

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592514

研究課題名(和文) NEDD8 修飾された癌遺伝子ガンキリンのプロテアソーム活性化による卵巣癌発生機序

研究課題名(英文) Mechanism of ovarian carcinogenesis due to 26S proteasome activation by protooncogene gankyrin mononegdylation

研究代表者

東辻 久子 (Hlgashitsuji, Hisako)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：20402852

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000 円

研究成果の概要(和文)：Affinity-tagged substrate(Gankyrin)とNEDD8、E1、E2、E3をRosetta cells中でpolycistronicにco-expressすると、in vitro gankyrin neddylation assayと同様にガンキリンはNEDD8修飾をうけた。Gankyrin mononegdylationはp53やpRBのpolyubiquitylation、26S proteasomeでの分解を促進した。S6 ATPaseはこれらをさらに亢進し、C-terminal S6 ATPase mutantは抑制した。

研究成果の概要(英文)：In ovarian cancers, gankyrin and Nedd8 are overexpressed. In vitro gankyrin neddylation assay (bacteria-expressed and purified E1, E2, Mdm2, Nedd8, gankyrin, ATP) produces gankyrin mononegdylation, that is verified by western blot of anti-gankyrin antibody and anti-Nedd8 antibody. Due to synthetic biological method, polycistronic affinity-tagged gankyrin, Nedd8, E1, E2, and Mdm2 are expressed into Rosetta bacterial cells. Gankyrin mononegdylation occurs. This expressed and purified mononegdylated gankyrin enhances p53 and pRB polyubiquitylation and 26S proteasome-mediated protein degradation. This effect is enhanced by full-length S6 ATPase co-expression. However it is suppressed by C-terminal truncated S6 ATPase mutant.

研究分野：分子腫瘍学

キーワード：gankyrin mononegdylation S6 ATPase 26S proteasome polyubiquitylation synthetic biology  
mdm2 p53

## 様式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 26S プロテアソームはポリユビキチン化タンパク質を選択的に分解することにより種々の生命現象に関与している真核生物に必須であるタンパク質分解酵素複合体である。癌細胞や癌組織では 26S プロテアソームの発現が亢進し、高い 26S プロテアソーム活性を有する。このことはグローバルな意味で細胞の増殖や代謝の亢進や変化が 26S プロテアソームによるタンパク質分解に高度に依存していることによる。また、選択的に癌細胞に不利になるような遺伝子産物（たとえば、がん抑制遺伝子産物）を分解し、癌細胞に有利になるような遺伝子産物（たとえば、がん遺伝子産物）は分解抑制するというダイナミックな機能変化も起きている。(Crawford LJ, et al., J Cell Commun Signal., 2011)(Finley D, et al., Annu. Rev. Biochem., 2009)

(2) ユビキチン-プロテアソーム系を介したタンパク質の分解機構は細胞周期、シグナル伝達、DNA 複製や修復、転写など種々の生命現象を調節している。タンパク質のポリユビキチン化はユビキチン活性化酵素(E1)、ユビキチン結合酵素(E2)、ユビキチンリガーゼ(E3)の3種類の酵素群の連続的な反応により行われている。この中で E3 は特異的に基質タンパク質を認識し、ユビキチンを付加し、26S プロテアソームでの分解に導く。E3 には HECT 型、U-box 型、RING フィンガー型があるが、RING フィンガー型の Cullin 型 E3 と呼ばれる複合体型 E3 は巨大なファミリーを形成し、多くの生体機能に重要な役割を果たしている。(Stanley Lipkowitz, et al. Nat Rev Cancer., 2011)(Merlet J, et al., Cell Mol Life Sci., 2009)

(3) ユビキチンによく似た様式で基質タンパク質に結合する 9 つのファミリーを形成する 17 種のユビキチン様タンパク質が現在知られている。NEDD8 はユビキチンと最もホモロジーの高いユビキチン様小分子でマウス胎仔脳で分化に伴って発現が低下する遺伝子として単離され、植物や心筋から哺乳類にいたる真核生物に保存されている。NEDD8 修飾反応は NEDD8 活性化酵素(E1)、NEDD8 結合酵素(E2)、NEDD8 リガーゼ(E3)の3種類の触媒酵素群によるカスケード反応が関与しており、さらに脱 NEDD8 酵素が NEDD8 を切断し、リサイクルする。NEDD8 修飾の標的タンパク質は Cullin タンパク質ファミリー、p53/p73/BCA3/VHL などのがん抑制

