

いては現在検討中である。

E. 結論

(1) MALT リンパ腫に關与する API2-MALT1 キメラ遺伝子は、紫外線照射によるアポトーシスを抑制することが明らかとなった。

(2) API2-MALT1 キメラ蛋白に結合する蛋白としてアポトーシスに關与する Smac、HtrA2、TRAF2 が結合することが明らかとなった。

(3) ゲノム異常を解析するために、2300 個の BAC clone を用いた array CGH 法を確立した。更に、array CGH 法での解析により、DLBCL に認められる遺伝子増幅部位の一つである 13q31 増幅領域の新規責任遺伝子 C13orf25 を見出した。

F. 健康危機情報

本研究は愛知県がんセンターDNA 組換え実験委員会および倫理委員会の許可の元になされた。

G. 研究発表

- 1) Nomura, K., Yoshino, T., Nakamura, S., Akano, Y., Tagawa, H., Nishida, K., Seto, M., Nakamura, S., Ueda, R., Yamagishi, H. and Taniwaki, M.: Detection of t(11;18) (q21;q21) in marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphocytic tissue type on paraffin-embedded tissue sections by using fluorescence in situ hybridization. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 140: 49-54, 2003.
- 2) Ando, T., Suguro, M., Kobayashi, T., Seto, M., Honda, H.: Multiple fuzzy neural network system for outcome prediction and classification of 220 lymphoma patients on the basis of molecular profiling.

Cancer Sci., 94: 906-913, 2003.

- 3) Iwasundram, K., Suzuki, H., Seto, M., Hosokawa, Y.: Mutational analysis of the ST7 gene in human myeloid tumor cell lines. *Oncology Reports*, 10: 1737-1739, 2003.
- 4) Izumiyama, K., Nakagawa, M., Yonezumi, M., Kasugai, Y., Suzuki, R., Suzuki, H., Tsuzuki, S., Hosokawa, Y., Asaka, M., Seto, M.: Stability and subcellular localization of API2-MALT1 chimeric protein involved in t(11;18)(q21;q21) MALT lymphoma. *Oncogene*, 22: 8085-8092, 2003.
- 5) Nakamura, T., Inagaki, H., Seto, M., Nakamura, S.: Gastric low-grade B-cell MALT lymphoma: treatment, response, and genetic alteration. *J Gastroenterol.* 38: 921-929, 2003.
- 6) Suguro-Katayama, M., Suzuki, R., Kasugai, Y., Nakamura, T., Suzuki, H., Hosokawa, Y., Shiku, H., Nakamura, S., Seto, M.: Heterogeneous copy numbers of API2-MALT1 chimeric transcripts in mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *Leukemia*, 17: 2508-2512, 2003.
- 7) Karnan, S., Tagawa, H., Suzuki, R., Suguro, M., Yamaguchi, M., Okamoto, M., Morishima, Y., Nakamura, S., Seto, M.: Analysis of chromosomal imbalances in *de novo* CD5-positive diffuse large B-cell lymphoma detected by comparative genomic hybridization. *Genes Chromosomes Cancer*, 39: 77-81, 2004.
- 8) Matsuo, K., Hamajima, N., Suzuki, R., Andoh, S., Nakamura, S., Seto, M., Morishima, Y., Tajima, K.: Lack Of association between DNA base excision repair gene *XRCC1* Gln399Arg polymorphism and risk of malignant

- lymphoma in Japan. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 149: 77-80, 2004.
- 9) Tagawa, H., Karnan, S., Kasugai, Y., Tuzuki, S., Suzuki R., Hosokawa, Y., Seto, M: MASL1, a candidate oncogene found in amplification at 8p23.1, is translocated in immunoblastic B-cell lymphoma cell line OCI-LY8. *Oncogene*, in press
 - 10) Hosokawa, Y., Suzuki, H., Suzuki, Y., Takahashi, R., Seto, M: Anti-apoptotic function of API2-MALT1 fusion protein involved in t(11;14)(q21;q21) MALT lymphoma, *Cancer Res*, in press.
 - 11) Ota, A., Tagawa, H., Karnan, S., Suzuki, Y., Karpas, S., Kira, S., Yoshida, Y., Seto, M: Identification and characterization of a novel gene, C13orf25, as a target for 13q31-q32 amplification in malignant lymphoma, *Cancer Res.*, in press.

