

がん分子標的探索プログラム シグナル伝達研究分野

1. 研究スタッフ

常勤

教授	善岡	克次	2001年11月～現在
助教	西田	純	2003年4月～2005年3月
	棚橋	浩	2005年4月～2008年3月
	佐藤	時春	2009年1月～現在

非常勤

非常勤研究員	西田	純	2002年4月～2003年3月
研究支援者	棚橋	浩	2004年4月～2005年3月
	谷浦	直子	2004年4月～2006年5月
	Davaakhuu Gantulga		2005年4月～2006年3月
	王	光敏	2005年12月～2007年3月
事務補助員	大橋	智江	2001年11月～現在

2. 研究概要

哺乳類 MAP キナーゼ (MAPK) 経路は、細胞内外からの刺激やストレスに応答した細胞の増殖・分化・死など様々な局面において重要な役割を担っている。細胞内には多くの MAPK シグナル伝達分子が存在しているが、シグナル伝達の特異性維持機構については不明な点が多い。我々のグループは、米国 R. J. Davis のグループとほぼ同時期 (1998-1999 年) に、世界に先駆けて哺乳類 MAPK 経路の足場タンパク質の存在を提唱した。MAPK 経路の足場タンパク質は、シグナル伝達の特異性維持および MAPK 経路の時空間的制御に関わる因子と考えられている。

本研究室では、私たちが同定した哺乳類 MAPK 経路の足場タンパク質 JSAP1 及び JLP (JSAP1 ファミリーメンバー) を切り口として、シグナル伝達の特異性維持機構の解明、MAPK モジュールの生体内での機能解明、及び MAPK 経路の時間的・空間的制御機構の解明を目指して研究を行っている。また足場タンパク質 JSAP1, JLP は、MAPK シグナル伝達系以外においても重要な役割を担っていると考えられる。そこで、おもに遺伝子改変マウスを使って、足場タンパク質 JSAP1, JLP の生体、特に脳神経系での役割解明に向けた研究にも取り組んでいる。今後、足場タンパク質を切り口とした研究をさらに発展させ、最終的には生命科学において普遍性の高い新たな概念の提唱・検証を行い、科学の発展に少しでも貢献したいと考えている。

3. 主な研究成果

- 1) *Jsap1* KO マウスおよび小脳初代培養系を用いた解析を行い、JSAP1-JNK シグナル伝達系は小脳顆粒前駆細胞のプログラムを増殖型から分化型に変換する役割を担っていることを見出した (Mol. Cell. Neurosci., 2008)。本研究成果は、JSAP1-JNK シグナル伝達系が正常な小脳発生に必須であり、その破綻は髄芽腫を引き起こす可能性を示唆している。
- 2) *Jlp* KO マウスの作出・解析を行い、JLP は精子形成過程に関わっており、JLP タンパク質を欠失した雄マウスは不妊傾向を示すことを見出した (Transgenic Res., 2008)。
Jlp KO マウスの作出・解析はこれまでに報告なく、本論文が初めてである。
- 3) JLP ノックダウン HeLa 細胞を樹立・解析し、JLP-G α_{13} シグナル伝達系は細胞運動の制御に関与することを見出した (J. Biochem., 2008)。
- 4) *Jlp* KO マウスの行動解析を行い、足場タンパク質 JLP の欠失は情動障害を引き起こすことを見出した。また *Jlp* KO マウスでは、セロトニン産生に関わる特定の神経核においてセロトニン陽性細胞数が有意に減少していることも見出した (特願 2009-220591, 2009)。
- 5) 米国 Brady 博士のグループと共同研究を行い、変異 huntingtin 遺伝子 (ハンチントン病の原因遺伝子) は JNK3 を活性化し、その活性型 JNK3 によるキネシンモータータンパク質のリン酸化によって軸索輸送が阻害されることを見出した (Nat. Neurosci., 2009)。
- 6) 山下克美博士 (金沢大学) と共同研究を行い、ストレス応答性 MAPK (JNK, p38) は細胞周期の制御因子である Cdc25B の不安定化に関与することを明らかにした (Cancer Res., 2009)
- 7) 細胞のがんに重要な役割を果たしていると考えられる転写因子 MafB タンパク質の安定性が、JNK シグナル伝達系によって制御されることを見出した (Arch. Biochem. Biophys., 2010)
- 8) 株化細胞及び小脳初代培養系を用いた解析を行い、小脳顆粒前駆細胞の分化過程における足場タンパク質 JSAP1 の細胞膜移行とその役割を明らかにした (Genes Cells, 2011)。本研究において、足場タンパク質 JSAP1 が bFGF/FGF-2 (小脳顆粒前駆細胞の分化誘導因子) に応答して MAPK シグナル系を空間的に制御することを初めて明らかにした。
- 9) *Jlp* KO マウス表皮およびそのマウス由来培養ケラチノサイトでは、紫外線 (UVB) 誘導性アポトーシスが野生型に比べて顕著に抑制される、という興味深い予備的知見を得た。このことは、皮膚癌が MAPK シグナル伝達系の足場タンパク質の破綻に起因する可能性を強く示唆している。現在、基底細胞特異的に JLP を欠失させたマウスの作出・解析を行っている。
- 10) 背側終脳および小脳プルキン細胞特異的 *Jsap1*, *Jlp* ダブル KO マウスの作出・解析を行い、JSAP1, JLP は軸索輸送の制御因子であり、JSAP1, JLP 欠失は神経変性を引き起こす、という予備的知見を得た。

