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	5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

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

土橋 洋（自治医科大学） 癌遺伝子の異常の病理学的解析

横田貞記（長崎国際大） 誘導性小胞体の構造解析

(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

橋本賢二（口外） 口腔癌におけるPirh2/p27系の関与

中村悟己（3内） 血液細胞の分化，癌化メカニズムの解析

10 産学共同研究

	平成20年度
産学共同研究	1件

1. 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. 頭頸部癌の悪性化におけるp27の分解因子Pirh2の関与

p27はサイクリン依存性キナーゼの阻害タンパク質として細胞周期のG1期進行を抑制的に制御している。我々はp27をユビキチン化シプロテアソームにおいて分解に導くユビキチンリガーゼとしてPirh2を新たに同定した（Hattori et al, Cancer Res 2007）。本年度は，頭頸部癌におけるPirh2

の関与を検討した。頭頸部癌細胞を用いPirh2の発現とその標的としてのp27の発現の関係を解析し、頭頸部癌細胞の増殖におけるPirh2の機能を検討した。頭頸部癌細胞5種類を対象としてsiRNAによるPirh2ノックダウンを行ったところ、Pirh2タンパクの減少により内因性のp27が蓄積し、細胞周期G1-S移行の遅延と細胞増殖能の低下が認められた。さらに、頭頸部癌臨床検体の免疫組織学的解析を行ない病理学的因子との相関について検討した。頭頸部癌（口腔癌）患者57例の外科切除標本の免疫組織学的染色の結果では、正常上皮と比較して有意に癌組織でPirh2の発現が高く（ $P<0.001$ ）、p27の発現率の結果と有意に逆相関していた（ $P=0.019$ ）。臨床病理学的因子との関連では、T分類（ $P=0.014$ ）およびステージ分類（ $P=0.006$ ）と相関した。Kaplan-Meier法による検討ではPirh2低発現群に比べ高発現群で有意に予後不良であり（ $P=0.03$ ）、多変量解析においてPirh2は独立した予後因子として同定された。

（島田真衣，北川恭子，服部隆行，橋本賢二¹，北川雅敏）¹口外

2. 癌抑制遺伝子p16のエピジェネティックな転写制御機構の解明

細胞周期を負に制御するCDKインヒビターp16は、肺癌（NSCLC）、乳癌、大腸癌、食道癌及び悪性黒色腫等で高頻度に遺伝子欠損や転写抑制されていることが報告されており（ヒト癌の約40%-50%で不活化）、癌抑制において重要な領域であると考えられている。p16は非常に安定性の高いタンパクであり、その発現制御は主に転写レベルで行われている。継代の若い正常線維芽細胞や胎児期においてp16転写は抑制されているが、培養継代を重ねるにつれ転写活性化され、pRB経路を介した不可逆的な細胞周期停止（細胞老化）を引き起こす。また、Ras変異等による癌化シグナルによってp16の転写は活性化し、一過性に過増殖した細胞を早期細胞老化へと誘導する。このように、p16は細胞老化や発癌ストレスに対する防御において重要な役割を担っているにも関わらず、その転写制御機構に関してはほとんど明らかとされていない。本年度我々は、ヒストンH3K4メチル化酵素であるMLL1がp16遺伝子座に直接結合し、ヒストンH3K4のメチル化を介して、p16の転写を活性化していることを明らかとした。また、MLL1のヒストンメチル化活性にユビキチンリガーゼであるCUL4-DDB1-ROC1が必要であることを明らかとした。さらに、oncogenic Ras signalによるp16の転写活性化に、MLL1ヒストンメチルトランスフェラーゼとCUL4-DDB1-ROC1ユビキチンリガーゼが必要であることを明らかとした。これらの結果は本年度、Cancer Research誌に掲載された（Kotake et al. Cancer Research, 2009）。

（神武洋二郎，Yue Xiong¹，北川雅敏）¹ノースキャロライナ大

3. Fbw7の新たなユビキチン化標的的同定

Fbw7は種々の癌遺伝子をユビキチンプロテアソームによる分解に導く癌抑制的なユビキチンリガーゼであり、乳癌やリンパ腫を始めとした複数の臨床癌でその遺伝子変異やタンパクの機能障害が発生している事が報告されている。我々は転写因子の一つであるc-MybがFbw7の新規分解標的であることを見出した。その分解機構の詳細について、現在さらに解析を進めている。

（北川恭子，北川雅敏）

4. 誘導性小胞体の構造と機能

小胞体構成成分である、各種の小胞体膜酵素を培養細胞内で過剰発現させると特異膜構造物（クリスタロイド小胞体）の形成が誘導されるが、この構造物は小胞体を構成する素材の過剰蓄積による人工産物であるところまで解釈されてきた。しかし、我々は小胞体に移行する活性を持っていない、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が形成誘導されることを見いだした。このことは、従来の「誘導性小胞体は小胞体膜タンパク質に過剰蓄積による人工産物である。」という解釈が正しくないことを示している。これら、通常は細胞内に存在せず、ある種のタンパク質の過剰発現で誘導されてくる特異膜構造物を我々は「誘導性小胞体」と仮に呼び、細胞内では積極的な生理的役割を担っているのではないかと考えた。SPT45K以外のミトコンドリア移行型前駆体酵素についても調べたところ、それらの過剰発現で細胞内に同様の特異膜構造物が誘導されることを観察した。一般に、ミトコンドリア移行前駆体はルーズな高次構造を取っていると考えられており、これらが細胞質内に過剰に蓄積することは相互の凝集、あるいは他のタンパク質との凝集を引き起こす可能性があり、細胞にとって毒性をもたらすと予想される。事実、誘導性小胞体が形成された細胞では、細胞死が更新しているようである。誘導性小胞体の形成は、細胞質におけるある種の（例えば、変性しやすい、あるいは凝集しやすい、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長崎国際大

13 この期間中の特筆すべき業績，新技術の開発

1. CDK阻害タンパク質p27のユビキチンリガーゼPirh2の同定と癌の予後との相関

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、上記のように頭頸部癌におけるPirh2の関与を検討したところ、正常上皮と比較して有意に癌組織でPirh2の発現が高く、p27の発現率の結果と有意に逆相関していた。また、Pirh2低発現群に比べ高発現群で有意に予後不良であり、多変量解析においてPirh2は独立した予後因子として同定された。本研究はp27の新たなユビキチンリガーゼであるPirh2がヒトの癌においてp27の発現量の制御に関与し、癌の増殖や予後に影響を及ぼしている可能性を初めて示した。Pirh2は予後診断マーカーとして期待でき、予後不良の癌に対する新たな分子標的としてPirh2阻害剤が有用であることが示唆され、癌の新たな分子標的の同定と考えている。

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。特に我々がp27の新たなユビキチンリガーゼとしてPirh2を同定したことは重要な意義がある。本年度は頭頸部腫瘍におけるPirh2とp27の関係を解析し、Pirh2がヒトの癌においてp27の発現量の制御に関与し、癌の増殖や予後に影響を及ぼしていることを初めて示した。Pirh2は予後診断マーカーとして期待でき、予後不良の癌に対する新たな分子標的としてPirh2阻害剤が有用であることが示唆された。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。