

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「生物の発生・分化・再生」
研究課題
「細胞周期の再活性化による再生能力の賦活化」

研究終了報告書

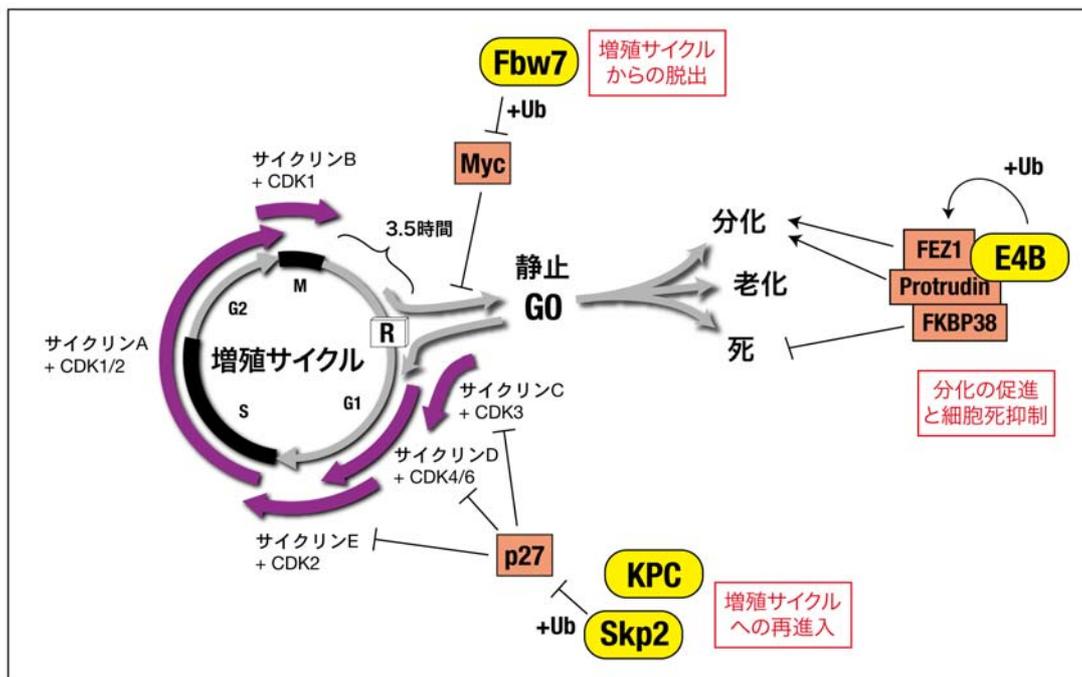
研究期間 平成14年11月～平成20年3月

研究代表者：中山敬一
(九州大学 生体防御医学研究所 教授)

1 研究実施の概要

【研究構想】

成人において細胞周期に入っている細胞は 1%以下の少数の細胞であり、その他大部分の細胞は細胞周期から逸脱して休止状態にある。幹細胞は細胞周期に再進入する能力を有するが、最終分化を遂げた神経・心筋細胞は、傷害があってもほとんど再生せず、その組織の欠損は生命の危機に直結する。なぜ分化と共に細胞周期への再進入能力が失われるかという謎に対しては、全くわかっていないのが現状である。逆に細胞周期が静止期への脱出機能が喪失し、無限の増殖を続けるようになることが癌であると理解されているが、その分子機構についても全く明らかではない。すなわち日本人における三大死因を構成する癌、虚血性心疾患、脳虚血性疾患には全て細胞周期からの脱出・再進入が関与していると言っても過言ではない。われわれは、細胞周期から静止期(G0期)への脱出と、G0期から細胞周期への再進入の制御過程に関する分子メカニズムを明らかにすることによって、細胞分化と増殖とのコントロール機構を解明することを目指し、研究を行った。



概念図 ユビキチンリガーゼが制御する増殖サイクルからの脱出と再進入

われわれの研究成果を一枚の図にまとめたもの。黄色で示すユビキチンリガーゼが増殖サイクル(細胞周期)からの脱出や再進入を制御していることを突き止めた。さらに神経において分化の促進や細胞死抑制にも関わっていることを明らかにした。

【研究の実施状況】

当初の研究計画では G0 期から G1 期への再進入メカニズムに重点を置き、主にノックアウトマウス作製を主体として計画を立案していたが、主なメカニズムは RNA 干渉法によるノックダウン実験からかなり明らかとなり、そのメカニズム解明に関しては予想よりも早い速度で進行した。

一方で当初予想しなかった全く新しい方向性は、G1 期から G0 期への脱出メカニズムに関する分子メカニズムの糸口が見つかったことである。これは細胞周期回転に必至な c-Myc の分解機構を調べるうちに、Fbw7 が G1 期から G0 期への脱出メカニズムに必須であることを見出したものである。そこで G0→G1 移行と G1→G0 移行の分子メカニズムの解明を並行して進めることにした。また単に培養細胞レベルでの細胞周期制御だけでなく、実際の体内における細胞分化と細胞増殖の制御に踏み込めたのも予想しない展開であった。分化と増殖は非常に相関して制御されていることが多くの例から示唆されていたが、本研究はそれを分子レベルでメカニズムを示した哺乳類の研究としては類のないものである。

さらに当初予期していなかった大きな展開は、神経分化に関わるユビキチンリガーゼ E4B の機能解析から、このユビキチンリガーゼと複合体を形成する分子群が神経分化、特に神経突起形成に深く関与していることを明らかにしたことである。

このように本研究課題は、当初の研究計画よりも非常に広がりを持った研究に発展した。

【研究成果】

本研究の成果は大きく三つに分けられる。細胞周期への再進入(G0 期から G1 期への移行)のメカニズムと、細胞周期からの脱出(G1 期から G0 期への移行)のメカニズムの解明、および神経分化促進メカニズムの解明、である。以下、この順番に研究成果を説明する。

まず第一に細胞周期への再進入(G0 期から G1 期への移行)の問題であるが、われわれの以前の研究から、細胞周期のブレーキ分子 p27 が再進入を妨げており、増殖時には p27 がタンパク質分解を受けることによって再進入が始まることを見出していた。p27 ノックアウトマウスでは臓器の大きさが大きくなり、最終的には腫瘍を発生することを示した(Nakayama et al., Cell 1996)。さらにこの p27 の分解に Skp2 というユビキチンリガーゼが重要な役割を果たすことを明らかにし、Skp2 ノックアウトマウスでは体が小さくなり、個々の細胞は巨大化するという結果を得た(Nakayama et al., EMBO J. 2000)。

そこで本研究では、まずこのメカニズムを遺伝学的に検証するために、Skp2・p27 ダブルノックアウトマウスを作製することを試みた。というのは Skp2 の標的タンパク質は p27 だけではなく、p21、p57、free cyclin E、CDK9、Orc1、E2F1、RAG-2、c-Myc、B-Myb 等多くのタンパク質が Skp2 の標的であることを、われわれを含めた多くのグループが報告していたからである(Nakayama and Nakayama,

Nature Rev. Cancer 2006)。つまり p27 の蓄積が Skp2 ノックアウトマウスにおけるいろいろな異常の原因である可能性を調べるためには、Skp2・p27 ダブルノックアウトマウスによる検証が最もインパクトのある研究手法であった。実際に、Skp2・p27 ダブルノックアウトマウスでは Skp2 ノックアウトマウスで見られた細胞学的異常(過剰複製による細胞の巨大化、多倍数体化、中心体過剰複製、等)が全て消失した。このことより p27 の蓄積がこれらの細胞学的異常を引き起こしていることが遺伝学的に証明された(Nakayama et al., Dev. Cell 2004)。問題はそのメカニズムであるが、われわれは生化学的解析から、Cdc2 キナーゼの活性が減少していることを明らかにした。Cdc2 の減少は確かに Skp2 ノックアウトマウスにおける異常を再現するので、Skp2 の欠失→p27 の蓄積→Cdc2 キナーゼ活性の阻害→M 期への進行阻害→エンドサイクルへの進入→細胞の巨大化、といった転帰を辿るものと思われる。

この過程における大きな疑問点は、なぜ G1 期では p27 が蓄積せず分解できるのか、ということであった。われわれの当初の予想は、G0 期→G1 期→S 期の進行が阻害されると考えていたが、実際にはその過程にはあまり大きな影響はなく、むしろ上記のように M 期への進行阻害が起こっていたのである。このことは、G1 期に別のユビキチンリガーゼが p27 を分解していると考えれば、説明が可能である。以前からわれわれは p27 の分解に別経路の機構があることに気が付いていた(Ishida et al., J. Biol. Chem. 2002; Kotake et al., J. Biol. Chem. 2005; Susaki et al., Mol. Cell. Biol. 2007)。p27 は本来核内に局在するタンパク質であるが、G1 期で分解されるときに核外へ排出されることが知られており、このメカニズムが p27 の G1 期における分解に関与しているのではないかと考え、細胞質より p27 へのユビキチン化活性を示す新規ユビキチンリガーゼ KPC を同定した(Kamura et al., Nature Cell Biol. 2004)。本研究ではこの KPC の生物学的な作用を細胞レベル・個体レベルで解析し、その調節機構を明らかにした(Kotoshiba et al., J. Biol. Chem. 2005; Hara et al., Mol. Cell. Biol. 2006)。

次に細胞周期からの脱出(G1 期から G0 期への移行)についても検討を加え、最近大きな成果を得ることができた。まず細胞周期を回転させる因子として重要な c-Myc 等の分解機構を詳細に検討することによって、これらのユビキチン化を司る因子 Fbw7 を発見した(Yada et al., EMBO J. 2004)。Fbw7 は c-Myc 以外にも Notch の制御因子としても重要であり、Fbw7 ノックアウトマウスは Notch4 の制御異常によって血管リモデリングや動静脈分化が異常になり、胎生 10.5 日で死亡してしまうことが明らかとなった(Tsunematsu et al., J. Biol. Chem. 2004)。Fbw7 は p53 の下流分子として働いており、ヒト癌においても重要な役割を果たしていることを証明した(Mao et al., Nature 2004)。さらに T 細胞特異的 Fbw7 コンディショナルノックアウトマウスを用いて、Fbw7 が細胞周期からの脱出に必須であることを証明した(Onoyama et al., J. Exp. Med. 2007)。このコンディショナルノックアウトマウスでは c-Myc の異常蓄積によって一過性の細胞周期活性化が生じるが、それは p53 を介したチェックポ

イントによって検出され、細胞周期が強制的に停止してしまう。しかし長期的には p53 の変異が入ることによって、細胞は癌化することが明らかとなった。われわれは現在、骨髄、肝臓、脳、大腸、肺、皮膚、骨格筋、線維芽細胞等で Fbw7 の欠損の効果を調べており、近い将来成果を発表できる予定である。

さらに神経分化促進に関わる E4B の作用についても、大きな進展があった。もともと E4B は出芽酵母 Ufd2 の哺乳類ホモログとしてわれわれが世界で初めて報告した分子であるが、神経変性疾患に対する防御機構があることが判明し(Matsumoto et al., EMBO J. 2004)、何か神経において生理的な作用があることが示唆されていた。その後の研究で E4B が、神経突起形成に関わる FEZ1 に対してタンパク質分解を伴わないユビキチン化を起こし、それが神経突起形成に重要であることを示した(Okumura et al., J. Biol. Chem. 2005)。さらに E4B ノックアウトマウスを作製し、心臓発生や神経保護に重要な役割を果たしていることを証明した(Kaneko-Oshikawa et al., Mol. Cell. Biol. 2005)。一方で、E4B と同じ複合体に含まれると予想される膜シャペロン分子 FKBP38 は Bcl-2 をミトコンドリアに局在させるのに重要な役割を果たし、アポトーシス制御に関わっていることが明らかとなってきた(Shirane and Nakayama, Nature Cell Biol. 2003)。さらに FKBP38 に結合するタンパク質としてプロトルーディンを発見し、それが神経突起形成時に膜輸送システムを制御し突起を形成していることを明らかにした(Shirane and Nakayama, Science 2006)。

上記の研究以外にも、この分野に関わる研究として、p27 ノックアウトマウスにおける耐糖能の改善(Uchida et al., Nature Med. 2005)、細胞増殖抑制効果を持つ PKC- δ のノックアウトマウス作製(Miyamoto et al., Nature 2002)と、それが細胞老化に関わるという発見(Takahashi et al., Nature Cell Biol. 2006)や、Cul2/Cul5 ユビキチンリガーゼの構造や機能に関する発見(Kamura et al., Genes Dev. 2004)、Cul1/Cul7 ユビキチンリガーゼダイマーに関わる研究(Tsunematsu et al., Mol. Cell. Biol. 2006)、Fbw1a ノックアウトマウスに関する研究(Nakayama et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2003)や p57 のユビキチンリガーゼの研究(Kamura et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2003)、等がある。

2 研究構想及び実施体制

(1) 研究構想

採択時に提出した「研究の基本構想」と、その後の新展開から生まれた目標等について記す。

1. 基本構想(採択時、2002年11月)

ヒトの体は約 60 兆個の細胞から成り立っているが、そのうち細胞周期に入っている細胞は 1%にも満たない少数の細胞であり、その他大部分の細胞は細胞周期から逸脱して休止状態(G0期)にある。体内には、一般的に幹細胞と呼ばれる細胞群があり、増殖刺激に接して再び細胞周期に進出し、速やかに増殖する。例えば皮膚・腸管・血球系などは少数の幹細胞が増殖して一定の新陳代謝を行っているが、種々の要因でその平衡が失われたとき(例えば、外傷で皮膚を損傷したような場合)、予備の細胞が急速に分裂を開始して、その欠損を補おうとする能力が備わっている。しかしながら、この能力はあらゆる傷害に対して有効かというそうではない。例えば心筋細胞や神経細胞は、傷害があってもほとんど再生せず、その組織の欠損は生命の危機に直結する。逆に、この増殖制御機構が破綻して暴走を始めたのが癌と考えられている。このように「細胞の増殖制御機構」は日本人の三大死因である癌、心血管障害、脳血管障害と非常に深く関わっているのは事実であるが、では「なぜほとんどの細胞は G0 期から細胞周期に再進入しないのか」という本質的な問いに対する答えはまだない。

過去 30 年の間に細胞周期の研究は飛躍的な進歩を遂げ、細胞周期の分子メカニズムはかなりの点でその概要は明らかになってきた。しかしながら、なぜヒトの体内ではほとんどの細胞が分化とともに細胞周期を逸脱し、少数の幹細胞だけが再び細胞周期に再進入できるかという謎に対しては、全くわかっていないのが現状である。それは、従来のヒト細胞の細胞周期研究が、酵母やウニ卵を用いた研究によって立ち立てられたパラダイムの追従の域を本質的に脱しておらず、細胞周期からの脱出・再進入という多細胞生物の体細胞分化に見られる一般的な現象はほとんど研究されてこなかったからである。とにかく細胞周期の脱出と再進入のメカニズムは、生物学的・医学的側面から考えても、細胞周期研究が抱えた最大のブラックボックスの一つである。

われわれは、この G0 期から細胞周期への再進入の分子メカニズムを解明すること(細胞周期の再活性化)が組織再生メカニズムを理解することの一つの方法であると捉え、特に G0 期から細胞周期への再進入を妨げている分子 p27 と p57 の分解メカニズムを明らかにすることを目標としてきた。われわれは世界に先駆けて、p27 の分解に関わると目されてきたユビキチンリガーゼ(E3) Skp2 のノックアウトマウスを作製したが、驚くべきことに p27 の分解には Skp2 に依存しない別のメカニズムが存在する事実が浮かび上がってきた。この新メカニズムは、細胞が細胞周期に再進入する際に、再進入を妨げる分子である p27 を破壊し、細胞周期への再進入を可能にする役割を持つことを最近の研究

から示した。またわれわれは、細胞抽出液中に存在する p27 の分解を誘導する活性を有する分子を精製し、既にその遺伝子のクローニングに成功した。

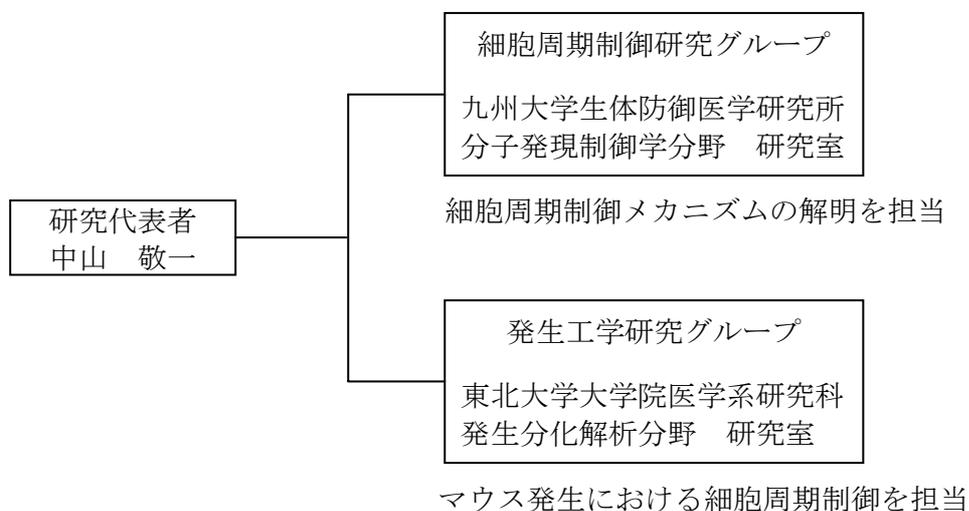
われわれはこの新規分子を手がかりに細胞周期への再進入メカニズムを分子レベル、細胞レベル及び個体レベル解析して明らかにすることを本研究の目的としている。そこから得られた知見を、心筋細胞や神経細胞などの静止細胞を人工的に再び細胞周期へ再進入させる技術の確立に向けた理論的基盤としたい。これらの知見を基盤として、細胞周期への再進入を促進または抑制するような低分子化合物の探索や遺伝子導入によって、組織再生を促したり、逆に癌の治療につながるような医学的な応用を目指す。

2. その後の新展開から生まれた目標

上記のように、本研究の当初の目標は「細胞周期への再進入のメカニズムの解明」であったが、2004年に c-Myc のユビキチン化を引き起こすユビキチンリガーゼ Fbw7 を発見したことにより、「細胞周期からの脱出のメカニズムの解明」という反対側のテーマも同時に進行することにした。特に Fbw7 の発生分化再生に関わる機能を個体レベルで解明するために、ノックアウトマウスやコンディショナルノックアウトマウスを作製し、Fbw7 の役割を明らかにすることを目標とした。

一方、静止期から神経分化を引き起こす研究に関しても、E4B というユビキチンリガーゼを中心に詳細な解析を行った。特に E4B に関連するいくつかのタンパク質群について生化学的、発生工学的な研究を行い、これらが共通した神経分化機能を有すること、特に神経突起伸長に果たす役割を研究してきた。その最下流の機能分子プロトルーディンは従来謎であった神経成長因子 (NGF) の MAP キナーゼの活性化がどのようにして神経突起を伸長するかという問題に対して、検討を加え、最終的に個体レベルでこれらの分子群が果たす役割の解明を目指した。

(2) 実施体制



3 研究実施内容及び成果

3.1 Skp2 による p27 分解の生理的意義の検討(東北大学 発生工学研究グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

ユビキチンリガーゼ(E3)である SCF 複合体の基質認識コンポーネント F-box タンパク質の一つである Skp2 は、多くの細胞周期制御因子を標的とすることが報告されているが、その標的は細胞周期を正に制御する分子群と負に制御する分子群があり、果たして Skp2 は何が生理的に主要な標的なのか現在混沌としている。われわれはこの疑問に答えるために従来の生化学的に解析に加えてマウス遺伝学を用いて検討を行った。つまり Skp2 ノックアウトマウスと p27 ノックアウトマウスを交配して、Skp2・p27 ダブルノックアウトマウスを作製し、その表現型を解析することによって遺伝学的にこの両者の関係を明らかにしようと試みた。p27 ノックアウトマウスは個体・臓器は大きくなるが、細胞そのものは小さくなりその数が増加するのに対し、Skp2 ノックアウトマウスでは、個体・臓器は小さくなるが、細胞そのものは大きくなりその数が減少するという正反対の表現型を呈する。Skp2・p27 ダブルノックアウトマウスでは p27 ノックアウトマウスに近い表現型を呈し、Skp2 ノックアウトマウスにおける異常は消失した(図1)。

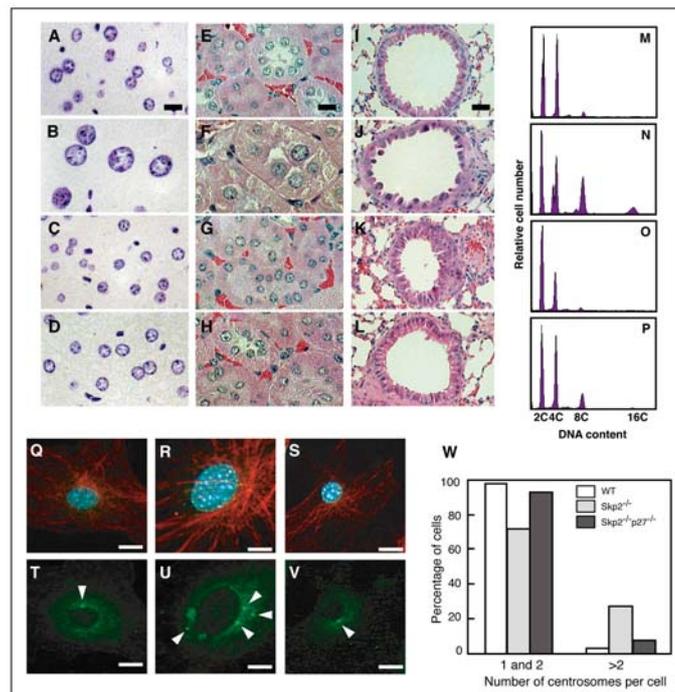


図1 Skp2・p27 ダブルノックアウトマウスで消失する異常

(A-P) 正常マウス (A, E, I, M)、Skp2 ノックアウトマウス (B, F, J, N)、p27 ノックアウトマウス (C, G, K, O)、及び Skp2・p27 ダブルノックアウトマウス (D, H, L, P) における肝臓 (A-D)、腎臓 (E-H)、肺 (I-L) の組織病理像、および肝細胞の DNA 含量 (M-P) を示す。Skp2 ノックアウトマウスでは細胞が巨大化し、DNA 含量が正常よりも増加するが (多倍数体化)、Skp2・p27 ダブルノックアウトマウスではその異常が消失している。(Q-W) 正常胚線維芽細胞 (Q, T)、Skp2 ノックアウト胚線維芽細胞 (R, U)、Skp2・p27 ダブルノックアウト胚線維芽細胞 (S, V) の微小管・DNA (Q-S) 及び中心体 (T-V) の蛍光染色像とそれを定量化した結果 (W)。

この結果より Skp2 の主要な標的は p27 であり、Skp2 ノックアウトマウスにおいては p27 の異常な蓄積が細胞・臓器・個体の異常を引き起こすものであることが遺伝学的に示された。

一方で、p27 ノックアウトマウスで見られた異常は Skp2・p27 ダブルノックアウトマウスでは消失しなかった(図2)。このことは Skp2 が p27 の上流に位置する制御分子であることを遺伝学的に示している。

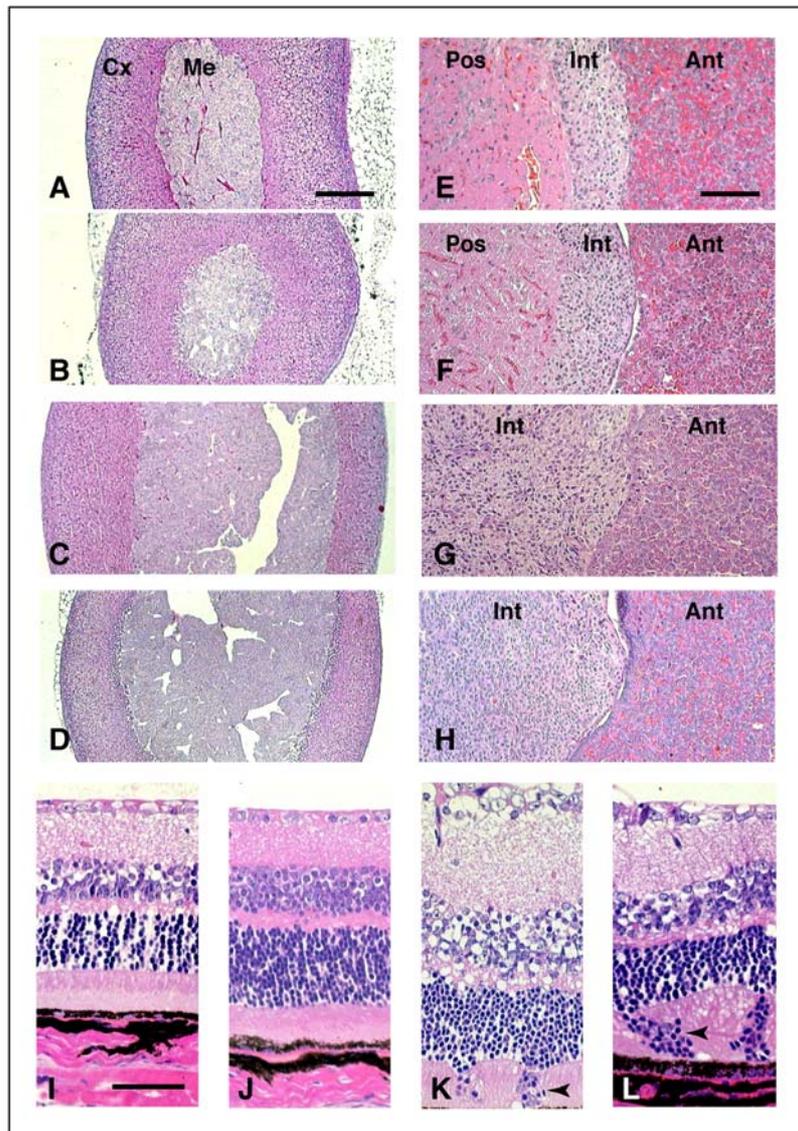


図2 Skp2・p27 ダブルノックアウトマウスで消失しない異常

正常マウス (A, E, I), Skp2 ノックアウトマウス (B, F, J), p27 ノックアウトマウス (C, G, K)、及び Skp2・p27 ダブルノックアウトマウス (D, H, L) における副腎 (A-D)、下垂体 (E-H)、網膜 (I-L) の組織病理像を示す。p27 ノックアウトマウスでは副腎髄質、下垂体中葉、網膜光受容体細胞が過形成を呈するが、Skp2・p27 ダブルノックアウトマウスでもその異常は消失しない。Cx : 副腎皮質、Me : 副腎髄質、Ant : 下垂体前葉、Int : 下垂体中葉、Pos : 下垂体後葉。

この原因を追及するため、われわれは正常マウス、p27 ノックアウトマウス、Skp2 ノックアウトマウス、Skp2・p27 ダブルノックアウトマウスにエストジオールを投与、または部分肝切除を行って肝細胞を増殖させ、その細胞周期を観察したところ、Skp2 ノックアウトマウスでは S 期に進行するものの、M 期には進行できず、過剰な複製を起こすことによって倍数性や中心体数の異常を来すことが示唆された。この異常はやはり Skp2・p27 ダブルノックアウトマウスで消失したことにより、p27 の過剰な蓄積が原因であることがわかった(図3)。

