

科学研究費補助金研究成果報告書

平成 22 年 8 月 31 日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2005～2009

課題番号：17014066

研究課題名（和文）がん細胞における分化の異常と細胞内シグナリング

研究課題名（英文）Abnormal Differentiation in Cancer Cells and Intracellular Signaling

研究代表者

菊池 章 (KIKUCHI AKIRA)

大阪大学・医学系研究科・教授

研究者番号：10204827

研究成果の概要（和文）：本研究では、Wnt シグナルの異常によるがん化の分子機構を細胞の分化と極性に着目して下記の点を明らかにした。①Wnt 蛋白質の翻訳後修飾の意義を示した。②受容体エンドサイトーシス経路の違いが、Wnt シグナルを特異的に活性化した。③細胞運動と極性制御に Wnt5a シグナルが関与した。④Wnt5a シグナルの異常がヒトがんの悪性化に関与した。⑤GSK-3 の新規結合蛋白質が微小管や接着斑の制御に関与した。⑥Dvl が細胞分裂期の紡錘系のダイナミクスとチェックポイントの制御に関与した。

研究成果の概要（英文）：In this study we focused in Wnt signaling among many intracellular signaling pathways involved in tumorigenesis. We analyzed the molecular mechanisms of tumorigenesis by abnormality in Wnt signaling in the light of differentiation and polarity. The following points are clarified. ①Wnt proteins were purified and the roles of their post-translational modifications were clarified. ②Receptor-mediated endocytic routes played a role in the selective activation of multiple Wnt signaling. ③Wnt5a signaling regulated cell migration and cell polarity. ④Abnormalities in Wnt5a signaling were involved in aggressiveness of human cancer. ⑤Novel binding proteins to GSK-3, a protein kinase, were identified, and they were involved in the regulation of microtubule dynamics and focal adhesion. ⑥Dvl regulated spindle dynamics and spindle assemble dynamics in mitosis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	27,900,000	0	27,900,000
2006年度	28,200,000	0	28,200,000
2007年度	28,200,000	0	28,200,000
2008年度	29,200,000	0	29,200,000
2009年度	29,200,000	0	29,200,000
総計	142,700,000	0	142,700,000

研究分野：生化学、分子細胞腫瘍学

科研費の分科・細目：医科学一般

キーワード：がん、Wnt、シグナル伝達、分化、極性、接着、転移

1. 研究開始当初の背景

現代医学において、がんは遺伝子の疾患であり、その発生や進展に関与する遺伝子はがん遺伝子とがん抑制遺伝子の二群に大別されることが明らかになった。がん関連遺伝子

の異常により、がん化した細胞は無限増殖性と浸潤能という正常細胞では認められない表現型を獲得するが、これは細胞の分化や極性に異常が生じたためと考えられている。これまでに知られている細胞の分化や極性を

決定する遺伝子の中にはかなりの割合で細胞内シグナル伝達分子をコードするものが含まれている。これはシグナル伝達分子の多くが細胞増殖や分化、細胞周期、細胞運動、細胞死を制御しているために、異常が生じるとがんが発生すると考えられている。そこで細胞のがん化との関連性が高い細胞内シグナル伝達経路に関与する分子の機能を細胞分化と極性の視点から解析して、その異常とがんとの関連を明らかにする必要があるが生じていた。

2. 研究の目的

Wnt は細胞外リガンドとして機能する分泌蛋白質であり、線虫やショウジョウバエからヒトに至るまで生物種を越えて保存されている。ショウジョウバエにおける Wnt (Wingless) の変異の表現型は幼虫における分節異常や成虫における翅の欠如である。哺乳動物においては 19 種類の Wnt が存在し、ノックアウトマウスの解析により、Wnt は発生初期における体軸形成や器官形成に必須である。また、Wnt1 はマウス乳癌において、mouse mammary tumor virus (MMTV) により発現誘導される遺伝子として同定された癌遺伝子でもある。そこで、本研究では、Wnt およびその関連蛋白質が活性化する細胞内シグナル伝達経路を解析して、細胞の分化や極性、運動を制御する機構を明らかにする。同時に、その異常に基づく細胞がん化の機構を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) Wnt蛋白質の精製