遺伝子群、MDM2、ribosomal protein L11、EGFR などのがん遺伝子群がいままで同定されているがその数は少ない。Cullin タンパク質への NEDD8 修飾は Cullin 型 E3 酵素の活性を正に制御する。NEDD8 修飾を受けた Cullin-RING ligase(CRL)複合体のほうが NEDD8 修飾されていない CRL 複合体に比べて I $\square$ B $\square$  や p27 へのユビキチン化反応を促進する。Cullin 2 型 E3 である VHL 複合体が NEDD8 修飾を受けることにより HIF-1 $\square$ へのユビキチン化活性が促進される。NEDD8 修飾による Cullin 型 E3 活性化の分子機構は Cullin の C 末端にあるリジンに NEDD8 が付加されると Cullin の構造変化が惹起されユビキチンが付加された E2 酵素との結合がより強くなりさらに Rbx1(RING finger protein)を介したユビキチン転移活性が亢進することによる。種々のヒト癌で NEDD8 修飾系の分子の過剰発現、amplification、mutation が見られる。多くの CRLs が tumorigenesis に関与している分子の活性を調節している。NEDD8 修飾系は癌化と結びついている。(Ian R. Watson, Cancer Cell, 2011)(Bedford L, et al., Nat Rev Drug Discov., 2011)

(4) 我々は種々の上皮性癌で発現が増加する癌遺伝子であり、がん抑制遺伝子 pRb と複合体を形成し、pRb のリン酸化亢進、26S プロテアソームでの分解亢進を引き起こすガンキリンを発見した(Higashitsuji H, Nat Med, 2000)。ガンキリンは 26S プロテアソームの活性制御ユニットである 19S 複合体の base の 6 つの異なる ATPase サブユニットのひとつ p48/S6/Tbp7/PSMC4 と哺乳類細胞内で一過性に相互作用した。ガンキリンは pRb を高リン酸化状態にするため、サイクリン依存性キナーゼ CDK4 と複合体を形成した。(Dawson S, Higashitsuji H, J Biol Chem, 2002)。ガンキリンはユビキチンリガーゼ MDM2 と結合し、がん抑制遺伝子 p53 のポリユビキチン化と 26S プロテアソームでの分解を促進した(Higashitsuji H, Cancer Cell, 2005)。ガンキリンは細胞が DNA damage をうけると、核内移行し、転写因子 NF $\kappa$ B に結合して、その DNA 結合部位に脱アセチル化酵素 SIRT1 を運んでくることにより NF $\kappa$ B の活性を抑制する(Higashitsuji H, Biochem Biophys Res Commun., 2007)。ガンキリンは pRb、CDK4、MDM2、RelA と複合体を形成し、26S プロテアソームと pRb、

CDK4、MDM2、RelA のタンパク安定性を結び付け、細胞癌化へと誘導する。ガンキリンは 26S プロテアソームと一時的に結合する PIPs(proteasome-interacting proteins)のひとつである(Nakamura Y, Structure, 2007)。出芽酵母のガンキリンホモログ Nas6 と Rpn14、Nas2、Hsm3 の 4 つの PIPs は 19S 複合体の分子集合を支援する分子シャペロンとして機能している。これら 4 つの PIPs はいずれも哺乳類まで広く保存されている (Saeki Y, Cell, 2009)

