

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 30 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23390071

研究課題名(和文)ホスホリパーゼC の炎症・発癌促進機能に関わる新規シグナル伝達系の解明

研究課題名(英文)Elucidation of a novel signaling pathway responsible for the roles of phospholipase Cepsilon in augmentation of inflammation and carcinogenesis

研究代表者

片岡 徹 (KATAOKA, TOHRU)

神戸大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：40144472

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 15,200,000円、(間接経費) 4,560,000円

研究成果の概要(和文)：低分子量G蛋白質RasとRapの標的蛋白質であるホスホリパーゼC (PLC)による炎症促進の分子機構と生体内意義を解析した。PLC が腫瘍壊死因子(TNF)- α 刺激に伴う転写因子NF- κ Bの細胞核移行の促進を介して炎症性サイトカイン産生を誘導することを解明し、TNF- α 刺激細胞で産生され自己分泌的に作用してPLC 活性化を起こす内在性リガンド候補を見出した。また、PLC 依存的に活性化されサイトカイン産生促進に関与するプロテインキナーゼを同定した。さらに、ノックアウトマウスを用いた解析により、腸炎誘発性の大腸腺腫の形成とその悪性化及び気管支喘息の発症へのPLC の関与を証明した。

研究成果の概要(英文)：We investigated the molecular mechanisms underlying the augmentation of inflammation by phospholipase Cepsilon (PLCepsilon), an effector of the small GTPases Ras and Rap, as well as its function in whole animals. We found that PLCepsilon plays a role in induction of the proinflammatory cytokine expression by facilitating the nuclear translocation of the transcription factor NF-kappaB upon stimulation of cells with tumor necrosis factor (TNF)-alpha. A candidate of the endogenous ligand was identified that is secreted from TNF-alpha-stimulated cells and induces the PLCepsilon-dependent cytokine expression in an autocrine manner. Moreover, we identified a protein kinase which is activated in a PLCepsilon-dependent manner and presumably involved in the induction of the cytokine expression. Furthermore, from the studies using PLCepsilon knockout mice, we clarified the crucial roles of PLCepsilon in the colitis-induced intestinal carcinogenesis and the pathogenesis of bronchial asthma.

研究分野：細胞内情報伝達

科研費の分科・細目：基礎医学・医化学一般

キーワード：ホスホリパーゼC シグナル伝達 炎症 発癌 サイトカイン Ras蛋白質 低分子量G蛋白質 表皮角化細胞

1. 研究開始当初の背景

慢性炎症は、がんをはじめ動脈硬化など様々な疾患の病態に重要な役割を持つとの実験的証拠が数多く得られている。例えば、がんでは、腫瘍周囲に生じた慢性炎症に伴って増加する腫瘍壊死因子- α (TNF- α) などの炎症性サイトカインが、腫瘍細胞内での転写因子 NF- κ B の活性化などを引き起こし、これが、腫瘍細胞の生存の維持、増殖優位の獲得や悪性化促進に関与すると考えられている。炎症反応の開始と維持では、マクロファージ、リンパ球、顆粒球などいわゆる免疫細胞だけでなく、上皮細胞や間質に存在する線維芽細胞に代表される非免疫細胞との相互作用が極めて重要である。研究開始当初、炎症局所に存在する非免疫細胞の機能はほとんど解明されていなかった。

ホスホリパーゼ C (PLC) は、ホスファチジルイノシトール 4,5-二リン酸 (PIP₂) を加水分解して細胞内セカンドメッセンジャーであるイノシトール 1,4,5-三リン酸 (IP₃) とジアシルグリセロール (DAG) とを産生する酵素である。PIP₂ は、細胞内 Ca²⁺ストアからの Ca²⁺放出を誘発して細胞内 Ca²⁺イオン濃度を上昇させ、DAG は、プロテインキナーゼ C (PKC) や RasGRP など DAG 結合ドメインを持つ蛋白質に結合して活性を制御する重要な役割を有している。これまでの研究から、哺乳類では 6 クラス (β 、 γ 、 δ 、 ϵ 、 η 、 ζ) に分類される 13 分子種にのぼる PLC が存在する。これらの中で PLC ϵ は、他のクラス PLC とは異なり、低分子量 G 蛋白質である Ras と Rap1 によって活性制御を受け、さらに Rap1 の活性化を引き起こすグアニンヌクレオチド交換因子 (GEF) 活性を有するという特徴を持つ。

