

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 17 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21590062

研究課題名（和文） p27 の新規分解実行因子 Pirh2 の発現亢進と癌進展が相関するメカニズムの解析

研究課題名（英文） The analysis of the correlation between the increase of Pirh2 expression and cancer progress.

研究代表者

北川 恭子 (KITAGAWA KYOKO)

浜松医科大学・医学部・助教

研究者番号：20299605

研究成果の概要（和文）：DNA ストレス負荷によって発生する Pirh2 タンパク量の変動は、翻訳後調節を原因としていることがわかった。Pirh2 の新規分解基質を検索する過程で、Fbw7 が c-Myb の E3 リガーゼとしてユビキチン化を介した分解に寄与していることが見出された。さらに GSK3 活性が c-Myb タンパク量の調節能を持っていたが、マウスとヒトとでは、その役割が異なることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：The protein level of Pirh2 was affected by the post translation regulation system under a DNA stress condition. In the search process of novel substrates of Pirh2, we discovered c-Myb as a novel degradation target of Fbw7. GSK3 activity regulated the c-Myb protein level, although it was suggested that its function was different from a mouse in human.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学

キーワード：分子生物学、Pirh2

## 1. 研究開始当初の背景

我々は Pirh2 が Skp2 とともに p27 の分解に関わる E3 リガーゼであることを証明した。また臨床口腔癌での Pirh2 発現レベルは、p27 タンパク量と逆相関し、さらに癌の悪性化に寄与していることが示唆された。

## 2. 研究の目的

- ・ Pirh2 の新規分解標的因子の同定、およびその生体内での意義を評価する。
- ・ Pirh2 タンパク量の調節機構を調べる。

## 3. 研究の方法

- ・ 培養細胞に DNA ストレスを与えたときに発生する Pirh2 タンパク量の変動メカニズムを、タンパクおよび RNA の両面から探る。
- ・ Pirh2 との結合能を指標に標的因子の候補を挙げる。さらにユビキチン化亢進能および分解亢進能の有無を検討して真の標的因子を同定する。

## 4. 研究成果

- ・ 実験的に観察された Pirh2 タンパク量の変

動は、翻訳後調節によるものであること、さらにこのときのユビキチン化修飾能が亢進していることがわかった。

・Pirh2はp27をSkp2と共に調節していることから、SCFタイプのE3と標的を共有している可能性を考えた。一連の検討において、癌遺伝子の性質を持つc-Myb転写因子がSkp2, Fbw1, Fbw7いずれとも結合能を持つことが発見され、そのうちFbw7だけがE3リガーゼとして能力を示すことが明らかとなった。マウスc-MybにおけるFbw7の寄与にはGSK3キナーゼ活性が必要とされており、その活性がFbw7の基質認識共通アミノ酸配列のリン酸化に関わっていることが示されたが、その一方でヒトc-MybのFbw7との関与にはGSK3活性は必要とされず、種によって異なる認識機構が機能していると考えられた。

