

平成 22 年 5 月 26 日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2005～2009

課題番号：17014017

研究課題名（和文） がん細胞の分化異常と転写制御の分子機構

研究課題名（英文） Molecular mechanisms of abnormal differentiation and transcriptional regulation in cancer cells

研究代表者

井上 純一郎 (Jun-ichiro Inoue)

東京大学・医科学研究所・教授

研究者番号：70176428

研究成果の概要（和文）：TRAF6 によって活性化される NF- κ B の分子機構及びがん化と悪性化における NF- κ B の役割の解明を目的として以下の成果を挙げた。(1) 成人 T 細胞白血病ウイルス 1 型の発癌タンパク質 Tax は NF- κ B を活性化し細胞を無制御な増殖に誘導すると考えられている。Tax による IKK 活性化は、サイトカインによる活性化とは異なり TAK1 は必要ではなく、NEMO の K63 型ポリユビキチン化の関与もないことが強く示唆された。これは、これまでに報告に無い新規な NF- κ B 活性化機構の存在を示している。(2) IL-1 の無制御な発現は癌の悪性化に寄与している。IL-1 シグナル依存的に TAK1 が TRAF6 により、K63 型ポリユビキチン化を受けることを発見し、かつ、このポリユビキチン化は TAK1 の活性化に必要であることを見出した。更に、MEKK3 が TAK1 の活性化に必要な分子であることを発見し、TRAF6、TAK1、MEKK3 の 3 分子が IL-1 シグナル依存的な複合体を形成することを示した。また、TAK1 に依存しない Zinc 経路が TAK1 に依存する RING 経路より時間的に遅れて NF- κ B を活性化することを明らかにし、TRAF6 による二相性 NF- κ B 活性化モデルを提唱した。(3) がんの悪性化に関与する可能性が高い NF- κ B 標的遺伝子を 25 同定した。(4) NF- κ B に増殖が依存する乳癌、肺癌、胃癌細胞株 6 株において、IKK α に依存性が高いことが明らかになった。NF- κ B の非古典的経路の癌細胞増殖における関与が示唆された。

研究成果の概要（英文）：We aimed to clarify molecular mechanisms of the TRAF6-mediated NF- κ B activation and roles of NF- κ B in oncogenesis and malignancy. The following results were obtained. (1) Oncogenic Tax protein of HTLV-1 activates NF- κ B to induce dysregulated cell growth. In contrast to the cytokine-induced NF- κ B activation, our results strongly suggest that Tax-mediated NF- κ B activation does not require TAK1 and K63-linked polyubiquitination of NEMO. Based on these results we propose a novel model of NF- κ B activation by Tax. (2) Enhanced expression of IL-1 is involved in malignancy of cancer. We found that IL-1 stimulation results in TRAF6-catalyzed K63-linked polyubiquitination of TAK1, which is essential for TAK1 activation. We further found that MEKK3 is an essential upstream activator of TAK1, and TRAF6, MEKK3 and TAK1 form signal complexes in an IL-1 stimulation-dependent manner. We propose the biphasic NF- κ B activation model, in which the TAK1-dependent RING pathway precedes the TAK1-independent Zinc pathway. (3) We identified 25 NF- κ B target genes that probably involved in cancer malignancy. (4) Six cell lines derived from breast, lung and gastric cancers, whose growth depends on NF- κ B activation, grow in an IKK α -dependent manner. The result suggests involvement of the non-classical pathway in their proliferation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005 年度	9,800,000	0	9,800,000
2006 年度	10,100,000	0	10,100,000
2007 年度	10,100,000	0	10,100,000
2008 年度	10,100,000	0	10,100,000
2009 年度	10,100,000	0	10,100,000
総計	50,200,000	0	50,200,000