我々の研究により、PLC ϵ は、表皮角化細胞や真皮線維芽細胞などの非免疫細胞に発現しているが、顆粒球、マクロファージ、リンパ球などの免疫細胞には発現していないことが分かった。また、PLC 活性を喪失させた PLC ϵ 遺伝子のホモ接合体マウス (ノックアウトマウス) を作製して様々な解析を行ったところ、このマウスは、7,12-ジメチルベンズアントラセン (DMBA、H-ras 遺伝子を活性化させる突然変異を誘発する変異原物質) によるイニシエーションとホルボールエステル 12-O-テトラデカノールホルボール-13-アセテート (TPA) によるプロモーションを用いた二段階皮膚化学発がんモデルにおいて、腫瘍形成とその悪性化が著しく抑制されていることを発見した。詳細な解析の結果、PLC ϵ ノックアウトマウスでは TPA 塗布により惹起される皮膚炎症 (発がんプロモーションに関与) が野生型 (WT) マウスと比べて著しく低下していることが分かった。さらに、PLC ϵ ノックアウトマウスから調製した初代培養真皮線維芽細胞を用いた解析から、TPA 刺激 \Rightarrow PKC と Rap1 の GEF である RasGRP3 の活性化 \Rightarrow Rap1 活性化を経て PLC ϵ が活性化

され、炎症性サイトカインの発現を誘導することが示唆された。同様に、ApcMin 腸腺腫形成モデルでも、PLC ϵ ノックアウトマウスが腫瘍形成とその悪性化の著明な低下を示すとともに、それが腫瘍周囲の炎症の低下と良い相関を示すことがわかった。

PLC ϵ の炎症への関与は、腫瘍形成に関わる炎症だけではなく、広く炎症応答一般に関わっている。例えば、アレルギー性接触性皮膚炎モデルでは、PLC ϵ ノックアウトマウスの炎症反応は著明に減弱していた。これは、接触性皮膚炎の惹起期における TNF- α 等の T 細胞由来サイトカイン刺激による皮膚非免疫細胞からの PLC ϵ 依存性の IL-1 α 、Cxcl2 や Ccl20 等の炎症性サイトカインの産生低下によるものであった。また初代培養皮膚細胞を用いた解析から、T 細胞由来サイトカインは PLC ϵ を直接活性化するのではなく、刺激により産生された可溶性因子がオートクラインに PLC ϵ の活性化に繋がるシグナル伝達系の活性化を引き起こしていることが強く示唆された。

2. 研究の目的

以上に示したように、ノックアウトマウスの解析から、PLC ϵ は、炎症反応の惹起とそれを介して発がんに対して普遍的な促進機能を有すること、ならびに、上皮細胞や線維芽細胞などの非免疫細胞における炎症性サイトカイン産生に重要な働きを有することが分かったが、PLC ϵ による炎症性サイトカイン産生制御の分子機構は不明であった。本研究の目的は、PLC ϵ を活性化する内在性リガンドの同定とその下流での PLC ϵ の活性化機構、ならびに、PLC ϵ から炎症性サイトカイン遺伝子の発現誘導に至るシグナル伝達経路の解析を通じて、炎症と発がんに関わる PLC ϵ を介する新規シグナル伝達経路の全容を解明することである。さらに、PLC ϵ を介するシグナル伝達経路の炎症と発がんにおける機能の普遍性を、種々の動物モデル系を用いてより広範に検証する。本研究の成果は、新原理に基づく抗炎症薬や発がん予防薬の開発に資すると考えられる。

3. 研究の方法

炎症と発がんプロモーションに関わる PLC ϵ を介する新規シグナル伝達経路の解明を目的として、図 1 に示す作業仮説に基づき、以下の方法で研究を進めた。

(1) 非免疫細胞における PLC ϵ による炎症性サイトカイン mRNA 発現誘導機構の解析: ① PLC ϵ 依存的に発現するサイトカイン mRNA とそれを引き起こす T 細胞由来サイトカインの探索: 内在性 PLC ϵ 発現細胞株であるヒト表皮角化細胞由来 PHK16-0B、ヒト胎児腎由来 HEK-293 及びヒト結腸がん由来 Caco2 において、PLC ϵ 特異的 siRNA の導入による RNA 干渉法を用いて PLC ϵ の発現を抑制 (ノックダウン) した。siRNA 導入細胞を、T 細胞由