1 L 単位の Wnt コンディショニングメディアムから吸着カラムやゲルろ過カラムを組み合わせた数段階のクロマトグラフィーにより分画したサンプルを Wnt3a と Wnt5a, Wnt5b, Wnt11 の抗体で検出し、 β -カテニンの蓄積や Dvl のリン酸化、Rac の活性化を指標に活性画分を確認し、精製する。精製 Wnt 蛋白質を質量分析装置等で分析して、Wnt 蛋白質がどのような翻訳後修飾を受けているかを決定する。

(2) 受容体のエンドサイトーシスを介する Wntシグナルの制御の解析

タグの付いた Wnt 受容体 Frizzled2 (Fz2) と Fz5、low density lipoprotein receptor-related protein 6 (LRP6) を細胞に発現させ、Wnt3a や Wnt5a, Dickkopf1 (Dkk1) で刺激した後に細胞内に取り込まれたこれらの受容体をタグに対する抗体で確認する。また、クラスリンまたはカベオリン依存性のエンドサイトーシス経路を RNAi 法や薬剤によって抑制した後に、Wnt 依存性の受容体のエンドサイトーシスへの影響を解析すると共に、Wnt 依存性の β -カテニンの安定化や T-cell factor (Tcf) の活性化、Rac の活性化に対する影響を解析する。

(3) Wnt依存性の細胞運動、極性、浸潤制御の解析

精製 Wnt 蛋白質が細胞運動を制御するか否かを、トランスウエルアッセイと wound

healing アッセイを用いて解析する。また、Wnt シグナル伝達経路を構成する蛋白質を RNAi 法で減少させることにより、Wnt がどのシグナル伝達経路を介して細胞運動を制御するかを解析する。

がん細胞において、DNA マイクロアレイ法を用いて Wnt 依存性に発現が制御される遺伝子群を網羅的に解析して、浸潤・転移に関連して発現が誘導される遺伝子を見出す。さらにそれらの遺伝子の発現機構を明らかにする。

(4) がん組織におけるWntシグナルの異常の解析

胃癌と前立腺癌手術症例において、Wnt3a, Wnt5a, Wnt11 が発現しているか否かを免疫化学染色法により解析する。これらの Wnt 蛋白質の異常発現と各症例の予後や病理型等との関連を検討する。コントロールがん細胞と Wnt ノックダウンがん細胞をヌードマウスに移植して、増殖能と転移能を比較検討する。

(5) Glycogen synthase kinase-3 (GSK-3) 結合蛋白質の同定とその機能並びにがんとの関連の解析

GSK-3 の新規結合蛋白質を酵母の Two hybrid 法またはアフィニティカラムを用いて単離する。同定した蛋白質が、GSK-3 と共同して、細胞運動と微小管の動的平衡をどのように制御するかを解析する。さらに、がん組織での発現状況を解析する。

4. 研究成果

(1) Wnt蛋白質の精製と翻訳後修飾の役割

Wnt3a と Wnt5a, Wnt5b を精製して、Wnt3a と Wnt5a の翻訳後修飾について解析した。Wnt3a にはパルミチン酸に加えて、87 番と 298 番のアスパラギンに糖鎖が付加されていた。Wnt5a では、104 番のシステインにパルミチン酸が、114 番、120 番、311 番、325 番のアスパラギンに糖鎖が付加されていた。糖鎖の修飾はパルミチン酸化に必要であり、また、Wnt 蛋白質の分泌に必須であった。一方、パルミチン酸化は分泌には必要ではなかったが、パルミチン酸化されていない Wnt 蛋白質は Fz や LRP6 等の Wnt 受容体と結合できなかった。これらの経験をもとに、現在 Wnt11 をほぼ均一蛋白質にまで精製できる段階に至った。