(5)我々は以下のような予備的な研究結果を得ている。1) 卵巣癌においてガンキリンとNEDD8は高発現していた。2) in vitro gankyrin neddylation assay ( recombinant E1, recombinant E2, NEDD8, ATP, E3としてMDM2 ) でガンキリンのNEDD8修飾が起こるかどうかを抗ガンキリン抗体と抗NEDD8抗体でのウエスタンブロットで検討したところ、ガンキリンはNEDD8修飾をうけた。3) 抗ガンキリン抗体を用いた卵巣癌細胞株セルライゼットのウエスタンブロットにより、内因性の25 kDaのガンキリンと8.5kDaのNEDD8一個分がちょうど加わった二本のバンドが検出された。この大きい分子サイズのバンドは抗ガンキリン抗体による免疫沈降物のなかに抗NEDD8抗体、抗ガンキリン抗体で共に認識できたことで、NEDD8修飾されたガンキリンのバンドであると考えた。ウエスタンブロット解析により、ガンキリンおよびNEDD8修飾されたガンキリンはともに卵巣癌、卵巣癌細胞株で過剰発現していた。

## 2. 研究の目的

(1) ガンキリンのNEDD8修飾はガンキリンの機能、(i) pRbのリン酸化をp16INK4に拮抗して促進する、pRbの分解を促進する、(ii) p53のコピキチンリガーゼMDM2の働きを促進しp53を分解する、(iii) NFκBの活性を抑制する、(iv)19S regulatory particle(RP)シャペロンとしてbaseの形成を支援する、を変化させ、その細胞癌化の働きを変化させる可能性がある。

(2) NEDD8修飾されるとタンパク質表面のtopographyが本質的に変化する。この変化は、(i) 26Sプロテアソームの分子集合を促進する、(ii)26Sプロテアソームの酵素活性に影響を与え、基質タンパク質への特異性やその分解速度を変える、(iii)26Sプロテアソームの細胞内局在を変える、などを引き起こす可能性がある。ガンキリンのNEDD8修飾はその機能を変化させ、卵巣の発癌に影響を与えている可能性がある。

(3) ガンキリンのNEDD8修飾がin vivoで起き、26Sプロテアソーム分画に存在することを解析する。

(4) ガンキリンのNEDD8修飾がガンキリンの機能に与える影響を調べる。

(5)NEDD8修飾されるガンキリンのリジン残基を同定する。ガンキリンのNEDD8リガーゼ(E3)を同定する。

(6) NEDD8修飾されたガンキリンと複合体をつくるタンパク質を探索する。

(7) NEDD8修飾されたガンキリンの会合した26Sプロテアソームの機能、活性を解析する。

(8) NEDD8修飾されたガンキリンが卵巣上皮細胞特異的発現するconditional-transgenic-mouseを作製する。

(9) (8) のトランスジェニックマウスを用いて卵巣癌の早期から後期にわたるgene-expression-profilesを調べ、抗NEDD8修飾系療法(たとえばNEDD8-E1阻害剤のMLN4924)の効果を検討する。

(10) がん遺伝子、PIP(proteasome-interacting protein)のNEDD8修飾と卵巣発癌の関係を解析することは特色ある研究と思われる。がん遺伝子ガンキリンのNEDD8修飾によりガンキリンの機能がどう変化するか、さらにそれが26Sプロテアソームの機能をどのように変化させるかがわかる。NEDD8修飾を介したシグナル伝達経路が明らかになる(Dikic,I,Curr Opin Cell Biol,2007)。

(11) がん遺伝子のNEDD8修飾に関与している酵素群(E1、E2、E3、DUB)がわかり、卵巣癌治療薬としての抗E1、E2、E3阻害剤、DUB活性化剤、の開発が可能になる。

(12) プロテアソーム阻害剤は多発性骨髄腫の有効な抗癌剤として臨床的に使用されている。しかし、骨髄抑制や肺障害などの重篤な副作用を呈する。NEDD8修飾されたガンキリンを標的としたプロテアソーム阻害剤は全般的に26Sプロテアソーム活性を阻害するよりも癌細胞に対する特異性が高く、副作用も少ない可能性がある。

(13) NEDD8修飾されたがん遺伝子の卵巣上皮細胞特異的conditional-transgenic-mouseの報告はない。このマウスで出現する卵巣癌でgene-expression-profiles(mRNA、miRNA)を調べることができる。In-vivoで卵巣癌に対する治療効果を見ることができる。

