

研究種目：基盤研究（B）  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19370083  
 研究課題名（和文） p27 低下で誘導される癌転移亢進遺伝子の機能解析と医学的応用  
 研究課題名（英文） Functional analysis of tumor metastasis promoting gene induced by p27-downregulation

## 研究代表者

北川 雅敏 (KITAGAWA MASATOSHI)  
 浜松医科大学・医学部・教授  
 研究者番号 50294971

## 研究成果の概要：

細胞周期抑制因子であるCDK阻害タンパク質p27Kip1の分解亢進が広範囲の癌で起こっており、p27の発現量低下は癌の予後と深く関連している。しかしながらその原因およびメカニズムは不明であった。我々はそれを解明すべく、p27の発現低下モデル細胞(p27-hKO)を作成し、マイクロアレイによる発現遺伝子解析を行った。その結果、機能未知の7回幕貫通Gタンパク共役型受容体GPR48/LGR4がp27の発現低下で発現が増加することを見出した。このGPR48の強制発現により癌細胞の浸潤能、肺転移は著明に亢進し、ノックダウンすることによりこの細胞の浸潤能は抑制され、肺転移能が低下した。またヒト大腸癌検体においてリンパ節転移とGPR48の発現亢進が関連していた。以上よりGPR48はp27の発現低下によって誘導される新たな浸潤転移促進遺伝子であることが判明した。またGPR48トランスジェニックマウスを作成し、個体レベルでの機能解析を試みたが、タンパク質としての発現が低く、改良が必要と考えられた。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	8,200,000	2,460,000	10,660,000
2008年度	6,100,000	1,830,000	7,930,000
年度			
年度			
年度			
総計	14,300,000	4,290,000	18,590,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・細胞生物学

キーワード：癌、p27kip1、転移、Gタンパク共役型受容体

#### 1. 研究開始当初の背景

細胞周期抑制因子である CDK 阻害タンパク質 p27Kip1 の分解亢進が広範囲の癌で起こっており、p27 の発現量低下は癌の予後と深く相関している。しかしながらその原因およびメカニズムは不明であった。

#### 2. 研究の目的

p27 の発現量低下が何故癌の予後不良を導くのかを解明する。

#### 3. 研究の方法

p27 の片側遺伝子をノックアウトした p27 の発現低下モデル細胞 (p27-hKO) を作成した。その細胞を用いてマイクロアレイにより、発現変動遺伝子を同定する。この遺伝子に関し、分子生物学的、細胞生物学的手法により、機能の解析を行う。

#### 4. 研究成果

p27 の発現低下で発現が増加する遺伝子として、機能未知の 7 回幕貫通 G タンパク共役型受容体 GPR48/LGR4 を見出した。GPR48 の強制発現により癌細胞の浸潤能、肺転移が亢進し、ノックダウン細胞では肺転移能が低下した。ヒト大腸癌検体でリンパ節転移と GPR48 の発現亢進が相関しており、転移促進遺伝子であることがわかった。さらにトランスジェニックマウスを作成し、個体レベルでの機能解析を試みたが、タンパク質としての発現が低く、改良が必要と考えられた。

#### 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 15 件)

- 1 Yamamoto, M., Kikuchi, H., Ohta, M., Kawabata, T., Hiramatsu, Y., Kondo, K., Baba, M., Kamiya, K., Tanaka, T., Kitagawa M. and Konno H. TSU68 prevents liver metastasis of colon cancer xenografts by modulating the pre-metastatic niche. *Cancer Res.* 68: 9754-9762, 2008.
- 2 Ohashi, N., Yamamoto, T., Huang, Y., Misaki, T., Fukasawa, H., Suzuki, H., Togawa, A., Suzuki, S., Fujigaki, Y., Nakagawa, T., Nakamura, Y., Suzuki, F., Kitagawa, M., Hishida, A., Intrarenal RAS activity and urinary angiotensinogen excretion in anti-thymocyte serum nephritis rats. *Am J. Physiol Renal Physiol.* 295: F1512-1518, 2008.
- 3 Hayakawa, M., Matsushima, M., Hagiwara, H., Oshima, T., Fujino, T., Ando, K., Kikugawa, K., Tanaka, H., Miyazawa, K. and Kitagawa, M. Novel insights into FGD3, a putative GEF for Cdc42, that undergoes SCF<sup>FWD1/TrCP</sup>-mediated proteasomal degradation analogous to that of its homologue FGD1 but regulates cell morphology and motility differently from FGD1. *Genes to Cells* 13: 329-442, 2008.
- 4 Abe K, Hattori T, Isobe T, Kitagawa K, Oda T, Uchida C, Kitagawa, M. Pirh2 interacts with and ubiquitylates signal recognition particle receptor beta subunit. *Biomed Res.* 29:53-60, 2008.
- 5 Kurata, K., Yanagisawa, R., Ohira, M. Kitagawa, M., Nakagawara, A., Kamiyo, T.; Stress via p53 pathway causes apoptosis by mitochondrial Noxa upregulation in doxorubicin-treated neuroblastoma cells. *Oncogene* 27: 741-754, 2008.
- 6 Fukasawa, H., Yamamoto, T., Kitagawa, M. and Hishida, A.: Regulation of TGF-beta signaling by Smads and its roles in tissue fibrosis. *Current signal transduction therapy* (review article) 3: 1-6, 2008.
- 7 Hattori, T., Isobe, T., Abe, K., Kikuchi, H., Kitagawa, K., Oda, T., Uchida, C. and Kitagawa, M.: Pirh2 Promotes Ubiquitin-Dependent Degradation of the CDK Inhibitor p27Kip1. *Cancer Research* 67:10789-10795, 2007.
- 8 Ohoka, N., Hattori, T., Kitagawa, M., Onozaki, K. and Hayashi H.: Critical and functional regulation

