

生化学第一

1 構 成 員

	平成23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)	1人 (1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	11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)
 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22年度
(1)原著論文数(うち邦文のもの)	9編 (0編)
そのインパクトファクターの合計	34.47
(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	0.00
(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	0.00

(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. Kitagawa K, Kotake Y, Hiramatsu Y, Liu N, Suzuki S, Nakamura S, Kikuchi A, Kitagawa M: GSK3 regulates the expression of human and mouse c-Myb via different mechanisms. **Cell Div.** 5: 27, 2010.
2. Niida H, Murata K, Shimada M, Ogawa K, Ohta K, Suzuki K, Fujigaki H, Khaw AK, Banerjee B, Hande MP, Miyamoto T, Miyoshi I, Shirai T, Motoyama N, Delhase M, Appella E, Nakanishi M: Cooperative functions of Chk1 and Chk2 reduce tumour susceptibility in vivo. **EMBO J.** 29: 3558-3570, 2010.

インパクトファクターの小計 [14.22]

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, Fujigaki Y, Misaki T, Ohashi N, Takayama T, Suzuki S, Mugiya S, Oda T, Uchida C, Kitagawa K, Hattori T, Hayashi H, Ozono S, Kitagawa M, Hishida A: Reduction of transforming growth factor- β type II receptor is caused by the enhanced ubiquitin-dependent degradation in human renal cell carcinoma. **Int. J. Cancer** 127: 1517-1525, 2010.
2. Gao Y, Gu C, Li S, Tokuyama T, Yokota N, Nakayama KI, Kitagawa M, Namba H: p27 modulates tropism of mesenchymal stem cells toward brain tumors. **Exp. Ther. Med.** 1: 695-699, 2010.
3. Togawa A, Sfakianos J, Ishibe S, Suzuki S, Fujigaki Y, Kitagawa M, Mellman I, Cantley LG: Hepatocyte Growth Factor stimulated cell scattering requires ERK and Cdc42-dependent Tight Junction Disassembly. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 400: 271-277, 2010.
4. Suzuki T, Isobe T, Kitagawa M, Ueda K: Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus- encoded LANA positively affects on ubiquitylation of p53. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 403: 194-197, 2010.

インパクトファクターの小計 [10.12]

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. Sakai S, Ohoka N, Onozaki K, Kitagawa M, Nakanishi M, Hayashi H: Dual mode of regulation of Cdc25A protein by TRB3. **Biol. Pharm. Bull.** 33, 1112-1116, 2010.
2. Yu HS, Oyama T, Isse T, Kitagawa K, Pham TT, Tanaka M, Kawamoto T. Formation of acetaldehyde-derived DNA adducts due to alcohol exposure. **Chem Biol Interact.** 188:367-375, 2010.
3. Ma H, Yu L, Byra EA, Hu N, Kitagawa K, Nakayama KI, Kawamoto T, Ren J. Aldehyde dehydrogenase 2 knockout accentuates ethanol-induced cardiac depression:role of protein phosphatases. **J Mol Cell Cardiol.** 49:322-329, 2010.

インパクトファクターの小計 [10.14]

4 特許等の出願状況

	平成22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22年度	
(1) 文部科学省科学研究費	9件	(3,325.9万円)
(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	3件	(640万円)
(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

1. 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」1630 万円 (継続)
2. 北川雅敏 (代表者) 松本雅記 基盤研究 (B) H22-H24 年度「癌抑制遺伝子産物 Mig-6 の新規機能とその制御機構の解明」H22 490 万円 (444 万円) (新規)
3. 土橋洋 (代表者) 北川雅敏 (分担者) 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」分担金 3.9 万円 (本年度総額 80 万円) (継続)
4. 北川恭子 (代表者), 北川雅敏 基盤研究 (C)「p27 の新規分解実行因子 Pirh2 の発現亢進と癌進展が相関するメカニズムの解析」140 万円 (継続)
5. 神武洋二郎 (代表者) 特定領域研究「ポリコムタンパクによる精子幹細胞制御機構の全容解明」320 万円 (継続)
6. 神武洋二郎 (代表者) 新学術領域研究「癌化・老化を左右する新規非コード RNA の機能解析」360 万円 (新規)
7. 神武洋二郎 (代表者) 若手研究 (B)「INK4 遺伝子座の制御機構とその破綻による発癌機構の解明」160 万円 (新規)
8. 鈴木小由里 (代表者) 若手研究 (B)「Skp2-p27 のダブルノックアウトマウスを用いた腎障害進行機構の解明」170 万円
9. 丹伊田浩行 (代表者) 基盤研究 (C)「DNA 修復時に働く RNR の活性調節機構の解析」52 万円 (継続)