#### 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 12 件)

以下は全て査読有り

1. Kotake, Y., Nakagawa, T., Kitagawa, K., Suzuki, S., Liu, N., Kitagawa, M. and Xiong, Y.: Long non-coding RNA ANRIL is required for the PRC2 recruitment to and silencing of p15<sup>INK4B</sup> tumor suppressor gene. *Oncogene*, **30(16)**: 1956-62, 2011.
2. Kitagawa, K., Kotake, Y., Hiramatsu, Y., Liu, N., Suzuki, S., Nakamura, S., Kikuchi, A. and Kitagawa, M.: GSK3 regulates the expression of human and mouse c-Myb via different mechanisms. *Cell Div.* **5(27)**, 2010
3. Yu, Hs., Oyama, T., Isse, T., Kitagawa, K., Pham, T.T., Tanaka, M. and Kawamoto, T.: Formation of acetaldehyde-derived DNA adducts due to alcohol exposure. *Chem Biol Interact.* **188(3)**: 367-75, 2010.
4. Ma, H., Yu, L., Byra, EA., Hu, N., Kitagawa, K., Nakayama, KI., Kawamoto, T and Ren, J.: Aldehyde dehydrogenase 2 knockout accentuates ethanol-induced cardiac depression: Role of protein phosphatases. *J Mol Cell Cardiol.* **49(2)**: 322-9, 2010.
5. Fukasawa, H., Yamamoto, T., Fujigaki, Y., Masaki, T., Ohashi, N., Takayama, T., Suzuki, S., Mugiya, S., Oda, T., Uchida, C., Kitagawa, K., Hattori, T., Hayashi, H., Ozono, S., Kitagawa, M. and Hishida, A.: Reduction of transforming growth factor-beta type II receptor is caused by the enhanced ubiquitin-dependent degradation in human renal cell carcinoma. *Int J Cancer.* **127**: 1517-25, 2010.
6. Yu, HS, Oyama, T, Isse, T, Kitagawa, K., Ogawa, M., Pham, T.T. and Kawamoto, T.: Characteristics of aldehyde dehydrogenase 2 (*Aldh2*) knockout mice. *Toxicol. Mechanisms and Methods* **19(9)**: 535-40, 2009.
7. Jamal, M., Ameno, K., Miki, T., Wang, W., Kumihashi, M., Isse, T, Kawamoto, T., Kitagawa, K., Nakayama, K., Ijiri, I and Kinoshita, H.: Cholinergic alterations following alcohol exposure in the frontal cortex of Aldh2-deficient mice models. *Brain Res.* **1295**: 37-43, 2009.
8. Isobe, T., Hattori, T., Kitagawa, K., Uchida, C., Kotake, Y., Kosugi, I., Oda, T. and Kitagawa, M.: Adenovirus E1A inhibits SCF<sup>Fbw7</sup> ubiquitin ligase. *J. Biol. Chem.* **284**: 27766-79, 2009.
9. Kitagawa, K., Kotake, Y. and Kitagawa, M.: Ubiquitin-mediated control of oncogene and tumor suppressor gene products. *Cancer Sci.* **100(8)**: 1374-81, 2009.
10. Kitagawa, K., Hiramatsu, Y., Uchida, C., Isobe, T., Hattori, T., Oda, T., Shibata, K., Nakamura, S., Kikuchi, A. and Kitagawa, M.: Fbw7 promotes ubiquitin-dependent degradation of c-Myb: involvement of GSK3-mediated phosphorylation of Thr-572 in mouse c-Myb. *Oncogene* **28(25)**: 2393-405, 2009.
11. Masaki, T., Yamamoto, T., Suzuki, S., Fukasawa, H., Togawa, A., Ohashi, N., Suzuki, H., Fujigaki, Y., Oda, T., Uchida, C., Kitagawa, K., Hattori, T., Kitagawa, M. and Hishida, A.: Decrease in TRADD resulted from ubiquitin-dependent degradation in the obstructive renal injury in rats. *Am. J. Pathol.* **175(1)**: 74-83, 2009.
12. Shimada, M., Kitagawa, K., Dobashi, Y., Isobe, T., Hattori, T., Uchida, C., Abe, K., Kotake, Y., Oda, T., Suzuki, H., Hashimoto, K. and Kitagawa, M.: High expression of Pirh2, an E3 ligase for p27, is associated with low expression of p27 and poor prognosis in head and neck cancers. *Cancer Sci.* **100(5)**: 866-72, 2009.

[学会発表] (計 15 件)

1. 神武 洋二郎, 中川 直, 北川 恭子, 鈴木 小由里, 劉 寧, 丹伊田 浩行, Yue Xiong, 北川 雅敏 「The epigenetic regulation of INK4 locus by Polycomb and long noncoding RNA, ANRIL」第 34 回日本分子生物学会年会 (2011)
2. 北川 恭子 中村 悟己 北川 雅敏 「増殖分化制御因子のタンパク量調節機構の解析」第 73 回日本血液学会学術集会