研究分野：なし

科研費の分科・細目：なし

キーワード：癌、シグナル伝達、発現制御、発生・分化、ウイルス発癌

1. 研究開始当初の背景

c-Rel がマウスレトロウイルスのがん遺伝子 v-Rel のがん原遺伝子であることや B 細胞性白血病において NF- κ B サブユニットの一つである p100 が染色体転座を起こしている等、NF- κ B と癌との関係は古くから提唱されていた。我々は NF- κ B の活性制御機構の異常は癌を含む多くの疾患にも深く関与すると考え、その答えを得るため、1996 年に NF- κ B 活性化シグナルを伝達する TRAF5 と TRAF6 を同定した。その後 TRAF6 欠損マウスを作成し、TRAF6 による NF- κ B 活性化が破骨細胞形成、IL-1 や TLR シグナルを介する自然免疫や炎症反応、毛包汗腺等の皮膚付属器形成に必須であることを見出した。また、2001 年には米国 Zhijian Chen との共同研究で TRAF6 がユビキチン E3 リガーゼとして自分自身や他のタンパク質に Lys-63 型ポリユビキチン鎖を連結させる活性を持つことが明らかにし、NF- κ B の活性化機構解明に革新的な進歩をもたらした。しかしながら、Lys-63 型ポリユビキチン鎖連結による NF- κ B 活性化機構の詳細は依然として不明であり、ユビキチン化と疾患との関係についても解明すべき問題点は多かった。

2. 研究の目的

特定の転写因子の活性化により特定の遺伝子群の発現誘導や抑制が起こり、細胞の増殖分化が制御されている。がん細胞では種々の原因で誘起された転写制御異常から正常な分化から逸脱が起こっていると考えられる。即ち、がんの発症機序解明において転写制御の観点から研究を推進することは必須であるが、その解明は不十分である。本研究では申請者が同定したシグナル伝達因子 TRAF によって

活性化される転写因子 NF- κ B の活性制御機構とその活性異常によって誘導される細胞増殖・分化の破綻に焦点を絞る。

3. 研究の方法

- (1) Hela 細胞、293T 細胞、マウス胎仔線維芽細胞(MEF)を用いて遺伝子導入、RNAi ノックダウンを実施後、タンパク質間相互作用やシグナル伝達経路の活性化状況をウェスタンブロッティング法等により解析する。
- (2) Real time-PCR 法により特定の遺伝子の細胞内発現を定量する。
- (3) DNA マイクロアレイにより遺伝子発現プロファイルを作成する。

4. 研究成果

- (1) サイトカインシグナルでは、ユビキチン結合酵素 (E3)である TRAF6 タンパク質が自分自身及び IKK 複合体構成因子 NEMO に K63 型ポリユビキチン化を誘導することが引き金となりリン酸化酵素 TAK1 が活性化される。さらに活性化された TAK1 が IKK α 及び IKK β をリン酸化することにより IKK 複合体が活性化される。一方、成人 T 細胞白血病ウイルス 1 型の発癌タンパク質 Tax は NF- κ B を活性化し細胞を無制御な増殖に誘導すると考えられている。そこで Tax による IKK 活性化における 1) TAK1 の活性化、2) NEMO の K63 型ポリユビキチン化の関与を検討した。TAK1 の基質である TAK1 結合タンパク質 TAB1 のリン酸化を、TAK1 活性化の指標として検出したところ、調べたすべての HTLV-1 感染細胞株で TAK1 が恒常的に活性化していることが示された。しかし、JurkatT 細胞にメタロチオネイン・プロモーターを用いて Tax を発現誘導しても NF- κ B

は活性化されるものの TAK1 は活性化されなかった。さらに、HeLa 細胞を用いて TAK1 を RNA 干渉によりロックダウンしても Tax による NF- κ B 活性化は影響されなかった。これらの結果から、Tax は TAK1 を直接活性化しないことが明らかとなった。次に、Tax による NEMO の K63 型ポリユビキチン化の誘導について検討した。HeLa 細胞に 63 番目のリジン以外の全てのリジンをアルギニンに置換したユビキチン変異体及び NEMO を導入し、抗 NEMO 抗体で免疫沈降後 NEMO のポリユビキチン化を検出したところ、Tax 発現依存的な NEMO の K63 型ポリユビキチン化が観察された。ところが、K63 型ポリユビキチン鎖を特異的に脱ユビキチン化する酵素 CYLD を過剰発現させても Tax による NF- κ B 活性化は影響を受けなかった。K63 型ポリユビキチン化連結酵素 (E2) である Ubc13 を RNA 干渉によりロックダウンしたが、NF- κ B 活性化は正常であった。したがって、Tax は NEMO に対して K63 型ポリユビキチン化を誘導するが、それは NF- κ B 活性化に関与しないことが強く示唆された。従って Tax はサイトカイン等の正常シグナルとは異なりユビキチン化依存的 NF- κ B 活性化を誘導しないと考えられた。