(4) 財団助成金

1. 神武洋二郎 (代表者) 持田「癌関連遺伝子の発現を制御するノンコーディング RNA の解析と医学的応用」300 万円 (新規)
2. 丹伊田浩行 (代表者) 武田科学振興財団「DNA 損傷応答時におけるリボヌクレオチドレグクターゼ修飾と活性調節機構の解析」300 万円 (新規)
3. 丹伊田浩行 (代表者) 浜松科学技術研究振興会「DNA 複製に伴う損傷修復機構の解明」40 万円 (新規)

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	1件
(2) シンポジウム発表数	1件	3件
(3) 学会座長回数	0件	3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

3) 国際学会・会議等のシンポジウムでの発表

1. Masatoshi Kitagawa: A novel target and function of Chk1. MEXT Priority Research Project "Cell Proliferation Control" International Symposium Cell Cycle and Cell Differentiation From A to Z, Nagoya, 2010, Nov.

5) 一般発表

ポスター発表

1. Yojiro Kotake, Kyoko Kitagawa, Tadashi Nakagawa, Yue Xiong and Masatoshi Kitagawa: The epigenetic regulation of *ZNK4* locus by Polycomb and noncoding RNA, International Symposium on Epigenome Network, Development and Reprogramming of Germ Cells. Fukuoka, 2010, Nov.2010.

(2) 国内学会の開催・参加

1) 主催した学会名

1. 北川雅敏：シンポジウム The 1st Symposium of Cell Cycle Control and Cell Fate (浜松) 2010年5月

2) 学会における特別講演・招待講演

1. 丹伊田浩行：Essential role of Tip60-dependent recruitment of ribonucleotide reductase at DNA damage sites in DNA repair during G1 phase. 第53回日本放射線影響学会（京都）2010年10月

3) シンポジウム発表

1. 北川雅敏：細胞運命のスイッチングにおける細胞増殖／停止機構」The 1st Symposium of Cell Cycle Control and Cell Fate (浜松) 2010年5月
2. 北川雅敏、劉寧：増殖シグナルの新たな制御機構 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会 (BMB2010) ワークショップ、(神戸) 2010年12月
3. 神武洋二郎：Polycomb/noncoding RNA による癌抑制遺伝子 p16 転写制御機構の解明 第2回浜松医科学シンポジウム (浜松) 2010年12月

4) 座長をした学会名

1. 北川雅敏：シンポジウム The 1st Symposium of Cell Cycle Control and Cell Fate (浜松) 2010年5月
2. 北川雅敏、中西真：第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会 (BMB2010) ワークショップ「細胞運命決定における細胞増殖制御」(神戸) 2010年12月
3. 北川雅敏：第2回浜松医科学シンポジウム (浜松) 2010年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
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：Nature Med. (USA) 1回、Gastroenterology (USA) 1回、Curr. Biol. (USA) 1回、Cancer Res. (USA) 1回、PLoS One (USA) 1回、Carcinogenesis (USA) 1回、Exp. Cell Res. (USA) 1回、Biochimie (France) 1回、Biochem. J. (England) 1回、J Cell Mol. Med. (Romania) 1回、Mol. Cell. Biochem. (Netherlands) 1回

北川恭子：Toxicology Mechanisms and Methods (USA) 1回

神武洋二郎：Cytotechnology (Japan) 1回

9 共同研究の実施状況

	平成22年度
(1) 国際共同研究	1件
(2) 国内共同研究	4件
(3) 学内共同研究	3件

(1) 国際共同研究

Yue Xiong (North Carolina Univ.) The epigenetic regulation of p16 tumor suppressor gene by Polycomb/MLL complex