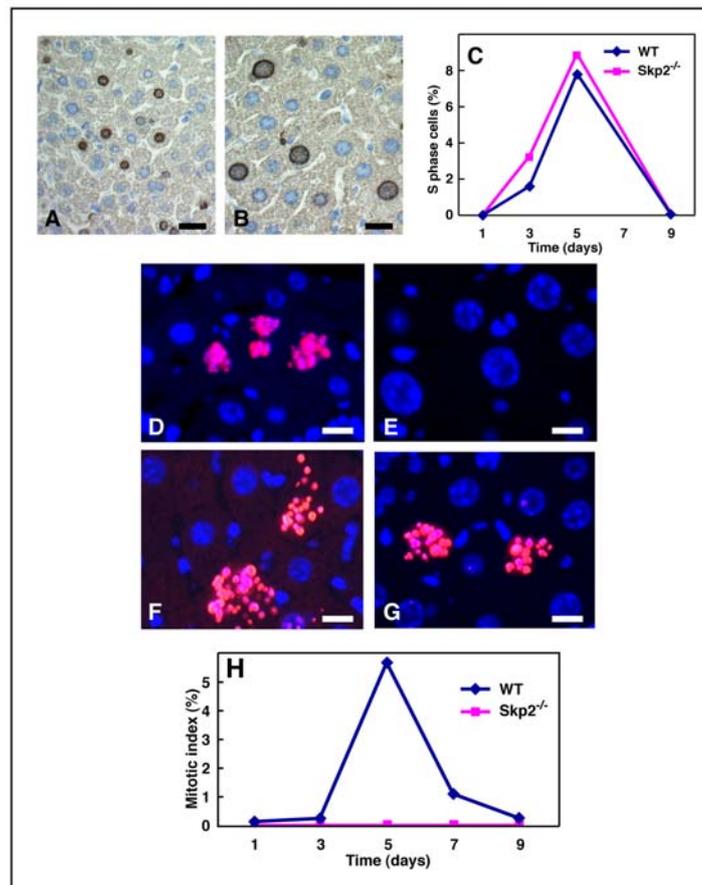


図3 Skp2 ノックアウトマウスにおける M 期進行障害

(A-C) 正常マウス (A) 及び Skp2 ノックアウトマウス (B) にエストジオールを投与して肝細胞の分裂を誘導させ、同時に BrdU を投与し、一定時間後肝臓を取り出して抗 BrdU 抗体で染色した組織像及びその定量データ (C)。(D-H) 上記の処置をした正常マウス (D)、Skp2 ノックアウトマウス (E)、p27 ノックアウトマウス (F)、及び Skp2・p27 ダブルノックアウトマウス (G) の肝臓の切片を抗リン酸化ヒストン H3 で染色した像及びその定量結果 (H)。

上記のように、p27 の異常蓄積によって細胞周期に異常を来すのは、予想に反して G1-S 期ではなく、実際には G2-M 期であった。その主たる原因は、次項で述べるように、G1-S 期には Skp2 以外に別のユビキチンリガーゼ KPC が存在し、Skp2 の欠損において KPC が代替的に働くと考えられるからである。しかし KPC 依存的な p27 の分解は、p27 の核外輸送システムに依存しており、それは

G1-S 期でしか起こらないために、G2-M 期で細胞周期の異常が顕在化するものと推定された。G2-M 期において主に細胞周期の進行に重要なのは Cdc2 キナーゼなので、p27 が実際に Cdc2 と結合しているかどうかを検討した。まず、正常マウスと Skp2 ノックアウトマウスの胚線維芽細胞よりタンパク質を抽出し、p27 抗体で免疫沈降した後に、Cdc2、Cdk2、Cdk4、p27、 α -Tubulin でウェスタンブロットティングを行った。その結果、確かに Skp2 ノックアウトマウスでは、正常では見られない p27-Cdc2 の結合を観察した(図4)。

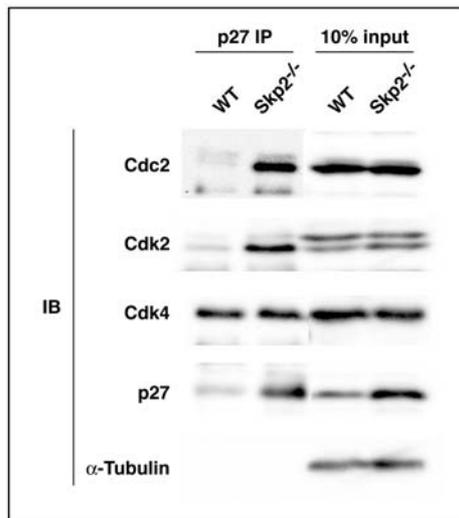


図4 Skp2 ノックアウトマウスにおける p27 と Cdc2 キナーゼの結合

正常マウス (WT) 及び Skp2 ノックアウトマウス由来の胚線維芽細胞よりタンパク質よりタンパク質を抽出し、抗 p27 抗体で免疫沈降実験 (IP) を行った。右は IP にしようした 10% のタンパク質をそのままウェスタンブロットティング法にて解析したもの。

さらに Cdc2 の抑制が本当に細胞の増大を引き起こすかどうかについて、Cdc2 温度感受性変異細胞 (FT210) を使用して検証を行った。この変異細胞の親株 (FM3A) を対照として実験を行った。許容温度 (32°C) では両細胞に異常はなかったが、制限温度 (39°C) では FT210 にのみ異常な細胞増大と中心体の増加が認められた (図5)。

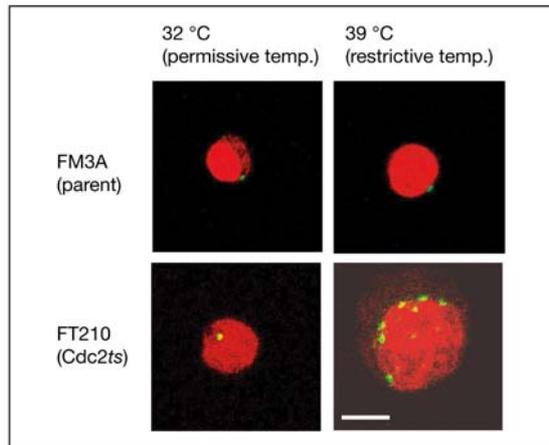


図5 Cdc2 変異による細胞増大の再現実験

正常 Cdc2 を有する親株 (FM3A) から作製された Cdc2 温度感受性変異株 (FT210) を 32°C (許容温度) 又は 39°C (制限温度) で培養した後、核と中心体を蛍光免疫染色したもの。

これらの結果を総合すると、以下のような仮説が考えられる。つまり正常では G1-S 期移行は Skp2 と KPC によって p27 のユビキチン化・分解が行われているが、S-G2 期においては Skp2 のみが p27 のユビキチン化を担当している。Skp2 ノックアウトマウスでは、G1-S 期移行は KPC によって p27 のユビキチン化・分解が正常に行われるが、S-G2 期においては p27 の分解ができないため p27 が異常な蓄積を起こし、Cdc2 キナーゼと結合して、その活性を抑制してしまうために、G2-M 期停止を起こし、一部の細胞においてはエンドサイクルに入って倍数性の増加が起こるものと推定される(図 6)。

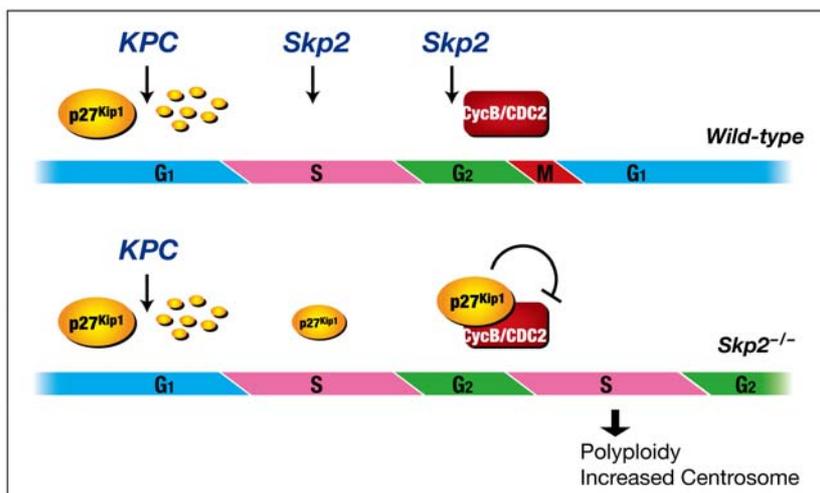


図6 Skp2 ノックアウトマウスにおける異常を説明するモデル

正常では Skp2 と KPC が共同して p27 を分解しており、p27 は G1 期以降はずっと低レベルにあるが、Skp2 ノックアウトマウスでは S~G2 期において Skp2 の欠損により p27 が蓄積を起こし、Cdc2 キナーゼと結合する結果、その活性が阻害され、一部の細胞ではエンドサイクルに入って再び S 期へと進行する。最終的に倍数性が増加し、中心体が増える結果になる。

(2) 研究成果の今後期待される効果

p27は細胞周期のブレーキであり、多くの癌において発現量が低下していることが知られている。この発現量低下はユビキチン化によって誘導されているとされ、実際に Skp2 の過剰発現や遺伝子増幅が認められている。このような事実から、Skp2 に対する阻害剤開発は p27 の分解を低下させ、癌の予後を改善させる効果があると考えられる。われわれも Skp2 の抑制物質を探索する試みを始めており、既にスクリーニング系を完成させているので、近い将来 Skp2 阻害による新たな抗癌剤の開発が可能になるものと考えている。

3.2 p27 に対する第二のユビキチンリガーゼ KPC の機能解析(九州大学 細胞周期制御研究グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

p27 は Skp2 を中心とするユビキチンリガーゼ (E3) である SCF 複合体によってユビキチンを付加されることが複数のグループより報告された。われわれは p27 と Skp2 の発現時期をマウスリンパ球を用いて抗原刺激を行い、ウェスタンブロッティング法で詳細に検討したところ、p27 は抗原刺激後 3~9 時間で分解したのに対し、Skp2 が発現し始めるのは 18 時間後からであった(図7)。この時間差は、p27 が Skp2 によって分解されているのではないことを物語る。

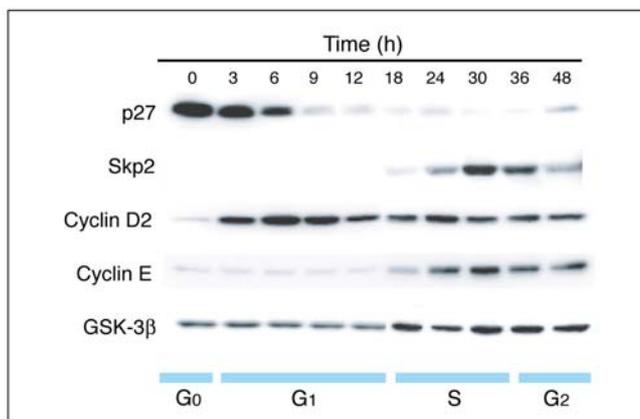


図7 リンパ球における細胞周期への再進入過程

正常リンパ球を抗原刺激した後、p27、Skp2、サイクリン D2、サイクリン E、GSK-3βの発現量をウェスタンブロッティング法によって解析した。p27 の分解時間と Skp2 の発現時期がずれていることに注目。

Skp2 ノックアウトマウスより調製したリンパ球を調べてみると、Skp2 が欠損した状態において p27 の分解は S 期から G2 期にかけての後期分解は傷害されているものの、G0-G1 移行期における p27 の分解は正常に起こることを明らかにした(図8)。この活性はプロテアソーム阻害剤で抑制できることから、やはりユビキチン・プロテアソーム系を利用したタンパク質分解機構であることが示唆された。また in vitro 系を用いた実験からは、この活性は細胞質分画に含まれていることが明らかとなった。

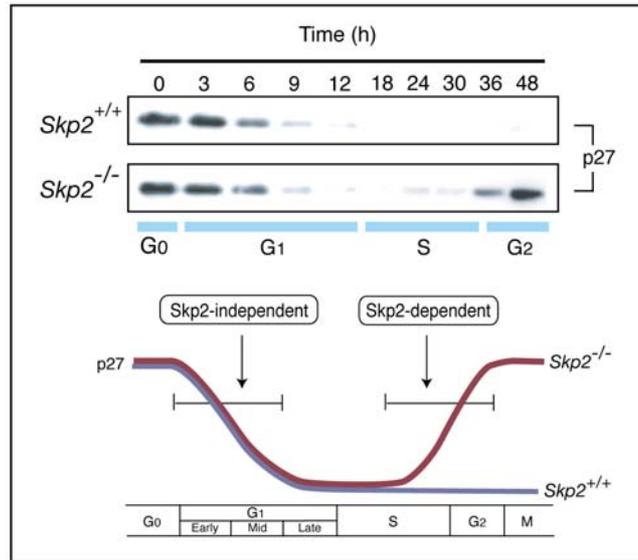


図8 Skp2 ノックアウトマウスにおける p27 分解の詳細

正常マウスと Skp2 ノックアウトマウスよりリンパ球を調製し、抗原刺激した後、ウェスタンブロッティング法によって p27 の分解をモニターした。下のグラフはこのウェスタンブロッティング法の結果を模式化したもの。Skp2 欠損細胞においても G1 期における p27 の分解は正常に起こるが、S-G2 の分解は傷害されている。

そこでわれわれは、ウサギ網状赤血球抽出液から 6 つの異なるカラムクロマトグラフィーを用いてこの活性を精製し、そのアミノ酸配列を同定した。これらは KPC (Kip1-ubiquitylation Promoting Complex) 1 および KPC2 と命名され、KPC1 は RING フィンガードメインを持つ触媒サブユニット、KPC2 は UBL ドメインと UBA ドメインを有する調節サブユニットであることが推測された(図9)。

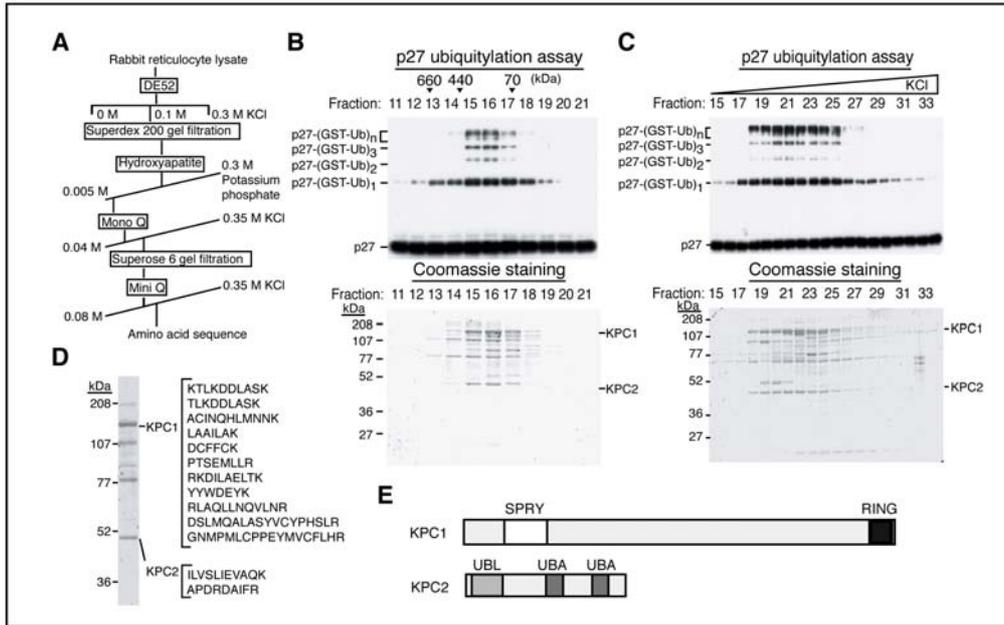


図9 KPCの精製とその分子構造

(A) ウサギ網状赤血球抽出液から6種類のカラムクロマトグラフィーを用いてKPCを精製したフローの概略。(B) 5番目のカラムクロマトグラフィーであるゲル濾過カラムの結果。画分15~17に活性があり、それに対応してKPC1(140kDa)とKPC2(50kDa)が存在する。(C) 6番目のカラムクロマトグラフィーである陰イオン交換カラムの結果。(D) 精製したタンパク質より質量分析を行ってKPC1とKPC2を同定、クローニングした。(E) KPC1とKPC2の構造の模式図。KPC1のC末端にはユビキチンリガーゼの特徴的なドメインであるRINGフィンガードメイン構造が認められた。

上記のように、以前よりp27はG1期において細胞質へ輸送されることをわれわれは見出しており、さらにSkp2非依存的にp27をユビキチン化する活性は細胞質にあることを考えると、KPCは細胞質に局在するものと予想された。じっさいにKPC1とKPC2の細胞内局在を調べると、両者は共に細胞質に共発現していることが明らかとなった(図10)。

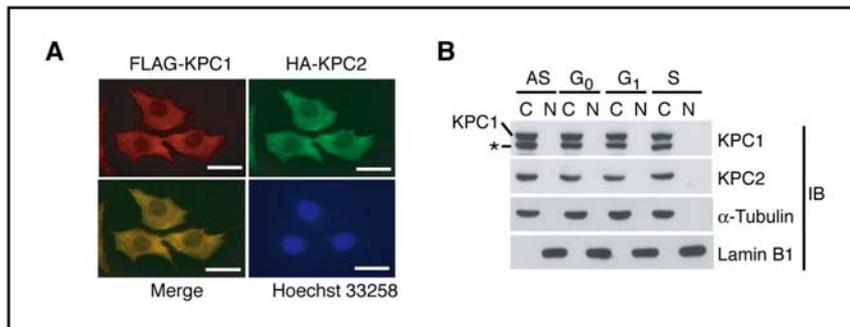


図10 KPCの細胞内局在

(A) KPC1(赤)とKPC2(緑)の細胞内局在を蛍光免疫染色法にて解析した。両者はどちらも細胞質に局在しており、その局在は完全に一致していた(Merge、黄)。(B) 生化学的分画法によるKPCの細胞内局在決定。KPC1もKPC2もどちらも細胞質分画(C)に局在し、核分画(N)には存在しないことが確認された。

そのことを最終的に証明するため、核外輸送阻害剤である Leptomycin B で細胞を処理すると、KPC の効果は完全に消失することがわかり、KPC の働きは核外輸送された p27 をユビキチン化することであることが明らかとなった。

KPC1 と KPC2 は複合体を形成し、p27 をユビキチン化することができる。KPC1 の RING フィンガードメインを欠損した変異体はこのユビキチン化を起こすことができないことから、この RING フィンガードメインが p27 のユビキチン化に必須であることが証明された。KPC1 と KPC2 を細胞に過剰発現させると p27 の G0-G1 移行期における分解が促進されること、逆に KPC1 の変異体(酵素活性を持たないもの)と KPC2 を過剰発現させると、その分解が遅延することなどから、KPC が細胞質に輸送されてきた p27 をユビキチン化して分解していることが示唆された。さらに KPC1 に対するノックダウン実験からも p27 の分解に KPC が重要な役割を果たしていることが明らかとなった。以上の結果は、細胞周期のブレーキである p27 の分解は、核外輸送とそれに引き続くユビキチン依存性分解という機構で行われており、これは細胞が速やかに p27 を不活性化するための戦略であると考えられる(図11)。

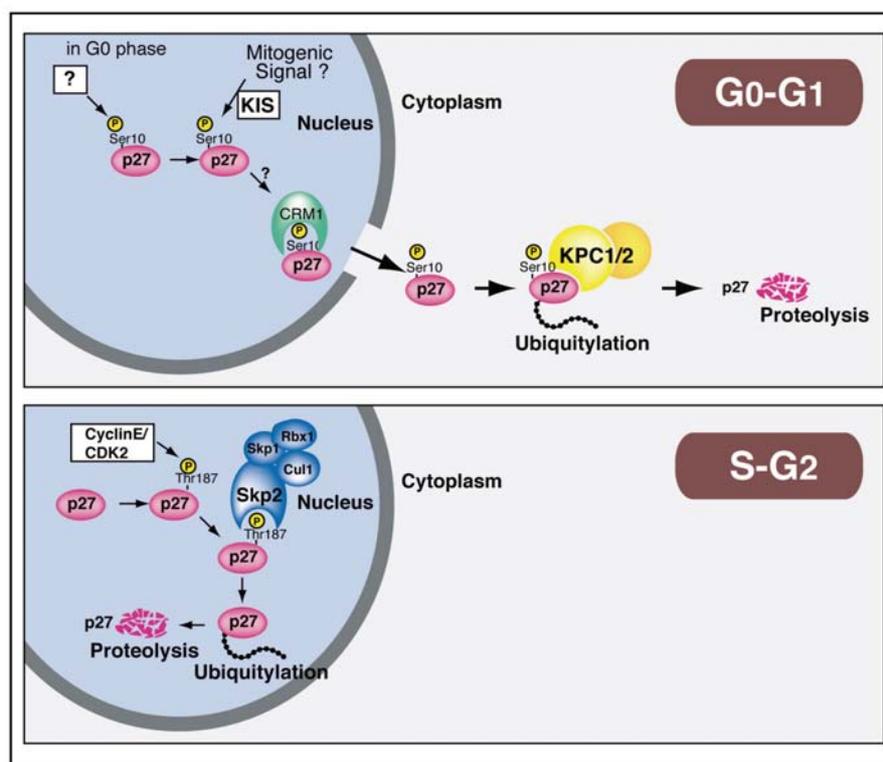


図 11 KPC 経路と Skp2 経路の比較

(G0-G1) p27 は核から細胞質へ輸送され、KPC によってユビキチン化を受け、分解される。(S-G2) p27 は核内でリン酸化を受けた後、Skp2 によってユビキチン化され、分解される。

(2) 研究成果の今後期待される効果

p27 は重要な癌抑制分子であり、多くの癌ではその分解によって発現量が低下している。逆に言えば、p27 の分解を抑えることで発癌や癌の進展を抑えることが可能であると期待される。本研究によって p27 の新たな分解誘導因子 KPC が発見されたことにより、KPC に対する阻害薬が p27 の分解を停止させ、発癌を抑制できる可能性が示された。実際に KPC に対する阻害薬をスクリーニングする系は既に完成しているので、いずれ有効な阻害薬が発見されることを期待している。

3.3 細胞周期脱出に関わるユビキチンリガーゼ Fbw7 の機能解析(九州大学 細胞周期制御研究グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

c-Myc は細胞周期の回転開始に必要な転写因子であり、多くのヒト癌においてその発現量が異常に上昇していることが知られている。c-Myc は非常に不安定なタンパク質であり、常にユビキチン・プロテアソーム系によって分解を受けているとされている。c-Myc の安定化を決定しているのは主に転写活性化ドメイン内にある二つの領域(MycBox1 及び2)であり、ヒト癌においてはこの部分の変異が圧倒的に多いことから、この領域を介する c-Myc の制御機構の解明が待たれていた。われわれはまずユビキチンリガーゼ(E3)である SCF 複合体の基質認識コンポーネント F-box タンパク質の一つである Skp2 が c-Myc の MycBox2 に結合し、その分解に関わっていることを明らかにした。

一方で MycBox1 は MycBox2 よりもヒト癌において変異の多い領域であり、特にその中のスレオニン 58 とセリン 62 のリン酸化が c-Myc の分解を早めるのに重要であることが示唆されてきた。われわれはこの二箇所のリン酸化を認識するようなユビキチンリガーゼ(E3)があると想定し、その探索を行ってきたが、この部位がサイクリン E の Fbw7 による認識配列と類似していることから c-Myc の MycBox1 も Fbw7 の標的ではないかと考え、実験を行った。Fbw7 は c-Myc の MycBox1 のスレオニン 58 とセリン 62 のリン酸化依存的に結合し、これはこの部位のリン酸化酵素と考えられている GSK-3 β の阻害薬で Fbw7 と c-Myc の結合が抑制されたことから証明された。また Fbw7 は試験管内ユビキチン化法において c-Myc をリン酸化依存的にユビキチン化する活性があることを証明した(図12)。

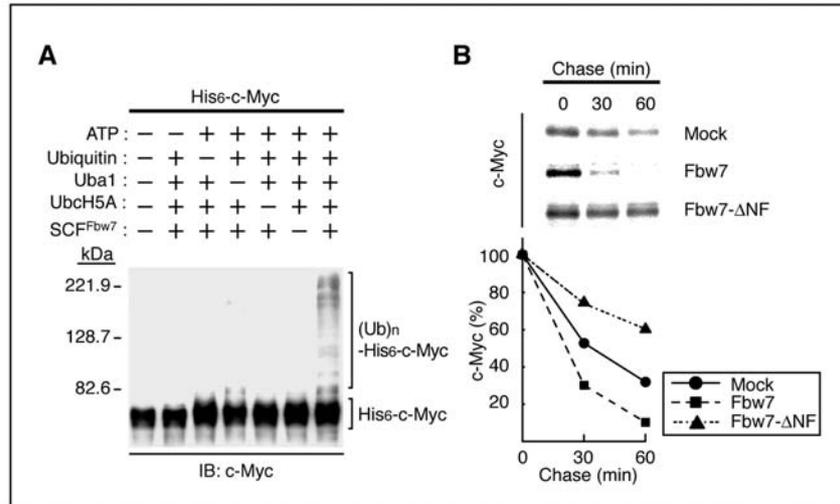


図 12 Fbw7 による c-Myc のユビキチン化

(A) 試験管内で作製した組換え c-Myc に対して組換え Fbw7 を含む SCF 複合体はユビキチン化活性を示した。(B) c-Myc の半減期を測ると、Fbw7 を過剰発現すると半減期が短縮し、ドミナントネガティブ変異体 (ΔNF) を過剰発現すると逆に半減期が延長する。

Fbw7 の過剰発現は c-Myc の半減期を短縮し、逆に Fbw7 の RNA 干渉法によるノックダウンでは c-Myc の半減期は延長した。Fbw7 ノックアウトマウス由来細胞では c-Myc は安定化しており、その発現量は上昇していた。これらの結果から、細胞周期の正の制御因子 c-Myc は Skp2 と Fbw7 の二つのユビキチンリガーゼによって複雑にコントロールされていることが明らかとなった。特に Fbw7 は増殖シグナルに反応して下記のような系でコントロールされていることが明らかとなった(図13)。つまり増殖シグナルがある場合(左)では Ras の活性化により GSK3 が抑制され、c-Myc はスレオニン 58 のリン酸化が起こらないため、安定化する。このことによって細胞増殖が進行・維持される。逆に増殖シグナルがない状態(右)では Ras は活性化されず、その結果として GSK3 が活性化され、c-Myc のスレオニン 58 がリン酸化されるようになる。ここがリン酸化された c-Myc は Fbw7 によって認識され、ユビキチン化を受けて分解する。