(2) 翻訳後修飾を介するWntシグナル伝達経路の制御

①PKAによる β -カテニン安定化の分子機構

A キナーゼ (PKA) は β -カテニンの 675 番目のセリン残基をリン酸化することにより、 β -カテニンのユビキチン化を抑制し、 β -カテニンを安定化した。さらに、PKA は Tcf4 の転写活性化能を亢進した。したがって、PKA の活性化は Wnt シグナル伝達経路を活性化することが明らかになった。

②PIASyのSUMO化によるTcf4転写活性制御 SUMO 化の E3 リガーゼである PIASy の 35 番目のリジン残基が SUMO 化された。SUMO 化されない PIASy の変異体は Tcf4 の SUMO 化を促進せず、転写活性も亢進できなかった。したがって、PIASy と Tcf4 の SUMO 化による翻訳

後修飾は Wnt のシグナルの転写制御において重要であることが示唆された。

(3) 受容体のエンドサイトーシス経路を介する Wnt シグナルの活性化制御

①カベオリンを介する β -カテニン経路の活性化 : Wnt3a が LRP6 と結合した後に、LRP6 はインターナリゼーションされた。この際に LRP6 はカベオリンと複合体を形成した。また、カベオリンのノックダウンによりインターナリゼーションが抑制された。カベオリンは細胞膜の脂質ラフトに存在しているが、LRP6 も脂質ラフトに主として局在した。したがって、Wnt3a はカベオリン依存性に LRP6 のインターナリゼーションを引き起こすことが明らかになった。Wnt3a により LRP6 はリン酸化されるが、LRP6 をリン酸化するカゼインキナーゼ 1 \cdot (CK1 γ) は脂質ラフトに局在したリン酸化 LRP6 と Axin は強く結合して、カベオリンはリン酸化 LRP6 を介して Axin と複合体を形成した。この複合体中では、カベオリンは Axin と β -カテニンの結合を抑制した。 β -カテニンは Axin と結合することで分解されるので、カベオリンは β -カテニンの安定化に必要とされると推測された。この予想に一致して、カベオリンのノックダウンにより、Wnt3a 依存性の β -カテニンの安定化が抑制された。これらの結果から、Wnt3a が受容体 LRP6 と結合した後に、LRP6 はリン酸化され、カベオリンを介してインターナリゼーションされることが、Wnt による β -カテニンの安定化に重要であることが明らかになった。

②クラスリンを介する β -カテニン非依存性経路の制御 : Wnt シグナル経路には、 β -カテニン経路に加えて、 β -カテニン非依存性経路が存在する。 β -カテニン非依存性経路は、低分子量 G 蛋白質 Rho や Rac、C キナーゼ (PKC) やカルモジュリンキナーゼ (CaMK) を活性化して、細胞運動や極性を制御する。 β -カテニン非依存性経路を活性化する代表的リガンドである Wnt5a は Rac を活性化した。Wnt5a は Fz2 のインターナリゼーションを引き起こした。クラスリン依存性エンドサイトーシス経路を阻害すると、Wnt5a による Fz2 のインターナリゼーションと Rac の活性化が抑制された。したがって、 β -カテニン非依存性経路の活性化においては、Wnt 受容体のクラスリン依存性エンドサイトーシス経路が重要な役割を果たすと考えられた。

③Wnt5a による β -カテニン経路の抑制 : Wnt5a は Wnt3a 依存性の β -カテニン経路を抑制することが知られており、核内で β -カテニンと転写因子 Tcf4 の結合を阻害されると考えられていた。しかし、Wnt5a は Wnt3a が作用する受容体 Fz2 に競合して結合する結果、 β -カテニン経路を抑制した。この抑制作用は、クラスリン依存性エンドサイトーシス経路を阻害しても認められた。したがって、 β -カテニン経路を抑制するための複数の経路が存在することが明らかになった。

④Dkk1 による β -カテニン経路の抑制 : Dkk1 は分泌蛋白質で、Wnt による β -カテニン経路を抑制する Wnt シグナルの阻害因子である。Dkk1 を細胞に作用させると、LRP6 を細胞膜