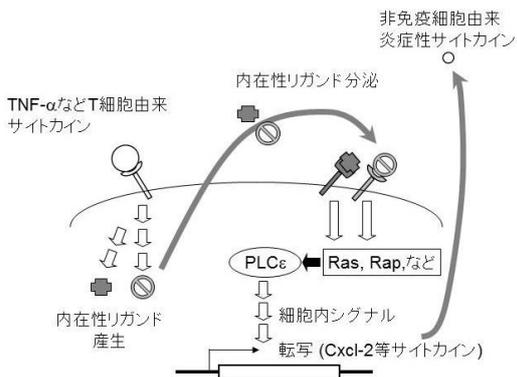


図1 PLCεによる炎症性サイトカイン産生の制御モデル

来サイトカインである TNF-α 等で刺激後、各種サイトカイン mRNA レベルを逆転写 (RT)-ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 法又は定量 RT-PCR (qRT-PCR) 法で定量した。PLCε ノックダウンによりサイトカイン刺激依存性の発現誘導が阻害されるサイトカインを同定した。②PLCε 依存的に発現誘導されるサイトカイン遺伝子の転写制御領域の解析：①で同定されたサイトカイン遺伝子の5'側の転写制御領域 DNA 断片 (プロモーター領域) をクローン化し、様々な転写因子認識配列の欠失変異体を作製し、ルシフェラーゼ・レポーター・プラスミドに挿入した。それらを PHK16-0B にトランスフェクトし、TNF-α 刺激による PLCε 依存的な転写活性化に必要な領域を同定した。

(2) PLCε による炎症性サイトカイン発現制御に関わる細胞内シグナル伝達系の解析：Caco2 と PHK16-0B を用いて、以下の解析を行った。①種々のシグナル伝達蛋白質の阻害剤や siRNA の効果の解析：(1)の①で同定された炎症性サイトカインの PLCε 依存的発現誘導への関与が示唆される転写因子の活性化に関わるシグナル伝達蛋白質に対する阻害剤や siRNA の効果を調べた。②PLCε ノックダウンの細胞内シグナル伝達系活性化への影響：上記実験で関与が示唆されたシグナル伝達経路の活性化に対する PLCε ノックダウンの影響をウエスタンブロット法や蛍光免疫染色法により解析した。③PLCε 過剰発現系を用いた細胞内シグナル伝達経路の解析：野生型 PLCε や各機能ドメインを欠失させた変異体 PLCε ならびに他の PLC 分子種を HEK-293 で過剰発現させ、シグナル伝達分子活性化への影響を調べた。

(3) PLCε 活性化を引き起こす内在性リガンドの同定：TNF-α 刺激により非免疫細胞から産生されることが報告されている種々のリガンド分子の関与を調べた。Caco2 細胞を候補リガンド分子の受容体に対するアンタゴニストで前処理してから TNF-α で刺激した。サイトカイン mRNA の発現誘導と (2) で同定された PLCε 下流のシグナル伝達経路へのアンタゴニストの効果を解析することで、内在性リガンドの同定を試みた。

(4) 動物 (マウス) モデルを用いた PLCε を介するシグナル伝達経路の炎症と発がんにおける機能の普遍性の解析：①ApcMin 腸管腺腫モデルでの炎症誘発性大腸腺腫形成への PLCε の関与：PLCε ノックアウトマウスとの交配により異なる PLCε 遺伝子型を持つ ApcMin マウスを作製した。これらにデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 飲水による大腸炎を誘発させ大腸腺腫形成を調べた。②卵白アルブミン (OVA) 気管支喘息モデルを用いたアレルギー性炎症への PLCε の関与：PLCε ノックアウトマウスと PLCε WT マウスを OVA に感作させた後、OVA を含むエアロゾルを吸入させ喘息症状を誘導した。気管支の炎症を含む喘息症状への PLCε ノックアウトの影響を検討した。