(2) 細胞間情報伝達物質であるサイトカインのうち、IL-1 は炎症反応や感染防御などの免疫反応において重要な役割を果たし、その無制御な発現は癌の悪性化に寄与していることが知られている。細胞膜上に発現している IL-1 受容体に IL-1 が結合することで TRAF6 が活性化され、自分自身に K63 型ポリユビキチン鎖を連結させる。下流のリン酸化酵素である TAK1/TAB2 複合体がこのポリユビキチン鎖を介して TRAF6 と結合することにより TAK1 が活性化され、活性化した TAK1 が IKK 複合体を活性化し NF- κ B の活性化を誘導する。一方、TRAF6 の下流に位置するリン酸化酵素である MEKK3 も TAK1 と同様に IL-1 シグナルに関与する。しかしながら、TAK1 と MEKK3、そして TRAF6 の 3 者は IL-1 シグナルに深く関与するにも関わらず、これらの活性化の分子機構については不明な点が多かった。本研究では IL-1 シグナル依存的に TAK1 が TRAF6(E3) と Ubc13(E2) により、K63 型ポリユビキチン化を受けることを発見し、かつ、このポリユビキチン化は TAK1 の活性化に必要であることを見出した。更に、TAK1 の活性化に必要な分子の同定を試み、MEKK3 が TAK1 の活性化に必要な分子であることを発見し、TRAF6、MEKK3、TAK1 の 3 分子が IL-1 シグナル依存的な複合体を形成することを示した。TAK1 のポリユビキチン化が起らない状況ではこの複合体が形成されないため、リン酸化酵素である TAK1 自身が K63 型ポリユビキチン化を受けることで、シグナル複合体

形成を促し、自身を活性化させているという新しいシグナル制御機構が明らかになった。上述した TAK1 のポリユビキチン化を介する経路は TRAF6 の RING ドメインを必要とするが (RING 経路)、我々は以前に TRAF6 の Zinc ドメインから生じる NF- κ B 活性化経路 (Zinc 経路) が存在することを明らかにしている (EMBO J. 20, 1271-1280, 2001)。今回、我々はこの Zinc 経路の詳細な解析を進め、Zinc 経路が RING 経路より時間的に遅れて NF- κ B を活性化することを明らかにした。即ち Zinc 経路は RING 経路と機構的にだけではなく時間的にも異なる NF- κ B 活性化経路である。さらに、NF- κ B 標的遺伝子の中には、その発現が Zinc 経路に高く依存している群 (TNF α , CCL2, CXCL10) と依存性の低い群 (IL-6, IRF1) が存在する事を示し、Zinc 経路の生理的な役割を明らかにした。上記の結果より TRAF6 による二相性 NF- κ B 活性化モデルをした (図 1)。