上の脂質ラフト画分から非脂質ラフト画分に移動させ、LRP6 がインターナリゼーションされた。この LRP6 のインターナリゼーションはクラスリン依存性であった。クラスリン依存性経路を阻害すると、Dkk1 の Wnt シグナル阻害作用が消失した。したがって、Dkk1 は Wnt3a と異なる経路で LRP6 をインターナリゼーションすることにより、Wnt シグナルを抑制すると考えられた。①~④の結果から、受容体エンドサイトーシス経路の違いにより、Wnt シグナル経路の選択的活性化が決定されると考えられた。

(4) Wnt シグナルによる細胞極性の制御

Wnt シグナルによる細胞形態、極性の制御機構を解明するために、上皮細胞 (MDCK 細胞と HPPL 細胞) の 3 次元培養と神経細胞 (胎児海馬神経細胞) の初代培養の実験系を確立した。Dvl をノックダウンすると、MDCK 細胞の頂底部極性形成が阻害された。また、MDCK 細胞は Hepatocyte growth factor (HGF) 刺激により管構造を形成するが、Dvl をノックダウンすると HGF 依存性の管形成が認められなくなった。さらに、HPPL 細胞が HGF 刺激により管形成を行う場合にその移動先端部の細胞の先進部に Dvl と adenomatous polyposis coli 蛋白質 (APC) が濃縮した。胎児海馬神経細胞は極性を獲得することにより、軸索と樹状突起を伸長するが、Wnt3a と Wnt5a を作用させると、軸索と樹状突起の伸長に異常が認められた。これらの結果から、Wnt シグナルが細胞形態、極性の制御に関与することが示唆された。

(5) Wnt シグナルの異常と病態

①胃癌と Wnt5a : Wnt5a の発現を胃癌症例 237 例について検討したところ、70 例 (約 30%) に高発現していた。Wnt5a は腫瘍浸達度の高い症例、リンパ節転移を伴っている症例に有意に高く発現していた。また、進行胃癌手術症例 111 例において、Wnt5a は予後の悪い症例に有意に発現していた。Wnt5a をノックダウンした胃癌細胞株をヌードマウスの胃に移植したところ、腫瘍増殖能には変化は無かった。一方、脾臓に移植して肝転移を観察したところ、Wnt5a をノックダウンした胃癌細胞株は野生株に比して、転移能が減弱した。さらに、Wnt5a 抗体は胃癌細胞株の運動能を抑制した。

Wnt5a による浸潤・転移の分子機構を明らかにするために、Wnt5a により発現誘導される遺伝子群を解析した。それらの中で、Wnt5a が胃癌細胞において、PKC と c-Jun キナーゼ (JNK) の活性化を介してラミニン 5 γ 2 の転写レベルと蛋白質レベルでの発現を促進した。ラミニン 5 γ 2 は基底膜蛋白質ラミニン 5 のサブユニットであるが、大腸癌の浸潤先端部には単独で発現し、癌細胞の浸潤・転移に関与することが示唆されている。Wnt5a はラミニン 5 γ 2 のプロモーターへの JunD の結合を促進することにより、ラミニン 5 γ 2 の発現を促進した。また、スキルス型胃癌の臨床検体において、Wnt5a とラミニン 5 γ 2 の両者が高発現している症例が有意に高いことが明らかになった。これらの結果から、Wnt5a

にはがん促進作用があり、Wnt5a による胃癌の細胞運動・浸潤能促進の機構にラミニン 5 γ 2 の発現を介する可能性が示唆された。したがって、Wnt5a は胃癌予後判定のマーカーになると共に、治療のための分子標的になる可能性が考えられた。

②Wnt5a シグナルによる細胞運動の制御：Wnt5a は Rac と Focal adhesion kinase (FAK) を活性化して、接着斑のターンオーバーを促進し、その結果、細胞運動を促進した。Dvl と APC は直接結合し、Wnt5a はその複合体形成を促進した。また、Dvl と APC は、それぞれ細胞接着斑のパキシリンと FAK と複合体を形成した。運動を行っている極性化した細胞の先端端に Dvl が局在し、微小管(+)端に結合した APC は Dvl に結合することにより、微小管を安定化した。したがって、Dvl と APC が微小管と協調して、接着斑の形成に関与することが、Wnt5a による細胞運動の分子機構の一つであると考えられた。