4. 研究成果

(1) 非免疫細胞における PLCε による炎症性サイトカイン mRNA 発現誘導機構の解析：①PHK16-0B での siRNA による PLCε ノックダウンにより、TNF-α 刺激によるサイトカイン CCL2 の発現誘導が抑制された (図2上)。同様に Caco2 細胞でも、TNF-α 刺激などによる

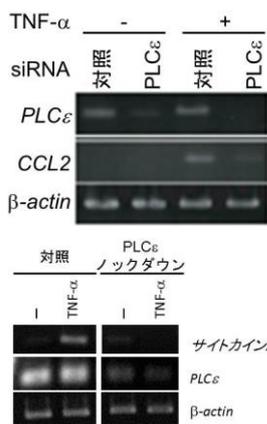


図2 炎症性サイトカインによるサイトカインの発現誘導の PLCε 依存性。(上)は PHK16-0B 細胞での、(下)は Caco2 細胞の結果を示す。

サイトカイン X の発現誘導が PLCε ノックダウンにより抑制された (図2下)。②PHK16-0B 細胞における TNF-α 刺激による CCL2 mRNA 発現誘導が NF-κB の活性化に関わる IKK の阻害剤で抑制された (図3)。そこで、ヒト CCL2 遺伝子の推定されるプロモーター領域 (転写開始点の上流 4 kb) を、NF-κB 結合領域を含むように PCR によりクローン化し、ルシフェラーゼ・レポーターを作製した。HEK-293 細胞を用いたルシフェラーゼ・アッセイの結果、TNF-α 刺激によりルシフェラーゼ活性が誘導されることと、その活性誘導が PLCε のノックダウンで抑制されることを明らかにした (図4上)。この結果は、4-kb 領域内に PLCε 応答性配列が含まれることが強く示唆されるものである。また、推定

サイトカイン X の発現誘導が PLCε ノックダウンにより抑制された (図2下)。②PHK16-0B 細胞における TNF-α 刺激による CCL2 mRNA 発現誘導が NF-κB の活性化に関わる IKK の阻害剤で抑制された (図3)。そこで、ヒト CCL2 遺伝子の推定されるプロモーター領域 (転写開始点の上流 4 kb) を、NF-κB 結合領域を含むように PCR によりクローン化し、ルシフェラーゼ・レポーターを作製した。HEK-293 細胞を用いたルシフェラーゼ・アッセイの結果、TNF-α 刺激によりルシフェラーゼ活性が誘導されることと、その活性誘導が PLCε のノックダウンで抑制されることを明らかにした (図4上)。この結果は、4-kb 領域内に PLCε 応答性配列が含まれることが強く示唆されるものである。また、推定

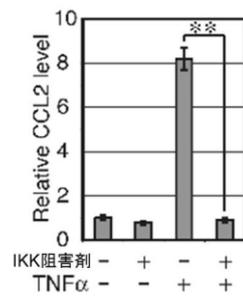


図3 TNF-α による CCL2 mRNA 発現誘導への IKK 阻害剤の効果

される NF- κ B 結合配列部位を除去すると TNF- α 刺激によるルシフェラーゼ活性の誘

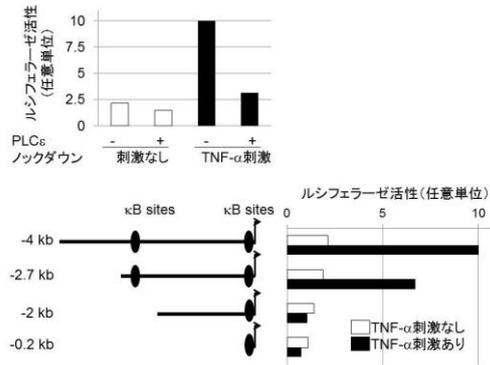


図4 CCL2-ルシフェラーゼ・アッセイによる PLC ϵ 依存的 (上)、NF- κ B 依存的 (下) プロモーター活性化の証明

導が減弱したことから、CCL2 遺伝子活性化に NF- κ B が必須であることが証明された (図4下)。

(2) PLC ϵ による炎症性サイトカイン遺伝子発現制御に関わる細胞内シグナル伝達系の解析: ①PHK19-0B 細胞での siRNA トランス

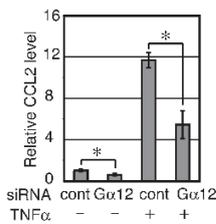


図5 PHK16-0B 細胞での CCL2 発現誘導への G α 12 ノックダウンの効果

フェクション実験の結果、TNF- α 刺激による CCL2 mRNA 発現誘導に、PLC ϵ を活性化することが知られている三量体 G 蛋白質 α サブユニットである G α 12 の