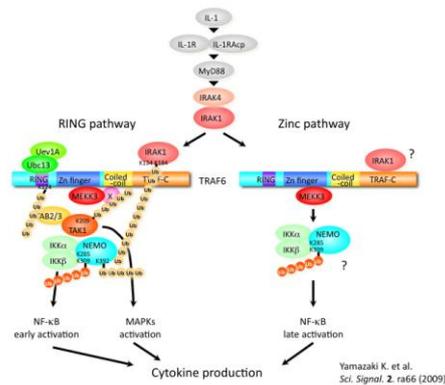


図 1 : TRAF6による二相性NF- κ B活性化モデル

(3) がん細胞における NF- κ B 標的遺伝子を同定するために、ヒト乳癌細胞株 MDA-MB-231 および BT549 を用いて NF- κ B の核移行を阻害するタンパク質 SRI κ B α を発現する細胞を作製し、NF- κ B 活性が抑制されていることを確認した。SRI κ B α を発現する細胞株と空ベクターを発現する細胞株の遺伝子発現プロファイルをマイクロアレイで解析し、SRI κ B α 発現細胞で発現が抑制される遺伝子を抽出した。次に、SRI κ B α を発現する細胞株で発現が抑制されるものの中で、35 種類の乳癌細胞株全体を通して NF- κ B の活性化度と相関が認められる遺伝子を検索したところ 25 個同定できた。これらの遺伝子は、SRI κ B α により発現が抑制される、すなわち NF- κ B によって発現誘導される遺伝子の中で、特に乳癌全体に渡って共通性の高い遺伝子であると考えられた。実際、25 個のうち 10 個は既知の NF- κ B 標的遺伝子であったことは、我々の手法の妥当性を支持するものと考えられた。同定した標的遺伝子に癌悪性化への関与を検討してい

る。

(4) 125 種類の癌細胞株の恒常的 NF- κ B 活性化を定量的に解析し、特に活性化が強い 12 種の細胞株を用いて、その増殖の NF- κ B 依存性を IKK の 3 つのサブユニットである IKK α , IKK β , NEMO の別に RNAi ノックダウン実験を行い解析した。12 株のうち増殖依存性を有していたのが乳癌細胞株 HCC1143, HCC1395, MDA-MB-436, 肺癌細胞株 NCI-H441, NCI-H1666, 胃癌細胞株 NUGC-3 の 6 株であった。これまで報告から IKK β 及び NEMO の依存することが予想されたが、程度に差があるものの、すべての細胞が IKK α に依存して増殖していることが明らかとなった。この結果は NF- κ B の非古典的経路が癌細胞の増殖に重要であることを示唆している。

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 37 件)

