

生化学第一

1 構 成 員

	平成 24 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	(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）	4 人	
合計	14 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～H24.3.31）

3 研究業績

数字は小数 2 位まで。

	平成 23 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	53.58	
(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）	3 編	(2 編)
そのインパクトファクターの合計	4.63	
(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	
(6) その他（レター等）	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. Suzuki S, Fukasawa H, Misaki T, Togawa A, Ohashi N, Kitagawa K, Kotake Y, Niida H, Hishida A, Yamamoto T, Kitagawa M. Up-regulation of Cks1 and Skp2 with TNF α /NF κ B signaling in chronic progressive nephropathy. **Genes Cells** **16**: 1110-1120, 2011.
2. Kotake Y, Nakagawa T, Kitagawa K, Suzuki S, Liu N, Kitagawa M, Xiong Y: Long non-coding RNA ANRIL is required for the PRC2 recruitment to and silencing of p15INK4B tumor suppressor gene. **Oncogene** **30**:1956-1962, 2011.

インパクトファクターの小計 [10.303]

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. Nakajima K, Inagawa M, Uchida C, Okada K, Kojima M, Kubota K, Noda M, Ogawa S, Shirato H, Sato M, Suzuki-Migishima R, Hino T, Kitagawa M, Takeuchi T. Coordinated regulation of differentiation and proliferation of embryonic cardiomyocytes by a Jumonji (Jarid2)-cyclin D1 pathway. **Development** **138**:1771-1782, 2011.
2. Hung T, Wang Y, Lin MF, Koegel AK, Kotake Y, Grant GD, Horlings HM, Shah N, Umbricht C, Wang P, Wang Y, Kong B, Langerød A, Børresen-Dale AL, Kim SK, van de Vijver M, Sukumar S, Whitfield ML, Kellis M, Xiong Y, Wong DJ, Chang Y.: Extensive and coordinated transcription of noncoding RNAs within cell-cycle promoters. **Nat Genet.** **43**(7):621-629. 2011

インパクトファクターの小計 [43.275]

(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. Fukasawa H, Fujigaki Y, Yamamoto T, Hishida A, Kitagawa M. Protein Degradation by the Ubiquitin-Proteasome Pathway and Organ Fibrosis. **Curr Medici Chem** **19**: 893-900, 2012.
2. 神武洋二郎・北川雅敏 「長鎖 ncRNA によるクロマチン修飾因子のリクルートメント機構」**実験医学** **29**:1716-1721, 2011.
3. 神武洋二郎・北川雅敏 「長鎖ノンコーディング RNA と細胞老化」**細胞工学** **30**:729-733, 2011.

インパクトファクターの小計 [4.630]

4 特許等の出願状況

	平成 23 年度
特許取得数 (出願中含む)	1 件

1. 北川雅敏、高芸、北川恭子 「癌の転移性及び浸潤能の検査方法」 (特願 2007-526861, 2011 年 12

5 医学研究費取得状況

	平成 23 年度	
(1) 文部科学省科学研究費	9 件	(3,330 万円)
(2) 厚生労働省科学研究費	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	2 件	(600 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 (直接経費のみ)

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」1,630 万円 (継続)
2. 北川雅敏(代表者) 松本雅記 基盤研究(B)「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」430万円 (継続)
3. 土橋洋 (代表者) 遠藤俊輔、柳川天志、北川雅敏 (分担者) 基盤研究 (C) 「固形癌の細胞内キナーゼカスケード特異的活性化様式の解析と個別化抗癌療法への応用」H23 200万円 (分担金10万円) (新規)
4. 丹伊田浩行 (代表者) 新学術領域研究「DNA複製に伴うチェックポイント因子とdNTPs供給の時空間的クロストーク」510万円 (新規)
5. 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」40万円 (継続)
6. 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」70万円 (継続)
7. 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 (継続)
8. 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」140万円 (継続)
9. 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」140万円 (継続)

(4) 財団助成金

1. 丹伊田浩行 (代表者) 上原記念生命科学財団平成 2 3 年度研究助成金 「DNA 複製開始時における dNTPs 供給機構の解明」 500 万円
2. 丹伊田浩行 (代表者) 第 2 5 回ノバルティス研究奨励金 「DNA 複製開始時における dNTPs 供給機構」 100 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	1 件	

(1) 国際学会等開催・参加

5) 一般発表

ポスター発表

Yojiro Kotake, Tadashi Nakagawa, Kyoko Kitagawa, Hiroyuki Niida, Yue Xiong and Masatoshi Kitagawa.