関与が示唆された (図5)。次に、Caco2 細胞で PLC ϵ 依存的に発現するサイトカイン X の発現制御に関わる PLC ϵ の下流のシグナル系を検討した。その結果、IKK 阻害剤に加えて PLC の標的である PKC に対する阻害剤の前処理が TNF- α 刺激によるサイトカイン X の発現を抑制することが分かった (図6)。また、PLC ϵ \Rightarrow PKC 経路の下流にあることが示唆されているキナーゼ Y に対する阻害剤前処理も、同様にサイトカイン X の発現誘導

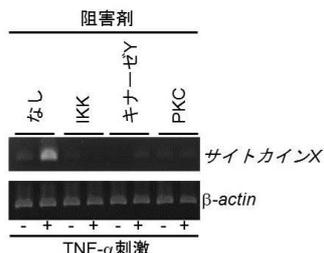


図6 Caco2 細胞での「サイトカイン X」の発現誘導へのキナーゼ阻害剤の影響

を強く抑制した。以上の結果から、Caco2 細胞では IKK \Rightarrow NF- κ B 経路と PLC ϵ \Rightarrow PKC \Rightarrow キナーゼ Y 経路が TNF- α 刺激によるサイトカイン発現に関与する可能性が示唆された。②サイトカイン遺伝子活性化に重要な IKK \Rightarrow NF- κ B 経路に着目して、解析した。Caco2 細胞での TNF- α 刺激による NF- κ B の核移行への PLC ϵ ノックダウンの効果を検討した。刺激開始後 90 分で免疫染色により観察したところ、PLC ϵ がノックダウンされた細胞

では NF- κ B の核移行が低下していた (図7)。

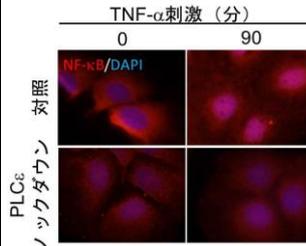


図7 Caco2 細胞での TNF- α 刺激による NF- κ B 核移行への PLC ϵ の関与

このことから、PLC ϵ が NF- κ B の活性化に関与する可能性が示唆された。③ HEK-293 細胞における PLC γ 、 δ 、 β 及び野生型の PLC ϵ と PLC 活性欠損変異体 PLC ϵ の過剰発現実験から、PLC

活性を持つ PLC ϵ だけがキナーゼ Y のリン酸化 (活性化) を強く誘導することが分かった。そこで、ヒト PLC ϵ の各ドメインのうち、GEF

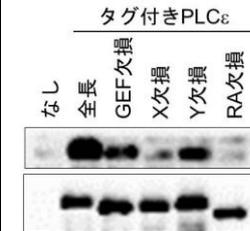


図8 「キナーゼ Y」リン酸化への PLC ϵ 機能ドメイン要求性

ドメインまたは Y ドメインの一部を欠損している変異体 (これらは *in vitro* で PLC 活性を示す)、X ドメインまたは RA ドメインを欠損している変異体 (これら 2 つの変異体は *in vitro* で PLC 活性が検出されない) を HEK-293 細胞に過剰発現させたところ、GEF ドメインまたは Y ドメイン欠損体は *in vitro* での PLC 活性があるにもかかわらず、キナーゼ Y のリン酸化誘導能が低下していることが分かった (図8)。このことから、PLC ϵ \Rightarrow PKC \Rightarrow キナーゼ Y 経路の活性化に GEF ドメインと Y ドメインが PLC 活性とは別の重要な役割を担っていることが示唆された。