③前立腺癌と Wnt5a: 前立腺癌において Wnt5a と悪性化との関連を解析したところ、98 例中 30 例 (約 30%) に高発現していた。Wnt5a は Gleason score の高い症例ならびに血清 PSA 値の高い症例に有意に発現していた。また、Wnt5a が高発現している症例では、術後再発する確率が高いことが明らかになった。さらに、Wnt5a は前立腺癌細胞において PKC を介して、matrix metalloproteinase 1 (MMP1) の発現を促進した。したがって、Wnt5a は前立腺癌においても進行度や予後判定のマーカーになると考えられた。

(5) GSK-3 の新規結合蛋白質と細胞機能制御

Wnt シグナルの構成分子である GSK-3 は細胞運動や極性決定に関与することが知られている。GSK-3 の新規結合蛋白質として、h-prune、BICD、AIP、GCP5 を単離した。

①h-prune: h-prune はホスホジエステラーゼ (PDE) 活性を有する蛋白質で、h-prune の発現は、大腸癌と膀胱癌における浸潤能やリンパ節転移と相関した。h-prune をノックダウンすると細胞運動が抑制された。h-prune は接着斑に局在し、パキシリンやビンキュリンと共局在した。活性型の GSK-3 と h-prune は接着斑で共局在した。GSK-3 および h-prune のノックダウンにより、接着斑のダイナミクスが損なわれた。大腸癌由来 SW480 細胞にて、h-prune の PDE 活性阻害剤と GSK-3 の阻害剤は相加的に細胞運動を抑制した。したがって、GSK-3 と h-prune が接着斑のダイナミクスを制御することにより、細胞運動を促進することが明らかになった。h-prune は進行がんのマーカーになる可能性と h-prune の阻害剤が癌転移を抑制する可能性が示唆された。

②BICD: BICD はダイニンと複合体を形成して微小管(-)端への小胞輸送に関与することが知られていた。GSK-3 は BICD とダイニンの結合に必要であった。GSK-3 と BICD のノックダウンにより、Ninein の中心体への局在と微小管(-)端の中心体への結合が抑制された。Ninein は微小管(-)端を中心体へ結合する役目を担うことから、GSK-3 と BICD が共同して、Ninein を中心体に輸送すると考えられた。

③AIP: AIP は Aurora-A に結合して、分解を促進することが知られていた。AIP は GSK-3、Aurora-A と共に、分裂中期に紡錘体系に局在した。GSK-3 が AIP をリン酸化すると、AIP の Aurora-A に対する結合能と分解能が減少した。また、AIP をノックダウンすると、前中期、中期の細胞が増加した。したがって、GSK-3 は AIP を介して Aurora-A の安定性を調整し、分裂早期の進行を制御すると考えられた。

④GCP5: GCP5 は γ -チューブリン複合体 (γ -TuRC) のサブユニットで、中心体からの微小管の核化を促進する。GCP5 は中心体に結合し、 γ -TuRC の中心体への局在に必要であった。GSK-3 を阻害すると、GCP5 は中心体へ蓄積し、星状微小管が伸長し、染色体の分配が異常になった。したがって、GSK-3 は紡錘体系の配向を制御することにより、染色体の分裂に関与することが示された。

(6) Dvl による細胞周期制御

がんは細胞周期の異常に伴って生じることが知られている。Wnt シグナル構成蛋白質の Dvl の分裂期における局在を検討した。Dvl は主として、紡錘系と中心体に局在した。また、ノコダゾールで紡錘系を破壊すると、Dvl はキネトコアに局在した。Dvl をノックダウンすると、紡錘系の軸が野生型に比して傾き、分裂した細胞の一つが接着面から離れる傾向にあった。また、Dvl は紡錘系(+)端のキネトコアへの結合に関与した。さらに、Dvl は分裂期チェックポイントの制御に関する蛋白質のキネトコアへのリクルートに関与することが明らかになった。これらの結果に一致して、Dvl をノックダウンすると、分裂期チェックポイントが働かなくなり、細胞周期制御が破綻した。したがって、Dvl の異常ががん化に関連することが示唆された。