4. 今後の研究目標

これまでに得られた研究成果を基に、継続して JNK MAPK 経路の足場タンパク質 JSAP1, JLP を切り口とした研究を展開する。具体的な目標は次の通りである。1) 発達期小脳における神経細胞（前駆細胞を含む）の増殖、分化、移動などを制御するメカニズムを分子レベルで明らかにする、2) 紫外線と皮膚がんに関する研究を進め、紫外線応答における足場タンパク質 JSAP1, JLP の役割とその分子メカニズムを明らかにする、3) 足場タンパク質 JSAP1, JLP に依存した軸索輸送システムの破綻がどのようにして神経変性を引き起こすのか、その分子機構を明らかにする。また、すでに作出した *Jsap1*, *Jlp* の様々な遺伝子改変マウスを解析し、個々の細胞内シグナル伝達分子ではなく、足場タンパク質の欠失（あるいは変異）によって初めて見出される表現型の探索を行うことも重要であると考えている。

このような研究を通じて得られる研究成果は、難治疾病の病因解明や治療にも繋がると期待される。例えば、小脳顆粒前駆細胞に焦点を当てた研究は、JSAP1-JNK シグナル伝達系を標的とした髄芽腫に対する薬剤開発にも貢献すると考えられる。また、数年前から始めた紫外線と皮膚がんに関する研究は、皮膚の恒常性維持における足場タンパク質 JSAP1, JLP の重要性を明らかにするとともに、紫外線による日光角化症・皮膚がん等の予防やリスクを軽減する化合物の探索にも貢献することが期待される。一方、足場タンパク質 JSAP1 JLP を切り口とした神経変性の研究は、従来とは異なるユニークな神経変性研究であり、新たな知見が得られることが期待される。

5. 共同利用・共同研究拠点としての役割を果たすことに関連する活動について

共同利用・共同研究拠点としての役割を果たすために、学内外の研究者と共同研究を行っている。具体的には、以下の通りである。

1. 大阪薬科大学・薬学部 福永理己郎教授、藤井忍講師

Mnk プロテインキナーゼの活性制御における足場タンパク質 JSAP1, JLP の役割を解明し、mTOR 経路と Mnk 経路のクロストークによる翻訳調節機構を標的としたがん治療法の開発を目的として共同研究を行っている。なお、本研究「がん細胞の増殖における Mnk プロテインキナーゼと JSAP の機能的相互作用の解析」は、平成 23 年度および平成 24 年度、当研究所の共同研究として採択された。

2. 金沢大学・医薬保健学域・薬学系 松永司教授、若杉光生助教

紫外線応答における足場タンパク質 JSAP1, JLP の役割とその分子機構解明を目的として共同研究を行っている。

3. 金沢大学・医薬保健学域・薬学系 山下克美准教授

JSAP1-JNK シグナル経路と Shh-Gli シグナル経路のクロストークの分子機構解明を目的として共同研究を行っている。

上記の共同研究に加えて、国内外の研究者と積極的に共同研究を進めている。具体的には、活性型のナチュラルキラー細胞受容体である NKG2D に関する研究（金沢大学・中尾眞二教授、高見昭明准教授）、樹状細胞における足場タンパク質 JLP の役割解明に関する研究（中