- ① Ando, K., Hasegawa, K., Shindo, K., Furusawa, T., Fujino, T., Kikugawa, K., Nakano, H., Takeuchi, O., Akira, S., Akiyama, T., Gohda, J., Inoue, J., and Hayakawa, M. Human lactoferrin activates NF- κ B through Toll-like receptor 4 (TLR4) pathway while it interferes with the lipopolysaccharide-stimulated TLR4 signaling. *FEBS Journal* (2010) in press.
- ② Oyama, M., Kozuka-Hata, H., Tasaki, S., Semba, K., Hattori, S., Sugano, S., Inoue, J. and Yamamoto, T. Temporal perturbation of tyrosine-phosphoproteome dynamics reveals the system-wide regulatory networks. *Mol. Cell. Proteomics* 8, 226-231 (2009)
- ③ Yamamoto, T., Yokota, Y., Mitsuki, Y., Mizukoshi, F., Tsuchiya, T., Terahara, K., Inagaki, Y., Yamamoto, N., Kobayashi, K., and Inoue, J. Selective transmission of R5 HIV-1 over X4 HIV-1 at the dendritic cell-T cell infectious synapse is determined by the T cell activation state. *PLoS Pathogens* 5(1): e1000279 (2009).
- ④ Helmy, M., Gohda, J., Inoue, J., Tomita, M., Tsuchiya, M., and Selvarajoo K. Predicting Novel Features of Toll-Like Receptor 3 Signaling in Macrophages. *PLoS ONE* 4(3): e4661 (2009).
- ⑤ Konno, H., Yamamoto, T., Yamazaki, K., Gohda, J., Akiyama, T., Semba, K., Goto, H., Kato, A., Yujiri, T., Imai, T., Kawaguchi, Y., Su, B., Takeuchi, O., Akira, S., Tsunetsugu-Yokota, Y., & Inoue, J. TRAF6 Establishes Innate Immune Responses by Activating NF- κ B and IRF7 upon Sensing Cytosolic Viral RNA and DNA. *PLoS ONE*, 4(5): e5674 (2009).
- ⑥ Yamaguchi, N., Ito, T., Azuma, S., Ito, E., Honma, R., Yanagisawa, Y., Nishikawa, A., Kawamura, M., Imai, J., Watanabe, S., Semba, K., and Inoue, J. Constitutive activation of NF- κ B is preferentially involved in the proliferation of basal-like subtype breast cancer cell lines. *Cancer Sci.* 100, 1668-1674 (2009).
- ⑦ Matsumura, T., Kawamura-Tsuzuku, J., Yamamoto, T., Semba, K., and Inoue, J. TRAF-interacting protein with a forkhead-associated domain B (TIFAB) is a negative regulator of the TRAF6-induced cellular functions. *J. Biochem.* 146, 375-381 (2009).
- ⑧ Nishina, T., Yamaguchi, N., Gohda, J., Semba, K. and Inoue, J. NIK is involved in constitutive activation of the alternative NF- κ B pathway and proliferation of pancreatic cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 388, 96-101 (2009).
- ⑨ Taguchi, Y., Gohda, J., Koga, T., Takayanagi, H., and Inoue, J. A unique domain in RANK is required for Gab2 and PLC γ 2 binding to establish osteoclastogenic signals. *Genes Cells* 14, 1331-1345 (2009).
- ⑩ Yamazaki, K., Gohda, J., Kanayama, A., Miyamoto, Y., Sakurai, H., Yamamoto, M., Akira, S., Hayashi, H., Su, B., and Inoue, J. Two Mechanistically and Temporally Distinct NF- κ B Activation Pathways in IL-1 Signaling. *Sci. Signal.* 2, ra66 (2009).
- ⑪ Ishikawa, K., Akiyama, T., Ito, K., Semba, K., and Inoue, J. Independent stabilizations of polysomal Drg1/Dfrp1 complex and non-polysomal Drg2/Dfrp2 complex in mammalian cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 390, 552-556 (2009).
- ⑫ Nagatake, T., Fukuyama, S., Kim, D.Y., Goda, K., Igarashi, O., Sato, S., Nochi, T., Sagara, H., Yokota, Y., Jetten, A.M., Kaisho, T., Akira, S., Mimuro, H., Sasakawa, C., Fukui, Y., Fujihashi, K., Akiyama, T., Inoue, J., Penninger, J.M., Kunisawa, J., Kiyono, H. Id2-, ROR γ t-, and LT β R-independent initiation of lymphoid organogenesis in ocular immunity. *J Exp Med.* 206, 2351-2364 (2009).
- ⑬ Yamaguchi, N., Ito, E., Azuma, S., Honma, R., Yanagisawa, Y., Nishikawa, A., Kawamura, M., Imai, J., Tatsuta, K., Inoue, J., Semba, K., and Watanabe, S. FoxA1 as a lineage-specific oncogene in luminal type breast cancer. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 365, 711-717 (2008).
- ⑭ Yamaguchi, N., Oyama T, Ito E, Satoh H, Azuma S, Hayashi M, Shimizu K, Honma R, Yanagisawa Y, Nishikawa A, Kawamura M, Imai J, Ohwada S, Tatsuta K, Inoue J, Semba K, & Watanabe S. NOTCH3 signaling pathway plays crucial roles in proliferation of ErbB2-negative human breast cancer cells. *Cancer Res.* 68, 1881-1888 (2008).