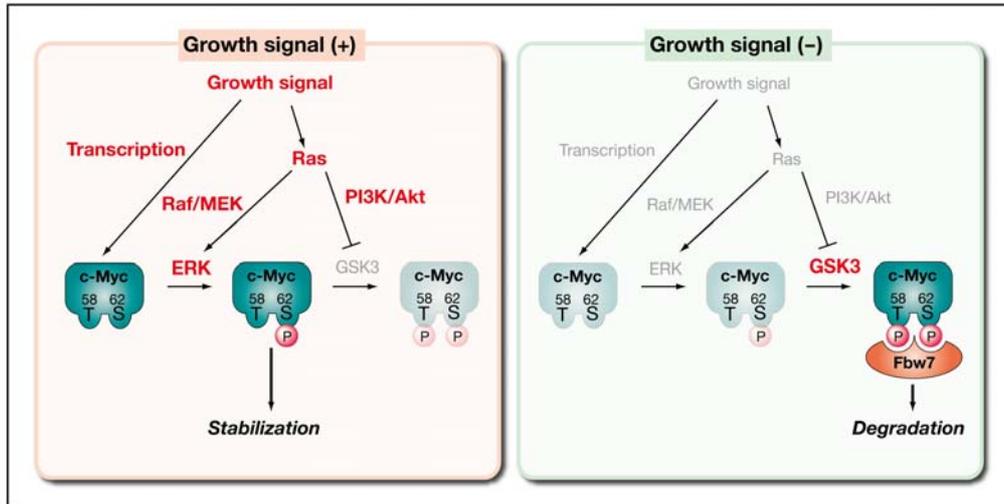


図 13 増殖シグナル停止と Fbw7 による c-Myc の分解の関係

(左) 増殖シグナルがある状態では Ras が活性化され、それによって GSK3 が抑制されるため、c-Myc は Thr-58 のリン酸化を受けず、安定化する。(右) 増殖シグナルがなくなると、Ras が不活性化する結果 GSK3 が活性化され、c-Myc の Thr-58 がリン酸化される。リン酸化 c-Myc を Fbw7 が認識し、ユビキチン化して分解する。

Fbw7 はサイクリン E や Notch を標的とすることが示唆されていたが、個体レベルでどのような機能を有しているかは不明であった。そこでわれわれはマウス Fbw7 遺伝子を破壊した場合にどのような異常が生じるかを検討することによって、Fbw7 の機能を探索した。In situ hybridization 法によって、Fbw7 は主に血管前駆細胞に強く発現していることが明らかとなった。Fbw7 ノックアウトマウスは胎生中期(胎生 10.5~11.5 日)で死亡し、多くの個体で頭蓋内出血を認め、血管異常が疑われた。血管内皮マーカー染色によって、血管リモデリングが正常に起こっていないことがわかった。また主要な体幹静脈の形成が不全で、動静脈分化障害が示唆された(図14)。血管原基の体外培養法(P-sp 培養法)でも Fbw7 ノックアウトマウス由来の培養はほとんど血管を形成できず、血管前駆細胞自体に異常があることが強く疑われた。Notch1、2、3 の発現量に変化はなかったが、Notch4 が過剰に発現しており、その下流で働く転写因子 HRT1 が異常に広汎な領域で発現していた。Fbw7 欠損 ES 細胞に Notch1 と Notch4 を発現させてその安定性を測定したが、正常 ES 細胞に比較して Fbw7 ノックアウト ES 細胞では Notch4 が異常に安定化していた。予想に反してサイクリン E のレベルは正常であった。これらの結果は、少なくとも胎生中期までは Fbw7 の主要な調節標的は血管形成に関わる Notch4-HRT1 経路であり、サイクリン E の量的制御には必須でないことが明らかになった。

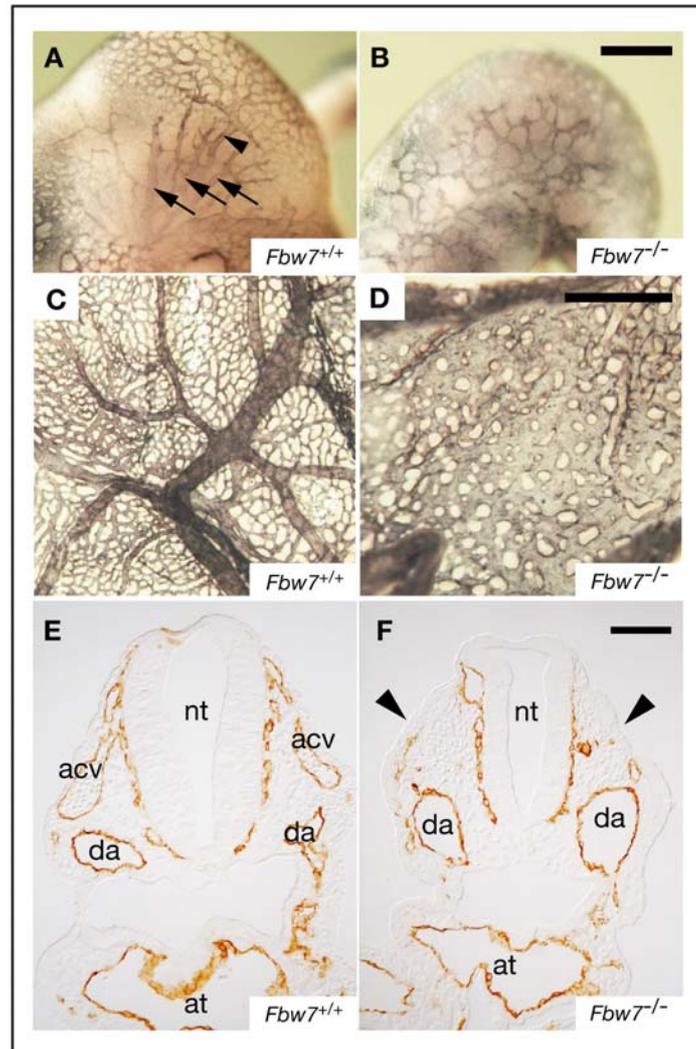


図 14 Fbw7 ノックアウトマウスにおける血管分化異常

(A, B) 脳の血管を抗 PECAM-1 抗体で免疫染色した。正常 (A) では動脈 (矢頭) と静脈 (矢印) が放射状に構成されるが、Fbw7 ノックアウトマウス (B) では血管が網目状にしか分化していない。(C, D) 卵黄膜の血管を PECAM-1 抗体で免疫染色した。正常 (C) では太い血管から細い血管へのヒエラルキーが存在するが、Fbw7 ノックアウトマウス (D) では血管が太い静脈叢状の血管しか存在せず、血管リモデリングの異常が考えられる。(E, F) 正常マウス (E) に比較し、Fbw7 ノックアウトマウス (F) では体幹の太い静脈 (矢頭) の形成が著しく低下している。

この胎生早期の死亡によって十分な細胞周期解析ができないため、われわれはコンディショナルノックアウトマウスを作製することとした。われわれは哺乳類で最も細胞分化の研究が進んでいる T リンパ球において、特異的に Fbw7 を欠失させ、どのように分化特異的な細胞周期制御が影響されるかを検討した。T リンパ球は胸腺内において CD4-8-(DN)→CD4+8+(DP)→CD4+8-/CD4-8+(SP) という分化段階を経て成熟していくが、細胞が激しく増殖するのは DN 後期に限られ、DP 以降は細胞周期は停止する。われわれは c-Myc のユビキチン依存性分解を促進する F-box タンパク質である Fbw7 の T 細胞系列におけるコンディショナルノックアウトマウスを作製したところ、胸腺が腫大してい

ることを発見した(図15)。さらに FACS 解析の結果、DP の比率が特異的に増加していることを見出した。

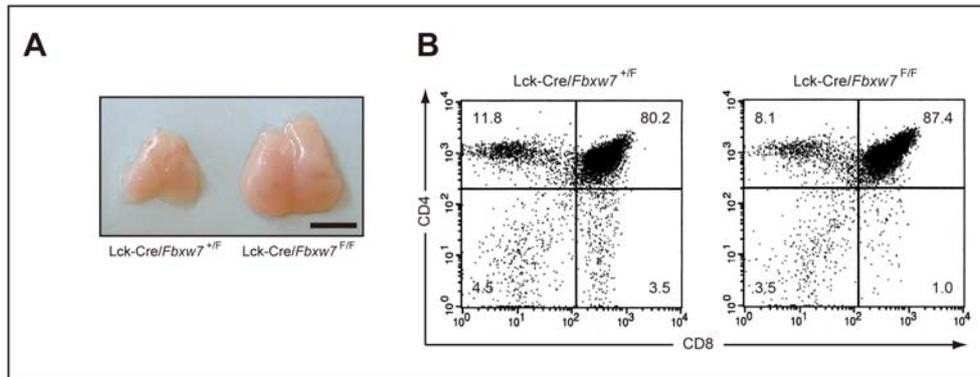


図 15 T 細胞特異的 Fbw7 コンディショナルノックアウトマウスにおける胸腺肥大

(A) コントロールに比較して Fbw7 コンディショナルノックアウトマウスの胸腺は約 2 倍大きい。(B) FACS で CD4/CD8 の発現を解析すると、Fbw7 コンディショナルノックアウトマウスの胸腺細胞では CD4+CD8+細胞 (DP 細胞) の比率が高まっていることが明らかとなった。

そこで細胞の絶対数を計算してみると、やはり DP 細胞の数が正常の 2 倍程度増加していることが明らかとなった(図16)。しかし SP 細胞の数は増加していなかった。BrdU の取込み実験を行うと、DN では Fbw7 の有無にかかわらずその増殖率は高いが、DP では本来細胞周期が停止するべきところ、Fbw7 が欠損していると細胞周期が停止せず、増殖を続けることが判明した(図16)。

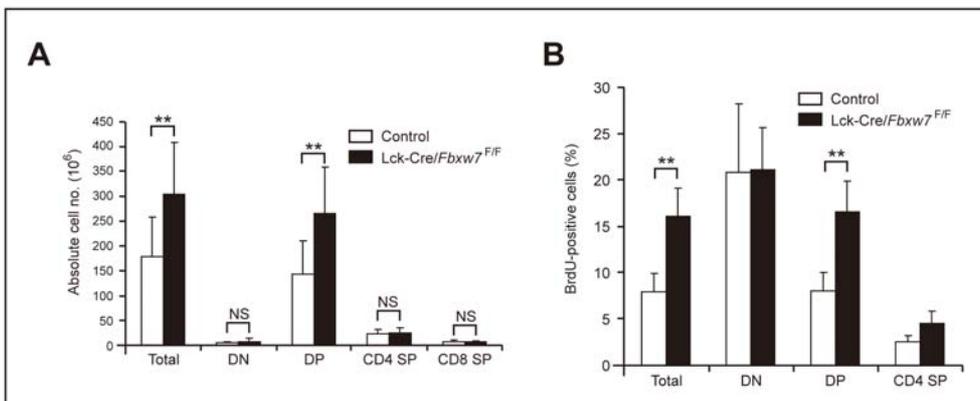


図 16 T 細胞特異的 Fbw7 コンディショナルノックアウトマウスにおける DP 細胞の増加

(A) 胸腺細胞全体及び各分化段階の絶対数。コントロールに比較して Fbw7 コンディショナルノックアウトマウスでは DP 細胞の数が増えていることがわかる。(B) 胸腺細胞全体及び各分化段階への BrdU の取り込み率。正常では DP 細胞は細胞周期停止が起こるが、コンディショナルノックアウトマウスでは依然細胞周期が回転している。

次にわれわれは、この DP 期における細胞周期停止異常のメカニズムを調べた。ウェスタンブロッティング法により、Fbw7 コンディショナルノックアウトマウスの DP では c-Myc と Notch の異常発現が観察された(図17)。

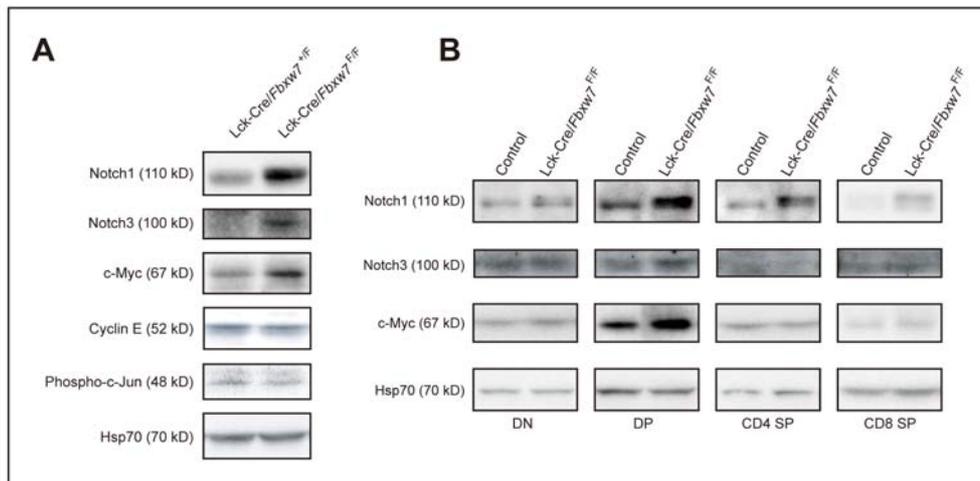


図 17 T 細胞特異的 Fbw7 コンディショナルノックアウトマウスにおける Notch1 と c-Myc の異常蓄積

(A, B) 胸腺細胞 (A) 全体及び各分化段階 (B) における Fbw7 の基質タンパク質をウェスタンブロッティング法によって定量した。特に DP 細胞において Notch1 と c-Myc が異常に蓄積していることを示す。

そこで Fbw7 コンディショナルノックアウトマウスと RBP-J コンディショナルノックアウトマウスまたは c-Myc コンディショナルノックアウトマウスを交配させて、それぞれダブルコンディショナルノックアウトマウス ($Fbw7^{fllox/fllox}; RBP-J^{fllox/fllox}; CD4-Cre$ または $Fbw7^{fllox/fllox}; c-Myc^{fllox/fllox}; CD4-Cre$) を作製した。RBP-J は Notch の転写活性化に必要な協同分子であり、その欠損は 4 つの Notch ファミリーメンバー全ての機能を不活化する。この実験の結果、Notch の欠失によっても Fbw7 欠損における増殖過剰の表現型は認められることから、これらの異常は Fbw7 による Notch の分解異常とは関係ないと結論された。一方で c-Myc の欠失は Fbw7 欠損における増殖過剰の表現型を打ち消すことから、この増殖過剰状態は c-Myc の分解過程に異常を来した結果であると考えられた(図18)。

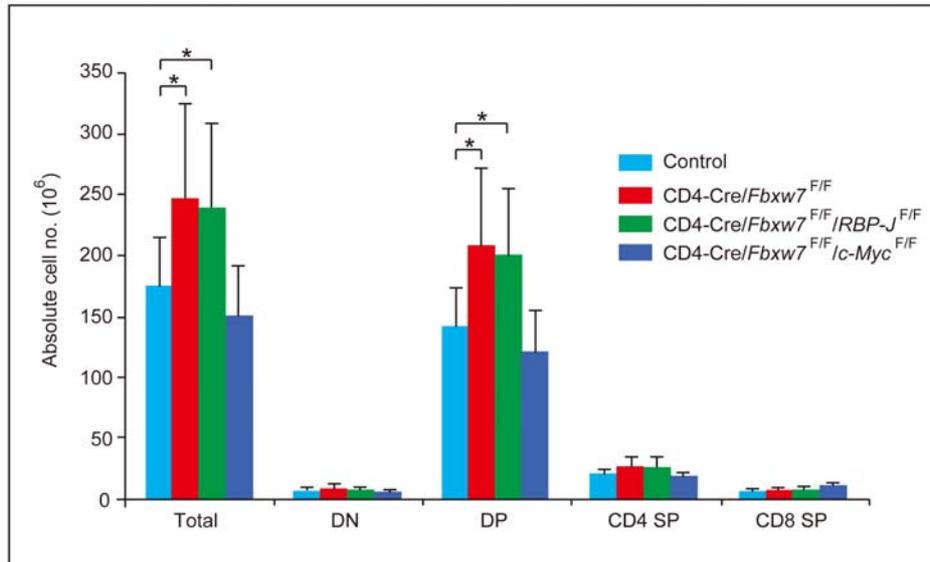


図 18 Fbw7/RBP-J 及び Fbw7/c-Myc ダブルコンディショナルノックアウトマウスにおける増殖異常の解析

CD4-Cre によって DP 期で遺伝子が欠失するようなシステムを用いて、Fbw7 コンディショナルノックアウトマウスと、RBP-J のコンディショナルノックアウトマウス、または c-Myc のコンディショナルノックアウトマウスの二重変異を導入し、その結果を調べた。RBP-J の欠失によっても Fbw7 欠損による過剰増殖は解消されなかったが、c-Myc の欠失によって正常化した。

しかしながら、Fbw7 が欠損した状態でも、成熟 T 細胞になると細胞周期が停止するようになる。この原因を調べるために、Fbw7 コンディショナルノックアウトマウスの T 細胞を抗原刺激し、細胞周期を回転させてみたが、細胞周期の進行は G1-S 期においてブロックされていた。同時に c-Myc の増加とそれに反応して p53 の誘導が確認された。p53 の誘導は細胞周期を G1-S 期で停止させ、アポトーシスを増加されることが予想され、Fbw7 欠損 T 細胞の表現型と一致する。そこでこの仮説を検証するため、Fbw7 コンディショナルノックアウトマウスと p53 ノックアウトマウスを交配して、ダブルノックアウトマウスを作製した (*Fbw7*^{lox/lox}; *p53*^{-/-}; Lck-Cre)。すると G1-S 期における細胞周期停止が解除され、アポトーシスが減少した(図19)。

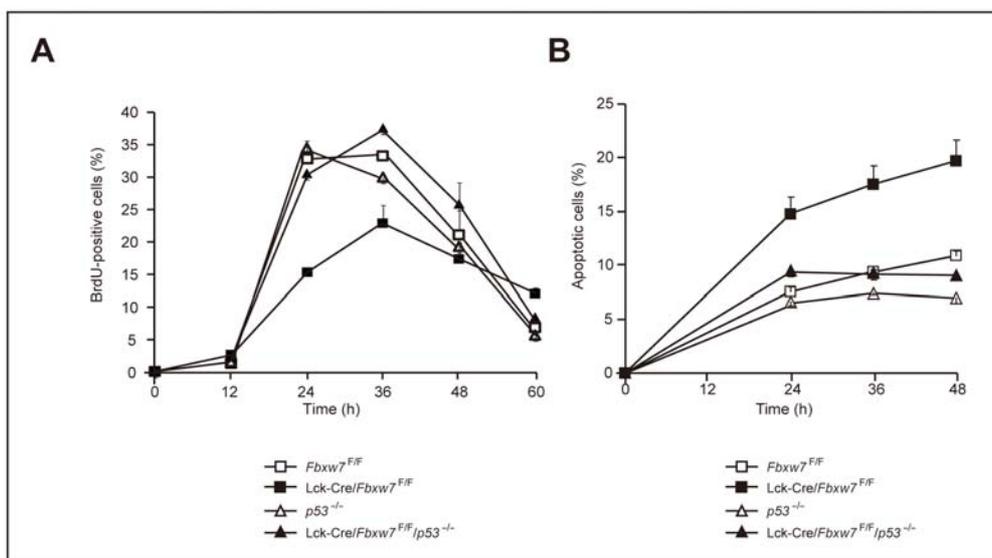


図 19 T 細胞特異的 Fbw7 コンディショナルノックアウトマウスにおける成熟 T 細胞の細胞周期阻害

(A, B) 脾細胞を抗原刺激した後の時間経過における S 期への進行 (A) とアポトーシス (B) を示す。Fbw7 コンディショナルノックアウトマウスでは S 期への進行が阻害され、アポトーシスが増加するが、Fbw7/p53 ダブルノックアウトマウスにするとこの異常は解消される。

このことは、成熟 T 細胞における、未熟細胞と正反対の表現型は、p53 の活性化に因っていることを示している。つまり成熟 T 細胞においては、c-Myc の異常発現が p53 を誘導し、その結果細胞周期停止とアポトーシスの上昇を招くことが明らかとなった。このことから、Fbw7 の欠失は c-Myc の過剰発現を招き、短期的に細胞周期を回転させるものの、p53 によるチェックポイントが作用して細胞周期は強制的に停止させられることが示唆される。

しかしこのような不安定な状態は、長期間のうちに p53 遺伝子に変異が入ることによって容易に癌化することが予想された。そこでマウスを長期間観察すると、1 年間で約 60% のマウスがリンパ腫によって死亡することが明らかとなった。この経過は比較的ゆっくりとしたものであるが、p53 を欠失させた Fbw7/p53 ダブルノックアウトマウスでは非常に早いリンパ腫の発症を認めたことにより、p53 が腫瘍抑制に関わっていることが明らかとなった (図 20)。

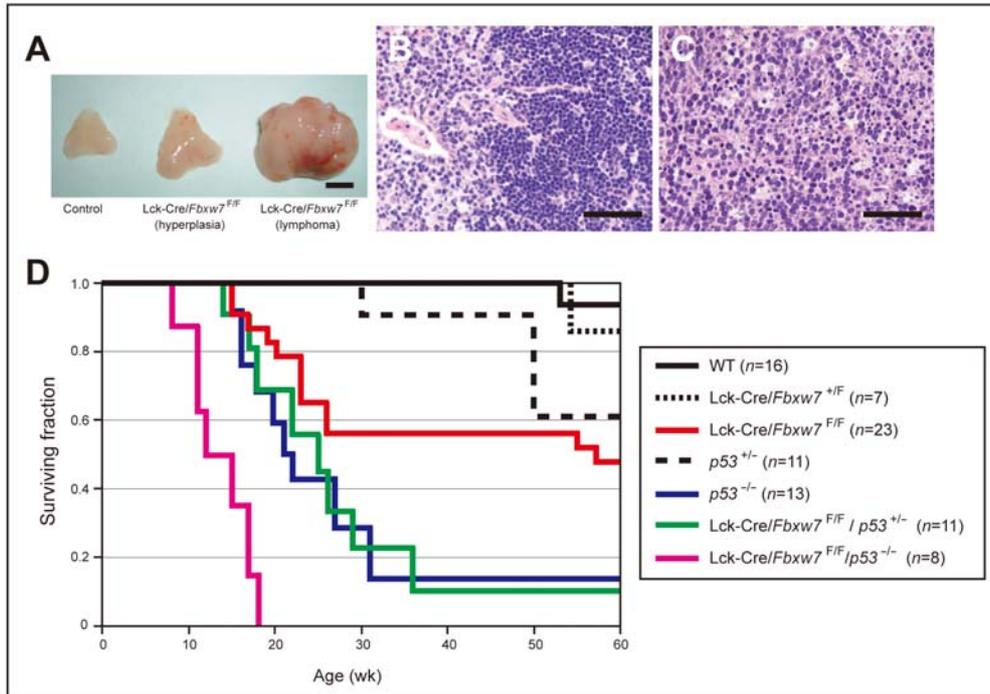


図 20 T 細胞特異的 Fbw7 コンディショナルノックアウトマウスにおけるリンパ腫の発生

(A) 正常コントロール (左) と Fbw7 コンディショナルノックアウトマウス (中央・左) の胸腺の外観。中央はリンパ腫を発症する以前の胸腺で、右はリンパ腫を発症したマウスの胸腺。(B, C) 正常コントロール (B) 及びリンパ腫を発症した Fbw7 コンディショナルノックアウトマウス (C) における胸腺の組織病理的解析。(D) 右に示した遺伝型における生存率。Fbw7 コンディショナルノックアウトマウス (赤) は約 60%が 1 年以内にリンパ腫を発症して死亡する。Fbw7/p53 ダブルノックアウトマウス (マゼンダ) は Fbw7 コンディショナルノックアウトマウスや p53 ノックアウトマウス (紺) よりもさらに死亡が早い。

最近ヒトのリンパ腫において Fbw7 の異常が多く報告されており、本研究結果はそのメカニズムを具体的に再現したものである。

(2) 研究成果の今後期待される効果

Fbw7 が細胞周期において増殖期から静止期への重要な調節因子であることが判明したので、Fbw7 の上流のメカニズムを明らかにしていくことによって、有効な抗癌剤の創薬につながる事が期待される。またこの Fbw7 コンディショナルノックアウトマウスは発癌モデルマウスとしてもヒトにおける異常を忠実に再現しているものと考えられ、いろいろな抗癌剤の個体スクリーニングにも有用であると期待される。

3.4 ユビキチンリガーゼ E4B が神経分化に果たす役割の研究(九州大学 細胞周期制御研究グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

プロテアソームによって分解される細胞内タンパク質の大部分は、分解の目印としてポリユビキチン鎖が付加される。基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)、ユビキチン連結酵素 (E3) の連続した反応によって行われる。しかし酵母において、これらのほかにユビキチンポリマー伸長因子 (E4) も、ある基質の分解に必要なことが明らかにされた。E4 は酵母の UFD2 を用いて解析されてきたが、哺乳類における機能は不明であった。以前われわれは哺乳類における UFD2 の機能的ホモログである E4B を同定した。また E4B の発現部位を解析し、胎仔期では心筋に、成体マウスでは脳の神経細胞と骨格筋に強く発現することを明らかにした。そこで E4B の生理的機能を解明するために、われわれは E4B ノックアウトマウスを作製し、その表現型を解析した。

E4B ノックアウトマウスは胎生 12~13 日で致死であることが判明した。胎仔期のマウスを解析したところ、E12.5 から心臓壁の薄化が観察され、心筋繊維の形成異常とアポトーシスが顕著に起こっていることを発見した(図21)。E13.5 ではノックアウトマウスはすべて吸収されていた。このことから E4B ノックアウトマウスは心不全により胎生期に死亡することが示唆された。

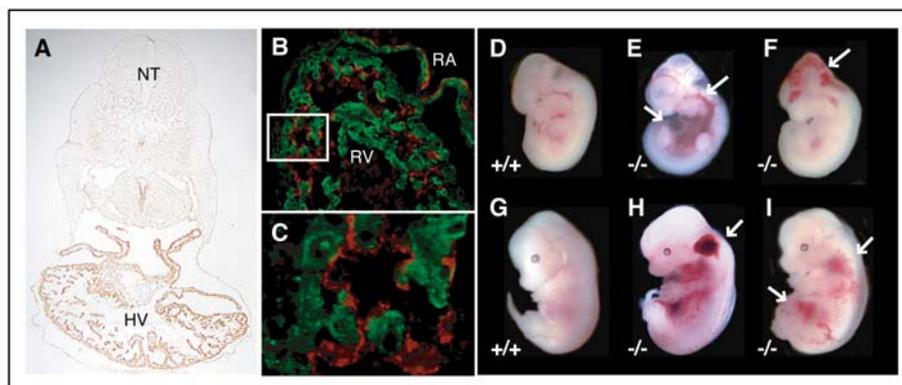


図 21 E4B ノックアウトマウスにおける心臓の発生異常

(A) E4B は胎仔期において心臓に強く発現している。(B, C) E4B (緑) と PECAM-1 (赤: 血管内皮マーカー) の蛍光免疫染色像。E4B は PECAM-1 とは全く局在が一致しないため、E4B は心内膜ではなく心筋に発現していることがわかった。RA: 右心房、RV: 右心室。(C) は (B) の囲みの拡大像。(D-I) 正常コントロール (D, G) 及び E4B ノックアウトマウス (E, F, H, I) 胎仔の外観。ノックアウトマウスでは血管の怒張や出血が認められる (矢印)。

