

研究種目： 基盤研究 (B)

研究期間： 2007~2010

課題番号： 19370087

研究課題名 (和文) Rb 経路と p53 経路を統合する哺乳類 G1 期制御の解明

研究課題名 (英文) Study of the mammalian G1 regulatory mechanism unifying Rb and p53 pathways.

研究代表者

加藤 順也 (Kato Jun-ya)

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・教授

研究者番号： 00273839

研究代表者の専門分野：分子生物学、細胞生物学、分子腫瘍学

科研費の分科・細目：生物科学・細胞生物学

キーワード：遺伝学、癌、シグナル伝達、細胞周期、哺乳類

1. 研究計画の概要

本申請研究では、哺乳類の細胞周期の G1 期制御において COP9 シグナロソームがどのようにして Rb 経路と p53 経路を制御するかを、Jab1 (CSN5)-Jab1BP2-Cdk インヒビター-Rb 経路と、CSN3-COP1-p53 経路に焦点を当てて解析する。必要に応じて多面的なアプローチを取り入れるが、COP9 シグナロソームのサブユニット (CSN5, CSN2, CSN3) のノックアウトマウスやノックアウト細胞、トランスジェニックマウスやそれから樹立した培養細胞系を実験材料として用い、あくまでも生体内の状況を反映させた実験系での検証を重視する。その後、Jab1 (CSN5)-Jab1BP2-Cdk インヒビター-Rb 経路と、CSN3-COP1-p53 経路のそれぞれの解析で得られた実験結果をもとに、両経路間でのクロストークを検証し、Rb 経路と p53 経路を統合するシグナル経路の実態を解明する。

2. 研究の進捗状況

哺乳類の細胞周期の G1 期制御において COP9 シグナロソームがどのようにして Rb 経路と p53 経路を制御するかを、Jab1 (CSN5)-Jab1BP2-Cdk インヒビター-Rb 経路と、CSN3-COP1-p53 経路に焦点を当てて解析している。

(1) Jab1-Rb 経路の解析

Jab1 が Cdk インヒビターを制御し Rb 経路の上流で機能する具体的機構を知るために、酵母のツーハイブリッド法を利用し、Jab1 と相互作用する因子を網羅的にスクリーニングした。その結果、既知の因子に加えて、多くの Jab1 の新規相互作用因子 (Jab1BP) を単離す

ることに成功した。

また一方で、Jab1 トランスジェニックマウスを作製した。このマウスは正常に発生し生まれるが、生後 6-12 ヶ月で骨髄性増殖疾患を発症した。骨髄細胞を詳細に解析した結果、Cdk インヒビター p16 の発現が減少し造血幹細胞のプールが増大していた。我々が単離していた新規 Jab1 相互作用因子を検索した結果、ヒストンメチル化酵素 SMYD3 が p16 のプロモーターに結合して発現を制御することを見いだした。これにより、Jab1-SMYD3-p16-cyclin D-Cdk4/6-Rb 経路が体性幹細胞の調節に関与する知見を得た。

(2) CSN3-p53 経路の解析

これまでに COP9 シグナロソームの第 3 サブユニットである CSN3 がユビキチンリガーゼ COP1 を介して p53 の上流で働くことを明らかにしていたので、酵母のツーハイブリッド・スクリーニング法を利用し、CSN3, COP1 の新規相互作用因子 (それぞれ CSN3BP と COP1BP) を単離して解析した。特に、COP1BP-1 に着目し特異的抗体を作製して種々の細胞応答における役割を CSN3-COP1 経路との関係に留意しながら解析している。また、CSN3 と p53 との協調関係をマウスモデルを用いて検証している。

3. 現在までの達成度

② おおむね順調に進展している

COP9 シグナロソームと Rb 経路・p53 経路との関係を、(1) Jab1 (CSN5)-Jab1BP2-Cdk インヒビター-Rb 経路と、(2) CSN3-COP1-p53 経

路の観点から調べた結果、(1)については当初の計画を大きく上回る成果を得、国内・国際学会、論文等で発表した。(2)については、最初の1-1.5年の間は予想どおりの進行を示したが、その後非常に意外で大きな発見があり、当初の実験計画の枠を超えて大きく発展している。最終年度に最終的な検討を行っており、その成果をまとめて国際・国内学会や論文で発表する予定である。また、(2)に関わる因子 MLF1 の研究については順調に進み論文発表を行っている。現在マウスモデル実験が順調に進行している。

4. 今後の研究の推進方策

(1) の Jab1-SMYD3-p16-cyclin D-Cdk4/6-Rb 経路についてはほぼ当初の目的を達成したので、本研究の残りの期間は(2)の CSN3-COP1-p53 経路について完成を目指す予定である。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計9件)

(1) Kato JY, and Yoneda-Kato N. Mammalian COP9 signalosome. *Genes to Cells* 14: 1209-25, 2009. (査読有)

(2) Shiraso S, Katayose Y, Yamamoto K, Mizuma M, Yabuuchi S, Oda A, Rikiyama T, Onogawa T, Yoshida H, Hayashi H, Ohtsuka H, Motoi F, Egawa S, Kato J, Unno M. Overexpression of adenovirus-mediated p27kip1 lacking the Jab1-binding region enhances cytotoxicity and inhibits xenografted human cholangiocarcinoma growth. *Anticancer Res.* 29: 2015-24, 2009. (査読有)

(3) 加藤順也, 加藤規子 シグナロソーム研究今昔物語, *そして未来へ* 細胞工学 Vol.28 No. 11, p1166-70, 2009 (査読無)

(4) Mori M, Yoneda-Kato N, Yoshida A, Kato JY. Stable form of Jab1 enhances proliferation and maintenance of hematopoietic progenitors. *J. Biol. Chem.*, 283: 29011-29021, 2008. (査読有)

(5) Yoneda-Kato, N., Kato, J.Y. Shuttling imbalance of MLF1 results in p53 instability and increases susceptibility to oncogenic transformation. *Mol Cell Biol.* 28: 422-434, 2008. (査読有)

[学会発表] (計4件)

(1) ワークショップ主催・発表
第32回日本分子生物学会年会、横浜 「シグナロソームを介した動・植物共有基盤原理」
オーガナイザー：加藤順也・松井南
2009年12月9日

Jun-ya Kato, and Noriko Yoneda-Kato
Mammalian COP9 signalosome and control of cell proliferation and maintenance

(2) 国際学会主催・発表
Zomes V, Yokohama RIKEN, Yokohama, Japan,
2008年11月11-14日
Organizing Committee

Jun-ya Kato, Kazuhiro Iwai, Minami Matsui, Keiji Tanaka, Michael Glickman, Ning Wei, Daniel Chamovitz.

講演

Kato, J.Y. Role of CSN5 in mammalian cell proliferation and maintenance.

Yoneda-Kato, N. Deregulation of the MLF1/CSN/COP1 pathway in leukemogenesis.

[その他]

ホームページ

<http://bsw3.naist.jp/kato/index.htm>