厚生科学研究費補助金（がん克服戦略研究事業）
分担研究報告書

固形腫瘍の発生と増悪に関わる分子病態の解析

分担研究者 高橋 隆

愛知県がんセンター研究所・分子腫瘍学部・部長

研究要旨 我が国におけるがん死亡原因の首位である代表的難治がんの肺がんを対象に、その分子病態に基づいた新しい診断と治療の開発を可能とする基盤的情報の獲得を目指した検討を進めた。(1) ヒト肺がん細胞株 20 株を用いた網羅的遺伝子発現解析を進め、14 種類の抗がん剤や分子標的薬に対する感受性に関連する遺伝子群の探索と個別的な感受性予測を目指した解析を進めた。その結果、多剤耐性に関わる可能性を持つ遺伝子群の抽出に成功し、現在さらにその機能解析とともに薬剤感受性の予測法の開発を進めつつある。(2) ヒト肺小細胞がんにおける高頻度の DNA ダメージ G2 チェックポイント異常が、DNA ダメージレスポンスの初期相に関わる遺伝子の機能異常による可能性を示唆する結果を得て、さらにその分子機序の解明を目指し研究を展開しつつある。

A. 研究目的

本研究は、我が国におけるがん死亡原因の首位であり代表的難治がんの肺がんを対象に、その分子病態に基づいた新しい診断と治療の開発を可能とする基盤的情報の獲得を目的とする。とくに本年度は、(1) ヒト肺がん細胞の各種抗がん剤や分子標的薬に対する感受性に関わる遺伝子の探索と、個別的な感受性予測を可能とすること、並びに(2) ヒト肺小細胞がんに特徴的に見られる DNA ダメージ G2 チェックポイント異常の分子機序解明を目指した。

B. 研究方法

(1) ヒト肺がん治療薬に対する感受性に関わる遺伝子群探索と予測法の開発：

ヒト肺がん細胞株 20 株(小細胞がん 5 株、扁平上皮がん 5 株、腺がん 7 株、大細胞がん 3 株)と約 10,000 遺伝子に対応するマイクロアレーを用いて得た網羅的遺伝子発現

解析データと、肺がん治療に有効な 9 種類の抗がん剤(CDDP, CBDCA, VP-16, SN-38, GEM, VNR, TXL, TXT, SM-5887)及び 4 種類の分子標的薬(celecoxib, JTE-522, nimesulide, R-109339, ZD1839)に対する IC₅₀ 値をもとに、階層的クラスタリング及び Pearson 相関解析などによる解析を加えた。

(2) DNA ダメージ G2 チェックポイント異常の分子機序に関する検討：

ヒト肺がん細胞株 10 株において、DNA ダメージ G2 チェックポイント異常の有無について、1Gy 放射線照射下における M 期への流入抑制を指標に検討を加えるとともに、G2 チェックポイントの上流及び下流に位置する分子の異常との関連性について、in vitro kinase アッセイ、Western ブロット、免疫蛍光染色などを用いた検討を加え、また特に関与の可能性が示唆された分子については直接塩基配列決定法による変

異検索を行なった。

C. 研究結果と考察

(1) ヒト肺がん治療薬に対する感受性に関わる遺伝子群探索と予測法の開発：

ヒト肺がん細胞株 20 株が示す 9 種類の抗がん剤及び 5 種類の分子標的薬に対する IC₅₀ 値をもとに、階層的クラスタリング解析を行なったところ、作用機作の類似した抗がん剤が隣接してクラスタリングされる一方、分子標的薬は独立したクラスターを形成し、得られた感受性データの有用性を支持する結果が得られた。さらに、約 10,000 遺伝子を対象とする網羅的遺伝子発現解析によって得られたデータについて、各種フィルタリングによる前処理を進め、340 種類の遺伝子を受容性との関連性を解析するのに有用な遺伝子群として選別した。これらの遺伝子群の発現と上述の薬剤に対する IC₅₀ 値との正或いは負の相関の強さにもとづいた階層的クラスタリング解析を行なったところ、多種類の抗癌剤に対する耐性或いは感受性と良い相関を示す、多剤耐性或いは高感受性に寄与する可能性を持つ遺伝子群の存在が明らかとなった。多剤耐性に関わる遺伝子として同定された遺伝子群には P450 遺伝子の一つであり薬剤耐性との関連を示唆する報告のある CYP1B1 を含む既知遺伝子と未知の EST が含まれていた。現在、これらの検討によって関連が示唆された遺伝子群について、siRNA による遺伝子ノックダウンを行い、その直接的な機能的関与について解析をすすめるとともに バイオインフォマティクス解析手法を駆使した薬剤感受性予測法の樹立を試みつつある。