次に E4B ヘテロノックアウトマウスの解析を行った。このマウスは生まれてくるが、生後 7 ヶ月齢より失調歩行を示した。病理学的解析により、延髄薄束核で軸索ジストロフィーに特徴的なスフェロイド体と呼ばれる異常構造体を観察した(図22)。このスフェロイド体は ER ストレスマーカー抗体で染色されることから、その生成に ER ストレスの関与が示唆された。

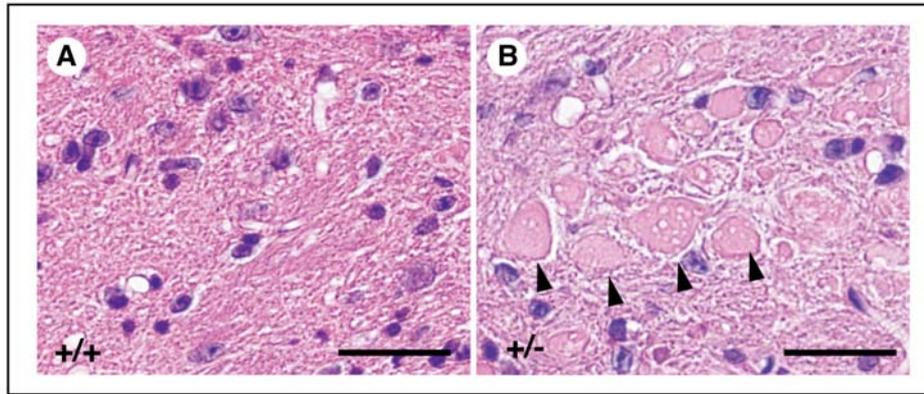


図 22 E4B ヘテロノックアウトマウスにおける延髄薄束核の異常

(A, B) 正常マウス (A) 及び E4B ヘテロノックアウトマウス (B) の延髄薄束核の組織病理所見。ノックアウトマウスでは軸索末端が膨大変性を起こし、スフェロイド体という特徴的な異常構造物が観察される (矢頭)。

また、小脳のプルキンエ細胞の変性が認められ、脊髄同様に ER ストレスマーカー抗体での染色陽性像を示した。さらに行動解析をおこなってみると、加齢に従い、失調歩行や Rotarod テストの低下が認められた (図 23)。

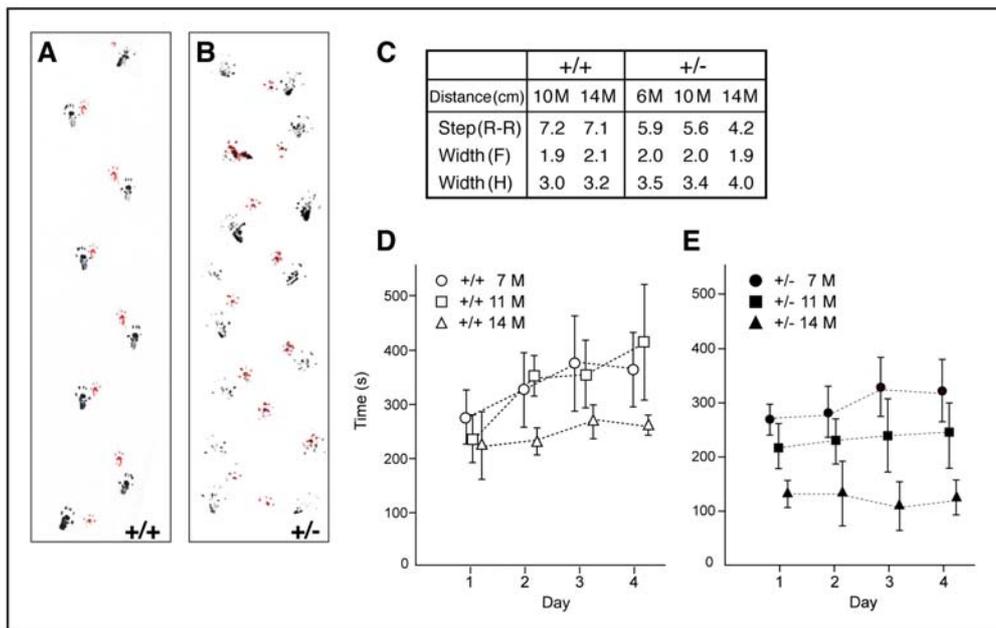


図 23 E4B ヘテロノックアウトマウスにおける延髄薄束核の異常

(A-C) 正常マウス (A) 及び E4B ヘテロノックアウトマウス (B) の歩行パターン。前肢 (赤) と後肢 (黒) を示す。さらにそれを定量化した (C)。 (D, E) 正常マウス (D) 及び E4B ヘテロノックアウトマウス (E) の Rotarod テストの結果。E4B ヘテロノックアウトマウスでは加齢に従い、Rotarod から落下するまでの時間がどんどん短くなっている。

これらのことから、E4B ヘテロマウスは ER ストレスによる脊髄小脳路の変性によって、運動失調を示

すことが示唆された。

現在われわれは E4B の神経系における機能をより詳細に調べるために、神経系特異的な E4B コンディショナルノックアウトマウスを作製し、その解析を行っているところである。

(2) 研究成果の今後期待される効果

本研究によって E4B が神経の機能維持に重要な役割を果たすことが示されたが、われわれは最近 E4B の神経特異的トランスジェニックマウスを作製し、これが神経因性の強度な肥満を起こすことを明らかにした。このことより、摂食中枢において E4B が重要な役割を果たしていることが推測された。そこで E4B を阻害する活性のある低分子化合物が抗肥満薬として有力な候補になることを考え、「ユビキチン化酵素の阻害による新規抗肥満薬の開発」として平成18年度産学共同シーズイノベーション化事業に採択され、現在研究を展開している最中である。

3.5 神経突起伸長を司るマスター分子プロトルーディンの機能解析(九州大学 細胞周期制御研究グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

脳の複雑な働きを担っている神経細胞は、情報ネットワークを身体中に張り巡らせるために、神経突起と呼ばれる突起を有している。これまで神経突起形成のメカニズムについては、細胞骨格の再構築の制御という観点で多くの研究がなされてきた。一方で、神経突起を形成するためには突起部分の細胞膜になる物資を供給する必要があるが、細胞膜成分の輸送システムの機構についてはほとんど知られていなかった。

われわれは、神経突起が伸長する際には細胞膜成分が突起形成部へ輸送されて突起における細胞膜の表面積が増大することが重要である、ということを発見した。神経突起が形成されるためには、細胞内の膜成分が突起形成部位に限定して供給されなければならない。その突起への膜の供給は、細胞膜のリサイクルを介してなされていることを明らかにした。細胞膜のリサイクルとは、細胞膜の一部が細胞内に取り込まれて(エンドサイトーシス)、リサイクルエンドソームという細胞内小器官にいったん回収され、再び特異的な部位に向けて分泌される(エキソサイトーシス)システムである。

われわれは以前に、膜シャペロンタンパク質の FKBP38 が、結合分子の細胞内局在や機能を制御していることを明らかにした。その FKBP38 のノックアウトマウスを作製したところ、発生期の神経管形成不全を呈し、FKBP38 の機能が神経発生に関係あることが示唆された。さらにわれわれは FKBP38 の結合タンパク質を探索し、新規の膜タンパク質を同定した。当初機能が不明であったその新規タンパク質をたまたま子宮頸癌の細胞株、HeLa 細胞に過剰発現させたところ、神経突起を思わせるような突起が出現した(図24)。そこで「突起が伸びる」という意味の“protrude(プロトルード)”という英語にちなんで、このタンパク質を“Protrudin(プロトルーディン)”と命名した。

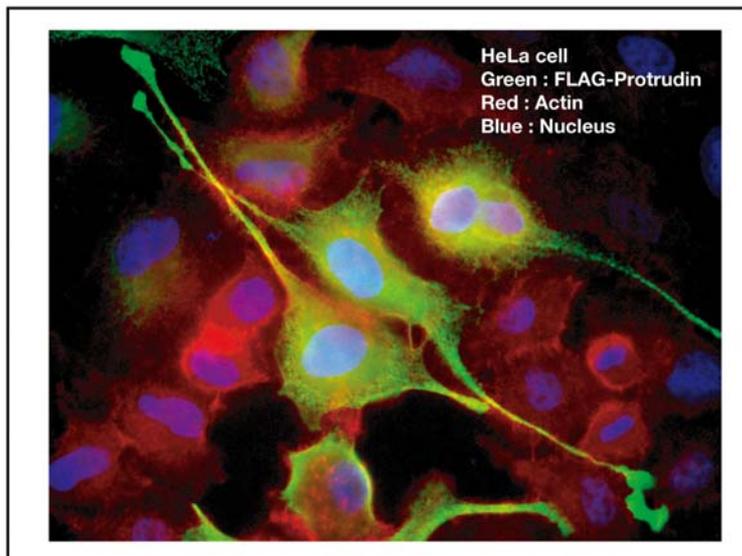


図 24 プロトルーディンによる突起形成

子宮癌由来の HeLa 細胞株にプロトルーディンを発現すると神経突起によく似た突起が形成された。
緑：プロトルーディン、赤：アクチン、青：核。

プロトルーディンの組織発現分布を調べたところ、脳、脊髄などの中枢神経系に高い発現が認められた。さまざまな細胞株においてプロトルーディンの発現レベルを比較すると、PC12 細胞などの神経細胞株で高い発現が認められ、HeLa 細胞などの非神経細胞株では発現が認められなかった。

また、マウス脳神経の初代培養細胞においてプロトルーディンの細胞内発現分布を観察すると、細胞の周縁の細胞膜、核に近接した中心体の近傍、神経突起先端の成長円錐に特異的に高い発現が認められた。PC12 細胞は、神経成長因子 NGF を添加すると神経突起を形成する。プロトルーディンは、PC12 細胞内で NGF 添加によって顕著に局在変化することが観察された。NGF 無添加時の神経突起が形成されていない場合には、プロトルーディンは細胞質全体に分散していた。NGF を添加すると、数時間後にいったん中心体近傍に強く蓄積し、その後突起の伸長と共に突起先端へと移動していった。中心体近傍のプロトルーディンが蓄積する部位は、リサイクルエンドソームという細胞内小器官であった(図25)。

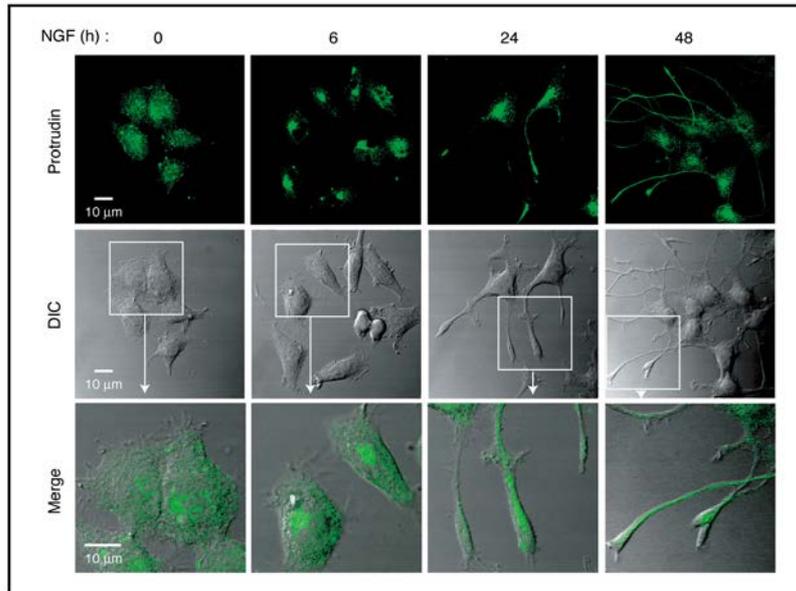


図 25 プロトルーディンの細胞内局在変化

PC12 細胞株に神経成長因子 (NGF) を添加後、6、24、48 時間後にプロトルーディンの細胞内局在を蛍光免疫染色によって検出した (上段)。微分干渉顕微鏡 (DIC、中段) 像と重ね合わせることによって (下段)、小胞体に分子していたプロトルーディンが NGF 刺激によって、6 時間後には核周囲のリサイクルエンドソームに集積し、その後突起へ向けて移動していく。

PC12 細胞において RNAi によりプロトルーディンのタンパク質発現を低下 (ノックダウン) させたところ、NGF 添加による神経突起形成が阻害された。NGF 添加の時間経過と共に、コントロール細胞では限定方向へ細胞膜が伸展して突起形成を示したのに対し、ノックダウン細胞では全方向へ細胞膜が伸展して細胞全体が広がった形態を示した (図 26)。よってプロトルーディンは神経突起の形成に重要なタンパク質であることがわかった。

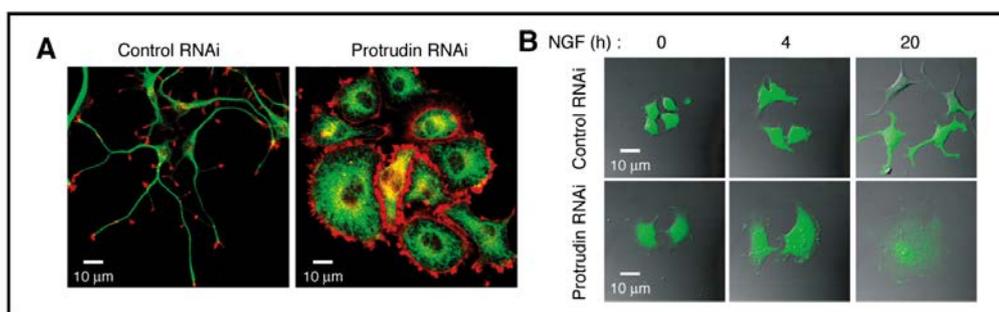


図 26 プロトルーディンのノックダウンによる PC12 細胞の形態変化

(A, B) PC12 細胞株にコントロールノックダウン (左) 又はプロトルーディンノックダウン (右) を行い、神経成長因子 (NGF) を添加すると、コントロールでは神経突起が伸長するのに対し、プロトルーディンをノックダウンした細胞では細胞が菲薄化し、巨大化していた (A)。(B) は時間経過を追って観察したもの。

細胞内のさまざまな小胞輸送は各種膜系の变形や移動などを行っており、それらは Rab という GTPase タンパク質ファミリーによって厳密に制御されている。Rab11 は、リサイクルエンドソームにおいて膜のリサイクル輸送を制御している分子である。細胞内結合実験により、プロトルーディンは GDP 結合型の Rab11 と結合することがわかった。またその結合は、NGF の下流のシグナルによりプロトルーディンがリン酸化されることで促進されること、および MAPK の ERK が関与していることが明らかになった。さらに膜リサイクルへの作用について検討するために、神経軸索特異的に輸送されるリサイクルエンドソームの動態を間接的な方法で観察した。その結果、プロトルーディンによる膜リサイクルの促進作用が明らかになった。

以上、プロトルーディンの作用機序を解析し、以下のようなメカニズムで神経突起が形成されることを突き止めた(図27)。①神経成長因子などの神経分化の誘導シグナルが細胞表面の受容体に結合する。②そのシグナルに応じてプロトルーディンがリン酸化される。③リン酸化されたプロトルーディンが Rab11 という細胞膜のリサイクルを制御するタンパク質と結合する。④それに伴い、突起形成部位への細胞膜成分のリサイクル輸送が促進される。⑤その結果、神経突起形成が誘導される。

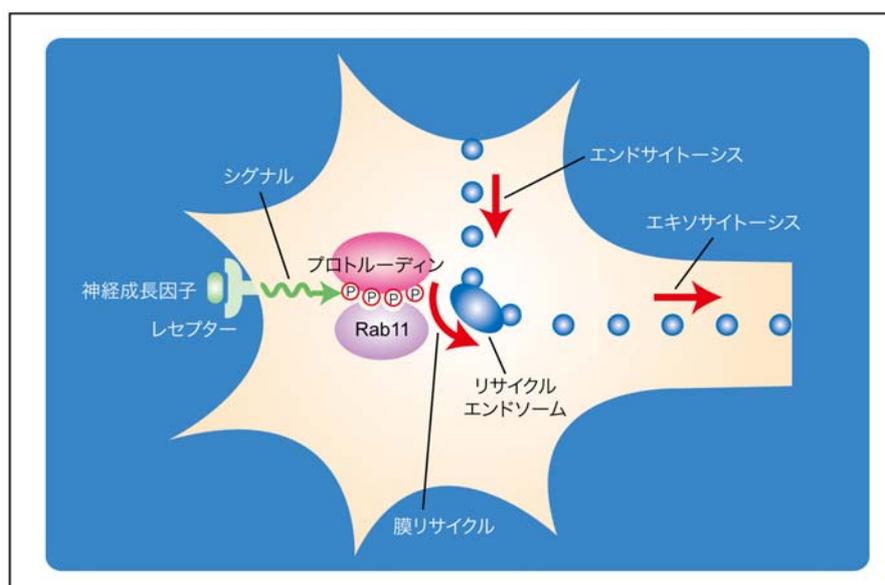


図 27 プロトルーディンによって制御される細胞内小胞輸送の模式図

神経成長因子からのシグナルは ERK を介してプロトルーディンのリン酸化を引き起こす。リン酸化されたプロトルーディンは Rab11 と結合し、リサイクルエンドソームにおける小胞膜輸送の方向を限局させることによって突起伸長を起こす。

遺伝性痙性対麻痺は皮質脊髄路の神経変性で起こることが知られており、徐々に歩行困難になる病気で、細胞膜輸送の異常が関連することが示唆されている。最近、遺伝性痙性対麻痺の患者においてプロトルーディンの遺伝子変異の事例が報告された。プロトルーディンの機能異常によって細胞膜の輸送に障害が生じることが、遺伝性痙性対麻痺の原因であると考えられた。われわれの

発見は、この疾患の病因解明に大きく寄与するだけでなく、プロトルーディンによる神経変性疾患の治療や神経移植への応用の可能性を示すものである。

(2) 研究成果の今後期待される効果

プロトルーディンによる異常が神経変性を引き起こすことにより、このメカニズムを詳細に解明することによって、これらの疾患の治療法確立の糸口になることが期待される。またプロトルーディンの持つ神経突起伸長作用を利用して、神経移植時の突起伸長の促進にこの分子が応用できる可能性があり、今後の課題である。

4 研究参加者

①細胞周期制御研究グループ（細胞周期制御メカニズムの研究）

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
中山 敬一	九大・生医研	教授	研究の総括	平成14年11月～
畠山 鎮次	九大・生医研	助教授	ユビキチンリガーゼの生化学的解析	平成14年11月～ 平成16年6月
中山 啓子	九大・生医研	助教授	ユビキチンリガーゼのノックアウトマウス作製	平成14年11月～ 平成15年3月
嘉村 巧	九大・生医研	助手→助教授	ユビキチンリガーゼの生化学的解析	平成14年11月～ 平成17年9月
白根 道子	九大・生医研	学振研究員→さきがけ研究者→助手→助教授→准教授	神経分化因子の単離と解析	平成14年11月～
谷内 一郎	九大・生医研	助手	ユビキチンリガーゼのノックアウトマウス作製	平成14年11月～ 平成16年3月
松本 雅記	九大・生医研	学振研究員→特任助手→助教	蛋白質翻訳後修飾のプロテオミクス解析	平成14年11月～
押川 清孝	九大・生医研	学振研究員	ユビキチンリガーゼの生化学的解析	平成14年11月～ 平成16年3月
押川 清孝	九大・生医研	共同研究員	ユビキチンリガーゼの生化学的解析	平成18年8月～
フォトバティ ア バス	九大・生医研	学振研究員（海外）	ユビキチンリガーゼのノックアウトマウス作製	平成14年11月～ 平成15年9月
石田 典子	九大・生医研	CREST 研究員	ユビキチンリガーゼの生化学的解析	平成14年11月～ 平成15年6月
矢田 雅佳	九大・生医研	大学院生→CREST 研究員	ユビキチンリガーゼの生化学的解析	平成14年11月～ 平成16年3月
恒松 良祐	九大・生医研	大学院生→CREST 研究員→特任助手	ユビキチンリガーゼのノックアウトマウス作製	平成14年11月～ 平成18年3月
今木 裕幸	九大・生医研	大学院生	ユビキチンリガーゼの生化学的解析	平成14年11月～ 平成15年3月
中道 郁夫	九大・生医研	大学院生	ユビキチンリガーゼの生化学的解析	平成14年11月～ 平成15年3月
原 太一	九大・生医研	大学院生	ユビキチンリガーゼの生化学的解析	平成14年11月～ 平成16年3月
金子 千恵	九大・生医研	大学院生→CREST 研究員	ユビキチンリガーゼのノックアウトマウス作製	平成14年11月～ 平成16年8月
西山 正章	九大・生医研	大学院生→CREST 研究員→助手→学術研究員→CREST 研究員	ユビキチンリガーゼのノックアウトマウス作製	平成14年11月～
神武 洋二郎	九大・生医研	大学院生	ユビキチンリガーゼのノックアウトマウス作製	平成14年11月～ 平成17年3月
奥村 文彦	九大・生医研	大学院生	神経分化因子の単離と解析	平成14年11月～ 平成17年3月
高橋 秀尚	九大・生医研	大学院生→CREST 研究員	ユビキチンリガーゼの生化学的解析	平成14年11月～ 平成18年3月

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
栄 信孝	九大・生医研	大学院生→医員	ユビキチンリガーゼのノックアウトマウス作製	平成14年11月～
藤井 洋	九大・生医研	大学院生	ユビキチンリガーゼの生化学的解析	平成14年11月～ 平成18年3月
小野山 一郎	九大・生医研	大学院生→CRES 研究員	ユビキチンリガーゼのノックアウトマウス作製	平成14年11月～
洲崎 悦生	九大・生医研	大学院生→九大学術研究員→COE 学術研究員	ユビキチンリガーゼのノックアウトマウス作製	平成14年11月～
事柴 周平	九大・生医研	大学院生	ユビキチンリガーゼの生化学的解析	平成14年11月～ 平成18年3月
雑賀 徹	九大・生医研	大学院生→CRES 研究員	ユビキチンリガーゼのノックアウトマウス作製	平成15年4月～
中川 直	九大・生医研	大学院生	ユビキチンリガーゼの生化学的解析	平成16年4月～
北川 哲平	九大・生医研	大学院生	ユビキチンリガーゼの生化学的解析	平成17年4月～ 平成18年3月
逸見 百江	九大・生医研	大学院生	ユビキチンリガーゼの生化学的解析	平成17年4月～ 平成17年10月
田中 佳苗	九大・生医研	大学院生	ユビキチンリガーゼの生化学的解析	平成18年4月～
松崎 芙美子	九大・生医研	CREST 研究補助員 →大学院生	ユビキチンリガーゼのノックアウトマウス作製	平成18年4月～
武石 昭一郎	九大・生医研	大学院生	ユビキチンリガーゼの生化学的解析	平成19年4月～
於 昊龍	九大・生医研	大学院生	ユビキチンリガーゼの生化学的解析	平成19年4月～
松本 有樹修	九大・生医研	大学院生	ユビキチンリガーゼのノックアウトマウス作製	平成17年4月～
佐伯 友子	九大・生医研	大学院生	ユビキチンリガーゼの生化学的解析	平成17年4月～ 平成19年3月
小坂 康士	九大・生医研	大学院生	ユビキチンリガーゼのノックアウトマウス作製	平成18年4月～
杉本 直樹	九大・生医研	大学院生	ユビキチンリガーゼの生化学的解析	平成18年6月～
片山 雄太	九大・生医研	大学院生	ユビキチンリガーゼのノックアウトマウス作製	平成19年5月～
細田 將太郎	九大・生医研	大学院生	神経分化因子の単離と解析	平成19年5月～
山田 政典	九大・生医研	大学院生	ユビキチンリガーゼのノックアウトマウス作製	平成19年5月～
佐藤 学道	九大・生医研	研究生	ユビキチンリガーゼの生化学的解析	平成16年4月～ 平成18年3月
小山田 浩二	九大・生医研	CREST 技術員	コンピュータープログラム作成	平成14年11月～
松下 純恵	九大・生医研	CREST 研究補助員	研究補助	平成14年11月～ 平成15年4月

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
安河内 亮子	九大・生医研	CREST 研究補助員	研究補助	平成 14 年 1 月～ 平成 17 年 5 月
下原田加代子	九大・生医研	CREST 研究補助員	研究補助	平成 14 年 11 月～ 平成 15 年 8 月
木村 美保子	九大・生医研	CREST 研究補助員	研究補助	平成 14 年 11 月～
光安 理恵	九大・生医研	CREST 研究補助員	研究補助	平成 15 年 4 月～ 平成 18 年 3 月
倉光 美恵	九大・生医研	CREST 研究補助員	研究補助	平成 15 年 4 月～ 平成 18 年 3 月
篠原 郁子	九大・生医研	CREST 研究補助員	研究補助	平成 15 年 4 月～ 平成 17 年 8 月
小田 瑞穂	九大・生医研	CREST 研究補助員	研究補助	平成 15 年 4 月～
東 芳	九大・生医研	CREST 研究補助員	研究補助	平成 17 年 4 月～ 平成 18 年 3 月
吉村 祐子	九大・生医研	CREST 研究補助員	研究補助	平成 17 年 6 月～
西村 直子	九大・生医研	CREST 研究補助員	研究補助	平成 14 年 11 月～
佐藤 みどり	九大・生医研	CREST 研究補助員	研究補助	平成 18 年 4 月～ 平成 19 年 5 月
佐藤 みどり	九大・生医研	九大テクニカルスタッフ	研究補助	平成 19 年 9 月～
北島 奈緒子	九大・生医研	九大テクニカルスタッフ	研究補助	平成 19 年 4 月～
金林 明奈	九大・生医研	九大テクニカルスタッフ	研究補助	平成 19 年 4 月～
濱崎 亜佳里	九大・生医研	九大テクニカルスタッフ	研究補助	平成 19 年 4 月～
セトマハト 容子	九大・生医研	CREST 研究補助員	研究補助	平成 17 年 3 月～ 平成 18 年 3 月
瀬戸 容子	九大・生医研	CREST 研究補助員	研究補助	平成 17 年 3 月～ 平成 18 年 3 月
吉田 英子	九大・生医研	CREST 研究補助員	研究補助	平成 17 年 3 月～ 平成 18 年 3 月
杉田 知栄子	九大・生医研	CRES チーム事務員	事務担当	平成 14 年 11 月～ 平成 15 年 12 月
太田 茜	九大・生医研	CRES チーム事務員	事務担当	平成 15 年 11 月～