## 3. 研究の方法

(1)NEDD8修飾ガンキリンのヒト卵巣癌細胞株、ヒト卵巣癌組織での存在を解析する。(担当:東辻)1)His6-tagged-NEDD8とwild-type-gankyrin-3HA-tagged(C端)をヒト卵巣癌細胞SK-OV3に共発現、neddylationをH2O2やDNA-damageなどの種々のストレス下で誘導、強力な変性条件下(6M-guanidine-HCl、8M-urea)で細胞を融解、Ni-NTA-affinity-resinにかけてimidazoleでelute、SDS-PAGE、抗HA-tag抗体、抗NEDD8抗体でウエスタンブロット。2)NEDD8修飾ガンキリンおよび野生型ガンキリンの2者を認識できる抗ガンキリン抗体でヒト卵巣癌組織の内因性ガンキリンのNEDD8修飾を証明する。

(2)ガンキリンのNEDD8修飾されるリジン残基(K)を決定する。(担当:東辻)1)ガンキリン分子内の16個のリジンを一個ずつアルギニン(R)に置換したmutant-gankyrin-3HA(C端)とHis6-tagged-NEDD8をヒト卵巣癌細胞SK-OV3に共発現、(1)の方法

で NEDD8 修飾 (+)-ガンキリンと NEDD8 修飾(-)-ガンキリンの量比を決定する。2)N 端 NEDD(修飾の有無。3HA-tagged-wild-type-gankyrin (N 端のアミノ基を tag でブロック)と His6-tagged-NEDD8 をヒト卵巣癌細胞 SK-OV3 に共発現、(1)の方法で NEDD8 修飾ガンキリンの有無を検討する。(3)野生型ガンキリン、NEDD8 修飾されないリジン・アルギニン置換変異型ガンキリン、ガンキリンの C 端部分に di-glycine(GG)を除いた NEDD8 を融合した分子(NEDD8 修飾ガンキリンの代替分子)の3分子の細胞癌化能を比較する。(担当:東辻) primary-rat-embryonal-fibroblast(primary-REF) に activated-Ras、E1A、上記3者のガンキリン分子を単独、前二者との組み合わせでトランスフェクト、細胞のフォーカス形成能を比較する。(4)ガンキリンの活性に対する NEDD8 修飾の効果を見る。NEDD8 修飾ガンキリンの活性化の機序を検討する。(担当:東辻) 1)p53 や pRb の半減期の変化。2)細胞内での局在の変化。3)Mdm2 との結合の変化。4)プロテアソームへのリクルートの度合いの変化。(5)1)卵巣表面上皮細胞 (ovarian-surface-epithelium, OSE) 特異的に Cre-recombinase を発現するトランスジェニックマウスの作製 (担当:東辻): Mullerian-inhibitory-substance-type2-receptor(MIS2R)の遺伝子のプロモーター領域の下流 (CancerRes,2003,63)に Cre-recombinaseをつないだ発現ベクターを作り、トランスジェニックマウスのラインを得る。卵巣のノーザンプロット、抗 Cre-recombinase 抗体を用いた卵巣のウェスタンプロットと免疫組織化学染色により、卵巣における Cre-recombinase の RNA とタンパクレベルでの発現を確認する。(Kellendonk et al., Genesis,2000,26 の方法に準ずる) 2)卵巣表面上皮細胞特異的(OSE)に NEDD8 修飾ガンキリン代替分子がコンディショナルに過剰発現するマウスの作製 (担当:東辻): EF1 $\alpha$  promoter の下流に、loxP-Stop-loxP cassette を配置し、さらにその下流に、FLAG-tagged NEDD8 修飾ガンキリン代替分子をつないだ construct を作製する。transgenic lines を得る。これらのマウスと上記のOSE特異的に Cre-recombinase を発現するトランスジェニックマウスを cross させて、OSE 特異的に NEDD8 修飾ガンキリン代替分子を過剰発現するマウスを得る。(担当:東辻/マウスの飼育は研究補助員)

(6)NEDD8 修飾系の E1-NEDD8、E2-NEDD8、E3(MDM2)-NEDD8、NEDD8 修飾ガンキリン代替分子-S6ATPase 相互作用を阻害す