ヒト肺がんは依然として代表的な難治がんではあるが、近年開発された抗がん剤においてはある程度の奏功率が得られているので、個々の症例において感受性を示す抗

がん剤を各々の患者個別に事前選択する手法を開発できれば、不要な副作用を回避しつつ十分な治療効果を得られる可能性がある。一方、本研究を通じて同定した多剤耐性に関わる可能性のある遺伝子群の機能的寄与について現在遂行中の検討は、将来的に多剤耐性解除法の開発と応用による飛躍的な治療成績の向上につながる可能性が期待される。

(2) DNA ダメージ G2 チェックポイント異常の分子機序に関する検討：

ヒト肺がん細胞株 10 株中 4 株 (40%) において、1 Gy 放射線照射による DNA ダメージに対する G2 期停止の不全を認めた。これらの DNA ダメージ G2 チェックポイント異常をもつ細胞株においては、放射線照射に呼応した cyclinB1/cdc2 複合体のキナーゼの不完全な活性低下が、M 期への流入の抑制と良く対応して検出された。一方、これらの G2 チェックポイント反応を上流において制御する ATM キナーゼによる CHK2Thr68 のリン酸化は、DNA ダメージ G2 チェックポイント異常の有無に関わらず正常であり、CHK2 を介する経路は、5-10Gy の高線量照射における場合と異なり 1Gy 程度の比較的低線量の照射には関与していないとする最近の報告と一致する結果が得られた。そこで、DNA ダメージレスポンスの初期相に関連する 53BP1 や γ -H2AX によるフォーカス形成を検討したところ、DNA ダメージチェックポイント異常を持つ細胞株に特異的に H2AX 分子のリン酸化フォームである γ -H2AX のフォーカス形成の異常があることを明らかとし得た。さらに、これが H2AX 遺伝子自身の変異によらないことを直接的塩基配列決定法によって明らかとした。現在さらに詳細に、 γ -H2AX のフォーカス形成異常の分子機序について検討を加えつつある。

我々はこれまでにヒト肺小細胞がんが組

織型特異的に高頻度に DNA ダメージ G2 チェックポイントの異常を示すことを報告してきた。今後の研究の進展によって、DNA ダメージ G2 チェックポイント異常の責任分子を明らかとすることができれば、極めて生物学的悪性度の高い肺小細胞がんの分子病因解明に寄与しえるのみならず、放射線治療や抗がん剤治療に対する感受性増強法の開発などにつながることを期待される。

D. 結論

網羅的遺伝子発現解析にもとづいて、ヒト肺がん治療薬に対する多剤耐性に関わる可能性を持つ遺伝子群の抽出に成功した。今後さらにそれらの遺伝子群について機能的解析を展開するとともに、バイオインフォマティクス解析手法を駆使して薬剤感受性予測法開発へとつなげる予定である。

我々が存在を明らかにしたヒト肺小細胞がんにおける高頻度の DNA ダメージ G2 チェックポイント異常が、DNA ダメージレスポンスの初期相に関わる分子である H2AX の機能的な異常による可能性を示唆する結果を得た。現在さらに分子機序の完全解明を目指した研究を展開しつつある。

E. 健康危機情報

なし

F. 研究発表

1. Masuda, A., Maeno, K., Nakagawa, T. Saito, T., and Takahashi T. Association between mitotic spindle checkpoint impairment and susceptibility to the induction of apoptosis by antimicrotubule agents in human lung cancers. *Am. J. Pathol.* 163: 1106-1119, 2003.
2. Konishi, H., Sugiyama, M., Mizuno, K., Saito, H., Yatabe, Y., Takahashi, T., Osada, H. and Takahashi T. Detailed characterization of a homozygously deleted region corresponding to a candidate tumor suppressor locus at distal 17p13.3 in human lung cancer. *Oncogene* 22: 1892-1905, 2003.
3. Suzuki, T., Nakagawa, T., Endo, H., Mitsudomi, T., Masuda, A., Yatabe, Y., Sugiura, T., Takahashi, T., and Hida, T. The sensitivity of lung cancer cell lines to the EGFR-selective tyrosine kinase inhibitor ZD1839 ('Iressa') is not related to the expression of EGFR or HER-2 or to *K-ras* gene status. *Lung Cancer* 42: 35-41, 2003.
4. Endoh, H., Yatabe, Y., Shimizu, S., Tajima, K., Kuwano, H., Takahashi, T., and Mitsudomi, T. RASSF1 gene inactivation in non-small cell lung cancer and its clinical implication. *Int. J. Cancer* 106: 45-51 2003.
5. Virmani, A., Rathi, A., Sugio, K., Sathyanarayana, U.G., Toyooka, S., Kischel, F.C., Tonk, V., Padar, A., Takahashi, T., Roth, J.A., Euhus, D. M., Minna, J.D., and Gazdar, A. Aberrant methylation of TMS1 in small cell, non-small cell lung cancer and breast cancer. *Int. J. Cancer* 106: 198-204, 2003.
6. Yokoi, S., Yasui, K., Iizasa, T., Takahashi T., Fujisawa, T., and Inazawa, J. Downregulation of SKP2 induces apoptosis in lung cancer cells. *Cancer Sci.* 94: 344-349, 2003.
7. Sithananda, G., Smith, G. T., Masuda, A., Takahashi, T., Anderson, L. M., and Fornwald, L. W. Cell cycle activation in lung adenocarcinoma cells by the ErbB3/phosphatidylinositol3 kinase/Akt pathway. *Carcinogenesis* 24: 1581-1592, 2003.