国・武漢大学 Huiming Wang 博士、カナダ・マニトバ大学 Sam Kung 博士) などである。このような共同研究は、共同利用・共同研究拠点としての役割を果たすことに繋がると期待される。

6. 研究業績

原著論文

1. Espinoza JL, Takami A, Yoshioka K, Nakata K, Sato T, Kasahara Y, Nakao S. Human microRNA-1245 downregulates the NKG2D receptor in NK cells and impairs NKG2D-mediated functions. *Haematologica*, *in press*.
2. Uchida S, Watanabe N, Kudo Y, Yoshioka K, Matsunaga T, Ishizaka Y, Nakagama H, Poon RY, Yamashita K. SCF β (TrCP) mediates stress-activated MAPK-induced Cdc25B degradation. *J Cell Sci*, 124: 2816-2825, 2011.
3. Ando K, Uemura K, Kuzuya A, Maesako M, Asada-Utsugi M, Kubota M, Aoyagi N, Yoshioka K, Okawa K, Inoue H, Kawamata J, Shimohama S, Arai T, Takahashi R, Kinoshita A. N-cadherin regulates p38 MAPK signaling via association with JNK-associated leucine zipper protein: implications for neurodegeneration in Alzheimer disease. *J Biol Chem*, 286: 7619-7628, 2011.
4. Sato T, Enkhbat A, Yoshioka K. Role of plasma membrane localization of the scaffold protein JSAP1 during differentiation of cerebellar granule cell precursors. *Genes Cells*, 16: 58-68, 2011.
5. Tanahashi H, Kito K, Ito T, Yoshioka K. MafB protein stability is regulated by the JNK and ubiquitin-proteasome pathways. *Arch Biochem Biophys*, 494: 94-100, 2010.
6. Uchida S, Yoshioka K, Kizu R, Nakagama H, Matsunaga T, Ishizaka Y, Poon RY, Yamashita K. Stress-activated mitogen-activated protein kinases c-Jun NH₂-terminal kinase and p38 target Cdc25B for degradation. *Cancer Res*, 69: 6438-6444, 2009.
7. Morfini GA, You YM, Pollema SL, Kaminska A, Liu K, Yoshioka K, Björklom B, Coffey ET, Bagnato C, Han D, Huang CF, Banker G, Pigo G, Brady ST. Pathogenic huntingtin inhibits fast axonal transport by activating JNK3 and phosphorylating kinesin. *Nat Neurosci*, 12: 864-871, 2009.
8. Yamaguchi T, Miyashita C, Koyano S, Kanda H, Yoshioka K, Shiba T, Takamatsu N, Ito M. JNK-binding protein 1 regulates NF-kappaB activation through TRAF2 and TAK1. *Cell Biol Int*, 33: 364-368, 2009.
9. Gantulga D, Tuvshintugs B, Endo Y, Takino T, Sato H, Murakami S, Yoshioka K. The scaffold protein c-Jun NH₂-terminal kinase-associated leucine zipper protein regulates cell migration through interaction with the G protein G(alpha 13). *J Biochem*, 144: 693-700, 2008.
10. Sato T, Torashima T, Sugihara K, Hirai H, Asano M, Yoshioka K. The scaffold protein JSAP1 regulates proliferation and differentiation of cerebellar granule cell precursors by modulating JNK signaling. *Mol Cell Neurosci*, 39: 569-578, 2008.

11. Iwanaga A, Wang G, Gantulga D, Sato T, Baljinnyam T, Shimizu K, Takumi K, Hayashi M, Akashi T, Fuse H, Sugihara K, Asano M, Yoshioka K. Ablation of the scaffold protein JLP causes reduced fertility in male mice. *Transgenic Res*, 39: 569-578, 2008.
12. Tanahashi H, Yoshioka K. RNA interference silencing of DRAL affects processing of amyloid precursor protein. *Neurosci Lett*, 439: 293-297, 2008.