る有機低分子化合物をスクリーニングする(担当:東辻/研究協力者のインタープロテイン株式会社より低分子化合物の分子設計についてアドバイスをもらう)。卵巣癌細胞の中で E1-NEDD8、E2-NEDD8、E3(MDM2)-NEDD8、NEDD8 修飾ガンキリン代替分子-S6ATPaseinteraction のを研究するために、protein fragment complementation assay(PCA)をおこなう(Nat Rev Drug Discov, 2007,6, MichnickSW)。Complementation system としては、Venus protein(Nature chem. Biol, 2006, 2, MacDonaldML)、DHFR(dihydrofolate reductase)(Nature protocols, 2007, 2, Remy)を使用する。結合阻害物質としては、有機低分子化合物を用いることとする。分子設計には CPADD 法を用いる。E1-NEDD8、E2-NEDD8、E3(MDM2)-NEDD8、NEDD8 修飾ガンキリン代替分子-S6ATPase との結合表面上に低分子化合物が結合しうるポケットを見出し、このポケットに仮想原子を最密充填し、仮想化合物を得、市販の化合物ライブラリーからリビンスキールール等により、200 前後の医薬候補になりうる低分子化合物をうる。これらの化合物のなかからヒット化合物をうるために、上記の PCA でスクリーニングする(Biochemical J, 2008,413,WegenerD) (PNAS, 2008, 105,HahnCK)。(1)PIP(proteasome-interacting proteins)であるガンキリンの NEDD8 修飾が 26S プロテアソームの機能に与える影響。(担当:東辻/プロテオーム解析は大学院生1名) 1)ヒト卵巣癌細胞中の NEDD8 修飾ガンキリンの glycerol-gradient-sedimentation、26S プロテアソームと NEDD8 修飾ガンキリンが結合していることを調べる。2)NEDD8 修飾ガンキリンが直接結合する分子の同定。gankyrin-NEDD8-fusion-GST を発現させた 293T 細胞を metabolic-labeling、glycerol-gradient-centrifugation し、この複合体を diamide 処理、強力な変性条件で glutathione-affinity-purification、crosslink している分子を得る。mass spectrometry で同定する。3)NEDD8 修飾ガンキリンの 26S プロテアソームへの結合が与える蛋白分解系への影響。293T 細胞に、gankyrin-NEDD8-fusion-GST、あるいは PSMD14-GST を発現させ、glycerol-gradient-centrifugation と glutathione-affinity-purification で精製。NEDD8 修飾ガンキリンの結合した 26S プロテアソームとそうでない 26S プロテアソームを用い in-vitro でのプロテアソーム活性(タンパク質分解能)を比較する。in-vitro での安定性に ATP の有無が与える影響。基質は polyubiquitinated-protein である Ub5-DHFR、ペプチドである suc-LLVY-AMC、Z-LLE-AMC、cyclin B1、Sic1、Gic2、Gcn4 を用いる。