(2) 国内共同研究

竹内隆 (鳥取大) Jmj/サイクリン D1 経路の制御機構の解析

中山敬一、松本雅記 (九大) Skp2/p27KO 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

土橋洋 (自治医科大学) 癌遺伝子の異常の病理学的解析

中西真 (名古屋市立大学) 増殖因子シグナリングの制御機構の解析

(3) 学内共同研究

山本龍夫、菱田明（1内）腎障害進展の分子機構

中村悟己（3内）血液細胞の分化、癌化メカニズムの解析

菊池寛利、今野弘之（2外）消化器腫瘍進展メカニズムの解析

10 産学共同研究

	平成22年度
産学共同研究	0件

12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

1. 癌遺伝子産物 c-Myb の GSK3 依存性量的制御機構の解析

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 は、正常な分化終期を迎えるには細胞内から消失する必要がある。血液癌では c-Myb 発現の亢進例が認められており、c-Myb 蛋白質量の調節機構が異常をきたすことが発癌の一因となっている可能性がある。昨年度までに我々はユビキチン-プロテアソームシステムによる c-Myb 蛋白分解のメカニズムを解析し、c-Myb ユビキチン化亢進能および蛋白分解速度促進能を指標にした検討の結果、Fbw7 をマウス c-Myb の E3 リガーゼとして同定した。さらに Fbw7 が標的とするコンセンサス配列中の Thr572 が GSK3 によってリン酸化されることが重要であることを見出した (Kitagawa K et al. **Oncogene** 2009)。今年度はさらにヒト c-Myb の発現量制御機構についての解析を行なった。その結果ヒト c-Myb もヒト Fbw7 を E3 リガーゼとしてユビキチン依存的分解を受ける事がわかったが、興味深い事にマウス c-Myb の Thr572 に相当する部位が存在せず、GSK3 非依存的に分解される事がわかった。一方で GSK3 はヒト c-Myb の転写を抑制的に制御している事を見出し、ヒトとマウスの c-Myb は異なるメカニズムで発現量が制御されている事が判明した (Kitagawa K et al. **Cell Div.** 2010)。

(北川恭子、北川雅敏)

2. ポリコーム複合体/長鎖ノンコーディング RNA による INK4 遺伝子座制御機構の解明

INK4 遺伝子座は、細胞周期を負に制御する二つの CDK インヒビター p15、p16 及び p16 と同じエキソンを共有するが全く異なるオープンリーディングフレームを持つ、ARF をコードしている。これら3つの遺伝子は、二大癌抑制経路である Rb 及び p53 経路を正に制御していることから、癌抑制において重要な領域であると考えられている。昨年度までに我々は、ポリコーム複合体が INK4 遺伝子座に直接結合し、ヒストン H3K27 のメチル化を介して INK4 遺伝子座の転写を抑制していることを明らかとした (Kotake Y et al. **Cancer Res.** 2009)。しかし、このポリコーム複合体がどのようにして INK4 遺伝子座にリクルートされるのかは不明であった。そこで今年度は、INK4 遺伝子座へのポリコーム複合体リクルートメント機構の解明を行った。その結果、INK4 遺伝子座に存在する ANRIL という長鎖ノンコーディング RNA が、INK4 遺伝子座へのポリコーム複合体リクルートメントに関与していることを見出した。我々は ANRIL が INK4 遺伝子座の転写を抑制すること、またその

作用マシナリーとして、ANRIL がポリコームタンパク SUZ12 と結合し、INK4 遺伝子座への SUZ12 結合を促進することを明らかとした。さらに ANRIL の機能として、細胞老化を抑制していることを明らかとした。

(神武洋二郎、北川雅敏)

3. Chk1 と Chk2 は協調的に機能し生体内において発癌を抑制する。

Chk1 および Chk2 遺伝子座を特異的に破壊した二重変異マウスを作成し、発癌に関する影響を検討した。Chk1Chk2 二重変異マウスは晩発型の自然発癌傾向を示した。Chk1 と Chk2 は機能的ホモログであるが、*in vivo* においては主に独立した経路に働いていることが明らかとなった。具体的には Chk1 は G2/M チェックポイントに必須の役割を担い、Chk2 はアポトーシスの誘導に重要であることがわかった。両分子とも細胞老化誘導には関係なく、老化は正常に誘導された。これらのことから、発癌に対し、チェックポイント、アポトーシスおよび老化が発癌防御機構として重要で、Chk1Chk2 に二重変異マウスはチェックポイントおよびアポトーシス誘導に欠陥を有するため発癌傾向を示すものと考えられた。しかし老化が正常に誘導されることから癌の発症は遅く、晩発型となると推測された (Niida et al. **EMBO J.** 2010)。

(丹伊田浩行)