②発生工学研究グループ（マウス発生における細胞周期制御の研究）

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
中山 啓子	東北大・院医	教授	マウス発生におけるユビキチンリガーゼの作製	平成 15 年 4 月～
三宅 智	東北大・院医	講師	ユビキチンリガーゼの生化学的解析	平成 15 年 7 月～ 平成 17 年 3 月
石田 典子	東北大・院医	助手→助教	ユビキチンリガーゼの生化学的解析	平成 15 年 7 月～
荒木 啓吾	東北大・院医	21COE 研究員	ユビキチンリガーゼの生化学的解析	平成 16 年 1 月～ 平成 16 年 8 月
原 賢太郎	東北大・院医	CREST 研究員	マウス発生におけるユビキチンリガーゼの作製	平成 17 年 4 月～
石川 善則	東北大・院医	大学院生	マウス発生におけるユビキチンリガーゼの生化学的解析	平成 17 年 4 月～
中谷 雅明	東北大・院医	助手	マウス発生におけるユビキチンリガーゼの生化学的解析	平成 17 年 10 月～ 平成 18 年 12 月
伊藤 亜佐子	東北大・院医	CREST 研究補助員	研究補助	平成 15 年 9 月～ 平成 16 年 8 月
伊藤 菜穂子	東北大・院医	CREST 研究補助員	研究補助	平成 16 年 9 月～ 平成 17 年 1 月
澤田 珠代	東北大・院医	CREST 研究補助員	データ整理	平成 16 年 4 月～ 平成 19 年 1 月
稲田 ゆき乃	東北大・院医	派遣職員	事務	平成 19 年 4 月～
小林 尚子	東北大・院医	CREST 研究補助員	研究補助	平成 17 年 8 月～ 平成 19 年 9 月
千賀 多美子	東北大・院医	CREST 研究補助員	研究補助	平成 19 年 9 月～

5 招聘した研究者等

氏名（所属、役職）	招聘の目的	滞在先	滞在期間
中谷 雅明（NCI/NIH、客員博士研究員）	セミナー及び研究打ち合わせ	東北大学 九州大学 横浜市立大学	平成 17 年 4 月 5 日～ 平成 17 年 4 月 27 日
中山 恒（ラホヤバーナム研究所、客員研究員）	セミナー及び研究打ち合わせ	九州大学	平成 17 年 11 月 27 日～ 平成 17 年 12 月 3 日
妹尾 誠（ハーバード大学、博士研究員）	セミナー及び研究打ち合わせ	九州大学 東北大学	平成 19 年 7 月 21 日～ 平成 19 年 7 月 31 日

6 成果発表等

(1) 原著論文発表 (国内誌 0 件、国際誌 112 件)

1. Shirane, M., Nakayama, K.I.: Inherent calcineurin inhibitor FKBP38 targets Bcl-2 to mitochondria and inhibits apoptosis. *Nature Cell Biol.*, 5: 28-37 (2003).
2. Seto, Y., Nakajima, H., Suto, A., Shimoda, K., Saito, Y., Nakayama, K.I., Iwamoto, I.: Enhanced Th2 cell-mediated allergic inflammation in Tyk2-deficient mice. *J. Immunol.*, 170: 1077-1083 (2003).
3. Kaneko, C., Hatakeyama, S., Matsumoto, M., Yada, M., Nakayama, K., Nakayama, K.I.: Characterization of the mouse gene for the U-box-type ubiquitin ligase UFD2a. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 300: 297-304 (2003).
4. Kitamura, K., Mizuno, K., Etoh, A., Akita, Y., Miyamoto, A., Nakayama, K.I., Ohno, S.: The second phase activation of protein kinase C delta at late G1 is required for DNA synthesis in serum-induced cell cycle progression. *Genes Cells*, 8: 311-324 (2003).
5. Oshikawa, K., Matsumoto, M., Yada, M., Kamura, T., Hatakeyama, S., Nakayama, K.I.: Preferential interaction of TIP120A with Cull1 that is not modified by NEDD8 and not associated with Skp1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 303: 1209-1216 (2003).
6. Zhang, Y.W., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Morita, I.: A novel route for connexin 43 to inhibit cell proliferation: negative regulation of S-phase kinase-associated protein (Skp 2). *Cancer Res.*, 63: 1623-1630 (2003).
7. von der Lehr, N., Johansson, S., Wu, S., Bahram, F., Castell, A., Cetinkaya, C., Hydrbring, P., Weidung, I., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Soderberg, O., Kerppola, T.K., Larsson, L.G.: The F-Box protein Skp2 participates in c-Myc proteosomal degradation and acts as a cofactor for c-Myc-regulated transcription. *Mol. Cell*, 11: 1189-1200 (2003).
8. Bornstein, G., Bloom, J., Sitry-Shevah, D., Nakayama, K., Pagano, M., Hershko, A.: Role of the SCF^{Skp2} ubiquitin ligase in the degradation of p21^{Cip1} in S phase. *J. Biol. Chem.*, 278: 25752-25757 (2003).
9. Watahiki, J., Yamaguchi, T., Irie, T., Takahashi, K., Nakano, H., Yagasaki, Y., Nakayama, K.I., Nakayama, K., Maki, K., Tachikawa, T.: The role of p57^{Kip2} on mandibular growth in mice: By means of laser microdissection for hard tissues. *Orthod. Waves*, 62: 201-206 (2003).
10. Nakayama, K., Hatakeyama, S., Maruyama, S., Kikuchi, A., Onoe, K., Good, R.A., Nakayama, K.I.: Impaired degradation of inhibitory subunit of NF- κ B (I κ B) and β -catenin as a result of targeted disruption

- of the β -TrCP1 gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 100: 8752–8757 (2003).
11. Imaki, H., Nakayama, K., Delehouzee, S., Handa, H., Kitagawa, M., Kamura, T., Nakayama, K.I.: Cell cycle-dependent regulation of the Skp2 promoter by GA-binding protein. *Cancer Res.*, 63: 4607–4613 (2003).
 12. Kamura, T., Hara, T., Kotoshiba, S., Yada, M., Ishida, N., Imaki, H., Hatakeyama, S., Nakayama, K., Nakayama, K.I.: Degradation of p57^{Kip2} mediated by SCF^{Skp2}-dependent ubiquitylation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 100: 10231–10236 (2003).
 13. Foster, J.S., Fernando, R.I., Ishida, N., Nakayama, K.I., Wimalasena, J.: Estrogens down-regulate p27^{Kip1} in breast cancer cells through Skp2 and through nuclear export mediated by the ERK pathway. *J. Biol. Chem.*, 278: 41355–41366 (2003).
 14. Chang, T.S., Kim, M.J., Ryoo, K., Park, J., Eom, S.J., Shim, J., Nakayama, K.I., Nakayama, K., Tomita, M., Takahashi, K., Lee, M.J., Choi, E.J.: p57^{KIP2} modulates stress-activated signaling by inhibiting c-Jun NH2-terminal kinase/stress-activated protein Kinase. *J. Biol. Chem.*, 278: 48092–48098 (2003).
 15. Kato, K., Kamezaki, K., Shimoda, K., Numata, A., Haro, T., Aoki, K., Ishikawa, F., Takase, K., Ariyama, H., Matsuda, T., Miyamoto, T., Nagafuji, K., Gondo, H., Nakayama, K.I., Harada, M.: Intracellular signal transduction of interferon on the suppression of haematopoietic progenitor cell growth. *Br. J. Haematol.*, 123: 528–535 (2003).
 16. Aoki, K., Shimoda, K., Oritani, K., Matsuda, T., Kamezaki, K., Muromoto, R., Numata, A., Tamiya, S., Haro, T., Ishikawa, F., Takase, K., Yamamoto, T., Yumioka, T., Miyamoto, T., Nagafuji, K., Gondo, H., Nagafuchi, S., Nakayama, K.I., Harada, M.: Limitin, an interferon-like cytokine, transduces inhibitory signals on B-cell growth through activation of Tyk2, but not Stat1, followed by induction and nuclear translocation of Daxx. *Exp. Hematol.*, 31: 1317–1322 (2003).
 17. Tsukuba, T., Okamoto, K., Okamoto, Y., Yanagawa, M., Kohmura, K., Yasuda, Y., Uchi, H., Nakahara, T., Furue, M., Nakayama, K., Kadowaki, T., Yamamoto, K., Nakayama, K.I.: Association of cathepsin e deficiency with development of atopic dermatitis. *J. Biochem.*, 134: 893–902 (2003).
 18. Uchida, D., Hatakeyama, S., Matsushima, A., Han, H., Ishido, S., Hotta, H., Kudoh, J., Shimizu, N., Doucas, V., Nakayama, K.I., Kuroda, N., Matsumoto, M.: AIRE functions as an E3 ubiquitin ligase. *J. Exp. Med.*, 199: 167–172 (2004).
 19. Matsumoto, M., Yada, M., Hatakeyama, S., Ishimoto, H., Tanimura, T., Tsuji, S., Kakizuka, A., Kitagawa,

- M., Nakayama, K.I.: Molecular clearance of ataxin-3 is regulated by a mammalian E4. *EMBO J.*, 23: 659-669 (2004).
20. Ohtsuka, T., Ryu, H., Minamishima, Y.A., Macip, S., Sagara, J., Nakayama, K.I., Aaronson, S.A., Lee, S.W.: ASC is a Bax adaptor and regulates the p53-Bax mitochondrial apoptosis pathway. *Nature Cell Biol.*, 6: 121-128 (2004).
21. Tsunematsu, R., Nakayama, K., Oike, Y., Nishiyama, M., Ishida, N., Hatakeyama, S., Bessho, Y., Kageyama, R., Suda, T., Nakayama, K.I.: Mouse Fbw7/Sel-10/Cdc4 is required for Notch degradation during vascular development. *J. Biol. Chem.*, 279: 9417-9423 (2004).
22. Nakayama, K., Nagahama, H., Minamishima, Y.A., Miyake, S., Ishida, N., Hatakeyama, S., Kitagawa, M., Iemura, S., Natsume, T., Nakayama, K.I.: Skp2-mediated degradation of p27 regulates progression into mitosis. *Dev. Cell*, 6: 661-672 (2004).
23. Oh, K.J., Kalinina, A., Wang, J., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Bagchi, S.: The papillomavirus E7 oncoprotein is ubiquitinated by UbcH7 and Cullin 1- and Skp2-containing E3 ligase. *J. Virol.*, 78: 5338-5346 (2004).
24. Yada, M., Hatakeyama, S., Kamura, T., Nishiyama, M., Tsunematsu, R., Imaki, H., Ishida, N., Okumura, F., Nakayama, K., Nakayama, K.I.: Phosphorylation-dependent degradation of c-Myc is mediated by the F-box protein Fbw7. *EMBO J.*, 23: 2116-2125 (2004).
25. Yoshida, K., Kase, S., Nakayama, K., Nagahama, H., Harada, T., Ikeda, H., Harada, C., Imaki, J., Ohgami, K., Shiratori, K., Ohno, S., Nakayama, K.I.: Distribution of p27^{KIP1}, cyclin D1, and proliferating cell nuclear antigen after retinal detachment. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 242: 437-441 (2004).
26. Yoshida, K., Nakayama, K., Kase, S., Nagahama, H., Harada, T., Ikeda, H., Harada, C., Imaki, J., Ohgami, K., Shiratori, K., Ohno, S., Nishi, S., Nakayama, K.I.: Involvement of p27^{KIP1} in proliferation of the retinal pigment epithelium and ciliary body. *Anat. Embryol.*, 208: 145-150 (2004).
27. Hatakeyama, S., Matsumoto, M., Yada, M., Nakayama, K.I.: Interaction of U-box-type ubiquitin-protein ligases (E3s) with molecular chaperones. *Genes Cells*, 9: 533-548 (2004).
28. Urushitani, M., Kurisu, J., Tateno, M., Hatakeyama, S., Nakayama, K.I., Kato, S., Takahashi, R.: CHIP promotes proteasomal degradation of familial ALS-linked mutant SOD1 by ubiquitinating Hsp/Hsc70. *J. Neurochem.*, 90: 231-244 (2004).

29. Yoshida, K., Kase, S., Nakayama, K., Nagahama, H., Harada, T., Ikeda, H., Harada, C., Imaki, J., Ohgami, K., Shiratori, K., Ilieva, I.B., Ohno, S., Nishi, S., Nakayama, K.I.: Involvement of p27^{KIP1} in the proliferation of the developing corneal endothelium. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 45: 2163–2167 (2004).
30. Li, B., Wang, X., Rasheed, N., Hu, Y., Boast, S., Ishii, T., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Goff, S.P.: Distinct roles of c-Abl and Atm in oxidative stress response are mediated by protein kinase C δ . *Genes Dev.*, 18: 1824–1837 (2004).
31. Akiyoshi, H., Hatakeyama, S., Pitkanen, J., Mouri, Y., Doucas, V., Kudoh, J., Tsurugaya, K., Uchida, D., Matsushima, A., Oshikawa, K., Nakayama, K.I., Shimizu, N., Peterson, P., Matsumoto, M.: Subcellular expression of autoimmune regulator is organized in a spatiotemporal manner. *J. Biol. Chem.*, 279: 33984–33991 (2004).
32. Terunuma, M., Jang, I.S., Ha, S.H., Kittler, J.T., Kanematsu, T., Jovanovic, J.N., Nakayama, K.I., Akaike, N., Ryu, S.H., Moss, S.J., Hirata, M.: GABA_A receptor phospho-dependent modulation is regulated by phospholipase C-related inactive protein type 1, a novel protein phosphatase 1 anchoring protein. *J. Neurosci.*, 24: 7074–7084 (2004).
33. Kamezaki, K., Shimoda, K., Numata, A., Matsuda, T., Nakayama, K.I., Harada, M.: The role of Tyk2, Stat1 and Stat4 in LPS-induced endotoxin signals. *Int. Immunol.*, 16: 1173–1179 (2004).
34. Komatsu, T., Mizusaki, H., Mukai, T., Ogawa, H., Baba, D., Shirakawa, M., Hatakeyama, S., Nakayama, K.I., Yamamoto, H., Kikuchi, A., Morohashi, K.: Small ubiquitin-like modifier 1 (SUMO-1) modification of the synergy control motif of Ad4 binding protein/steroidogenic factor 1 (Ad4BP/SF-1) regulates synergistic transcription between Ad4BP/SF-1 and Sox9. *Mol. Endocrinol.*, 18: 2451–2462 (2004).
35. Nishiyama, M., Nakayama, K., Tsunematsu, R., Tsukiyama, T., Kikuchi, A., Nakayama, K.I.: Early embryonic death in mice lacking the β -catenin-binding protein Duplin. *Mol. Cell. Biol.*, 24: 8386–8394 (2004).
36. Hatakeyama, S., Matsumoto, M., Kamura, T., Murayama, M., Chui, D.H., Planel, E., Takahashi, R., Nakayama, K.I., Takashima, A.: U-box protein carboxyl terminus of Hsc70-interacting protein (CHIP) mediates poly-ubiquitylation preferentially on four-repeat Tau and is involved in neurodegeneration of tauopathy. *J. Neurochem.*, 91: 299–307 (2004).
37. Yamaguchi, T., Kubota, T., Kanematsu, T., Nakayama, K.I., Hirata, M., Yamamoto, T.: Hypersensitivity to pentylenetetrazol-induced convulsion in mice lacking the PLC-related inactive protein-1. *Brain Res.*, 1025: 237–240 (2004).

38. Tamamori-Adachi, M., Hayashida, K., Nobori, K., Omizu, C., Yamada, K., Sakamoto, N., Kamura, T., Fukuda, K., Ogawa, S., Nakayama, K.I., Kitajima, S.: Down-regulation of p27^{Kip1} promotes cell proliferation of rat neonatal cardiomyocytes induced by nuclear expression of cyclin D1 and CDK4. Evidence for impaired Skp2-dependent degradation of p27 in terminal differentiation. *J. Biol. Chem.*, 279: 50429–50436 (2004).
39. Tokarz, S., Berset, C., La Rue, J., Friedman, K., Nakayama, K.I., Nakayama, K., Zhang, D.E., Lanker, S.: The ISG15 isopeptidase UBP43 is regulated by proteolysis via the SCF^{Skp2} ubiquitin ligase. *J. Biol. Chem.*, 279: 46424–46430 (2004).
40. Kamura, T., Hara, T., Matsumoto, M., Ishida, N., Okumura, F., Hatakeyama, S., Yoshida, M., Nakayama, K., Nakayama, K.I.: Cytoplasmic ubiquitin ligase KPC regulates proteolysis of p27^{Kip1} at G1 phase. *Nature Cell Biol.*, 6: 1229–1235 (2004).
41. Kamura, T., Maenaka, K., Kotoshiba, S., Matsumoto, M., Kohda, D., Conaway, R.C., Conaway, J.W., Nakayama, K.I.: VHL-box and SOCS-box domains determine binding specificity for Cul2-Rbx1 and Cul5-Rbx2 modules of ubiquitin ligases. *Genes Dev.*, 18: 3055–3065 (2004).
42. Mao, J.H., Perez-Losada, J., Wu, D., Delrosario, R., Tsunematsu, R., Nakayama, K.I., Brown, K., Bryson, S., Balmain, A.: Fbxw7/Cdc4 is a p53-dependent, haploinsufficient tumour suppressor gene. *Nature*, 432: 775–779 (2004).
43. Blaschke, F., Leppanen, O., Takata, Y., Caglayan, E., Liu, J., Fishbein, M.C., Kappert, K., Nakayama, K.I., Collins, A.R., Fleck, E., Hsueh, W.A., Law, R.E., Bruemmer, D.: Liver X receptor agonists suppress vascular smooth muscle cell proliferation and inhibit neointima formation in balloon-injured rat carotid arteries. *Circ. Res.*, 95: e110–123 (2004).
44. Mirza, A.M., Gysin, S., Malek, N., Nakayama, K.I., Roberts, J.M., McMahon, M.: Cooperative regulation of the cell division cycle by the protein kinases RAF and AKT. *Mol. Cell. Biol.*, 24: 10868–10881 (2004).
45. Okumura, F., Hatakeyama, S., Matsumoto, M., Kamura, T., Nakayama, K.I.: Functional regulation of FEZ1 by the U-box-type ubiquitin ligase E4B contributes to neurogenesis. *J. Biol. Chem.*, 279: 53533–53543 (2004).
46. Mori, Y., Hirose, K., Suzuki, K., Nakajima, H., Seto, Y., Ikeda, K., Shimoda, K., Nakayama, K.I., Saito, Y., Iwamoto, I.: Tyk2 is essential for IFN- α -induced gene expression in mast cells. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 134 Suppl 1: 25–29 (2004).

47. Rodier, G., Makris, C., Coulombe, P., Scime, A., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Meloche, S.: p107 inhibits G1 to S phase progression by down-regulating expression of the F-box protein Skp2. *J. Cell Biol.*, 168: 55–66 (2005).
48. Kotake, Y., Nakayama, K., Ishida, N., Nakayama, K.I.: Role of serine 10 phosphorylation in p27 stabilization revealed by analysis of p27 knock-in mice harboring a serine 10 mutation. *J. Biol. Chem.*, 280: 1095–1102 (2005).
49. Harada, K., Takeuchi, H., Oike, M., Matsuda, M., Kanematsu, T., Yagisawa, H., Nakayama, K.I., Maeda, K., Erneux, C., Hirata, M.: Role of PRIP-1, a novel Ins(1,4,5)P₃ binding protein, in Ins(1,4,5)P₃-mediated Ca²⁺ signaling. *J. Cell. Physiol.*, 202: 422–433 (2005).
50. Uchida, T., Nakamura, T., Hashimoto, N., Matsuda, T., Kotani, K., Sakaue, H., Kido, Y., Hayashi, Y., Nakayama, K.I., White, M.F., Kasuga, M.: Deletion of *Cdkn1b* ameliorates hyperglycemia by maintaining compensatory hyperinsulinemia in diabetic mice. *Nature Med.*, 11: 175–182 (2005).
51. Takahashi, H., Hatakeyama, S., Saitoh, H., Nakayama, K.I.: Noncovalent SUMO-1 binding activity of thymine DNA glycosylase (TDG) is required for its SUMO-1 modification and colocalization with the promyelocytic leukemia protein. *J. Biol. Chem.*, 280: 5611–5621 (2005).
52. He, C.H., Waxman, A.B., Lee, C.G., Link, H., Rabach, M.E., Ma, B., Chen, Q., Zhu, Z., Zhong, M., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Homer, R., Elias, J.A.: Bcl-2-related protein A1 is an endogenous and cytokine-stimulated mediator of cytoprotection in hyperoxic acute lung injury. *J. Clin. Invest.*, 115: 1039–1048 (2005).
53. Jackson, D., Zheng, Y., Lyo, D., Shen, Y., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Humphries, M.J., Reyland, M.E., Foster, D.A.: Suppression of cell migration by protein kinase C δ . *Oncogene*, 24: 3067–3072 (2005).
54. Kotoshiba, S., Kamura, T., Hara, T., Ishida, N., Nakayama, K.I.: Molecular dissection of the interaction between p27 and Kip1 ubiquitylation-promoting complex, the ubiquitin ligase that regulates proteolysis of p27 in G1 phase. *J. Biol. Chem.*, 280: 17694–17700 (2005).
55. Kase, S., Yoshida, K., Ikeda, H., Harada, T., Harada, C., Imaki, J., Ohgami, K., Shiratori, K., Nakayama, K.I., Nakayama, K., Ohno, S.: Disappearance of p27^{KIP1} and increase in proliferation of the lens cells after extraction of most of the fiber cells of the lens. *Curr. Eye Res.*, 30: 437–442 (2005).
56. Jiang, H., Chang, F.C., Ross, A.E., Lee, J., Nakayama, K.I., Nakayama, K., Desiderio, S.: Ubiquitylation of RAG-2 by Skp2-SCF links destruction of the V(D)J recombinase to the cell cycle. *Mol. Cell*, 18:

699–709 (2005).

57. Pushkarsky, T., Yurchenko, V., Vanpouille, C., Brichacek, B., Vaisman, I., Hatakeyama, S., Nakayama, K.I., Sherry, B., Bukrinsky, M.I.: Cell surface expression of CD147/EMMPRIN is regulated by cyclophilin 60. *J. Biol. Chem.*, 280: 27866–27871 (2005).
58. Wang, H.Q., Nakaya, Y., Du, Z., Yamane, T., Shirane, M., Kudo, T., Takeda, M., Takebayashi, K., Noda, Y., Nakayama, K.I., Nishimura, M.: Interaction of presenilins with FKBP38 promotes apoptosis by reducing mitochondrial Bcl-2. *Hum. Mol. Genet.*, 14: 1889–1902 (2005).
59. Kase, S., Yoshida, K., Nakayama, K.I., Nakayama, K., Ikeda, H., Harada, T., Harada, C., Ohgami, K., Shiratori, K., Ohno, S.: Phosphorylation of p27^{KIP1} in the developing retina and retinoblastoma. *Int. J. Mol. Med.*, 16: 257–262 (2005).
60. Chen, Z., Foster, M.W., Zhang, J., Mao, L., Rockman, H.A., Kawamoto, T., Kitagawa, K., Nakayama, K.I., Hess, D.T., Stamler, J.S.: An essential role for mitochondrial aldehyde dehydrogenase in nitroglycerin bioactivation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 102: 12159–12164 (2005).
61. Hatakeyama, S., Watanabe, M., Fujii, Y., Nakayama, K.I.: Targeted destruction of c-Myc by an engineered ubiquitin ligase suppresses cell transformation and tumor formation. *Cancer Res.*, 65: 7874–7879 (2005).
62. Hino, S., Tanji, C., Nakayama, K.I., Kikuchi, A.: Phosphorylation of β -catenin by cyclic AMP-dependent protein kinase stabilizes β -catenin through inhibition of its ubiquitination. *Mol. Cell. Biol.*, 25: 9063–9072 (2005).
63. Hara, T., Kamura, T., Kotoshiba, S., Takahashi, H., Fujiwara, K., Onoyama, I., Shirakawa, M., Mizushima, N., Nakayama, K.I.: Role of the UBL-UBA protein KPC2 in degradation of p27 at G1 phase of the cell cycle. *Mol. Cell. Biol.*, 25: 9292–9303 (2005).
64. Matsumoto, M., Hatakeyama, S., Oyamada, K., Oda, Y., Nishimura, T., Nakayama, K.I.: Large-scale analysis of the human ubiquitin-related proteome. *Proteomics*, 5: 4145–4151 (2005).
65. Kaneko-Oshikawa, C., Nakagawa, T., Yamada, M., Yoshikawa, H., Matsumoto, M., Yada, M., Hatakeyama, S., Nakayama, K., Nakayama, K.I.: Mammalian E4 is required for cardiac development and maintenance of the nervous system. *Mol. Cell. Biol.*, 25: 10953–10964 (2005).
66. Yogosawa, S., Hatakeyama, S., Nakayama, K.I., Miyoshi, H., Kohsaka, S., Akazawa, C.: Ubiquitylation

- and degradation of serum-inducible kinase by hVPS18, a RING-H2 type ubiquitin ligase. *J. Biol. Chem.*, 280: 41619–41627 (2005).
67. Nishitani, H., Sugimoto, N., Roukos, V., Nakanishi, Y., Saijo, M., Obuse, C., Tsurimoto, T., Nakayama, K.I., Nakayama, K., Fujita, M., Lygerou, Z., Nishimoto, T.: Two E3 ubiquitin ligases, SCF-Skp2 and DDB1-Cul4, target human Cdt1 for proteolysis. *EMBO J.*, 25: 1126–1136 (2006).
68. Kase, S., Yoshida, K., Ohgami, K., Shiratori, K., Suzuki, Y., Nakayama, K.I., Ohno, S.: Expression of cdc2 and p27^{KIP1} phosphorylation in mitotic cells of the human retinoblastoma. *Int. J. Mol. Med.*, 17: 465–468 (2006).
69. Iwanaga, R., Komori, H., Ishida, S., Okamura, N., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Ohtani, K.: Identification of novel E2F1 target genes regulated in cell cycle-dependent and independent manners. *Oncogene*, 25: 1786–1798 (2006).
70. Kase, S., Yoshida, K., Harada, T., Harada, C., Namekata, K., Suzuki, Y., Ohgami, K., Shiratori, K., Nakayama, K.I., Ohno, S.: Phosphorylation of extracellular signal-regulated kinase and p27^{KIP1} after retinal detachment. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 244: 352–358 (2006).
71. Sugihara, E., Kanai, M., Saito, S., Nitta, T., Toyoshima, H., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Fukasawa, K., Schwab, M., Saya, H., Miwa, M.: Suppression of centrosome amplification after DNA damage depends on p27 accumulation. *Cancer Res.*, 66: 4020–4029 (2006).
72. Ryer, E.J., Hom, R.P., Sakakibara, K., Nakayama, K.I., Nakayama, K., Faries, P.L., Liu, B., Kent, K.C.: PKC δ is necessary for Smad3 expression and transforming growth factor β -induced fibronectin synthesis in vascular smooth muscle cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 26: 780–786 (2006).
73. Humphries, M.J., Limesand, K.H., Schneider, J.C., Nakayama, K.I., Anderson, S.M., Reyland, M.E.: Suppression of apoptosis in the protein kinase C δ null mouse in vivo. *J. Biol. Chem.*, 281: 9728–9737 (2006).
74. Kase, S., Yoshida, K., Ohgami, K., Shiratori, K., Ohno, S., Nakayama, K.I.: Phosphorylation of p27^{KIP1} in the mitotic cells of the corneal epithelium. *Curr. Eye Res.*, 31: 307–312 (2006).
75. Fotovati, A., Nakayama, K., Nakayama, K.I.: Impaired germ cell development due to compromised cell cycle progression in Skp2-deficient mice. *Cell Div.*, 1: 4 (2006).
76. Yoshida, K., Yamaguchi, T., Shinagawa, H., Taira, N., Nakayama, K.I., Miki, Y.: Protein kinase C δ