- of CHOP (C/EBP homologous protein) through the N-terminal portion. *J Biol Chem.* **282**: 35687-35694, 2007.
- 9 Arakawa, T., Yamamura, T., Hattori, T., Hayashi H., Mori, A., Yoshida, A., Uchida, C., Kitagawa, M. and Onozaki, K.: Contribution of Extracellular Signal-Regulated Kinases to the IL-1-induced Growth Inhibition of Human Melanoma Cells A375. *International Immunopharmacology* **8**: 80-89, 2007.
- 10 Kono, S., Suzuki, H., Oda, T., Takahashi, Y., Shirakawa, K., Takahashi, Y., Kitagawa, M. and Miyajima, H.: Cys-881 is essential for the trafficking and secretion of truncated mutant ceruloplasmin in aceruloplasminemia. *J. Hepatology* **47**:844-850, 2007.
- 11 Kikuchi, H., Yamamoto, M., Hiramatsu, Y., Baba, M., Ohta, M., Kamiya, K., Tanaka, T., Suzuki, S., Sugimura, H., Kitagawa, M., Kanai, T., Kitayama, Y., Kanda, T., Nishikura, K. and Konno, H.: Effect of loss of heterozygosity of the c-kit gene on prognosis after hepatectomy for metastatic liver gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Sci.* **98**: 1734-1739, 2007.
- 12 Kikuchi, H., Uchida, C., Hattori, T., Isobe, T., Hiramatsu, Y., Kitagawa, K., Oda, T., Konno, H. and Kitagawa, M.: ARA54 is involved in transcriptional regulation of the *cyclin D1* gene in human cancer cells. *Carcinogenesis* **28**:1752-1758, 2007.
- 13 Suzuki, S., Fukasawa, H., Kitagawa, K., Uchida, C., Hattori, T., Isobe, T., Oda, T., Masaki, T., Ohashi, N., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Hishida, A., Yamamoto, T. and Kitagawa, M.: Renal damage in obstructive nephropathy is decreased in Skp2-deficient mice. *Am. J. Pathol.* **171**:473-483, 2007.
- 14 Inoue, Y., Kitagawa, M. and Taya, Y.: Phosphorylation of pRB at Ser612 by Chk1/2 leads to a complex between pRB and E2F-1 after DNA damage. *EMBO J.* **26**:2083-2093, 2007.
- 15 Li, S., Gao, Y., Tokuyama, T., Yamamoto, J., Yokota, N., Yamamoto, S., Terakawa, S., Kitagawa, M. and Namba, H.: Genetically engineered neural stem cells migrate and suppress glioma cell growth at distant intracranial sites. *Cancer Letters*, **251**(2): 220-227, 2007.
- [学会発表] (計 5件)  
北川雅敏、癌関連核内因子のコピキチン依存の制御機構、Nuclear Signaling JAPAN 2007 シンポジウム、2007年 7月13日、東京
- Kitagawa, M. et al. Novel regulatory mechanisms of Cyclin D1 expression、第66回日本癌学会学術総会、2007年 10月5日、横浜
- 北川雅敏、細胞周期制御分子 p27 のコピキチン依存の分解機構と病態、第30回日本分子生物学会第80回日本生化学会合同大会、2007年 12月12日、横浜
- 小田敏明 服部隆行 磯部智康、北川恭子 内田千晴 横田貞記 北川雅敏、タンパク質過剰発現誘導性小胞体の構造と機能、第31回日本分子生物学会、第81回日本生化学会 合同大会、2008年 12月9日神戸
- 磯部智康 島田真衣 劉寧 北川恭子 鈴木小由里 小田敏明 服部隆行 内田千晴 北川雅敏、GPR48による癌転移機構の解析、第31回日本分子生物学会、第81回日本生化学会 合同大会、2008年 12月10日神戸
- [図書] (計 0件)
- [産業財産権]  
○出願状況 (計 0件)
- 取得状況 (計 0件)
- [その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北川雅敏 (KITAGAWA MASATOSHI)

浜松医科大学・医学部・教授

研究者番号 50294971

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者