(3) PLC ϵ 活性化を引き起こす内在性リガンドの同定: TNF- α 刺激により上皮系細胞が分泌することが知られているリガンド Z について、検討した。リガンド Z に対する G 蛋白質共役受容体アンタゴニストで Caco2 を前処

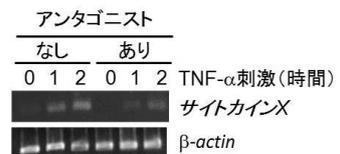


図9 「リガンド Z」受容体アンタゴニストによる「サイトカイン X」発現の抑制

理すると、TNF- α 刺激によるサイトカイン X の発現誘導が消失した (図9)。リガンド Z を培地に添加すると弱いながらもサイトカイン X の発現を誘導した。また、リガ

ンド Z は Caco2 細胞においてキナーゼ Y のリン酸化を誘導したが、PLC ϵ のノックダウンはこれを阻害した (図1

図10 「リガンド Z」刺激による「キナーゼ Y」リン酸化への PLC ϵ の関与

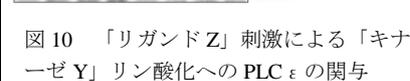


図10 「リガンド Z」刺激による「キナーゼ Y」リン酸化への PLC ϵ の関与

0)。以上の結果から、リガンド Z が図 1 に示される「内在性リガンド」の有力な候補であることが示唆された。

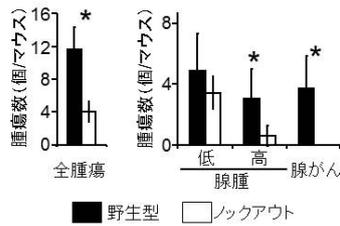


図 11 ApcMin 大腸腺腫形成モデルにおける PLC ϵ の関与。(左) 個体あたり全腫瘍数。(右) 腫瘍の悪性度による分類。個体あたりの個数で示した。*は

マウスでの大腸腺腫誘導実験を行い、得られた標本中の腫瘍数とその悪性度を解析した。その結果、PLC ϵ WT 背景では悪性腫瘍を含む多数の腫瘍が形成されたが、PLC ϵ ノックアウト背景では悪性腫瘍は観察されず、また腫瘍総数も減少していた (図 1 1)。DSS 自由飲水による腸炎が PLC ϵ ノックアウト背景で低下していた事を考えると、これら腫瘍数の低下と悪性進展の阻害は、腸管の炎症の低下を介したものを考えられた。②PLC ϵ WT マウスと PLC ϵ ノックアウトマウスを用い

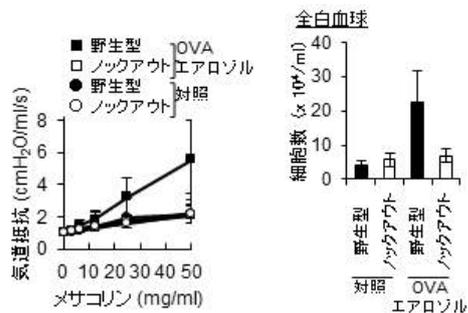


図 12 OVA 気管支喘息モデルによる PLC ϵ の呼吸器炎症における役割。(左) は気道過敏性を、(右) は気管支肺胞洗浄液中の白血球数を示す。

て喘息モデルを作製したところ、PLC ϵ ノックアウトマウスでは気道過敏性 (図 1 2 左) の低下や気管支肺胞洗浄液中の炎症細胞数 (図 1 2 右) やサイトカイン濃度の低下などが確認され、喘息症状への PLC ϵ の関与が示された。さらに気管上皮における炎症性サイトカイン産生が PLC ϵ ノックアウトマウスで低下していた。以上のことは、PLC ϵ が呼吸器系の炎症においても重要な機能を持つことを証明した。

5. 主な発表論文等

(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 11 件)

(1) Okada, K., Miyake, H., Yamaguchi, K., Chiba,

K., Maeta, K., Bilasy, S. A., Edamatsu, H., Kataoka, T., and Fujisawa, M. Critical function of RA-GEF-2/Rapgef6, a guanine nucleotide exchange factor for Rap1, in mouse spermatogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 445: 89-94, 2014 (査読有)