- activates topoisomerase II α to induce apoptotic cell death in response to DNA damage. *Mol. Cell. Biol.*, 26: 3414–3431 (2006).
77. Niki, S., Oshikawa, K., Mouri, Y., Hirota, F., Matsushima, A., Yano, M., Han, H., Bando, Y., Izumi, K., Matsumoto, M., Nakayama, K.I., Kuroda, N., Matsumoto, M.: Alteration of intra-pancreatic target-organ specificity by abrogation of Aire in NOD mice. *J. Clin. Invest.*, 116: 1292–1301 (2006).
78. Shukla, A., Barrett, T.F., Nakayama, K.I., Nakayama, K., Mossman, B.T., Lounsbury, K.M.: Transcriptional up-regulation of MMP12 and MMP13 by asbestos occurs via a PKCdelta-dependent pathway in murine lung. *FASEB J.*, 20: 997–999 (2006).
79. Nojima, T., Hayashi, K., Goitsuka, R., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Kitamura, D.: Double knockout mice show BASH and PKC δ have different epistatic relationships in B cell maturation and CD40-mediated activation. *Immunol. Lett.*, 105: 48–54 (2006).
80. Parcellier, A., Brunet, M., Schmitt, E., Col, E., Didelot, C., Hammann, A., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Khochbin, S., Solary, E., Garrido, C.: HSP27 favors ubiquitination and proteasomal degradation of p27^{Kip1} and helps S-phase re-entry in stressed cells. *FASEB J.*, 20: 1179–1181 (2006).
81. Tsukuba, T., Yamamoto, S., Yanagawa, M., Okamoto, K., Okamoto, Y., Nakayama, K.I., Kadowaki, T., Yamamoto, K.: Cathepsin E-deficient mice show increased susceptibility to bacterial infection associated with the decreased expression of multiple cell surface Toll-like receptors. *J. Biochem.*, 140: 57–66 (2006).
82. Tsunematsu, R., Nishiyama, M., Kotoshiba, S., Saiga, T., Kamura, T., Nakayama, K.I.: Fbxw8 is essential for Cul1-Cul7 complex formation and for placental development. *Mol. Cell. Biol.*, 26: 6157–6169 (2006).
83. Fujii, Y., Yada, M., Nishiyama, M., Kamura, T., Takahashi, H., Tsunematsu, R., Susaki, E., Nakagawa, T., Matsumoto, A., Nakayama, K.I.: Fbxw7 contributes to tumor suppression by targeting multiple proteins for ubiquitin-dependent degradation. *Cancer Sci.*, 97: 729–736 (2006).
84. Kanematsu, T., Yasunaga, A., Mizoguchi, Y., Kuratani, A., Kittler, J.T., Jovanovic, J.N., Takenaka, K., Nakayama, K.I., Fukami, K., Takenawa, T., Moss, S.J., Nabekura, J., Hirata, M.: Modulation of GABA_A receptor phosphorylation and membrane trafficking by phospholipase C-related inactive protein/protein phosphatase 1 and 2A signaling complex underlying brain-derived neurotrophic factor-dependent regulation of GABAergic inhibition. *J. Biol. Chem.*, 281: 22180–22189 (2006).
85. Hiramatsu, Y., Kitagawa, K., Suzuki, T., Uchida, C., Hattori, T., Kikuchi, H., Oda, T., Hatakeyama, S., Nakayama, K.I., Yamamoto, T., Konno, H., Kitagawa, M.: Degradation of Tob1 mediated by

- SCF^{Skp2}-dependent ubiquitination. *Cancer Res.*, 66: 8477–8483 (2006).
86. Matsumoto, A., Onoyama, I., Nakayama, K.I.: Expression of mouse Fbxw7 isoforms is regulated in a cell cycle- or p53-dependent manner. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 350: 114–119 (2006).
87. Shirane, M., Nakayama, K.I.: Protrudin induces neurite formation by directional membrane trafficking. *Science*, 314: 818–821 (2006).
88. Hara, K., Nakayama, K.I., Nakayama, K.: Geminin is essential for the development of preimplantation mouse embryos. *Genes Cells*, 11: 1281–1293 (2006).
89. Takahashi, A., Ohtani, N., Yamakoshi, K., Iida, S., Tahara, H., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Ide, T., Saya, H., Hara, E.: Mitogenic signalling and the p16^{INK4a}-Rb pathway cooperate to enforce irreversible cellular senescence. *Nature Cell Biol.*, 8: 1291–1297 (2006).
90. Shimazu, T., Komatsu, Y., Nakayama, K.I., Fukazawa, H., Horinouchi, S., Yoshida, M.: Regulation of SV40 large T-antigen stability by reversible acetylation. *Oncogene*, 25: 7391–7400 (2006).
91. Gao, Y., Kitagawa, K., Hiramatsu, Y., Kikuchi, H., Isobe, T., Shimada, M., Uchida, C., Hattori, T., Oda, T., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Tanaka, T., Konno, H., Kitagawa, M.: Up-regulation of GPR48 induced by down-regulation of p27^{Kip1} enhances carcinoma cell invasiveness and metastasis. *Cancer Res.*, 66: 11623–11631 (2006).
92. Pula, G., Schuh, K., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Walter, U., Poole, A.W.: PKC δ regulates collagen-induced platelet aggregation through inhibition of VASP-mediated filopodia formation. *Blood*, 108: 4035–4044 (2006).
93. Shukla, A., Lounsbury, K.M., Barrett, T.F., Gell, J., Rincon, M., Butnor, K.J., Taatjes, D.J., Davis, G.S., Vacek, P., Nakayama, K.I., Nakayama, K., Steele, C., Mossman, B.T.: Asbestos-induced peribronchiolar cell proliferation and cytokine production are attenuated in lungs of protein kinase C- δ knockout mice. *Am. J. Pathol.*, 170: 140–151 (2007).
94. Tu, X., Joeng, K.S., Nakayama, K.I., Nakayama, K., Rajagopal, J., Carroll, T.J., McMahon, A.P., Long, F.: Noncanonical Wnt signaling through G protein-linked PKC δ activation promotes bone formation. *Dev. Cell*, 12: 113–127 (2007).
95. Yanagawa, M., Tsukuba, T., Nishioku, T., Okamoto, Y., Okamoto, K., Takii, R., Terada, Y., Nakayama, K.I., Kadowaki, T., Yamamoto, K.: Cathepsin E deficiency induces a novel form of lysosomal storage

- disorder showing the accumulation of lysosomal membrane sialoglycoproteins and the elevation of lysosomal pH in macrophages. *J. Biol. Chem.*, 282: 1851-1862 (2007).
96. Itoh, Y., Masuyama, N., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Gotoh, Y.: The cyclin-dependent kinase inhibitors p57 and p27 regulate neuronal migration in the developing mouse neocortex. *J. Biol. Chem.*, 282: 390-396 (2007).
97. Sakai, T., Sakaue, H., Nakamura, T., Okada, M., Matsuki, Y., Watanabe, E., Hiramatsu, R., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Kasuga, M.: Skp2 controls adipocyte proliferation during the development of obesity. *J. Biol. Chem.*, 282: 2038-2046 (2007).
98. Uchida, T., Iwashita, N., Ohara-Imaizumi, M., Ogihara, T., Nagai, S., Choi, J.B., Tamura, Y., Tada, N., Kawamori, R., Nakayama, K.I., Nagamatsu, S., Watada, H.: Protein kinase C δ plays a non-redundant role in insulin secretion in pancreatic β cells. *J. Biol. Chem.*, 282: 2707-2716 (2007).
99. Mizokami, A., Kanematsu, T., Ishibashi, H., Yamaguchi, T., Tanida, I., Takenaka, K., Nakayama, K.I., Fukami, K., Takenawa, T., Kominami, E., Moss, S.J., Yamamoto, T., Nabekura, J., Hirata, M.: Phospholipase C-related inactive protein is involved in trafficking of γ 2 subunit-containing GABA $_A$ receptors to the cell surface. *J. Neurosci.*, 27: 1692-1701 (2007).
100. Matsuda, T., Matsumoto, A., Uchida, M., Kanaly, R., Misaki, K., Shibutani, S., Kawamoto, T., Kitagawa, K., Nakayama, K.I., Tomokuni, K., Ichiba, M.: Increased formation of hepatic N²-ethylidene-2'-deoxyguanosine DNA adducts in aldehyde dehydrogenase 2 knockout mice treated with ethanol. *Carcinogenesis*, 28: 2363-6, (2007).
101. Liu, Z., Liu, X., Nakayama, K.I., Nakayama, K., Ye, K.: Protein kinase C-delta phosphorylates Ebp1 and prevents its proteolytic degradation, enhancing cell survival. *J. Neurochem.*, 100: 1278-1288 (2007).
102. Moller, C., Karlberg, M., Abrink, M., Nakayama, K.I., Motoyama, N., Nilsson, G.: Bcl-2 and Bcl-X_L are indispensable for the late phase of mast cell development from mouse embryonic stem cells. *Exp. Hematol.*, 35: 385-393 (2007).
103. Li, W., Yamada, H., Yajima, T., Nakagawa, R., Shimoda, K., Nakayama, K.I., Yoshikai, Y.: Tyk2 signaling in host environment plays an important role in contraction of antigen-specific CD8⁺ T cells following a microbial infection. *J. Immunol.*, 178: 4482-4488 (2007).
104. Nakagawa, T., Shirane, M., Iemura, S.I., Natsume, T., Nakayama, K.I.: Anchoring of the 26S proteasome to the organellar membrane by FKBP38. *Genes Cells*, 12: 709-719 (2007).

105. Cooke, P.S., Holsberger, D.R., Cimafranca, M.A., Meling, D.D., Beals, C.M., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Kiyokawa, H.: The F Box protein S phase kinase-associated protein 2 regulates adipose mass and adipocyte number in vivo. *Obesity*, 15: 1400–1408 (2007).
106. Miyamoto, K., Araki, K.Y., Naka, K., Arai, F., Takubo, K., Yamazaki, S., Matsuoka, S., Miyamoto, T., Ito, K., Ohmura, M., Chen, C., Hosokawa, K., Nakauchi, H., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Harada, M., Motoyama, N., Suda, T., Hirao, A.: Foxo3a is essential for maintenance of the hematopoietic stem cell pool. *Cell Stem Cell*, 1: 101–112 (2007).
107. Susaki, E., Nakayama, K., Nakayama, K.I.: Cyclin D2 translocates p27 out of the nucleus and promotes its degradation at the G0–G1 transition. *Mol. Cell. Biol.*, 27: 4626–4640 (2007).
108. Suzuki, S., Fukasawa, H., Kitagawa, K., Uchida, C., Hattori, T., Isobe, T., Oda, T., Misaki, T., Ohashi, N., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Hishida, A., Yamamoto, T., Kitagawa, M.: Renal damage in obstructive nephropathy is decreased in Skp2-deficient mice. *Am. J. Pathol.*, 171: 473–483 (2007).
109. Ehre, C., Zhu, Y., Abdullah, L.H., Olsen, J.C., Nakayama, K.I., Nakayama, K., Messing, R.O., Davis, C.W.: nPKC ϵ , a P2Y2-R downstream effector in regulated mucin secretion from airway goblet cells. *Am. J. Physiol.-Cell Physiol.*, 293: 1445–1454 (2007).
110. Wakeyama, H., Akiyama, T., Takahashi, K., Amano, H., Kadono, Y., Nakamura, M., Oshima, Y., Itabe, H., Nakayama, K.I., Nakayama, K., Nakamura, K., Tanaka, S.: Negative feedback loop in the bim-caspase-3 axis regulating apoptosis and activity of osteoclasts. *J. Bone. Miner. Res.*, 22: 1631–1639 (2007).
111. Zhong, L., Georgia, S., Tschen, S.I., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Bhushan, A.: Essential role of Skp2-mediated p27 degradation in growth and adaptive expansion of pancreatic β cells. *J. Clin. Invest.*, 117: 2869–2876 (2007).
112. Onoyama, I., Tsunematsu, R., Matsumoto, A., Kimura, T., de Alboran, I.M., Nakayama, K., Nakayama, K.I.: Conditional inactivation of Fbxw7 impairs cell cycle exit during T cell differentiation and results in lymphomatogenesis. *J. Exp. Med.*, 204: 2875–2888 (2007).

(2) その他の著作物（総説、書籍など）

1. Hatakeyama, S., Nakayama, K.I.: U-box proteins as a new family of ubiquitin ligases. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 302: 635–645 (2003).
2. Hatakeyama, S., Nakayama, K.I.: Ubiquitylation as a quality control system for intracellular proteins. *J.*

Biochem., 134: 1-8 (2003).

3. 宮本顕友, 中山啓子, 中山敬一: B細胞へのトレランス誘導とPKC- δ . *臨床免疫*, 39: 236-240 (2003).
4. 中山敬一, 中山啓子: 細胞周期を制御する二大ユビキチンリガーゼ: APC/CとSCF複合体. *実験医学* 「次々と解明されるユビキチンの多彩な役割」, 21: 358-364 (2003).
5. 高橋秀尚, 中山敬一: ユビキチンシステムによる細胞内タンパク質分解制御 - 炎症免疫に関与する機構 -. *感染・炎症・免疫*, 33: 12-22 (2003).
6. 白根道子, 中山敬一: イムノフィリンFKBP38によるBcl-2のミトコンドリア局在化とアポトーシス抑制. *医学のあゆみ*, 255: 274-275 (2003).
7. 白根道子, 中山敬一: Bcl-2をミトコンドリアに局在化させる分子. *実験医学*, 21: 494-496 (2003).
8. 白根道子, 中山敬一: カルシニューリン阻害分子FKBP38によるBcl-2のミトコンドリア局在化とアポトーシス抑制. *細胞工学*, 22: 308-309 (2003).
9. 嘉村巧: CDKインヒビターp27Kip1の分解制御機構. *実験医学(増刊)「細胞周期研究の新局面」*, 21: 573-579 (2003).
10. 神武洋二郎, 中山敬一: CDKインヒビターp27Kip1のタンパク質分解による制御機構. *遺伝子医学*, 7: 231-237 (2003).
11. 原太一, 中山敬一: 細胞周期制御におけるCDKインヒビターp27Kip1のタンパク質分解制御. *化学工業*, 54: 507-513 (2003).
12. 矢田雅佳, 中山敬一: がんユビキチン・プロテアソームシステム. *最新医学(増刊)「臨床遺伝子学'03」*, 58: 2155-2165 (2003).
13. 松本雅記, 中山敬一: 安定同位体代謝ラベル法によるディファレンシャル・プロテオミクス. *実験医学*, 21: 2239-2244 (2003).
14. 押川清孝, 中山敬一: PKC- δ 遺伝子欠損マウスと自己免疫疾患. *臨床免疫*, 40: 557-562 (2003).
15. 洲崎悦生, 中山敬一: 細胞周期の制御因子p27^{Kip1}と分解異常と癌. *Biotherapy*, 17: 546-555 (2003).
16. 松本雅記, 中山敬一: 発生工学プロテオミクス: ノックアウトマウスを利用した新時代のプロテオミクス. *実*

- 験医学(別冊)「注目のプロテオミクスの全貌を知る！」(磯辺俊明, 高橋信弘 編), pp. 165-173. 羊土社(東京). (2003).
17. 押川清孝, 中山敬一: PKC- δ 遺伝子欠損マウスにおけるB細胞の過剰増殖と自己免疫疾患. *Annual Review 免疫 2004* (奥村康, 平野俊夫, 佐藤昇志 編), pp. 35-41. 中外医学社(東京). (2003).
 18. 西山正章, 白根道子, 中山敬一: RNAi技術を用いたアポトーシス経路の解明. *Molecular Medicine*, 41: 50-58 (2004).
 19. 洲崎悦生, 中山敬一: 多発性骨髄腫の病態におけるNK- κ Bシグナルとユビキチン-プロテアソームシステム. *血液・腫瘍科*, 48: 255-261 (2004).
 20. 押川清孝, 中山敬一: PKC- δ 遺伝子ノックアウトマウスと自己免疫疾患. *最新医学*, 59: 951-957 (2004).
 21. 田中啓二, 高橋良輔, 中山敬一: 鼎談: 広がりゆくユビキチンワールド. *現代医療*, 36: 788-810 (2004).
 22. 中山敬一: オーバービュー: ユビキチン化: 蛋白質修飾の巨大なシステム. *現代医療*, 36: 812-823 (2004).
 23. 畠山鎮次: NF- κ Bシグナル伝達におけるユビキチン化. *現代医療*, 36: 844-854 (2004).
 24. 中山啓子: 時計遺伝子産物のユビキチン化による分解機構. *現代医療*, 36: 893-898 (2004).
 25. 嘉村巧: von Hippel-Lindau病の原因遺伝子産物pVHLのユビキチンリガーゼ活性. *現代医療*, 36: 961-967 (2004).
 26. 矢田雅佳, 中山敬一: がん遺伝子産物Mycの分解機構. *現代医療*, 36: 940-945 (2004).
 27. 畠山鎮次: 最新国際学会情報: Cold Spring Harbor Symposium "The Ubiquitin Family". *現代医療*, 36: 978-980 (2004).
 28. 矢田雅佳, 中山敬一: がん遺伝子産物Mycの発現制御機構. *分子細胞治療*, 3: 301-306 (2004).
 29. 栄信孝, 中山敬一: タンパク質分解と神経回路形成. *Clinical Neuroscience*, 22: 1027-1029 (2004).
 30. 中山啓子, 中山敬一: 細胞周期制御分子の発現過程に果たす役割—遺伝子操作マウスは何を語るか?. *実験医学「拡大する細胞周期研究」*, 22: 1814-1819 (2004).

31. 恒松良祐, 中山敬一: SCF型ユビキチンリガーゼと発癌—2つのF-box蛋白質による蛋白質分解制御機構. *医学のあゆみ*「ユビキチン研究の新展開:メカニズムから疾患研究へ」, 211: 37-42 (2004).
32. 松本雅記, 中山敬一: 定量のための標識法 B) in vivoラベル法. *実験医学(別冊)*「決定版!プロテオーム解析マニュアル」(礒辺俊明, 高橋信弘 編), pp. 125-132. 羊土社 (東京). (2004).
33. 松本雅記, 中山敬一: ユビキチン化修飾解析法. *実験医学(別冊)*「決定版!プロテオーム解析マニュアル」(礒辺俊明, 高橋信弘 編), pp. 158-166. 羊土社 (東京). (2004).
34. 中山敬一, 畠山鎮次: タンパク質分解. *キーワードで理解するシグナル伝達イラストマップ* (山本雅, 仙波憲太郎 編), pp. 138-149. 羊土社 (東京). (2004).
35. 中山敬一, 中山啓子: ユビキチンと細胞周期. *わかる実験医学シリーズ*「ユビキチンがわかる」(田中啓二 編), pp. 86-93. 羊土社 (東京). (2004).
36. Nakayama, K.I., Nakayama, K.: Regulation of the cell cycle by SCF-type ubiquitin ligases. *Semin. Cell Dev. Biol.*, 16: 323-333 (2005).
37. Hatakeyama, S., Matsumoto, M., Nakayama, K.I.: Mapping of ubiquitination sites on target proteins. *Methods Enzymol.*, 399: 277-286 (2005).
38. 嘉村巧, 中山敬一: 新規ユビキチンリガーゼKPCはG1期におけるp27の分解を制御する. *細胞工学*, 24: 152-153 (2005).
39. 嘉村巧, 中山敬一: CDKインヒビターp27はKPCユビキチンリガーゼ複合体によりG1期に分解される. *実験医学*, 23: 738-741 (2005).
40. 中山敬一: 細胞増殖:生命の本質に迫る!. *学術月報*「特集:日本学術振興会賞と研究者養成」, 58: 385-386 (2005).
41. 中山敬一: G0期—細胞周期研究における最後のブラックボックス. *実験医学(増刊)*「細胞周期の最前線—明らかになるその制御機構」, 23: 1282-1286 (2005).
42. 洲崎悦生, 中山敬一: Rb, サイクリンC-CDK3とE2F6—G0-G1移行期における分子メカニズムの新展開. *実験医学(増刊)*「細胞周期の最前線—明らかになるその制御機構」, 23: 1287-1292 (2005).
43. 中山啓子, 中山敬一: p27の分解はM期の進行に必要である. *実験医学(増刊)*「細胞周期の最前線—明らかになるその制御機構」, 23: 1383-1388 (2005).

44. 事柴周平, 中山敬一: 細胞周期ブレーキp27の分解と癌. *日本臨床*, 63: 2047-2056 (2005).
45. 押川千恵, 中山敬一: ポリグルタミン病の治療戦略. *Annual Review 神経 2005* (柳澤信夫, 篠原幸人, 岩田誠, 清水輝夫, 寺本明 編), pp. 20-28. 中外医学社 (東京). (2005).
46. 中山敬一: 細胞周期の基本概念. *キーワードで理解する細胞周期イラストマップ* (中山敬一 編), pp. 14-21. 羊土社 (東京). (2005).
47. Nakayama, K.I., Nakayama, K.: Ubiquitin ligases: cell-cycle control and cancer. *Nature Rev. Cancer*, 6: 369-381 (2006).
48. 松本雅記, 中山敬一: 抗体アフィニティーカラムを用いた翻訳後修飾タンパク質の網羅的解析〜チロシンリン酸化とユビキチン化を中心に〜. *バイオテクノロジージャーナル*, 6: 163-167 (2006).
49. 松本雅記, 中山敬一: 翻訳後修飾の網羅的解析: チロシンリン酸化プロテオーム解析によるシグナル伝達研究. *細胞工学*, 25: 602-607 (2006).
50. 中川直: UFD経路. 「ユビキチン-プロテアソーム系とオートファジー」*蛋白質核酸酵素(増刊)*, 51: 1190 (2006).
51. 洲崎悦生: ユビキチン鎖伸長因子E4: 謎多き重要経路. 「ユビキチン-プロテアソーム系とオートファジー」*蛋白質核酸酵素(増刊)*, 51: 1192 (2006).
52. 恒松良祐: ユビキチン系によるNotchシグナルの制御機構. 「ユビキチン-プロテアソーム系とオートファジー」*蛋白質核酸酵素(増刊)*, 51: 1282-1286 (2006).
53. 中山敬一, 中山啓子: G1期からS期を制御するユビキチン系. 「ユビキチン-プロテアソーム系とオートファジー」*蛋白質核酸酵素(増刊)*, 51: 1362-1369 (2006).
54. 松本雅記: ポリグルタミン病とユビキチン介在性蛋白質分解-異常蛋白質の除去機構. 「ユビキチン-プロテアソーム系とオートファジー」*蛋白質核酸酵素(増刊)*, 51: 1428-1432 (2006).
55. 中山敬一: 細胞周期ブレーキp27の分解と発がん. *発がんの分子機構と防御* (笹月健彦, 野田哲生 編), pp. 120-134. 東京大学出版会 (東京). (2006).
56. Susaki, E., Nakayama, K.I.: Multiple mechanisms for p27^{Kip1} translocation and degradation. *Cell Cycle*, in press. (2007).

57. 松本有樹修, 中山敬一: E3ユビキチンリガーゼ. *分子細胞治療*, 6: 96-97 (2007).
58. 東田裕一: クロマチン免疫沈降法(ChIP). *実験医学別冊「分子間相互作用解析ハンドブック」* (磯辺俊明, 中山敬一, 伊藤隆司 編), pp. 183-188. 羊土社 (東京). (2007).

(3) 学会発表 (国際学会発表及び主要な国内学会発表)

①招待講演 (国内会議 76 件、国際会議 29 件)

1. Nakayama, K. I.: Two ubiquitin ligases control proteolysis of p27. *German-Japanese Cancer Workshop on Modification of Signalling Cascades in Cancer*. (Invited speaker) Tokyo, Japan. 1/9 (2003).
2. 中山敬一: 神経細胞における増殖制御機構の解明. *CREST終了シンポジウム「脳を守る」*. (シンポジウム) 東京. 1/24 (2003).
3. 中山敬一: 細胞周期ブレーキp27の分解機構. *文部科学省 がん研究に係る特定領域研究 公開合同シンポジウム*. (シンポジウム) 東京. 2/4 (2003).
4. 中山敬一: Two ubiquitin ligases control degradation of CDK inhibitor p27. *第1回東京大学医科学研究所・九州大学生体防御医学研究所合同シンポジウム*. (シンポジウム) 福岡. 3/7 (2003).
5. 中山敬一: ノックアウトマウス作製によるユビキチンリガーゼの機能解析. *日本医学会総会「蛋白質分解と分子細胞医学」*. (シンポジウム) 福岡. 4/6 (2003).
6. 中山啓子: 発生分化研究におけるモデル生物. *日本医学会総会「発生分化」*. (シンポジウム) 福岡. 4/6 (2003).
7. Kamura, T., Nakayama, K. I.: Identification of a ubiquitin ligase, KPC, that regulates proteolysis of p27Kip1 at the G0-G1 transition. *Cold Spring Harbor Symposium "The Ubiquitin Family"*. (Invited speaker) Cold Spring Harbor, NY. 4/25 (2003).
8. Tsunematsu, R., Nakayama, K., Nishiyama, M., Oike, Y., Ishida, N., Hatakeyama, S., Bessho, Y., Kageyama, R., Suda, T., Nakayama, K. I.: Target disruption of mouse Cdc4/Fbw7 results in abnormal vascular development by impaired degradation of Notch. *Cold Spring Harbor Symposium "The Ubiquitin Family"*. (Invited speaker) Cold Spring Harbor, NY. 4/26 (2003).
9. 中山敬一: 細胞周期ブレーキp27の分解機構. *日本分子生物学会第3回春季シンポジウム*.

- (シンポジウム) 米子. 5/13 (2003).
10. 中山敬一, 白根道子: Bcl-2のミトコンドリア局在を決定するイムノフィリンFKBP38. **第56回日本生化学会大会**. (シンポジウム) 大津. 5/15 (2003).
 11. 中山敬一: ポリグルタミン病タンパク質を分解する分子メカニズムの解明. **第44回日本神経学会総会**. (シンポジウム) 横浜. 5/16 (2003).
 12. Nakayama, K. I.: Regulation of cell cycle by proteolysis of CDK inhibitor p27. *The 2nd CREST Symposium on "Development, Differentiation and Regeneration"*. (Invited speaker) Tokyo, Japan. 5/30 (2003).
 13. 中山敬一: 細胞周期ブレーキp27の分解機構と癌. **第79回北海道癌談話会**. (特別講演) 札幌. 6/21 (2003).
 14. 中山敬一: プロテオミクスを用いたタンパク質翻訳後修飾の解析. **動物の遺伝子導入とその応用の開発研究会・第41回定例会「プロテオミクス研究最前線」**. (招待講演) 東京. 7/29 (2003).
 15. 中山敬一: ユビキチン化による細胞周期の制御メカニズム. **第7回Molecular Cardiovascular Conference**. (基調講演) キロロ. 9/5 (2003).
 16. 中山敬一: Mechanisms to control degradation of polyglutamine-containing protein. **第46回日本神経化学会**. (シンポジウム) 新潟. 9/26 (2003).
 17. 中山敬一: 細胞周期のブレーキp27の分解機構とがん. **第62回日本癌学会総会**. (モーニングレクチャー) 名古屋. 9/27 (2003).
 18. 中山敬一, 白根道子: Bcl-2の局在を決定するイムノフィリンFKBP38. **平成15年度生理学研究所研究会「細胞死の誘導と制御-その分子機構と生理病理機能」**. (招待講演) 岡崎. 9/29 (2003).
 19. 中山敬一: 細胞増殖を制御するユビキチンリガーゼ群. **国立遺伝学研究所研究集会「ユビキチン化を介したDNA損傷応答のメカニズム」**. (特別講演) 三島. 10/1 (2003).
 20. Nakayama, K. I.: Two ubiquitin ligases control proteolysis of CDK inhibitor p27. *Proteolysis in Cellular Regulation*. (Invited speaker) Tokyo, Japan. 10/28 (2003).