- ⑮Miyasaka, T., Morita, M., Ito, K., Suzuki, T., Fukuda, H., Takeda, S., Inoue, J., Semba, K. and Yamamoto, T. Interaction of anti-proliferative protein Tob with the CCR4-NOT deadenylase complex. *Cancer Sci.* 99, 755-761 (2008)
- ⑯Akiyama T., Shimo Y., Yanai H., Qin J., Ohsima, D., Maruyama Y., Asaumi Y., Kitazawa J., Takayanagi H., Penninger JM., Matsumoto M., Nitta T., Takahama Y., and Inoue J. The Tumor Necrosis Factor family receptors RANK and CD40 cooperatively establish the thymic medullary microenvironment and self-tolerance. *Immunity* 29, 423-437 (2008).
- ⑰Hikosaka Y., Nitta T., Ohigashi I., Yano K., Ishimaru N., Hayashi Y., Matsumoto M., Matsuo K., Penninger JM., Takayanagi H., Yokota Y., Yamada H., Yosikawai Y., Inoue J., Akiyama T., and Takahama Y. The Cytokine RANKL Produced by Positively Selected Thymocytes Fosters Medullary Thymic Epithelial Cells that Express Autoimmune Regulator. *Immunity* 29, 438-450 (2008).
- ⑱Yang Y.J., Chen W., Carrigan S.O., Chen W-M., Roth K., Akiyama T., Inoue J., Marshall J.S., Berman J.N. and Lin Y-J. TRAF6 specifically contributes to FcεRI-mediated cytokine production but not mast cell degranulation. *J. Biol. Chem.* 283, 32110-32118 (2008).
- ⑲Selvarajoo, K., Takada, Y., Gohda, J., Helmy, M., Akira, S., Tomita, M., Tsuchiya, M., Inoue, J. and Matsuo, K. Signaling Flux Redistribution at Toll-like Receptor Pathway Junctions. *PLoS ONE* 3 (10) e3430 (2008).
- ⑳Inoue, J., Gohda, J., Akiyama, T., and Semba, K. NF-κB activation in development and progression of cancer. (review) *Cancer Sci.* 98, 268-274 (2007).
- ㉑Gohda, J., Irisawa, M., Tanaka, Y., Sato, S., Ohtani, K., Fujisawa, J., and Inoue, J. HTLV-1 Tax-induced NF κ B activation is independent of Lys-63-linked-type polyubiquitination, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 357, 225-30 (2007).
- ㉒Ito, E., Honma, R., Yanagisawa, Y., Imai, J., Azuma, S., Oyama, T., Ohwada, S., Akiyama, T., Nomura, N., Inoue, J., Watanabe, S., and Semba, K. Novel clusters of highly expressed genes accompany genomic amplification in breast cancers. *FEBS Letter* 581, 3909-3914 (2007).
- ㉓Qin, J., Konno, H., Ohshima, D., Yanai, H., Motegi, H., Hirota, F., Matsumoto, M., Takaki, S., Inoue, J., and Akiyama, T. Developmental stage-dependent collaboration between the TRAF6 and lymphotoxin pathways for B-cell follicle organization in secondary lymphoid organs. *J. Immunol.* 179, 6799-6807 (2007).
- ㉔Maezawa, Y., Nakajima, H., Suzuki, K., Tamachi, T., Ikeda, K., Inoue, J., Saito, Y., and Iwamoto, I. Involvement of TNF Receptor-associated Factor (TRAF) 6 in IL-25 Receptor Signaling. *J Immunol.* 176, 1013-1018 (2006)
- ㉕Miyahara, T., Koyama, H., Miyata, T., Shigematsu, H., Inoue, J., Takato, T., and Nagawa, H. Inflammatory responses involving tumor necrosis factor receptor-associated factor 6 contribute to in-stent lesion formation in a stent implantation model of rabbit carotid artery. *J. Vasc. Surg.* 43, 592-600 (2006).
- ㉖Inoue, J., Gohda, J., and Akiyama, T. Characteristics and Biological Functions of TRAF6. In "TRAFs" edited by Hao Wu. Landes Bioscience, *Adv Exp Med Biol*, 597, 72-79. (2006).
- ㉗Sharma, R.K., Chopra, S., Sharma, S.D., Pande, V., Ramos, M.J., Meguro, K., Inoue, J., and Otsuka, M. Biological evaluation, chelation and molecular modeling studies of novel metal-chelating inhibitors of NF-κB-DNA binding: Structure activity relationship. *J. Med. Chem* 49, 3595-601 (2006).
- ㉘Ito, H., Esashi, E., Akiyama, T., Inoue, J., and Miyajima, A. IL-18 produced by thymic epithelial cells induces development of dendritic cells with CD11b in the fetal thymus. *Int. Immunol.* 18, 1253-1263 (2006).
- ㉙Yamamoto, T., Miyoshi, H., Yamamoto, N., Yamamoto, N., Inoue, J., and Tsunetsugu-Yokota, Y. Lentivirus vectors expressing short hairpin RNAs against the U3-overlapping region of HIV nef inhibit HIV replication and infectivity in primary macrophages. *Blood*, 108, 3305-3312 (2006).
- ㉚Ichikawa, D., Funakoshi-Tago, M., Aizu-Yokota, E., Sonoda, Y., Inoue, J., and Kasahara T. TNF-receptor associated factor 6-deficient fibroblast is sensitive to the TNF-alpha-induced cell death: Involvement of reactive oxygen species. *Biochem Biophys Res Commun.* 351, 93-98 (2006).
- ㉛Ishikawa, K., Azuma, S., Ikawa, S., Semba, K., and Inoue, J. Identification of DRG family regulatory proteins (DFRPs): specific regulation of DRG1 and DRG2. *Genes Cells* 10, 139-150 (2005).
- ㉜Okochi, K., Suzuki, T., Inoue, J., Matsuda, S. and Yamamoto, T. Interaction of antiproliferative protein Tob with poly(A)-binding protein and inducible poly(A)-binding protein: Implication of Tob in translational control. *Genes Cells* 10, 151-163 (2005).
- ㉝Sharma, R.K., Pande, V., Ramos, M.J., Rajor, H.K., Chopra, S., Meguro, K., Inoue, J., Otsuka, M. Inhibitory activity of polyhydroxycarboxylate