13 この期間中の特筆すべき業績、新技術の開発

1. ユビキチンシステムによる癌関連遺伝子産物の量的制御機構の解明

我々は昨年度癌抑制ユビキチンリガーゼである SCF-Fbw7 が血液系の癌化に関与する癌遺伝子産物 c-Myb の E3 リガーゼとしてユビキチン依存的分解を実行する事を見出した。本年度さらに詳細な解析を行ない GSK3 がヒトとマウスで異なるメカニズムで c-Myb の量的制御をおこなっている事を見出した。(Kitagawa K et al. **Oncogene** 2009, **Cell Div.** 2010)。Fbw7 は SCF-Fbw7 を形成として主に癌遺伝子産物を標的としてユビキチン化を実行する癌抑制ユビキチンリガーゼである。Fbw7 の欠失や機能低下が起こると c-Myb や c-Myc 等の癌遺伝子産物が安定化し、血液細胞を癌化の方向に細胞を導くことが予想された。この知見は Fbw7 および c-Myb をターゲットとした血液腫瘍の診断治療の新しい可能性を示唆している。

2. 癌抑制 INK4 遺伝子座制御機構の解明

INK4 遺伝子座は、Rb を抑制するサイクリン D-CDK4 の阻害分子 p15 と p16、p53 の E3 リガーゼ Mdm2 を阻害する ARF をコードしている。よって二大癌抑制経路である Rb 及び p53 経路の失活を防御する重要な癌抑制遺伝子である。この経路の発現制御にポリコーム複合体および長鎖ノンコーディング RNA が関与する事を見出した我々の研究成果は、これらをターゲットとした新たな癌治療の可能性を示せた点で意義深い。

3. チェックポイントキナーゼの癌抑制活性の証明

Chk1Chk2 二重変異マウスはチェックポイントおよびアポトーシス誘導に欠陥を有するため晩発型の自然発癌傾向を示し、Chk1 と Chk2 異なる経路で癌抑制遺伝子として機能する事が証明された。これらの経路の分子の異常を検索する事で癌の予知に繋がる可能性が示された。

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、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。特に p27、RB タンパク質、Tob1 などの癌関連遺伝子産物の分解のメカニズムを明らかにした (Hattori T et al. **Cancer Res.** 2007, Uchida C et al. **EMBO J.** 2005, Hiramatsu Y et al. **Cancer Res.** 2007)。そしてそれらのタンパク質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 (Gao Y et al. **Cancer Res.** 2006, Shimada M et al. **Cancer Sci.** 2009, Kitagawa K et al. **Cancer Sci.** 2009)。特に最近では癌抑制ユビキチンリガーゼである SCF-Fbw7 の新たな標的と阻害タンパク質の発見で成果を上げた。上記のように血液系の癌化に関与する癌遺伝子産物 c-Myb が GSK3 によってリン酸化され SCF-Fbw7 によってユビキチン化されプロテアソームで分解されることを発見した (Kitagawa K et al. **Oncogene** 2009, **Cell Div.** 2010)。また、この SCF-Fbw7 の活性を阻害する分子として E1A タンパク質を見出し、アデノウイルスの形質転換能や増殖に寄与することが判明した (Isobe T et al. **J. Biol. Chem.** 2009)。臨床癌で Fbw7 の欠失が報告されていることから SCF-Fbw7 活性を指標に癌の発症予測や診断が出来る可能性が考えられる。さらには Fbw7 の欠失癌に対してはそれを補填する遺伝子治療も有効であると考えている。我々は近年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 (Shimada M et al. **Cancer Sci.** 2009)。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。一方で別のユビキチンリガーゼである SCF-Skp2 が腎障害の進行に必要であることを Skp2 ノックアウトマウスで腎障害が抑制されることから発見した (Suzuki S et al. **Am. J. Pathol.** 2007)。この結果は SCF-Skp2 阻害剤が腎障害治療薬になることを示唆している。さらに最近我々は多くの癌で異常が報告されている重要な癌抑制遺伝子 p16, p15, ARF を含む INK4 遺伝子座の発現制御機構について解析し、この経路の発現制御にポリコム複合体および長鎖ノンコーディング RNA が関与する事を見出した (Kotake Y et al. **Cancer Res.** 2009, **Oncogene** 2011)。以上のように我々は細胞周期制御因子、癌遺伝子、癌抑制遺伝子の分解や転写制御に焦点を当て、これらの発現量制御メカニズムを明らかにすることを目指している。これらの研究成果は癌や腎障害の新たな分子標的を提示し、それを標的とした診断や治療法の開発に繋がると期待される。