著書・総説など

なし

主な学会発表など

1. 佐藤時春, Tuvshintugs B., 善岡克次 : 小脳顆粒前駆細胞分化過程における JSAP1/JNK シグナル経路と Shh/Gli シグナル経路のクロストーク. 第 70 回 日本癌学会学術総会(名古屋) 2011 年 10 月
2. 望月美希, 佐藤時春, 善岡克次 : Role of the MAP kinase scaffold proteins JSAP1 and JLP in cortical neurons. 第 34 回 日本分子生物学会年会 (横浜) 2011 年 12 月
3. Enkhtuya R., 佐藤時春, Nomium D., 善岡克次 : Role of the scaffold protein JLP in ultraviolet-induced apoptosis. 日本分子生物学会第 11 回春期シンポジウム (金沢) 2011 年 5 月
4. 佐藤時春, Enkhat, A., 善岡克次 : 小脳顆粒前駆細胞の分化過程における足場タンパク質 JSAP1 の細胞内局在. 第 69 回 日本癌学会学術総会 (大阪) 2010 年 9 月
5. 佐藤時春, Anir Enkhat, 善岡克次 : Positive feedback regulation of the scaffold protein *Jsap1* gene expression during the differentiation of cerebellar granule cell precursors. 第 32 回 日本分子生物学会年会 (横浜) 2009 年 12 月
6. 佐藤時春, 寅嶋崇, 杉原一司, 平井宏和, 浅野雅秀, 善岡克次 : JSAP1-JNK シグナル伝達系による顆粒前駆細胞の増殖・分化制御. 第 31 回 日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会 (神戸) 2008 年 12 月

特許

1. 発明者 : 善岡克次、吉原亨、佐藤時春、浅野雅秀
発明の名称 : 情動障害の治療剤のスクリーニング法
出願番号 : 特願 2009-220591
出願日 : 2009 年 9 月 25 日

7. 外部資金受け入れ状況

2012 年度

1. 善岡克次 (代表) : 科学研究費補助金 基盤研究 (C) 「軸索輸送における足場タンパク質 JSAP の役割とその分子メカニズム」 1,300 千円

2011年度

1. 善岡克次（代表）：科学研究費補助金 基盤研究 (C) 「軸索輸送における足場タンパク質 JSAP1 の役割とその分子メカニズム」 1,500 千円

2010年度

1. 善岡克次（代表）：科学研究費補助金 基盤研究 (C) 「足場タンパク質 JSAP1 による小脳顆粒前駆細胞の増殖・分化制御機構の解析」 1,100 千円

2009年度

1. 善岡克次（代表）：科学研究費補助金 基盤研究 (C) 「足場タンパク質 JSAP1 による小脳顆粒前駆細胞の増殖・分化制御機構の解析」 1,100 千円
2. 善岡克次（代表）：金沢大学重点戦略経費 海外共同研究「シナプス小胞輸送における足場タンパク質 JSAP1 の役割とその分子メカニズム」 550 千円

2008年度

1. 善岡克次（代表）：科学研究費補助金 基盤研究 (C) 「足場タンパク質 JSAP1 による小脳顆粒前駆細胞の増殖・分化制御機構の解析」 1,200 千円

8. 特記事項

・国際交流について

2007年8月に国立モンゴル大学生物学部・モンゴル科学アカデミー生物学研究所と金沢大学がん研究所（現、がん進展制御研究所）の間で部局間協定を締結した。その際、窓口教員として協定締結に貢献した。その後、3名の学生（国立モンゴル大学生物学部の卒業生）を大学院生として受け入れ（主任指導教員）、現在、3名すべての学生が博士後期課程に在籍している。また、協定締結以前にも2名の学生を大学院生として受け入れており（主任指導教員）、両名はそれぞれ2006年および2008年に学位（博士）を取得した。従って、国立モンゴル大学生物学部の卒業生を計5名受け入れた。なお、上記5名のうち3名は、国費外国人留学生（文科省）である。また現在、国立モンゴル大学との関係について、大学間協定に格上げするための具体的な作業に入っており、近い将来、金沢大学と国立モンゴル大学との間で大学間協定が締結される予定である。

・遺伝子組換え実験の全学委員について

下記の通り、長年にわたり、金沢大学の遺伝子組換え実験安全委員会委員として遺伝子組換え実験の安全かつ適切な実施に貢献している。

委員： 2002年7月～現在

副委員長： 2002年9月～2012年3月

委員長： 2012年4月～現在