(2)NEDD8 修飾ガンキリンに関与する E3、DUB を同定する。(担当: 東辻 / プロテオーム解析は大学院生 1 名) 基質特異性を決定する E3 は基質であるガンキリンを認識する。DUB は基質である NEDD8 修飾ガンキリンを認識、NEDD8 を切断、遊離する。ガンキリン、NEDD8 修飾ガンキリンと複合体をつくる分子から E3 酵素、DUB 酵素を同定。1) 酵母 -2-hybrid、2)TAP-tagged-gankyrin-NEDD8 -fusion、TAP-tagged-gankyrin-wild-type を 293T 細胞に過剰発現。Ig-Sepharose、calmodulin-Sepharose で精製し、elute。Mass-spectrometry で解析。以上 1) と 2) で得られたたんぱく質群のなかから、E3、DUB 様酵素を同定。3) in-vitro-gankyrin neddylation の系の確立 (Pandorf, P.P.ら, NatRevCancer, 2007)。(3)新規の抗 NEDD8 修飾系阻害剤、NEDD8 修飾ガンキリン阻害を介したプロテアソーム阻害剤と考えられる有機低分子化合物について、characterize する (担当: 東辻/大学院生 1 名)。1) in-vitro-gankyrin-neddylation 系でガンキリンの NEDD8 修飾が阻害されるかを検討。2) 卵巣癌細胞株を用いて、細胞増殖、細胞周期進行、アポトーシス作用、細胞運動、造腫瘍能に対する効果を検討する。nu/nu マウスにヒト卵巣癌細胞株を皮内移植した xenograft model を用いて、その抗癌活性を in vivo で検討する。(4)卵巣上皮細胞(OSE)特異的に gankyrin-NEDD8-fusion 分子を強発現する conditional-transgenic-mice の卵巣癌発生のプロセスを観察する。(担当: 東辻、マウスの飼育は研究補助員) 1)種々の週齢のマウスのマクロ観察、2)histology, 3)immunohistochemistry, 4)immunoblotting, 5)tumour-cell-lines の分離と培養、6)cell-proliferation-assay, 7)soft-agar-assay, 8)apoptosis-assay, 9) migration-assay, 10)invasion-assay。(5)種々の時期の卵巣癌の gene-expression-profiles を DNA-microarrays、miRNA-microarrays の受託サービスで検討する。種々の時期の卵巣癌のタンパク質の profile を 2 次元電気泳動による proteomics 解析。(担当: 東辻、プロテオーム解析は大学院生 1 名)(6)抗 NEDD8 修飾系阻害剤、NEDD8 修飾ガンキリン阻害を介したプロテアソーム阻害剤の効果をトランスジェニックマウスの卵巣腫瘍に直接注入して効果を検討。(担当: 東辻、マウスの飼育は研究補助員)

#### 4. 研究成果

(1) 26S-proteasome が無い bacteria(Rosetta cells)の中で、polycistronic に ubiquitin, E1(UBA1), E2, E3(gankyrin, MDM2), substrate(gankyrin, mdm2, p53, pRB, p65NFkappaB, IkkappaBalph, HIF1alpha, FIH)

を発現させて、His6-tag および GST-tag, TEV protease 処理により、substrate の monoubiquitylation や polyubiquitylation を anti-substrate antibody による western blot で解析する。

(2) mdm2, p53, pRB, gankyrin に対しては gankyrin も mdm2 と同様に E3 ubiquitin ligase として機能している。

(3) gankyrin や mdm2 の E3 活性は gankyrin 結合たんぱく質である S6 ATPase を共発現させることにより、亢進する。

(4) gankyrin や mdm2 の E3 活性は mutant S6 ATPase(gankyrin と結合する C-terminal S6 ATPase)を共発現させることにより、抑制させることが可能である。

(5) この in vitro の系では gankyrin の monoubiquitylation が polyubiquitylation の中に含まれているのかどうか、不明である。

(6) Nedd8 の bacteria の系はやはり polycistronic に Rosetta cells 内で Nedd8, E1 heterodimer, E2, E3(必要ないという文献もあるが、gankyrin, mdm2, PIASy), substrate(gankyrin)を共発現させる。

(7) gankyrin 自体が Nedd8 E3 活性をもっていない。しかし、mdm2, PIASy はともに、gankyrin を mononeddylation 化した。Polyneddylation の活性はなかった。

(8) gankyrin mononeddylation に対しては S6 ATPase は positive に働いた。逆に、mutant S6 ATPase(C-terminal portion)は negative に機能した。

(9)gankyrin の C-terminal portion に tandem に Nedd8 を fuse した fusion protein を gankyrin mononeddylation 分子の代替分子と考える。これを overexpress した場合には、gankyrin が E4 因子として働く mdm2 の substrates(p53, pRB など)は polyubiquitylation が増加し、26S proteasome での分解が亢進する。

(10) in vitro ubiquitylation assay(ubiquitin, E1, E2, E3(mdm2), p53, pRB)のなかに、bacteria で作らせた精製した gankyrin mononeddylation 分子を加えると、p53 や pRB の polyubiquitylation は増加する。