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 48 件)

1. Matsumoto, S., Fumoto, K. Okamoto, T. Kaibuchi, K., and Kikuchi, A. Binding of APC and disheveled mediates Wnt5a-regulated focal adhesion dynamics in migrating cells. *EMBO J.*、査読有、29, 2010, 1192-1204.
2. Yamamoto, H., Oue, N., Sato, A., Hasegawa, Y., Matsubara, A., Yamamoto, H., Yasui, W., and Kikuchi, A. Wnt5a signaling is involved in the aggressiveness of prostate cancer and expression of metalloproteinase. *Oncogene*、査読有、29, 2010, 2036-2046.
3. Sakane, H., Yamamoto, H., and Kikuchi, A.: LRP6 is internalized by Dkk1 to suppress its phosphorylation in the lipid raft and is recycled for reuse. *J. Cell Sci.*、査読有、123, 2010, 360-368.
4. Sato, A., Yamamoto, H., Sakane, H., Koyama, H., and Kikuchi, A. Wnt5a regulates distinct signaling pathways

- by binding to Frizzled2. *EMBO J.*、査読有、29、2010、41-54.
5. Fumoto, K., Kadono, M., Izumi, N., and Kikuchi, A. Axin localizes to the centrosome and is involved in microtubule nucleation. *EMBO R.*、査読有、10、2009、606-613.
 6. Kikuchi, A., Yamamoto, H., and Sato, A. Selective activation mechanisms of Wnt signaling pathways. *Trends Cell Biol.*、査読有、19、2009、119-129.
 7. Yamamoto, H., Kitadai, Y., Yamamoto, H., Oue, N., Ohdan, H., Yasui, W., and Kikuchi, A. Laminin $\alpha 2$ mediates Wnt5a-induced invasion of gastric cancer cells. *Gastroenterology*、査読有、137、2009、242-252.
 8. Nishiyama, M., Oshikawa, K., Tukada, Y., Nakagawa, T., Iemura S., Natsume, T., Fan Y., Kikuchi, A., Skoultchi, A. I., and Nakayama, K. CHD8 suppresses p53-mediated apoptosis through histone H1 recruitment during early embryogenesis. *Nat. Cell Biol.*、査読有、11、2009、172-182.
 9. Ohtsubo, M., Yasunaga, S., Ohno, Y., Tsumura, M., Okada, S., Ishikawa, N., Shirao, K., Kikuchi, A., Nishitani, H., Kobayashi, M., Takihara, Y. Polycomb-group complex 1 acts as an E3 ubiquitin ligase for Geminin to sustain hematopoietic stem cell activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*、査読有、105、2008、10396-10401.
 10. Fumoto, K., Lee, P-C., Saya, H., and Kikuchi, A. AIP regulates stability of Aurora-A at early mitotic phase coordinately with GSK-3 β . *Oncogene*、査読有、27、2008、4478-4487.
 11. Kikuchi, A. and Yamamoto, H. Tumor formation due to abnormalities in the β -catenin-independent pathway of Wnt signaling. *Cancer Sci.*、査読有、99、2008、202-208.
 12. Izumi, N., Fumoto, K., Izumi, S., and Kikuchi, A. GSK-3 β regulates proper mitotic spindle formation in cooperation with a component of the γ -tubulin ring complex, GCP5. *J. Biol. Chem.*、査読有、283、2008、12981-12991.
 13. Zhu, W., Shiojima, I., Ito, Y., Li, Z., Ikeda, H., Yoshida, M., Naito, A., Nishi, J., Ueno, H., Umezawa, A., Minaminol, T., Nagai, T., Kikuchi, A., Asashima, M., Komuro, I. IGFBP-4 is a canonical Wnt inhibitor that promotes cardiac myogenesis. *Nature*、査読有、454、2008、345-349.
 14. Yamamoto, H., Sakane, H., Yamamoto, H., Michiue, T., and Kikuchi, A. Wnt3a and Dkk1 regulate distinct internalization pathways of LRP6 to tune the activation of β -catenin signaling. *Dev. Cell*、査読有、15、37-48、2008.
 15. Komekado, H., Yamamoto, H., Chiba, T., and Kikuchi, A. Glycosylation and palmitoylation of Wnt-3a are coupled to produce an active form of Wnt-3a. *Genes Cells*、査読有、12、2007、521-534.