DOI:10.1016/j.bbrc.2014.01.149

(2) Shima, F., Yoshikawa, Y., Ye, M., Araki, M., Matsumoto, S., Liao, J., Hu, L., Sugimoto, T., Ijiri, Y., Takeda, A., Nishiyama, Y., Sato, C., Muraoka, S., Tamura, A., Osoda, T., Tsuda, K., Miyakawa, T., Fukunishi, H., Shimada, J., Kumasaka, T., Yamamoto, M., and Kataoka, T. *In silico* discovery of small-molecule Ras inhibitors that display antitumor activity by blocking the Ras-effector interaction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 110: 8182-8187, 2013 (査読有)

DOI:10.1073/pnas.1217730110

(3) Nozaki, S., Takeda, T., Kitaura, T., Takenaka, N., Kataoka, T., and Satoh, T. Akt2 regulates Rac1 activity in the insulin-dependent signaling pathway leading to GLUT4 translocation to the plasma membrane in skeletal muscle cells. *Cell. Signal.* 25: 1361-1371, 2013 (査読有)

DOI:10.1016/j.cellsig.2013.02.023

(4) Nozaki, S., Ueda, S., Takenaka, N., Kataoka, T., and Satoh, T. Role of RalA downstream of Rac1 in insulin-dependent glucose uptake in muscle cells. *Cell. Signal.* 24 (11): 2111-2117, 2012 (査読有)

DOI:10.1016/j.cellsig.2012.07.013

(5) Muraoka, S., Shima, F., Araki, M., Inoue, T., Yoshimoto, A., Ijiri, Y., Seki, N., Tamura, A., Kumasaka, T., Yamamoto, M., and Kataoka, T. Crystal structures of the state 1 conformations of the GTP-bound H-Ras protein and its oncogenic G12V and Q61L mutants. *FEBS Lett.* 586: 1715-1718, 2012 (査読有)

DOI:10.1016/j.febslet.2012.04.058

(6) Harada, Y., Edamatsu, H., and Kataoka, T. PLCepsilon cooperates with the NF-kappaB pathway to augment TNFalpha-stimulated CCL2/MCP1 expression in human keratinocyte. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 414: 106-111, 2011 (査読有)

DOI:10.1016/j.bbrc.2011.09.032

(7) Edamatsu, H., Takenaka, N., Hu, L., and Kataoka, T. Phospholipase Cepsilon as a potential molecular target for anti-inflammatory therapy and cancer prevention. *Inflamm. Regen.* 31: 370-374, 2011 (査読有)

http://www.jsir.gr.jp/journal/Vol31No4/pdf/08_M6_370.pdf

(8) Araki, M., Shima, F., Yoshikawa, Y., Muraoka, S., Ijiri, Y., Nagahara, Y., Shirono, T., Kataoka, T., and Tamura, A. Solution structure of the state 1 conformer of GTP-bound H-Ras protein and distinct dynamic properties between the state 1 and state 2 conformers. *J. Biol. Chem.* 286: 39644-39653, 2011 (査読有)

DOI:10.1074/jbc.M111.227074

(9) Bilasy, S. E., Satoh, T., Terashima, T., and Kataoka, T. RA-GEF-1 (Rapgef2) is essential for proper development of the midline commissures. *Neurosci. Res.* 71: 200-209, 2011 (査読有)

DOI: 10.1016/j.neures.2011.08.004

(10) Oka, M., Edamatsu, H., Kunisada, M., Hu, L., Takenaka, N., Sakaguchi, M., Kataoka, T., and Nishigori, C.

Phospholipase Cepsilon has a crucial role in ultraviolet B-induced neutrophil-associated skin inflammation by regulating the expression of CXCL1/KC. *Lab. Invest.* 91: 711-718, 2011 (査読有)

DOI:10.1038/labinvest.2011.10

(11) Matsumoto, K., Shima, F., Muraoka, S., Araki, M., Hu, L., Ijiri, Y., Hirai, R., Liao, J., Yoshioka, T., Kumasaka, T., Yamamoto, M., Tamura, A., and Kataoka, T. Critical roles of interactions among switch I- preceding residues and between switch II and its neighboring alpha-helix in conformational dynamics of the GTP- bound Ras family small GTPases. *J. Biol. Chem.* 286: 15403-15412, 2011 (査読有)