Long non-coding RNA *ANRIL* is required for the Polycomb recruitment to and silencing of *INK4* locus. Sixteenth Annual Meeting of the RNA Society, 2011 June 14-18, Kyoto

(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: Oncogene (England) 1 回、Carcinogenesis (USA) 1 回、J Cell Mol Med. (England) 1 回、Hepatology Res.(Australia) 1 回、Chem Biol. (USA) 1 回、Cell Struct Funct. (Japan) 1 回、Genes Cells. (Japan) 1 回

9 共同研究の実施状況

	平成 23 年度
(1) 国際共同研究	1 件
(2) 国内共同研究	5 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
 山本龍夫（沼津市立病院） 腎障害進行におけるユビキチンシステムの機能

(3) 学内共同研究

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、宮崎真一郎、今野弘之（2外） 消化器腫瘍進展メカニズムの解析
 千田金吾（2内） 細胞癌化メカニズムの解析

10 産学共同研究

	平成 23 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. 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。これまでに我々は、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。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 PRC2 の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、またその作用メカニズムとして、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 (Kotake Y et al. **Oncogene** 2011)。

(神武洋二郎、北川雅敏)

2. 慢性進行性腎障害における NF- κ B 経路による Skp2 および Cks1 の発現亢進

我々は細胞周期関連ユビキチンリガーゼの生体における機能および疾患との関連に関し、特に炎症、細胞死および細胞増殖、線維化が連続して起こる腎障害モデルに注目し解析している。その結果、片側尿管結紮(UUO)腎障害モデルマウスにおいて、CDK 阻害タンパク質 p27 のユビキチンリガーゼ構成因子である Skp2 が腎障害発症とともに誘導されること、Skp2 ノックアウトマウスでこの

腎障害が抑制されることを見出している(Suzuki et al. *Am J Pathol* 2007)。最近、Skp2 の p27 ターゲッティングに必要な分子 Cks1 も同様に発現誘導される事を見出した。これらの結果の普遍性を検証する為に、今回もう一つの慢性進行性腎障害モデルであるラットの ATS モデルを用いて解析した。UUO 腎と同様に、ATS 腎においても Skp2、Cks1 は共に腎障害初期にて mRNA の発現亢進が見られた。免疫染色でも同様の結果が得られ、腎障害初期にて Skp2、Cks1-positive 細胞が増加し、腎障害後期には発現の低下が見られた。これらに相関して、細胞増殖マーカーである Ki67 も同様の発現傾向を示した。一方、p27 は逆相関を示し、腎障害初期に positive 細胞が一過性に減少し、その後、増加した。さらに、腎障害に伴い TNF α の発現が亢進し、NF- κ B サブユニットである RelB および p52 が尿細管上皮細胞の核で染色され、Skp2 および Cks1 が RelB と共局在していることがわかった。以上のことから、Skp2 および Cks1 は共に、腎障害初期で TNF α -RelB/p52 経路によって尿細管上皮細胞において誘導され、協力して p27 を一過性に分解することにより尿細管上皮細胞の細胞増殖が亢進させ、尿細管の拡張、その後の腎線維化に導くことが示唆された (Suzuki et al. *Genes Cells* 2011)。

(鈴木小由里, 北川雅敏)

3. SCF-Fbw7 ユビキチンリガーゼの新規標的の探索

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。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)。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い、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が、GSK3 依存性に関し、ヒトとマウスの c-Myb は異なる事が判明した(Kitagawa K et al. *Cell Div.* 2010)。最近 Fbw7 の新規標的に関し予備的データを得ており、現在その解析を行なっている。

(北川恭子, 北川雅敏)

4. DNA 複製の新規制御機構の解析

真確生物の 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 障害時における DNA 複製制御に関し、新たな機構が存在するという予備的データを得ており、現在その解析を行なっている。

(丹伊田浩行, 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. 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ム複合体 PRC2 および長鎖ノンコーディング RNA ANRIL が関与する事を見出した Kotake Y et al. **Oncogene** 2011)。この研究成果は、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。

2. 腎障害進行メカニズムの解明

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。さらに今年度の成果として Skp2 および Cks1 は共に、腎障害初期で TNF α -RelB/p52 経路によって尿細管上皮細胞において誘導され、協力して p27 を一過性に分解することを見出した(Suzuki et al. **Genes Cells** 2011)。これにより尿細管上皮細胞の細胞増殖が亢進させ、尿細管の拡張、その後の腎線維化の誘導のトリガーである事が示唆され TNF -RelB/p52 経路の遮断が腎障害治療に繋がる可能性が示唆された。

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、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 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 et al. **Cancer Sci.** 2009)。さらに癌抑制ユビキチンリガーゼである SCF-Fbw7 の新たな標的として血液系の癌化に関与する癌遺伝子産物 c-Myb を見出し、c-Myb が GSK3 によってリン酸化されることが、SCF-Fbw7 によるユビキチン化の引き金となり、プロテアソーム依存的に分解されることを見出した(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)。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。最近 Fbw7 の新規標的に関し予備的データを得ており、現在その解析を行なっている。

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)。また、Skp2 および Cks1 は共に、腎障害初期で TNF -RelB/p52

経路によって尿細管上皮細胞において誘導され、協力して p27 を一過性に分解することを見出した (Suzuki et al. **Genes Cells** 2011)。この結果は SCF-Skp2 や TNF -RelB/p52 経路の阻害剤が腎障害治療薬になることを示唆している。

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 *ANRIL* が関与する事を見出した (Kotake Y et al. **Cancer Res.** 2009, **Oncogene** 2011)。また、DNA 障害時における DNA 複製制御に関し、新たな機構が存在するという予備的データを得ており、現在その解析を行なっている。以上のように我々は細胞周期制御に焦点を当て、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。