 16. Kikuchi, A. and Yamamoto, H. Regulation of Wnt signaling by receptor-mediated endocytosis. *J. Biochem.*、査読有、141、2007、443-451.
 17. Kishida, S., Hamao, K., Inoue, M., Hasegawa, M., Matsuura, Y., Mikoshiba, K., Fukuda, M., and Kikuchi, A. Dvl regulates endo- and exocytotic processes through binding to synaptotagmin. *Genes Cells*、査読有、12、2007、49-61.
 18. Kurayoshi, M., Yamamoto, H., Takada, S., Izumi, S., and Kikuchi, A. Post-translational palmitoylation and glycosylation of Wnt-5a are necessary for its signaling. *Biochem. J.*、査読有、402、2007、515-523.
 19. Ihara, M., Koyama, H., Uchimura, Y., Saitoh, H., and Kikuchi, A. Non-covalent binding of SUMO protease to SUMO is necessary for enzymatic activities and cell growth. *J. Biol. Chem.*、査読有、282、2007、16465-16475.
 20. Schwarz-Romond, T., Fiedlerl, M., Shibata, N., Butler, P. J. G., Kikuchi, A., Higuchi, Y., and Bienz, M. The DIX domain of Dishevelled confers Wnt signaling by dynamic polymerization. *Nat. Struct. Mol. Biol.*、査読有、14、2007、484-492.
 21. Kikuchi, A., Kishida, S., and Yamamoto, H. Multiplicity of the interactions of Wnt proteins and their receptors. *Cell. Signal.*、査読有、19、2007、659-671.
 22. Naito, A., Shiojima, I., Akazawa, H., Hidaka, K., Morisaki, T., Kikuchi, A., and Komuro, I. Developmental stage-specific, biphasic roles of Wnt/ β -catenin signaling in cardiomyogenesis and hematopoiesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*、査読有、103、2006、19812-19817.
 23. Nishita, M., Yoo, S-K., Nomachi, A., Kani, S., Sougawa, N., Ohta, Y., Takada, S., Kikuchi, A., and Minami, Y. Filopodia formation mediated by receptor tyrosine kinase Ror2 is required for Wnt5a-induced cell migration. *J. Cell Biol.*、査読有、175、2006、555-562.
 24. Kurayoshi, M., Oue, N., Yamamoto, H., Kishida, M., Inoue, A., Asahara, T., Yasui, W., and Kikuchi, A. Expression of Wnt-5a is correlated with aggressiveness of gastric cancer by stimulating cell migration and invasion. *Cancer Res.*、査読有、66、2006、10439-10448.
 25. Fumoto, K., Hoogenraad, C. C., and Kikuchi, A. GSK-3 β -regulated interaction of BICD with dynein is involved in microtubule anchorage at centrosome. *EMBO J.*、査読有、25、2006、5670-5682.
 26. Kikuchi, A., Kishida, S., and Yamamoto, H. Regulation of Wnt signaling by protein-protein interaction and post-translational modifications.

- Experi. & Mol. Med.*、査読有、38、2006、1-10.
27. Yamamoto, H., Komekado, H., and Kikuchi, A. Caveolin is necessary for Wnt-3a-induced internalization of LRP6 and accumulation of β -catenin. *Dev. Cell*、査読有、11、2006、213-223.
 28. Kobayashi, T., Hino, S., Oue, N., Asahara, T., Zollo, M., Yasui, W., and Kikuchi, A. Glycogen synthase kinase-3 and h-prune regulate cell migration by modulating focal adhesions. *Mol. Cell. Biol.*、査読有、26、2006、898-911.
 29. Yoshimura, T., Kawano, Y., Arimura, N., Kawabata, S., Kikuchi, A., and Kaibuchi K. GSK-3 regulates phosphorylation of CRMP-2 and neuronal polarity. *Cell*、査読有、120、2005、137-149.
 30. Hino, S-I., Tanji, C., Nakayama, K-I., and Kikuchi, A. Phosphorylation of β -catenin by cyclic AMP-dependent protein kinase stabilizes β -catenin through inhibition of its ubiquitination. *Mol. Cell. Biol.*、査読有、25、2005、9063-9072.
 31. Ihara, M., Yamamoto, H., and Kikuchi, A. SUMO-1 modification of PIASy, an E3 ligase, is necessary for PIASy-dependent activation of Tcf-4. *Mol. Cell. Biol.*、査読有、25、2005、3506-3518.