21. 中山敬一： 静止期から増殖期へ：細胞周期エンジンがスタートするとき. *第7回キリン血液疾患セミナー*. (特別講演) 東京. 11/1 (2003).
22. Nakayama, K. I. : Two ubiquitin ligases control proteolysis of p27. *COE International Symposium "Genome Stability and Mechanism of Chromosome Segregation"*. (Invited speaker) Otsu, Japan. 12/1 (2003).
23. 中山敬一, 矢田雅佳, 恒松良祐, 西山正章, 畠山鎮次, 中山啓子: 癌タンパク質Skp2と癌抑制タンパク質Se1-10: 細胞周期を制御する二つのF-boxタンパク質. *第26回日本分子生物学会年会*. (シンポジウム) 神戸. 12/10 (2003).
24. 畠山鎮次, 中山敬一: 人工ユビキチンリガーゼによるMycの特異的分解を利用した癌治療法の確立. *第26回日本分子生物学会年会*. (シンポジウム) 神戸. 12/10 (2003).
25. 中山啓子, 永濱裕康, 南嶋洋司, 石田典子, 中山敬一: 遺伝子改変マウスを用いた細胞周期と細胞サイズについての解析. *第26回日本分子生物学会年会*. (シンポジウム) 神戸. 12/12 (2003).
26. 嘉村巧, 原太一, 矢田雅佳, 中山啓子, 中山敬一: 細胞増殖抑制因子p27の新たな分解因子の分離精製及び解析. *第26回日本分子生物学会年会*. (シンポジウム) 神戸. 12/13 (2003).
27. 石田典子, 神武洋二郎, 中山啓子, 中山敬一: 細胞内局在変化によるp27蛋白安定性の調節. *第26回日本分子生物学会年会*. (シンポジウム) 神戸. 12/13 (2003).
28. 中山敬一, 松本雅記: リン酸化とユビキチン化: タンパク質修飾のプロテオミクス. *プロテオミクス研究の最前線 ~熊本からの発信~*. (招待講演) 熊本. 3/15 (2004).
29. Nakayama, K., Miyake, S., Ishida, N., Hatakeyama, S., Nakayama, K. I. : Role of Skp2-mediated degradation of p27in progression to mitosis. *The 5th UK-Japan Cell Cycle Workshop*. (Invited speaker) Nara, Japan. 4/14 (2004).
30. Nakayama, K. I., Yada, M., Nakayama, K. : Phosphorylation-dependent degradation of c-Myc is mediated by the F-box protein Fbw7. *The 5th UK-Japan Cell Cycle Workshop*. (Invited speaker) Nara, Japan. 4/15 (2004).
31. Nakayama, K. I., Matsumoto, M., Hatakeyama, S., Oyamada, K., Oda, Y., Nishimura, T. : Large-scale analysis of the human ubiquitin-related proteome. *The 1st Pacific-Rim International Conference on Protein Science*. (Invited speaker) Yokohama, Japan. 4/17

- (2004).
32. Nakayama, K., Nagahama, H., Nakayama, K. I.: Role of Skp2-mediated degradation of p27 in progression to mitosis. *Cold Spring Harbor Symposium "The Cell Cycle"*. (Invited speaker) Cold Spring Harbor, NY. 5/21 (2004).
 33. Ishida, N., Hatakeyama, S., Nakayama, K. I.: GdX, an X-linked ubiquitin-like modifier, is conjugated to cyclin F and regulates mitotic exit. *Cold Spring Harbor Symposium "The Cell Cycle"*. (Invited speaker) Cold Spring Harbor, NY. 5/22 (2004).
 34. Nakayama, K. I.: Mammalian E4 protects neuron from degeneration. *FASEB Summer Research Conferences "Ubiquitination and Cellular Regulation"*. (Invited speaker) Saxtons River, VT. 6/28 (2004).
 35. 中山敬一, 中山啓子: 細胞周期と再生: p27ブレーキの分解による制御機構. **第25回日本炎症・再生医学会**. (教育講演) 東京. 7/14 (2004).
 36. 中山敬一: 細胞周期ブレーキp27の分解と癌. **第3回愛媛オンコロジーフォーラム**. (特別講演) 松山. 7/23 (2004).
 37. 中山敬一: 細胞周期と癌と再生と. **第44回生化学若い研究者の会夏の学校**. (シンポジウム) 東京. 8/21 (2004).
 38. 中山啓子, 三宅智, 中山敬一: M期進行におけるp27分解の重要性. **第63回日本癌学会総会**. (シンポジウム) 福岡. 9/29 (2004).
 39. 中山敬一: 脂質膜輸送分子protrudinによる神経突起形成の分子機構. **「脳」三領域合同終了シンポジウム「脳!大いなるフロンティアに挑む」**. (シンポジウム) 東京. 10/8 (2004).
 40. Nakayama, K. I.: Two ubiquitin ligases control proteolysis of CDK inhibitor p27. *The 4th International Symposium on "Molecular Mechanisms of Cell Proliferation and Evolution"*. (Invited speaker) Fukuoka, Japan. 11/1 (2004).
 41. 中山敬一, 白根道子: 神経突起形成に関わる新規脂質輸送分子Protrudin. **「生物の発生・分化・再生」第3回公開シンポジウム**. (シンポジウム) 東京. 11/11 (2004).
 42. 中山敬一: 細胞周期制御とがん. **第20回Wakoワークショップ**. (招待講演) 吹田. 11/24 (2004).

43. 中山啓子, 神武洋二郎, 石田典子, 三宅智, 中山敬一: 遺伝子改変マウスを用いたDNA含量と細胞サイズについての解析. *第27回日本分子生物学会年会*. (ワークショップ) 神戸. 12/9 (2004).
44. Nakayama, K. I., Matsumoto, M., Oshikawa, C., Yada, M., Nakayama, K.: Mammalian E4 is required for prevention of neuronal degeneration. *第27回日本分子生物学会年会*. (ワークショップ) 神戸. 12/9 (2004).
45. 白根道子, 中山敬一: 膜輸送分子Protrudinによる神経突起形成の分子機構. *第27回日本分子生物学会年会*. (ワークショップ) 神戸. 12/10 (2004).
46. 奥村文彦, 畠山鎮次, 松本雅記, 嘉村巧, 中山敬一: E4BによるFEZ1のポリユビキチン化は神経突起形成に必要である. *第27回日本分子生物学会年会*. (ワークショップ) 神戸. 12/10 (2004).
47. 安達 (玉盛) 三美, 山田一彦, 中山敬一, 北嶋繁孝: p27ノックダウンによる心筋細胞増殖能の解析. *第27回日本分子生物学会年会*. (ワークショップ) 神戸. 12/11 (2004).
48. 中山敬一: リン酸化とユビキチン化: タンパク質の質的制御と量的制御. *蛋白質研究所セミナー「翻訳修飾後のプロテオミクス」*. (招待講演) 吹田. 1/6 (2005).
49. 中山敬一, 松本雅記: Post-proteomics: comprehensive analysis of post-translational modifications of proteins. *科学技術振興調整費公開シンポジウム「プロテオミクス生物学の最先端技術」*. (招待講演) 東京. 1/28 (2005).
50. 中山敬一: 細胞周期ブレーキp27の分解と癌. *京都大学大学院医学研究科 21世紀COEプログラム「病態解明を目指す基礎医学研究拠点 (多重遺伝子変異による病態解明)」特任教官主催シンポジウム「がん研究の諸相と展望」*. (招待講演) 京都. 5/14 (2005).
51. 中山敬一: ユビキチン化による細胞周期の制御. *日本生化学会九州支部例会*. (ランチョンセミナー) 福岡. 5/22 (2005).
52. 中山敬一: 細胞周期を制御するユビキチンリガーゼ群. *BD FACS New Technology セミナー*. (招待講演) 東京. 6/22 (2005).
53. Nakayama, K. I., Shirane, M.: Protrudin-Rab11 system regulates directional membrane traffic to induce neurite formation. *International Symposium on "Membrane Dynamics and Cell Regulation"*. (シンポジウム) Fukuoka. 6/29 (2005).

54. 中山敬一：新しいユビキチン化因子E4の機能. **第5回日本蛋白質科学会年会**. (シンポジウム) 福岡. 7/2 (2005).
55. 松本雅記, 畠山鎮次, 小山田浩二, 夏目徹, 中山敬一: チロシンリン酸化関連プロテオミクスによるシグナル伝達の体系的解析. **第5回日本蛋白質科学会年会**. (ワークショップ) 福岡. 7/2 (2005).
56. Shirane, M., Nakayama, K. I.: Protrudin-Rab11 system regulates directional membrane traffic to induce neurite formation. *Shirokane International Symposium "System Genome Medicine~Bench to Bedside"*. (シンポジウム) Tokyo. 7/22 (2005).
57. 中山敬一, 松本雅記: タンパク質翻訳後修飾の網羅的解析. **日本プロテオーム機構第3回大会**. (シンポジウム) 横浜. 8/1 (2005).
58. 中山敬一: E4による神経変性の防御. **第35回新潟神経学夏期セミナー**. (招待講演) 新潟. 8/4 (2005).
59. 中山敬一, 松本雅記: 翻訳後修飾プロテオミクスから見えてきた意外な新事実. **疾患プロテオミクス最前線**. (特別講演) 熊本. 9/2 (2005).
60. 中山敬一: タンパク質翻訳後修飾の網羅的解析. **日独ワークショップ臨床プロテオミクス: 方法と応用**. (招待講演) 横浜. 9/7 (2005).
61. 中山啓子, 中山敬一: 細胞増殖の制御におけるユビキチン化の役割. **第64回日本癌学会学術総会**. (シンポジウム) 札幌. 9/14 (2005).
62. 杉原英志, 斎藤総一郎, 新田孝幸, 豊島秀男, 中山啓子, 中山敬一, 佐谷秀行, 三輪正直: p27はDNA損傷後の中心体過剰複製を抑制する. **第64回日本癌学会学術総会**. (ワークショップ) 札幌. 9/15 (2005).
63. 松本雅記, 畠山鎮次, 中山敬一: チロシンリン酸化プロテオミクスによるシグナル伝達ネットワークの体系的解析. **第64回日本癌学会学術総会**. (シンポジウム) 札幌. 9/15 (2005).
64. Nakayama, K. I., Shirane, M.: Protrudin induces process formation by promoting membrane transport. **第48回日本神経化学会大会**. (シンポジウム) 福岡. 9/30 (2005).
65. 中山敬一: 細胞分化と細胞周期制御. **「生物の発生・分化・再生」第4回公開シンポジウム**. (シンポジウム) 東京. 10/5 (2005).

66. 中山敬一：神経変性を抑制する新規ユビキチン化酵素E4.
第9回お茶の水Brain Science Seminar. (招待講演) 東京. 10/7 (2005).
67. 中山敬一, 小野山一郎, 中山啓子: Fbw7コンディショナルノックアウトマウスにおける細胞周期の促進と腫瘍発生. *第78回日本生化学会大会*. (シンポジウム) 神戸. 10/20 (2005).
68. 白根道子, 中山敬一: 膜輸送分子protrudinによる神経突起伸長の分子機構. *第78回日本生化学会大会*. (ミニシンポジウム) 神戸. 10/20 (2005).
69. 中山敬一, 松本雅記: 翻訳後修飾プロテオミクスから見えてきた意外な新事実. *統合脳プロテオミクス教育研究講演会*. (招待講演) 岡崎. 11/24 (2005).
70. 小野山一郎, 恒松良祐, 嘉村巧, 中山啓子, 中山敬一: Fbxw7コンディショナルノックアウトマウスにおける増殖分化異常と発がん. *第28回日本分子生物学会年会*. (ワークショップ) 福岡. 12/7 (2005).
71. 安達 (玉盛) 三美, 高木弘光, 橋本公男, 小清水右一, 中山敬一, 北嶋繁孝: サイクリンD1核移行/p27分解による心筋in situ再生と心不全予防の解析. *第28回日本分子生物学会年会*. (ワークショップ) 福岡. 12/7 (2005).
72. 中山敬一, 小野山一郎, 恒松良祐, 嘉村巧, 中山啓子: 細胞周期と分化:F-boxタンパク質による分化特異的な増殖制御機構. *第28回日本分子生物学会年会*. (シンポジウム) 福岡. 12/7 (2005).
73. 嘉村巧, 中山敬一: Cullin-Rbx型E3によるタンパク質分解機構. *第28回日本分子生物学会年会*. (シンポジウム) 福岡. 12/9 (2005).
74. 白根道子, 中山敬一: Protrudinによる神経突起伸長はRabおよびMAPKによって制御されている. *第28回日本分子生物学会年会*. (ワークショップ) 福岡. 12/9 (2005).
75. 中川直, 白根道子, 中山敬一: FKBP38によるプロテアソームのミトコンドリア局在化とミトコンドリア関連分解 (MTAD) の促進. *第28回日本分子生物学会年会*. (ワークショップ) 福岡. 12/9 (2005).
76. 事柴周平, 原太一, 嘉村巧, 藤原健一朗, 白川昌宏, 中山敬一: G1期でのp27分解におけるUBL-UBAタンパク質KPC2の役割. *第28回日本分子生物学会年会*. (ワークショップ) 福岡. 12/10 (2005).

77. 中山敬一：細胞増殖と分化の接点：その破綻としてがんをとらえる。 **第3次対がん10ヶ年総合戦略・第1回合同シンポジウム「がんの罹患率と死亡率の激減を目指して」**。(シンポジウム) 東京. 2/6 (2006).
78. 中山敬一：ユビキチンリガーゼによる分化特異的な細胞増殖制御機構と発がん。 **「遺伝情報システム異常と発がん」合同ワークショップ**。(ワークショップ) 東京. 2/17 (2006).
79. Kamura, T., Nakayama, K. I.: Identification of a ubiquitin ligase, KPC, that recognizes proteolysis of p27Kip1 at the G0-G1 transition. *Cell Regulations in Division and Arrest Workshop*. (ワークショップ) 沖縄. 3/8 (2006).
80. Nakayama, K. I.: Fbw7 is a key regulator of the G0-G1 transition and tumorigenesis during development. *Cell Regulations in Division and Arrest Workshop*. (ワークショップ) 沖縄. 3/8 (2006).
81. 中山敬一：ユビキチン化と細胞周期。 **第3回日本癌学会カンファレンス「動物モデルによる新時代のがん研究—発症機構から治療まで」**。(招待講演) 茅野. 3/10 (2006).
82. 西山正章, 中山敬一：クロマチンリモデリング因子CHD8はp53依存的なアポトーシスを抑制する新規がん遺伝子である。 **第3回日本癌学会カンファレンス「動物モデルによる新時代のがん研究—発症機構から治療まで」**。(招待講演) 茅野. 3/10 (2006).
83. 中山敬一, 松本雅記：タンパク質翻訳後修飾のプロテオミクス：リン酸化とユビキチン化の網羅的解析。 **第6回日本蛋白質科学会**。(シンポジウム) 京都. 4/24 (2006).
84. Matsumoto, M., Oyamada, K., Hatakeyama, S., Nakayama, K. I.: Systematic analysis of phosphotyrosine-related proteome provides novel insights into signal transduction. *20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology*. (Luncheon Seminar) Kyoto, Japan. 6/22 (2006).
85. Nakayama, K. I., Onoyama, I.: Fbw7 is a key regulator of cell-cycle arrest and tumorigenesis during development. *20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology*. (Symposium) Kyoto, Japan. 6/23 (2006).
86. 中山敬一：科学者の使命とは何か：本末転倒の欺瞞に騙されることなかれ。 **第46回生化学若い研究者の会夏の学校**。(シンポジウム) 東京. 8/19 (2006).
87. Nakayama, K. I.: Fbw7 is a key regulator of cell cycle exit during development. *US-Japan*

Cooperative Research Workshop on Mouse Models for Cell Cycle and Ubiquitin-mediated Degradation. (Workshop) Frederick, MD, USA. 9/7 (2006).

88. Onoyama, I., Nakayama, K.I.: Characterization of mice that lack Fbw7 in bone marrow, mammary glands or liver. *US-Japan Cooperative Research Workshop on Mouse Models for Cell Cycle and Ubiquitin-mediated Degradation.* (Workshop) Frederick, MD, USA. 9/7 (2006).
89. Saiga, T., Nakayama, K.I.: Fbxo45-PAM, a novel ubiquitin ligase complex, is required for synapse formation. *US-Japan Cooperative Research Workshop on Mouse Models for Cell Cycle and Ubiquitin-mediated Degradation.* (Workshop) Frederick, MD, USA. 9/7 (2006).
90. Tsunematsu, R., Nakayama, K.I.: Fbxw8 is essential for Cull1-Cul7 complex formation and for placental development. *US-Japan Cooperative Research Workshop on Mouse Models for Cell Cycle and Ubiquitin-mediated Degradation.* (Workshop) Frederick, MD, USA. 9/7 (2006).
91. Nishiyama, M., Nakayama, K.I.: Chromatin remodeling factor CHD8 is a novel oncogene that blocks p53-mediated apoptosis pathway. *US-Japan Cooperative Research Workshop on Mouse Models for Cell Cycle and Ubiquitin-mediated Degradation.* (Workshop) Frederick, MD, USA. 9/7 (2006).
92. Nakagawa, T., Nakayama, K.I.: Mammalian E4 is required for cardiac development and maintenance of the nervous system. *US-Japan Cooperative Research Workshop on Mouse Models for Cell Cycle and Ubiquitin-mediated Degradation.* (Workshop) Frederick, MD, USA. 9/7 (2006).
93. Shirane, M., Nakayama, K.I.: Protrudin interacts with Rab11-GDP and induces neurite formation by directional membrane trafficking. *US-Japan Cooperative Research Workshop on Mouse Models for Cell Cycle and Ubiquitin-mediated Degradation.* (Workshop) Frederick, MD, USA. 9/7 (2006).
94. 中山敬一, 中山啓子: 分化における細胞周期調節: その破綻による発がん. *第65回日本癌学会学術総会.* (シンポジウム) 横浜. 9/29 (2006).
95. 中山敬一: ユビキチン化による細胞増殖の制御: その破綻としての癌. *第19回日本バイオセラピー学会学術集会総会.* (教育講演) 福岡. 11/30 (2006).

96. 中山敬一：神経の突起伸長に必要な膜輸送制御分子Protrudin. *「生物の発生・分化・再生」第5回公開シンポジウム*. (シンポジウム) 東京. 12/15 (2006).
97. 中山敬一：細胞周期を制御するユビキチン化機構. *第1回産業医科大学大学院シンポジウム「世界最先端の科学者たちから学ぶ」*. (シンポジウム) 北九州. 3/3 (2007).
98. Nakayama, K. I.: Fbw7 is required for G0 maintenance and tumor suppression: Lessons from a series of conditional knockout mice. *The Second International Workshop on Cell Regulations in Division and Arrest*. (Invited speaker) Onna, Okinawa, Japan. 3/26 (2007).
99. 中山敬一：分化における細胞周期停止のメカニズムと発がん. *第27回日本医学会総会*. (シンポジウム) 大阪. 4/6 (2007).
100. 中山敬一：クロマチンリモデリングによるp53機能の制御. *千里ライフサイエンスセミナー「細胞周期制御異常とがん」*. (招待講演) 大阪. 7/4 (2007).
101. 中山敬一：p53機能の新しい制御機構：ヒストンH1によるエピジェネティックコントロール. *Nuclear Signaling Japan 2007*. (招待講演) 東京. 7/13 (2007).
102. 中山敬一：細胞の増殖と分化はいかに制御されているか？. *日本免疫学会免疫サマースクール2007*. (招待講演) 福岡. 8/29 (2007).
103. 中山敬一：細胞周期の制御に関わるユビキチンリガーゼとがん. *第66回日本癌学会学術総会*. (JCA-Mauvernay Award 受賞講演) 横浜. 10/4 (2007).
104. 中山啓子, 中山敬一：発がんとG1-G0期制御に寄与するユビキチンリガーゼ. *第66回日本癌学会学術総会*. (シンポジウム) 横浜. 10/4 (2007).

②口頭発表 (国内会議 14 件、国際会議 0 件)

1. 三宅智, 笹島由加, 柳澤夕佳, 中山啓子, 湯浅保仁：HDACに結合する分化抑制因子EIDファミリーの機能解析. *第62回日本癌学会総会*. (口演) 名古屋. 9/27 (2003).
2. 中山啓子, 中山敬一：ノックインマウスを用いたp27セリン10残基リン酸化についての検討. *第62回日本癌学会総会*. (口演) 名古屋. 9/25 (2003).
3. 奥村文彦, 畠山鎮次, 中山敬一：U-ボックス型ユビキチンリガーゼUFD2aによる神経軸索誘導因子FEZ1の機能調節. *第26回日本分子生物学会年会*. (口演) 神戸. 12/13 (2003).

4. 安達(玉盛)三美, 林田健太郎, 大水智恵, 中山敬一, 北嶋繁孝: Skp2依存性p27分解低下による心筋細胞増殖抑制機構の解析. **第26回日本分子生物学会年会**. (口演) 神戸. 12/10 (2003).
5. 小松朋子, 水崎博文, 向井徳男, 小川英知, 白川昌宏, 畠山鎮次, 中山敬一, 山本英樹, 菊池章, 諸橋憲一郎: Ad4BP/SF-1のSUMO化による協調的な転写活性化の制御. **第26回日本分子生物学会年会**. (口演) 神戸. 12/12 (2003).
6. 押川清孝, 松本雅記, 矢田雅佳, 嘉村巧, 畠山鎮次, 中山敬一: Cu11結合タンパク質TIP120AはSCF複合体形成を負に制御している. **第26回日本分子生物学会年会**. (口演) 神戸. 12/12 (2003).
7. 松本雅記, 小山田浩二, 畠山鎮次, 中山敬一: タンパク質翻訳後修飾のプロテオミクス解析. **第26回日本分子生物学会年会**. (口演) 神戸. 12/11 (2003).
8. 白根道子, 中山敬一: FYVEドメインタンパク質ProtrudinとPI(5)Pによる神経突起形成機構. **第26回日本分子生物学会年会**. (口演) 神戸. 12/13 (2003).
9. 矢田雅佳, 畠山鎮次, 嘉村巧, 西山正章, 奥村文彦, 今木裕幸, 石田典子, 中山敬一: 二つのF-boxタンパク質Skp2とSel-10によるがん遺伝子産物c-Mycのコヒキチン化機構. **第26回日本分子生物学会年会**. (口演) 神戸. 12/11 (2003).
10. 神武洋二郎, 石田典子, 中山啓子, 中山敬一: p27の局在および安定性に関与するセリン10リン酸化のノックインマウスを用いた機能解析. **第26回日本分子生物学会年会**. (口演) 神戸. 12/10 (2003).
11. 西山正章, 中山啓子, 恒松良祐, 菊池章, 中山敬一: β -Catenin結合タンパクDuplinは原腸形成期におけるマウスの発生に必須である. **第26回日本分子生物学会年会**. (口演) 神戸. 12/10 (2003).
12. 金子千恵, 畠山鎮次, 松本雅記, 矢田雅佳, 中山啓子, 中山敬一: コヒキチン鎖伸長因子E4Bのノックアウトマウスによる解析. **第26回日本分子生物学会年会**. (口演) 神戸. 12/13 (2003).
13. 高橋秀尚, 畠山鎮次, 中山敬一: TDGのSUMO-1との非共有結合はNuclear bodyへの局在化に必要である. **第26回日本分子生物学会年会**. (口演) 神戸. 12/13 (2003).
14. 黒田範行, 内田大亮, 畠山鎮次, 松島明美, 石戸聡, 工藤純, 清水信義, 中山敬一, 松本

満: AIRE (autoimmune regulator) は PHD ドメインを介して Ubiquitin E3 ligase 活性を発揮する. *第26回日本分子生物学会年会*. (口演) 神戸. 12/13 (2003).

③ポスター発表 (国内会議 46 件、国際会議 36 件)

1. 畠山鎮次, 松本雅記, 矢田雅佳, 山中篤志, 中山敬一: U-ボックス型ユビキチンリガーゼと神経変性疾患. *CREST終了シンポジウム「脳を守る」*. 東京. 1/24 (2003).
2. 白根道子: カルシニューリン阻害分子FKBP38によるBcl-2のミトコンドリア局在化. *CREST終了シンポジウム「脳を守る」*. 東京. 1/24 (2003).
3. 松本雅記, 中山敬一: プロテオミクスによるユビキチン関連タンパク質の網羅的解析. *CREST終了シンポジウム「脳を守る」*. 東京. 1/24 (2003).
4. 石田典子, 畠山鎮次, 中山敬一: Cyclin Fと結合するUbiquitin-domain protein (UDP), GdXの細胞学的解析. *CREST終了シンポジウム「脳を守る」*. 東京. 1/24 (2003).
5. Hatakeyama, S., Matsumoto, M., Yada, M., Nakayama, K. I.: Molecular interactions of U-box type ubiquitin ligase (E3) with molecular chaperones. *Cold Spring Harbor Symposium "The Ubiquitin Family"*. Cold Spring Harbor, NY. 4/24 (2003).
6. Kaneko, C., Hatakeyama, S., Matsumoto, M., Yada, M., Nakayama, K., Nakayama, K. I.: Mice lacking UFD2a, a polyubiquitin chain assembly factor (E4), display cardiac apoptosis during development. *Cold Spring Harbor Symposium "The Ubiquitin Family"*. Cold Spring Harbor, NY. 4/24 (2003).
7. Okumura, F., Hatakeyama, S., Nakayama, K. I.: Functional regulation of neurite inducer FEZ1 by U-box type ubiquitin ligase UFD2a. *Cold Spring Harbor Symposium "The Ubiquitin Family"*. Cold Spring Harbor, NY. 4/25 (2003).
8. Takahashi, H., Hatakeyama, S., Nakayama, K. I.: SUMO-1 modification of thymine DNA glycosylase enhances its binding activity with PML. *Cold Spring Harbor Symposium "The Ubiquitin Family"*. Cold Spring Harbor, NY. 4/25 (2003).
9. Taniuchi, I., Littman, D. R., Nakayama, K. I.: Epigenetic gene regulation by Runt domain transcriptional factors. *The 2nd CREST Symposium on "Development, Differentiation and Regeneration"*. Tokyo, Japan. 5/30 (2003).
10. Shirane, M., Nakayama, K. I.: Novel FYVE finger protein protrudin induces the protrusion

- in cells. *The 2nd CREST Symposium on "Development, Differentiation and Regeneration"*. Tokyo, Japan. 5/30 (2003).
11. Matsumoto, M., Nakayama, K. I. : Systematic identification of ubiquitin-related proteome. *The 2nd CREST Symposium on "Development, Differentiation and Regeneration"*. Tokyo, Japan. 5/30 (2003).
 12. Kaneko, C., Hatakeyama, S., Matsumoto, M., Yada, M., Nakayama, K., Nakayama, K. I. : Mice lacking UFD2a, a polyubiquitin chain assembly factor (E4), display cardiac apoptosis during development. *The 2nd CREST Symposium on "Development, Differentiation and Regeneration"*. Tokyo, Japan. 5/30 (2003).
 13. Okumura, F., Hatakeyama, S., Nakayama, K. I. : Functional regulation of neurite inducer FEZ1 by U-box type ubiquitin ligase UFD2a. *The 2nd CREST Symposium on "Development, Differentiation and Regeneration"*. Tokyo, Japan. 5/30 (2003).
 14. Tsunematsu, R., Nakayama, K., Nishiyama, M., Oike, Y., Ishida, N., Hatakeyama, S., Bessho, Y., Kageyama, R., Suda, T., Nakayama, K. I. : Targeted disruption of mouse Cdc4/Fbw7 results in abnormal vascular development by impaired degradation of Notch. *The 2nd CREST Symposium on "Development, Differentiation and Regeneration"*. Tokyo, Japan. 5/30 (2003).
 15. Nishiyama, M., Nakayama, K., Tsunematsu, R., Kikuchi, A., Nakayama, K. I. : β -catenin-binding protein Duplin is essential at gastrulation during mouse development. *The 2nd CREST Symposium on "Development, Differentiation and Regeneration"*. Tokyo, Japan. 5/30 (2003).
 16. 原太一, 嘉村巧, 中山敬一: UBL-UBAタンパク質KPC2のp27Kip1初期分解における役割の解明. *第26回日本分子生物学会年会*. 神戸. 12/11 (2003).
 17. 多田敬典, 岡野ジェイムズ洋尚, 中山敬一, 鹿島晴雄, 岡野栄之: 神経系特異的新規ユビキチンリガーゼの機能解析. *第26回日本分子生物学会年会*. 神戸. 12/12 (2003).
 18. Matsumoto, M., Oyamada, K., Hatakeyama, S., Nakayama, K. I. : Comprehensive analysis of posttranslational modified proteins enriched by immunoaffinity chromatography. *The 1st Pacific-Rim International Conference on Protein Science*. Yokohama, Japan. 4/17 (2004).
 19. Shirane, M., Nakayama, K. I. : FYVE-domain protein Protrudin induces neurite extension.