(11) さらに、上記に 26S proteasome を加えると、p53 や pRB の分解は促進する。

(12) 上記の Nedd8 化 gankyrin による p53 や pRB の polyubiquitylation や分解は S6 ATPase によりさらに亢進する。逆に C-terminal S6 ATPase mutant により、それらは減弱する。

#### 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 6 件)

1. Stress response protein Cirp links inflammation and tumorigenesis in colitis-associated cancer.

Sakurai T, Kashida H, Watanabe T, Hagiwara S, Mizushima T, Iijima H, Nishida N, Higashitsuji H, Fujita J, Kudo M. Cancer Res. 2014 Sep 3. 2014. 査読: 有。

2. Hypothermia protects against fulminant hepatitis in mice by reducing reactive oxygen species production.

Sakurai T, Kudo M, Watanabe T, Itoh K, Higashitsuji H, Arizumi T, Inoue T, Hagiwara S, Ueshima K, Nishida N, Fukumoto M, Fujita J. Dig Dis. 2013;31(5-6):440-6. 査読: 有。

3. Overexpression of gankyrin in mouse hepatocytes induces hemangioma by suppressing factor inhibiting hypoxia-inducible factor-1 (FIH-1) and activating hypoxia-inducible factor-1.

Liu Y, Higashitsuji H, Higashitsuji H, Itoh K, Sakurai T, Koike K, Hirota K, Fukumoto M, Fujita J.

Biochem Biophys Res Commun. 2013 Mar 1;432(1):22-7. 査読：有。

4. Identification of a novel enhancer that binds Sp1 and contributes to induction of cold-inducible RNA-binding protein (cirp) expression in mammalian cells.

Sumitomo Y, Higashitsuji H, Higashitsuji H, Liu Y, Fujita T, Sakurai T, Candeias MM, Itoh K, Chiba T, Fujita J.

BMC Biotechnol. 2012 Oct 10;12:72. 査読：有。

5. Cold-inducible RNA-binding protein (Cirp) interacts with Dyrk1b/Mirk and promotes proliferation of immature male germ cells in mice.

Masuda T, Itoh K, Higashitsuji H, Higashitsuji H, Nakazawa N, Sakurai T, Liu Y, Tokuchi H, Fujita T, Zhao Y, Nishiyama H, Tanaka T, Fukumoto M, Ikawa M, Okabe M, Fujita J. Proc Natl Acad Sci U S A. 2012 Jul 3;109(27):10885-90. 査読：有。

6. Adriamycin enhances proteasome-mediated generation of the proapoptotic processed form of MAGE-A4 in hepatoma cells.

Sakurai T, Kudo M, Itoh K, Ryu U, Higashitsuji H, Fujita J. Oncology. 2011;81 Suppl 1:30-5. 査読：有。

〔学会発表〕(計 5 件)

- (1) 東辻宏明、東辻久子、がん抑制遺伝子BRCA1の不活性型代謝系酵素による核内での機能調節、日本肝臓学会、2012年6月7日～6月8日、金沢市。
- (2) 東辻宏明、東辻久子、Protooncogene CIRP that is induced by moderate cold temperature(32 degrees centigrade) enhances cell mobility of cancer cells, 日本癌学会、2012年9月20日～9月22日、札幌市。
- (3) 藤田潤、東辻宏明、東辻久子、哺乳類低温ショックたんぱく質 Cirp は皮膚創傷治癒を促進する、第8回臨床ストレス応答学会、2013年11月15日～11月16日、松本市。
- (4) 東辻宏明、東辻久子、藤田潤、Overexpression of gankyrin in mouse hepatocytes induces hemangioma.第21回JDDW2013, 2013年10月9日～10月12日、東京都品川区。
- (5) 東辻宏明、東辻久子、哺乳類低温ショックたんぱく質 Cirp はBRCA1による相同組み換えによるDNA修復を促進する、第69回日本消化器外科学会総会、2014年7月16日～7月18日、郡山市立文化センター。

〔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 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織  
(1)研究代表者  
東辻久子(京都大学、医学研究科)  
助教  
研究者番号：20402852

(2)研究分担者 ( )  
研究者番号：

(3)連携研究者 ( )  
研究者番号：