[学会発表] (計 12 件)

1. 菊池章、Regulation of Cell adhesion and Migration by Wnt5a signaling、第 32 回日本分子生物学会年会、平成 21 年 12 月 12 日、横浜
2. Kikuchi, A.、Wnt signaling and receptor-mediated endocytosis、Endotrack on the tracks of signalling、November 9, 2009、Il Ciocco, Italy
3. Kikuchi, A.、Regulation of cell adhesion and migration by Wnt5a signaling、EMBO Workshop: Wnt Signalling in Development and Disease、August 28, 2009、Arolla, Switzerland
4. 菊池章、Wnt シグナルによる細胞運動制御とその異常による癌の悪性化、第 31 回日本分子生物学会年会、第 81 回日本生化学会大会シンポジウム、平成 20 年 12 月 12 日、神戸
5. 菊池章、 β -カテニン非依存性の Wnt シグナルによる細胞応答とがん、第 67 回日本癌学会学術総会モーニングレクチャー、平成 20 年 10 月 29 日、横浜
6. Kikuchi, A.、Spatial and temporal regulation of Glycogen Synthase kinase-3 and Cellular function. 2007 Annual meeting of Korean Society of Medical Biochemistry and Molecular Biology. October 25, 2007, Seoul, Korea
7. 菊池章、Wnt シグナルによるがんの悪性化、第 66 回日本癌学会学術総会モーニングレクチャー、平成 19 年 10 月 5 日、横浜
8. Kikuchi, A.、Regulation of Wnt

- signaling by receptor-mediated endocytosis. Wnt Signaling in Development and Disease. September 13, 2007, Berlin, Germany
9. Kikuchi, A. and Yamamoto, H.、Expression of Wnt5a is correlated with aggressiveness of gastric and prostate cancer by stimulating cell migration and invasion. Traditional Wnt meeting. June 22, 2007, La Jolla, California, USA
 10. 菊池章、Wnt-5a による細胞運動能の促進と胃癌の悪性化、第 65 回日本癌学会学術総会シンポジウム、平成 18 年 9 月 30 日、横浜
 11. Kikuchi, A.、Regulation of Cellular functions by Wnt signaling. Cell Signaling and Protein Networking. May 18, 2006, Seoul, Korea
 12. Kikuchi, A.、Caveolin-mediated endocytosis of LRP6 is required for activation of Wnt/ β -catenin pathway. Keystone symposia, Wnt and β -Catenin Signaling in Development and Disease. April 7-12, 2006, Snowbird Resort, Snowbird, Utah, USA

[その他]

ホームページ等

<http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/molbiobc/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

菊池 章 (KIKUCHI AKIRA)
大阪大学・医学系研究科・教授
研究者番号：10204827

(2) 研究分担者

山本 英樹 (YAMAMOTO HIDEKI)
大阪大学・医学系研究科・准教授
研究者番号：20372691

佐藤 朗 (SATO AKIRA)
大阪大学・医学系研究科・助教
研究者番号：70464302

日野 真一郎 (HINO SHIN-ICHIROU)
広島大学・医歯薬学総合研究科・助手
研究者番号：00372699
(平成 17 年度まで研究分担者として参画)

岸田 想子 (KISHIDA MICHIKO)
広島大学・医歯薬学総合研究科・助手
研究者番号：40274089
(平成 19 年度まで研究分担者として参画)