

## シグナル伝達研究分野

### <研究スタッフ>

教授 善岡 克次

助教 佐藤 時春

大学院生 (博士課程) Baljinnyam Tuvshintugs

大学院生 (博士課程) Radnaa Enkhtuya 大学院生 (博士課程) 宮田 大史

大学院生 (博士課程) 石川 桃絵 大学院生 (博士課程) 李 蓉

大学院生 (修士課程) 太田 雅樹 大学院生 (修士課程) I Ketut Gunarta

技術補佐員 猪谷 久世

### 【研究概要】

哺乳類 MAP キナーゼ (MAPK) 経路は、細胞の増殖・分化・死など細胞の様々な局面において重要な役割を担う細胞内シグナル伝達経路である。このシグナル伝達経路の異常は細胞のがん化と密接に関係しており、多くの MAPK シグナル伝達系分子が原がん遺伝子産物として報告されている。MAPK 経路に関する研究は世界中で精力的に行われているが、シグナル伝達経路間の相互作用を含む MAPK シグナル伝達系全体の制御機構や各シグナル伝達モジュールの *in vivo* における機能については不明な点が多い。本研究分野では、我々が同定した哺乳類 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、MAPK モジュールの *in vivo* における役割、及び MAPK 経路の時間的・空間的制御機構の解析を行い、最終的には細胞のがん化やがんの悪性化における JSAP1, JLP の役割とその分子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、JSAP1, JLP の生理的機能の解明に向けた研究にも取り組んでいる。一方、当研究所が共同利用・共同研究拠点に認定されたことを契機として、足場タンパク質研究にとどまらず、がんの転移に焦点を当てた研究に着手した。

### <2013 年の研究成果、進捗状況と今後の計画>

#### 1. 紫外線誘導性アポトーシスにおける JLP の役割とその分子機構

紫外線が皮膚がんの危険因子であることはよく知られている。紫外線応答に関する研究は精力的に行われているが、紫外線応答は複雑であり、分子レベルでの十分な理解には至っていない。我々は、JLP 単純ノックアウト (KO) マウス、および基底細胞特異的 JLP KO [JLP cKO(K5-Cre)] マウスの作出・解析を行い、紫外線 B (UVB) 誘

導性アポトーシスがこれら JLP 欠失マウスにおいて有意に抑制されることを見出した。6-4 型ダイマー (6-4PP) を指標に DNA 損傷の修復能を調べたところ、野生型細胞と JLP 欠失細胞の間で有意な差異は認められなかった (金沢大学・松永司博士との共同研究)。一方、UVB 照射による皮膚表皮での p38 MAPK の活性化は、JLP KO 及び JLO cKO(K5-Cre)マウスにおいて、有意に抑制された。さらに、p38 MAPK インヒビターを用いた塗布実験を行い、野生型マウスでは UVB 誘導性アポトーシスが顕著に抑制されるが、JLP KO マウスの場合には、ほとんど影響がないことを確認した。以上のことから、JLP-p38 シグナル経路は UVB 誘導性アポトーシスにおいて重要な役割を担うことが強く示唆された (*Genes Cells*, in press)。

## 2. Shh-Gli 経路と MAPK 経路のクロストーク

小脳顆粒前駆細胞 (GCP) は、生後まもなく爆発的な増殖を始めるが、その際に強力なマイトジェンとして働くのはソニックヘッジホッグ (Shh) である。また GCP の異常増殖は、髄芽腫を引き起こすと考えられている。我々は、これまでに JSAP1-JNK 経路が GCP の増殖抑制及び分化促進に関わること、及び JSAP1 は bFGF/FGF-2 (GCP の分化誘導因子) に応答して JNK, ERK MAPK シグナル伝達系を空間的に制御することをすでに発表している。本年は、主に初代培養 GCP を用いた解析を行い、bFGF/FGF-2 シグナル経路は転写因子 Gli (Shh 経路のエフェクター) の細胞内局在を制御することを示唆する結果を得た。今後、さらに解析を進め、bFGF/FGF-2- MAPK 経路と Shh-Gli 経路のクロストークを詳細に検討する予定である。

## 3. JSAP1, JLP の生理的機能の解析

JSAP1, JLP の生理的機能の解明に向け、本年は、主に初代培養系を用いた解析を行った。その結果、JSAP1, JLP は Kinesin-1 の微小管結合能を制御する新規制御因子であり、kinesin-1 の多様な積荷の軸索輸送を通じて神経細胞の生存維持に寄与することが示唆された。

## 4. がん転移における転写因子 Gli1 の役割とその分子機構

転写因子 Gli1 ががんの転移に関与することは知られているが、その詳細については不明な点が多い。我々は、昨年、B16F0 メラノーマ細胞 (低転移能株) において転写因子 Gli1 を安定に発現する細胞株 (B16-Gli1#8) を樹立し、B16-Gli1#8 が高転移能を示すことを見出した (金沢大学・遠藤良夫博士との共同研究)。本年は、B16-Gli1#8 細胞株の遺伝子発現プロファイルの解析を行った。また、B16-Gli1#8 に比べて Gli1 の発現レベルがより高い細胞株を樹立し、現在、その細胞株の解析を進めている。さらに、Gli1 の発現が誘導可能な細胞株の樹立も行っている。

## 【 研究業績 】

### < 発表論文 >

原著（研究分野主体）

1. Enkhtuya, R., Sato, T., Wakasugi, M., Tuvshintugs, B., Miyata, H., Sakurai, T., Matsunaga, T., Yoshioka, K. The scaffold protein JLP plays a key role in regulating ultraviolet B-induced apoptosis in mice. *Genes Cells* (in press).

原著（共同研究）

1. Liu, H.-X., Lopatina, O. (他 30 名, Yoshioka, K. は 20 番目) Displays of paternal mouse pup retrieval following communicative interaction with maternal mates. *Nat. Commun.* 4: 1346, 2013.

### < 学会発表 >

1. Enkhtuya, R., Tuvshintugs, B., Miyata, H., Sato, T., Yoshioka, K.  
Role of the scaffolding protein JLP in UVB-induced apoptosis  
第 36 回 日本分子生物学会年会, 2013 年 12 月 4 日, 神戸
2. Gunarta, I.K., Sato, T., Endo, Y., Li, R., Nishiuchi, T., Yamada, Y., Yoshioka, K.  
Role of Gli1 transcription activator in the metastasis of melanoma  
第 36 回 日本分子生物学会年会, 2013 年 12 月 4 日, 神戸

### < 外部資金 >

平成 25 年度

科学研究費補助金 基盤研究(C) (研究代表者: 善岡克次) 1,200 千円  
「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」

### < 学内外との共同研究 >

1. 共同研究者: 福永 理己郎 (大阪薬科大学)  
「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」
2. 共同研究者: 松永 司 (金沢大学)  
「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」
3. 共同研究者: 高松 信彦 (北里大学)  
「足場タンパク質 JSAP1, JLP の機能解析」
4. 共同研究者: 山田 洋一 (金沢大学)  
「がん転移に関わる遺伝子発現制御ネットワークの情報学的解析」