- (2011)
3. 北川恭子 神武洋二郎 北川雅敏  
「GSK3によるc-Mybの量的制御機構」  
第33回日本分子生物学会年会・第83  
回日本生化学会大会合同大会  
(BMB2010) (2010)
  4. Ning Liu 北川恭子 神武洋二郎 丹伊  
田浩行 北川雅敏 「癌抑制遺伝子産物  
Mig-6のリン酸化とその責任酵素の解  
析」第33回日本分子生物学会年会・第  
83回日本生化学会大会合同大会  
(BMB2010) (2010)
  5. Yojiro Kotake、Xiong Yue, Kyoko  
Kitagawa, Masatoshi Kitagawa  
「CUL4-DDB1/MLL complex  
activates the p16 transcription  
through histone H3K4 methylation」  
第33回日本分子生物学会年会・第83  
回日本生化学会大会合同大会  
(BMB2010) (2010)
  6. 鈴木小由里 深沢洋敬 三崎太郎 戸川証  
北川恭子 神武洋二郎 山本龍夫 北川  
雅敏 「慢性進行性腎障害における  
Cks1 および Skp2 の発現亢進の意義」  
第33回日本分子生物学会年会・第83  
回日本生化学会大会合同大会  
(BMB2010) (2010)
  7. 北川恭子 神武洋二郎 北川雅敏  
「c-Mybの量的制御機構における  
GSK3の関与」第69回日本癌学会学術  
総会 (2010)
  8. 神武洋二郎 北川恭子 北川雅敏  
「CUL4A-DDB1 ユビキチンリガーゼ  
とMLLヒストンメチルトランスフェラ  
ーゼは癌化シグナルによる P16 転写活  
性化に必要である」  
(ア)第69回日本癌学会学術総会(2010)
  9. 北川恭子 神武洋二郎 小田敏明 北  
川雅敏 「転写因子 c-Myb のユビキチン  
プロテアソームシステムによる分解機  
構の解明」日本薬学会第130年会  
(2010)
  10. 神武洋二郎 北川恭子 Xiong Yue  
北川雅敏 「細胞老化誘導のキーレギュ  
レーター、p16の転写制御機構の解明」日  
本農芸化学会2010年度大会 (2010)
  11. 北川恭子 平松良浩 磯部智康 柴田  
清 中村悟己 北川雅敏 「SCF-Fbw7  
E3 ligase targets c-Myb for

- GSK3-dependent degradation.」第32  
回日本分子生物学会年会 (2009)
12. 北川恭子 中村悟己 北川雅敏  
「Regulation of c-Myb by Fbw7 via  
ubiquitin-proteasome-dependent  
degradation」第71回日本血液学会学  
術集会 (2009)
  13. 北川恭子 中村悟己 神武洋二郎 北  
川雅敏 「Fbw7はGSK3によるリン酸化  
を介してc-Mybのユビキチン依存的分  
解を実行する」第68回日本癌学会学術  
総会 (2009)
  14. 神武洋二郎 北川恭子 北川雅敏 「エ  
ピジェネティックなp16転写制御機構」  
第68回日本癌学会学術総会 (2009)
  15. 北川雅敏 島田真衣 土橋洋 服部隆  
行 神武洋二郎 橋本賢二 北川恭子  
「Pirh2はp27のユビキチンリガーゼ  
としてヒトの癌の悪性度に関与する」  
第68回日本癌学会学術総会 (2009)

〔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 2 件)

名称：癌の転移性及び浸潤能の検査方法  
発明者：北川雅敏、高芸、北川恭子  
権利者：浜松医科大学  
種類：特許  
番号：登録番号4887505号  
取得年月日：平成18年4月14日  
国内外の別：国内  
名称：癌治療用組成物  
発明者：北川雅敏、高芸、北川恭子  
権利者：浜松医科大学  
種類：特許査定  
番号：特願2007-528119  
取得年月日：平成24年2月16日  
国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等  
<http://www2.hama-med.ac.jp/w1a/bio1/index-j.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北川 恭子 ( KITAGAWA KYOKO )  
浜松医科大学・医学部・助教  
研究者番号：20299605

(2) 研究分担者

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

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：