- The 3rd Japanese Biochemical Society Biofrontier Symposium "New Aspect of Phospholipid Biology 2004"*. Kamakura, Japan. 5/11 (2004).
20. Nishiyama, M., Kamura, T., Hara, T., Nakayama, K., Nakayama, K. I.: Functional analysis of a ubiquitin ligase, KPC, that regulates proteolysis of p27Kip1 at mid-G1 phase. *Cold Spring Harbor Symposium "The Cell Cycle"*. Cold Spring Harbor, NY. 5/21 (2004).
 21. Kotake, Y., Nakayama, K., Ishida, N., Nakayama, K. I.: Analysis of p27 knock-in mice harboring mutation on serine-10, a major phosphorylation site of p27. *Cold Spring Harbor Symposium "The Cell Cycle"*. Cold Spring Harbor, NY. 5/21 (2004).
 22. Yada, M., Hatakeyama, S., Kamura, T., Nakayama, K., Nakayama, K. I.: Phosphorylation-dependent degradation of c-Myc is mediated by the F-box protein Fbw7. *Cold Spring Harbor Symposium "The Cell Cycle"*. Cold Spring Harbor, NY. 5/21 (2004).
 23. 松本雅記, 中山啓子, 中山敬一: ポリグルタミン病原因産物を分解する新規ユビキチン化酵素E4B. 「*生物の発生・分化・再生*」第3回公開シンポジウム. 東京. 11/11 (2004).
 24. 白根道子, 中山敬一: FKBP38ノックアウトマウスにおける二分脊椎. 「*生物の発生・分化・再生*」第3回公開シンポジウム. 東京. 11/11 (2004).
 25. 恒松良祐, 中山敬一, 中山啓子: 血管分化に関わるNotchユビキチン化因子Fbw7. 「*生物の発生・分化・再生*」第3回公開シンポジウム. 東京. 11/11 (2004).
 26. 洲崎悦生, 中山敬一: Cyclin D2のG0-G1移行期におけるp27分解への寄与. 第27回日本分子生物学会年会. 神戸. 12/8 (2004).
 27. 高橋秀尚, 松本雅記, 畠山鎮次, 中山敬一: T細胞, B細胞受容体刺激によって引き起こされる翻訳因子e1F3複合体のチロシンリン酸化の解析. 第27回日本分子生物学会年会. 神戸. 12/8 (2004).
 28. 松本雅記, 小山田浩二, 畠山鎮次, 夏目徹, 中山敬一: チロシンリン酸化関連プロテオミクスによるシグナル伝達の体系的解析. 第27回日本分子生物学会年会. 神戸. 12/8 (2004).
 29. 事柴周平, 嘉村巧, 中山敬一: p27の新たな分解因子KPCの機能解析. 第27回日本分子生物学会年会. 神戸. 12/8 (2004).
 30. 石田典子, 畠山鎮次, 中山啓子, 中山敬一: ユビキチン様修飾分子, GdXはcyclin Fに共有結

- 合しM期の脱出を制御する. **第27回日本分子生物学会年会**. 神戸. 12/8 (2004).
31. 西山正章, 中山啓子, 恒松良祐, 築山忠維, 菊池章, 中山敬一: β -Catenin結合タンパク Duplinノックアウトマウスは発生初期に死亡する. **第27回日本分子生物学会年会**. 神戸. 12/8 (2004).
 32. 神武洋二郎, 中山啓子, 石田典子, 中山敬一: ノックインマウスを用いたp27の主要リン酸化部位であるセリン10リン酸化の機能解析. **第27回日本分子生物学会年会**. 神戸. 12/8 (2004).
 33. 杉本のぞみ, 巽康年, 松影昭夫, 中山敬一, 清野透, 藤田雅俊: Cdt1結合蛋白の網羅的探索. **第27回日本分子生物学会年会**. 神戸. 12/9 (2004).
 34. 嘉村巧, 中山敬一: VHL-boxおよびSOCS-boxタンパク質とCullin-Rbxとの結合特異性は Cul2-boxおよびCul5-box配列により決定される. **第27回日本分子生物学会年会**. 神戸. 12/9 (2004).
 35. 木村太一, 田中伸哉, 澤洋文, 恒松良祐, 中山啓子, 畠山鎮次, 中山敬一, 長嶋和郎: ヒト滑膜肉腫関連癌原遺伝子SKT欠損マウスの作製と解析. **第27回日本分子生物学会年会**. 神戸. 12/10 (2004).
 36. Tada, H., James Okano, H., Matsumoto, M., Nakayama, K. I., Kashima, H., Okano, H.: Kspot, a novel ubiquitin ligase, may control synapse formation. **第48回日本神経化学会大会**. 福岡. 9/29 (2005).
 37. 西山正章, 中山敬一: Duplinはp53を介してアポトーシスを抑制する新規癌遺伝子である. **「生物の発生・分化・再生」第4回公開シンポジウム**. 東京. 10/4 (2005).
 38. 小野山一郎, 恒松良祐, 嘉村巧, 中山啓子, 中山敬一: Fbw7コンディショナルノックアウトマウスにおける増殖分化異常と発癌. **「生物の発生・分化・再生」第4回公開シンポジウム**. 東京. 10/4 (2005).
 39. 恒松良祐, 中山敬一: 胎盤形成に重要なF-boxタンパク質Fbw8. **「生物の発生・分化・再生」第4回公開シンポジウム**. 東京. 10/4 (2005).
 40. 中山啓子, 中山敬一: F-boxタンパク質Fbw1aとFbw1bの発生分化における役割. **「生物の発生・分化・再生」第4回公開シンポジウム**. 東京. 10/4 (2005).

41. 原賢太郎, 中山敬一, 中山啓子: マウスGemininの欠損が初期発生に及ぼす効果の解析. 『**生物の発生・分化・再生**』第4回公開シンポジウム. 東京. 10/4 (2005).
42. 藤田英明, 石川大輔, 松本雅記, 畠山鎮次, 中山敬一, 吉森保, 横田貞記, 石堂一己, 姫野勝, 田中嘉孝: 動物細胞クラスE Vpsコンパートメントのプロテオミクス解析によるユビキチン化により輸送制御を受ける膜蛋白質の同定. **第78回日本生化学会大会**. 神戸. 10/21 (2005).
43. 広瀬哲史, 中山敬一, 谷内一郎: CAF-1の生体での機能. **第28回日本分子生物学会年会**. 福岡. 12/7 (2005).
44. 恒松良祐, 中山敬一: 胎盤形成に重要なF-boxタンパク質Fbxw8. **第28回日本分子生物学会年会**. 福岡. 12/7 (2005).
45. 鈴木小由里, 深澤洋敬, 北川恭子, 戸川証, 大橋温, 小田敏明, 内田千晴, 服部隆行, 中山敬一, 山本龍夫, 菱田明, 北川雅敏: 腎障害進行におけるSkp2発現亢進の解析: Skp2K0マウスを用いた検討. **第28回日本分子生物学会年会**. 福岡. 12/7 (2005).
46. 洲崎悦生, 中山敬一: サイクリンD2によるp27の核外エスコートと分解促進. **第28回日本分子生物学会年会**. 福岡. 12/7 (2005).
47. 杉原英志, 齋藤総一郎, 豊島秀男, 中山啓子, 中山敬一, 佐谷秀行, 三輪正直: p27はDNAダメージ後の中心体数異常を抑制する. **第28回日本分子生物学会年会**. 福岡. 12/7 (2005).
48. 石川善則, 小野山一郎, 中山敬一, 中山啓子: ユビキチンリガーゼFbw7によるCDKインヒビター発現制御. **第28回日本分子生物学会年会**. 福岡. 12/7 (2005).
49. 原賢太郎, 中山敬一, 中山啓子: Gemininは着床前初期発生に必須である. **第28回日本分子生物学会年会**. 福岡. 12/7 (2005).
50. 梶康一, 鈴木忠樹, 牧野吉倫, 渡部琢哉, 田中伸哉, 畠山鎮次, 中山啓子, 中山敬一, 澤洋文: 転写因子OLIG2による神経膠芽腫細胞の運動能抑制とそのメカニズムの解析. **第28回日本分子生物学会年会**. 福岡. 12/7 (2005).
51. 藤井洋, 矢田雅佳, 中山敬一: Fbxw7の異常と腫瘍形成～中心的な役割を果たすのはc-Mycか Cyclin Eか?. **第28回日本分子生物学会年会**. 福岡. 12/7 (2005).
52. 木村太一, 田中伸哉, 澤洋文, 恒松良祐, 中山啓子, 畠山鎮次, 中山敬一, 長嶋和郎: ヒト

- 滑膜肉腫関連癌原遺伝子SYT欠損マウスは発生初期に死亡する. *第28回日本分子生物学会年会*. 福岡. 12/7 (2005).
53. 高橋秀尚, 松本雅記, 佐藤学道, 畠山鎮次, 中山敬一: T細胞、B細胞受容体刺激によって引き起こされる翻訳因子eIF3複合体のチロシンリン酸化の解析. *第28回日本分子生物学会年会*. 福岡. 12/8 (2005).
54. 西山正章, 菊池章, 中山敬一: Duplinはp53を介してアポトーシスを抑制する新規癌遺伝子である. *第28回日本分子生物学会年会*. 福岡. 12/8 (2005).
55. Nakayama, K., Hara, K., Nakayama, K.I.: Geminin is essential for development of preimplantation embryos. *Cell Regulations in Division and Arrest Workshop*. 沖縄. 3/8 (2006).
56. Susaki, E., Nakayama, K.I.: Cyclin D2 escorts p27 to cytoplasm and promotes its degradation at the G0-G1 transition. *Cell Regulations in Division and Arrest Workshop*. 沖縄. 3/8 (2006).
57. Hara, K., Nakayama, K., Nakayama, K.I.: Geminin is essential for development of preimplantation embryos. *Cold Spring Harbor Symposium "The Cell Cycle"*. Cold Spring Harbor, NY. 5/18 (2006).
58. Onoyama, I., Tsunematsu, R., Nakayama, K., Nakayama, K.I.: Fbw7 is a key regulator of cell-cycle arrest and tumorigenesis during development. *Cold Spring Harbor Symposium "The Cell Cycle"*. Cold Spring Harbor, NY. 5/19 (2006).
59. Susaki, E., Nakayama, K., Nakayama, K.I.: p27 can substitute for p57 in mouse development. *Cold Spring Harbor Symposium "The Cell Cycle"*. Cold Spring Harbor, NY. 5/19 (2006).
60. Song, M.S., Song, S.J., Kim, S.Y., Yang, T.-H., Pfeifer, G.P., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Lim, D.-S.: RASSF1A is required for Skp2-mediated G1-S transition and stabilization of p53. *Cold Spring Harbor Symposium "The Cell Cycle"*. Cold Spring Harbor, NY. 5/19 (2006).
61. Shirane, M., Nakayama, K.I.: Inhibition of Rab11 by protrudin induces directional membrane transport and neurite formation. *20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology*. Kyoto, Japan. 6/20 (2006).

62. Nishiyama, M., Kikuchi, A., Nakayama, K. I. : Chromatin remodeling factor Duplin is a novel oncogene that blocks p53-mediated apoptosis pathway. *20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology*. Kyoto, Japan. 6/21 (2006).
63. Ohsaki, K., Oishi, K., Kozono, Y., Nakayama, K., Nakayama, K. I., Ishida, N. : The role of FWD1a and FWD1b as circadian rhythm formation. *20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology*. Kyoto, Japan. 6/21 (2006).
64. Suzuki, S., Fukasawa, H., Kitagawa, K., Togawa, A., Ohashi, N., Oda, T., Uchida, C., Hattori, T., Nakayama, K. I., Yamamoto, T., Hishida, A., Kitagawa, M. : Analysis of Skp2 function in experimental nephritis using Skp2 knockout mice. *20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology*. Kyoto, Japan. 6/23 (2006).
65. Sugihara, E., Nakayama, K., Nakayama, K. I., Saya, H., Miwa, M. : Suppression of centrosome amplification after DNA damage depends on p27 accumulation. *20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology*. Kyoto, Japan. 6/23 (2006).
66. Susaki, E., Nakayama, K. I. : Cyclin D2 escorts p27 to cytoplasm and promotes its degradation at the G0-G1 transition. *20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology*. Kyoto, Japan. 6/23 (2006).
67. Ishikawa, Y., Onoyama, I., Nakayama, K. I., Nakayama, K. : Regulation of CDK inhibitors by ubiquitin ligase Fbxw7. *20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology*. Kyoto, Japan. 6/23 (2006).
68. Matsumoto, A., Onoyama, I., Nakayama, K. I. : Expression of Fbw7 isoforms is regulated in a cell cycle- or p53-dependent manner. *20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology*. Kyoto, Japan. 6/23 (2006).
69. Hara, K., Nakayama, K. I., Nakayama, K. : Geminin is essential for development of preimplantation embryos. *20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology*. Kyoto, Japan. 6/23 (2006).
70. Ishida, N., Hatakeyama, S., Iemura, S.-I., Natsume, T., Nakayama, K., Nakayama, K. I. : GdX, an X-linked ubiquitin-like modifier, is conjugated to cyclin F and regulates mitotic exit. *20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology*. Kyoto, Japan. 6/23 (2006).

71. Onoyama, I., Tsunematsu, R., Nakayama, K., Nakayama, K.I.: Fbw7 contributes to cell-cycle regulation and tumor suppression during development. *20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology*. Kyoto, Japan. 6/23 (2006).
72. 木村太一, 澤洋文, 中山啓子, 中山敬一, 長嶋和郎, 田中伸哉: ヒト滑膜肉腫関連癌原遺伝子SYTは初期発生に必須である. *第65回日本癌学会学術総会*. 横浜. 9/28 (2006).
73. 杉原英志, 豊島秀男, 中山啓子, 中山敬一, 佐谷秀行, 三輪正直: p27の増加はDNA損傷後の中心体数異常の抑制に必要である. *第65回日本癌学会学術総会*. 横浜. 9/28 (2006).
74. 平松良浩, 北川恭子, 鈴木亨, 内田千晴, 服部隆行, 菊池寛利, 小田敏明, 畠山鎮次, 中山敬一, 山本雅, 今野弘之, 北川雅敏: 癌抑制遺伝子産物Tob1のSkp2によるユビキチン依存的分解機構. *日本分子生物学会2006フォーラム「分子生物学の未来」*. 名古屋. 12/7 (2006).
75. 雑賀徹, 多田敬典, 岡野栄之, 中山敬一: シナプス形成に重要なF-boxタンパク質Fbxo45. *「生物の発生・分化・再生」第5回公開シンポジウム*. 東京. 12/15 (2006).
76. 洲崎悦生, 山田哲也, 尾池雄一, 片桐秀樹, 中山敬一: 新規ユビキチン化酵素E4Bは摂食中枢の機能維持に関与する. *「生物の発生・分化・再生」第5回公開シンポジウム*. 東京. 12/15 (2006).
77. 小野山一郎, 松本有樹修, 松岡佐保子, 尾池雄一, 中山啓子, 中山敬一: Fbw7によるG0期維持とその破綻による発がん: 種々のコンディショナルノックアウトマウスによる解析. *「生物の発生・分化・再生」第5回公開シンポジウム*. 東京. 12/15 (2006).
78. 西山正章, 菊池章, 中山敬一: クロマチンリモデリング因子CHD8はp53依存的なアポトーシスを抑制する新規がん遺伝子である. *「生物の発生・分化・再生」第5回公開シンポジウム*. 東京. 12/15 (2006).
79. 東田裕一, Fang, J., Erdjument-Bromage, H., Warren, M.E., Borchers, C.H., Tempst, P., Zhang, Y.: Jmjドメイン含有タンパク質によるヒストンの脱メチル化. *「生物の発生・分化・再生」第5回公開シンポジウム*. 東京. 12/15 (2006).
80. 中川直, 押川千恵, 松本雅記, 中山敬一: 哺乳類のE4 (ユビキチンポリマー伸長因子) のノックアウトマウスおよびコンディショナルノックアウトマウスの機能解析. *「生物の発生・分化・再生」第5回公開シンポジウム*. 東京. 12/15 (2006).

81. Ishikawa, Y., Onoyama, I., Nakayama, K. I., Nakayama, K. : Accumulation of Notch induces cell cycle arrest in the tumor suppressor gene Fbxw7 deficient MEFs. *The Second International Workshop on Cell Regulations in Division and Arrest*. Onna, Okinawa, Japan. 3/26 (2007).
82. Kitagawa, K., Hiramatsu, Y., Suzuki, T., Uchida, C., Hattori, T., Kikuchi, H., Oda, T., Hatakeyama, S., Nakayama, K. I., Yamamoto, T., Konno, H., Kitagawa, M. : Tob1 is a novel target for degradation by the SCFSkp2 ubiquitin ligase. *The Second International Workshop on Cell Regulations in Division and Arrest*. Onna, Okinawa, Japan. 3/26 (2007).

(4) 特許出願

①国内出願 (4件)

1. 安達三美, 中山敬一, 北嶋繁孝.「心筋細胞の増殖方法」(出願人 第一サントリーファーマ株式会社, 株式会社第一サントリー生物医学研究所) 特願2003-391708. 2003/11/21.
2. 春日雅人, 内田亨, 阪上浩, 中村武寛, 中山敬一.「血糖調節障害の予防・治療剤,及びそれらのスクリーニング方法」(出願人 神戸大学長野上智行) 特願2004-037439. 2004/2/13.
3. 中山敬一, 白根道子.「細胞突起形成因子」(出願人 国立大学法人九州大学) (US Provisional Application 60/582632) 2004/10/6.
4. 中山敬一, 洲崎悦生.「抗肥満薬のスクリーニング方法」(出願人 国立大学法人九州大学) 特願2006-160965. 2006/6/9.

②海外出願 (0件)

(5) 受賞等

①受賞

1. 中山 敬一.
「哺乳類における細胞増殖と細胞死の制御機構の研究」日本学術振興会賞. 2005 3/22.
2. 中山 敬一.
「Ubiquitin ligases involved in cell-cycle control and cancer」JCA-Mauverney Award (Basic Research). 2007 10/4.

②新聞報道

1. 「抗アポトーシス分子 ミトコンドリアに局在～九大・中山教授ら機構解明」科学新聞. 2003 1/10.

2. 「がん抑制阻害酵素を発見～九大研究班」毎日新聞. 2004 11/7.
3. 「がん抑制酵素が妨害～九大・中山教授グループ発見」西日本新聞. 2004 11/8.
4. 「がん増殖抑制物質壊すたんぱく質～九大教授らが発見」朝日新聞. 2004 11/8.
5. 「たんぱく過剰分解に歯止め 細胞の異常増殖防ぐ～九大」日経産業新聞. 2004 11/8.
6. 「細胞のブレーキ外す仕組み解明～九大」日本経済新聞. 2004 11/8.
7. 「増殖のブレーキ壊す新物質発見～九州大」読売新聞. 2004 11/18.
8. 「がん抑える遺伝子発見」西日本新聞. 2004 12/9.
9. 「新しいがん抑制遺伝子 新薬開発や早期診断に応用へ 九大グループ特定成功」毎日新聞. 2004 12/9.
10. 「がん抑制の遺伝子 九大の研究所 機能発見、治療に道」読売新聞. 2004 12/9.
11. 「神経つなぐ突起形成過程を解明」日本経済新聞. 2006 11/3.
12. 「神経突起生成のメカニズム」NHKニュース. 2006 11/3.
13. 「神経突起作るタンパク 下半身まひの治療に光」西日本新聞. 2006 11/4.
14. 「突起伸ばすたんぱく質 九大教授ら確認 まひなど治療に道」毎日新聞. 2006 11/4.
15. 「神経細胞:突起を伸ばすたんぱく質、九大教授ら確認 まひなど治療に道」msn.ニュース. 2006 11/6.
16. 「神経突起作るタンパク発見/九州大、まひ治療の可能性」SHIKOKUNews. 2006 11/7.
17. 「脳神経突起つくるたんぱく質=再生医療応用に期待-九州大」YAHOOニュース. 2006 11/7.
18. 「神経突起作るタンパクを発見 まひ治療の可能性」NEWS, K. 2006 11/7.
19. 「神経突起形成に新知見 制御タンパク質発見「神経移植」実現に可能性」科学新聞. 2006 11/10.

20. 「神経細胞の突起を伸ばすたんぱく質」朝日新聞. 2006 11/14.
21. 「神経細胞の突起を伸ばすたんぱく質発見、難病治療に道」asahi.com. 2006 11/14.
22. 「神経突起作るタンパク発見 九州大、まひ治療の可能性」徳島新聞. 2006 11/14.
23. 「神経突起作るタンパク発見 九州大、まひ治療の可能性」京都新聞. 2006 11/14.
24. 「神経突起作るタンパク発見 九州大、まひ治療の可能性」山陽新聞. 2006 11/14.
25. 「科学技術振興機構「戦略的創造研究推進事業」CREST研究成果から」科学新聞. 2007 8/31.

③その他

特になし

(6) その他特記事項

ユビキチンリガーゼの研究は株式会社ロコモジェンとの共同研究「ユビキチン化酵素の阻害による新規抗肥満薬の開発」が JST・産学共同シーズイノベーション化事業に採択され、現在開発に向けた応用研究を展開中である。

7 研究期間中の主な活動

ワークショップ・シンポジウム等

年月日	名称	場所	参加人数	概要
平成14年 11月21日～22日	生医研セミナー	九州大学	30	演者：石田直理雄 所属：産総研 最新の知識の提供と議論
平成15年 5月21日～22日	生医研セミナー	九州大学	30	演者：高島明彦 所属：理化研 最新の知識の提供と議論
平成15年 5月23日～24日	生医研セミナー	九州大学	30	演者：井倉 毅 所属：広島大 最新の知識の提供と議論
平成15年 6月17日～18日	生医研セミナー	九州大学	30	演者：伊藤知彦 所属：名古屋大学 最新の知識の提供と議論
平成15年 7月11日～12日	生医研セミナー	九州大学	30	演者：和田圭司 所属：国立精神・神経センター 最新の知識の提供と議論
平成15年 10月11日～12日	チーム内ミーティング	東北大学	5	進捗状況の把握と研究展開の議論
平成16年 4月4日～5日	チーム内ミーティング	東北大学	5	進捗状況の把握と研究展開の議論
平成16年 6月17日	生医研セミナー	九州大学	30	演者：鉄 治 所属：カリフォルニア大学 最新の知識の提供と議論
平成16年 7月31日～8月5日	チーム内ミーティング	東北大学	5	進捗状況の把握と研究展開の議論
平成16年 9月3日～5日	チーム内ミーティング	東北大学	5	進捗状況の把握と研究展開の議論
平成17年 4月19日～20日	生医研セミナー	九州大学	30	演者：尾池雄一 所属：慶応大学 最新の知識の提供と議論
平成17年 5月20日～21日	生医研セミナー	九州大学	30	演者：加藤茂明 所属：東京大学 最新の知識の提供と議論
平成17年 6月10日～13日	チーム内 ミーティング	東北大学	5	進捗状況の把握と研究展開の議論
平成17年 6月30日～7月3日	チーム内 ミーティング	九州大学	25	進捗状況の把握と研究展開の議論

年月日	名称	場所	参加人数	概要
平成 17 年 7 月 15 日	生医研セミナー	九州大学	30	演者：高橋考太 所属：久留米大学 最新の知識の提供と議論
平成 18 年 4 月 17 日～18 日	生医研セミナー	九州大学	30	演者：菅野 純 所属：国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 最新の知識の提供と議論

8 結び

本研究の当初の目標は「細胞周期への再進入のメカニズムの解明」であったが、その研究が順調に進展したことに加え、2004年には「細胞周期からの脱出」に本質的な役割を果たすユビキチンリガーゼ Fbw7 を発見したことにより、こちらの研究も飛躍的に進展させることができた。また静止期から神経分化を引き起こす研究に関しても、E4B というユビキチンリガーゼを中心に大きな成果が上がっており、特にその最下流の機能分子プロトルーディンを発見したことは、この分野に関しても予想外の広がりを見せた。このように、われわれの研究は、まさに「生物の発生・分化・再生」を細胞周期研究の立場から網羅したものであり、この5年間の成果は次につながるものと期待している。

われわれは平成9年度から14年度まで、CREST「脳を守る」において主に神経細胞の細胞周期について研究を行ってきたが、平成14年度から19年度まで本CREST「生物の発生・分化・再生」で行った研究はその理論的延長線上にある。さらに本研究で培った多くのノックアウトマウスやプロテオミクス技術は、平成19年度から24年度までのCREST「生命システムの動作原理と基盤技術」における研究と基礎となった。このように3回にわたって切れ目なく連続してCRESTより支援をいただいていることは、われわれの研究活動にとって根本的な基盤であり、関係者各位に深く感謝の意を表したい。



九州大学 生体防御医学研究所 分子発現制御学分野