chelators against recombinant NF- κ B p50 Protein-DNA binding. *Bioorg. Chem.* 33, 67-81 (2005).

⑭Gohda, J., Akiyama, T., Koga, T., Takayanagi, H., Tanaka, S., and Inoue, J. RANK-mediated amplification of TRAF6 signaling leads to NFATc1 induction during osteoclastogenesis. *EMBO J* 24, 790-799 (2005).

⑮Akiyama, T., Maeda, S., Yamane, S., Ogino, K., Kasai, M., Kajiuira, F., Matsumoto, M., and Inoue, J. Dependence of Self-tolerance on TRAF6-directed Development of Thymic Stroma. *Science* 308 (5719), 248-251 (2005).

⑯Inoue, J., Yagi, S., Ishikawa, K., Azuma, S., Ikawa, S., and Semba, K. Identification and characterization of *Xenopus laevis* homologs of mammalian TRAF6 and its binding protein TIFA. *Gene* 358, 53-59 (2005)

⑰Noguchi, T., Takeda, K., Matsuzawa, A., Saegusa, K., Nakano, H., Gohda, J., Inoue, J., and Ichijo, H. Recruitment of TRAF family proteins to The ASK1 signalosome is essential for oxidative stress-induced cell death. *J. Biol. Chem.* 280(44), 37033-37040 (2005).

[学会発表] (計 23 件)

①山本瑞生、山口憲孝、仙波憲太郎、井上純一郎

Molecular mechanisms underlying enhanced expression of NF- κ B inducing kinase(NIK)in basal type breast cancer cells.

第 68 回日本癌学会学術総会、2009

②伊藤拓、山口憲孝、仙波憲太郎、井上純一郎

Screening of novel NF- κ B target genes in breast cancer cells

第 68 回日本癌学会学術総会、2009

③丹藤利夫、原口健、水谷壮利、秋山泰身、井上純一郎、伊庭英夫

Requiem protein links RelB/p52 with Brm-tipe SWI/SNF in noncanonical NF κ B pathway and is a therapeutic target of cancer

第 68 回日本癌学会学術総会、2009

④仁科隆史、山口憲孝、仙波憲太郎、井上純一郎

NIK is involved in constitutive activation of NF- κ B and proliferation in pancreatic cancer cells