DOI:10.1074/jbc.M110.204933

[学会発表] (計 11 件)

(1) 片岡 徹. ras がん遺伝子産物の分子標的薬のインシリコ創薬 平成 25 年度臨床研究総合センターシンポジウム〜がん治療最前線: ゲノム創薬と免疫治療〜 (千葉県がんセンター、2013 年 12 月 7 日)

(2) 片岡 徹. Ras シグナル伝達系を標的とした抗がん剤の開発 大阪大学産学連携プロジェクト MEET 医学研究コロキウム・1-がんの分子標的治療を考える-(大阪大学大学院医学研究科、2013 年 10 月 7 日)

(3) 永野達也、枝松裕紀、小林和幸、西村善博、片岡 徹. 気道炎症におけるホスホリパーゼ C ϵ の役割 第 4 回 IAA 学術集会(東京国際フォーラム、2013 年 4 月 21 日)

(4) 片岡 徹. 癌の発生機構の基礎研究に基づく新しい癌治療薬の創薬 第 23 回生物試料分析化学会年次学術集会 (新梅田研修センター、2013 年 2 月 10 日〜2013 年 2 月 11 日)

(5) Kataoka, T. New strategies for development of anti-cancer drugs targeting the Ras family signaling pathway. WINPTech 2012: Recent Development in Drug Discovery Sciences (神戸大学統合拠点、2013 年 2 月 18 日〜2013 年 2 月 19 日)

(6) Shima, F. In silico discovery of novel Ras inhibitors that display anti-tumor activity by blocking the Ras-effector interaction. WINPTech 2012: Recent Development in Drug Discovery Sciences (神戸大学統合拠点、2013 年 2 月 18 日〜2013 年 2 月 19 日)

(7) 脇田将裕、枝松裕紀、北澤荘平、片岡 徹. Crucial role of phospholipase Cepsilon in

colitis-induced colon tumor formation in ApcMin mice (日本語演題名: ApcMin マウスの腸炎誘発性大腸腺腫発生におけるホスホリパーゼ C ϵ の重要な役割) 第 35 回日本分子生物学会年会 (福岡国際会議場、2012 年 12 月 11 日)

(8) Kataoka, T. New strategies for development of anti-cancer drugs targeting the Ras pathway. The 2nd International Symposium on Cancer and Cancer Stem Cells Research in Toyama (富山大学、2012 年 2 月 28 日)

(9) Kataoka, T. Universal roles of phospholipase Cepsilon in *de novo* carcinogenesis and inflammation. 2011 Taiwan-Japan Joint Symposium on Cell Signaling and Gene Regulation (National Cheng Kung University (台湾)、2011 年 11 月 20 日)

(10) Nagano, T., Edamatsu, H., Kobayashi, K., Nishimura, Y., and Kataoka, T. Crucial role of phospholipase Cepsilon in the development of asthma in mice. European Respiratory Society Annual Congress (欧州呼吸器学会年会) (Amsterdam RAI (オランダ)、2011 年 9 月 25 日)

(11) Edamatsu, H., Takenaka, N., and Kataoka, T. Overexpression of phospholipase Cepsilon in keratinocytes results in IL-23 production leading to skin inflammation accompanied by IL-22-producing T cell infiltration. 10th World Congress on Inflammation (Paris Convention Centre (フランス)、2011 年 6 月 27 日)

[図書] (計 2 件)

(1) 枝松裕紀、片岡 徹. がん基盤生物学—革新的シーズ育成に向けて—、南山堂、pp142-146, 2013

(2) Shima, F., Yoshikawa, Y., Matsumoto, S., and Kataoka, T. The Enzymes Vol. 34 Inhibitors of the Ras superfamily G-proteins, Part B (Elsevier) pp1-23, 2013

[その他]

ホームページ等

<http://www.med.kobe-u.ac.jp/molbiol/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

片岡 徹 (KATAOKA, Tohru)
神戸大学・医学研究科・教授
研究者番号: 40144472

(2)研究分担者

島 扶美 (SHIMA, Fumi)
神戸大学・医学研究科・准教授
研究者番号: 60335445

枝松 裕紀 (EDAMATSU, Hironori)

神戸大学・医学研究科・助教
研究者番号: 70335438