第 68 回日本癌学会学術総会、2009

⑤田口祐、合田仁、井上純一郎

癌骨転移に関与するは骨細胞の新規分化機構の解明

第 67 回 日本癌学会学術総会、2008

⑥山崎孔輔、合田仁、金山敦宏、櫻井宏明、井上純一郎

TAK1 の K63 型ポリユビキチン化は複合体形成を誘導することで TAK1 自身の活性化を促し、NF κ B 活性化を制御する

第 67 回 日本癌学会学術総会、2008

⑦合田仁、柴田佑里、井上純一郎

ATL における恒常的 NF κ B 活性化機構の解析

第 67 回 日本癌学会学術総会、2008

⑧山口憲孝、仙波憲太郎、井上純一郎

NIK 依存的な NF κ B 恒常的活性化は乳癌細胞の増殖を促進する

第 67 回 日本癌学会学術総会、2008

⑨秋山泰身、秦俊文、下茂佑輔、大島大輔、井上純一郎

細胞シグナル伝達因子の制御による樹状細胞の人為的活性化

The design of a system to activate dendritic cells by modifying an intracellular signal transduction molecule

第 66 回日本癌学会学術総会、2007

⑩仁科隆史、合田仁、井上純一郎

Analysis of signal transduction pathways that cause constitutive activation of NF- κ B in adult T cell leukemia cells

第 66 回日本癌学会学術総会、2007

⑪山口憲孝、仙波憲太郎、井上純一郎

Characterization of breast cancer cells with constitutively activated NF κ B

第 66 回日本癌学会学術総会、2007

⑫尾山大明、秦裕子、菅野純夫、仙波憲太郎、井上純一郎、山本雅

Bioinformatical estimation of EGFR signaling networks from quantitative phosphoproteome data

第 66 回日本癌学会学術総会、2007

⑬柴田佑里、合田仁、井上純一郎

Cell-free システムを用いた HTLV-1 Tax による NF- κ B 活性化機構の解明

Establishment and characterization of the cell-free NF- κ B activation system induced by recombinant Tax protein of HTLV-1

第 66 回日本癌学会学術総会、2007

⑭秦裕子、尾山大明、菅野純夫、仙波憲太郎、井上純一郎、山本雅

Description of phosphotyrosine-dependent signaling network dynamics by quantitative proteomics

第 66 回日本癌学会学術総会、2007

⑮宮坂隆、秦裕子、尾山大明、菅野純夫、入江新司、佐藤孝明、井上純一郎、仙波憲太郎、山本雅

Phospho-proteomics analysis of EGFR signal cascades in a non-small cell cancer cell line expressing mutated EGFR

第 66 回日本癌学会学術総会、2007

⑯山口憲孝、仙波憲太郎、合田仁、井上純一郎

⑰山口憲孝、仙波憲太郎、合田仁、井上純一郎

⑱山口憲孝、仙波憲太郎、合田仁、井上純一郎

⑲山口憲孝、仙波憲太郎、合田仁、井上純一郎

乳癌細胞における Notch3 の遺伝子増幅による増殖促進作用

第 65 回日本癌学会学術総会、2006

⑰合田仁、仁科隆史、井上純一郎

ATLにおける転写因子 NFκB 活性化機構の解析

第 65 回日本癌学会学術総会、2006

⑱山崎孔輔、合田仁、金山敦広、井上純一郎

IL-1R シグナルにおける TRAF6 による NFκB 活性化機構

第 65 回日本癌学会学術総会、2006

⑲仙波憲太郎、山口憲孝、清水健、砂川正勝、

小山徹也、井上純一郎

乳癌における新規遺伝子増幅部位の同定

第 65 回日本癌学会学術総会、2006

⑳秋山泰身、大島大輔、下茂佑輔、井上純一郎

郎

TRAF6 依存性シグナル伝達の制御による癌免疫療法の基礎的検討

第 65 回日本癌学会学術総会、2006

㉑仙波憲太郎、山口憲孝、井上純一郎

乳癌細胞において erbB2 の過剰発現と相関する遺伝子群の同定

第 64 回日本癌学会学術総会、2005

㉒合田仁、入沢正人、井上純一郎

ATLにおける NFκB 活性化機構の解析

第 64 回日本癌学会学術総会、2005

㉓山口憲孝、仙波憲太郎、合田仁、井上純一郎

郎

癌細胞における転写因子 NFκB の恒常的活性化機構の解析

第 64 回日本癌学会学術総会、2005

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/BunshiHatsugan/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井上 純一郎 (INOUE JUN-ICHIRO)

東京大学・医科学研究所・教授

研究者番号：70176428