8. Hanai, T., Yatabe, Y., Nakayama, Y., Takahashi, T., Honda, H., Mitsudomi, T., Kobayashi, T. Prognostic models in patients with non-small-cell lung cancer using artificial neural networks in comparison with logistic regression. *Cancer Sci.* 94: 473-477, 2003.
9. Tajima, K., Obata, Y., Tamaki, H., Yshida, M., Chen, Y. -T., Scanlon, M. J., Old, L. J., Kuwano, H., Takahashi, T., Takahashi, T., and Mitsudomi, T. Expression of cancer/testis (CT) antigens in lung cancer. *Lung Cancer* 42: 23-33, 2003.
10. Cheng R. Y. S., Zhao, A., Alvord, W. G., powell, D. A., Bare, R. M., Masuda, A., Takahashi, T., Anderson, L. M, and Kasprzak, K. S. Gene expression dose-response changes in microarrays after exposure of human peripheral lung epithelial cells to nickel(II). *Toxicol. and Applied Pharmacol.* 191:22-39, 2003.
11. Virmani, A., Rathi, A., Sugio, K., Heda, S., Lewis, C., Tonk, V., Takahashi, T., Roth, J.A., Minna, J.D., Euhus, D.M., Gazdar, A.F. Aberrant methylation of the cyclin D2 promoter in primary small cell, non-small cell and breast cancers. *Int. J. Cancer* 107: 341-345, 2003.
12. Tomida, S., Koshikawa, K., Yatabe, Y., Harano, T., Ogura, N., Mitsudomi, T., Some, M., Takahashi, T., Osada, H., and Takahashi, T. Gene expression-based, individualized outcome prediction of surgically treated lung cancer patients. *Oncogene* (in press).
13. Osada H., Tatematsu, Y., Saito, H., Yatabe, Y., Mitsudomi, T., and Takahashi, T. Reduced expression of class II HDAC genes are associated with poor prognosis in lung cancer patients. *Int. J. Cancer* (in press).
14. Yatabe, Y., Koga, T., Mitsudomi, T., and Takahashi, T. A subset of lung adenocarcinoma with CK20 and CDX20 expression, K-ras mutation and goblet cell morphology. *J. Pathol.* (in press).
15. Yatabe, Y., Mitsudomi, T., and Takahashi T. Cellular property-associated expression of maspin controlled by promoter DNA methylation in normal lung and non-small cell lung cancers. *Oncogene* (in press).
16. Endoh, H., Tomida, S., Yatabe, Y., Konishi, H., Osada, H., Tajima, K., Kuwano, H., Takahashi, T., and Mitsudomi, T. Prognostic model of pulmonary adenocarcinoma by expression profiling of eight genes as determined by quantitative real-time RT-PCR. *J. Clin. Oncol.* (in press).
17. Okudera, K., Hayashi, H., Ito, T., Yazawa, T., Suzuki, T., Nakane, Y., Sato, H., Ishi, H., Keqin, X, Masuda, A., Takahashi, T., and Kitamura, H. K-ras gene mutation enhances motility of immortalized airway cells and lung adenocarcinoma cells via Akt activation (possible contribution to non-invasive expansion of lung adenocarcinoma). *Am. J. Pathol.* (in press).
18. Koga T., Horio, Y., Mitsudomi, T., Takahashi, T., and Yatabe, Y. A novel approach to identifying markers of tissue-specific expression: Use of MGB in the differential diagnosis of lung tumors in patients with a history of breast cancer. *J. Mol. Diag.* (in press).
19. Iwafuchi, H., Mori, N., Takahashi, T., and Yatabe, Y. Phenotypic composition of salivary gland tumors; an application of principle component analysis to tissue microarray data. *Modern Pathol.* (in press).

20. Hashimoto, M., Ichihara, M., Watanabe, T., Kawai, K., Koshikawa, K., Yuasa, N., Takahashi, T., Yatabe, Y., Murakumo, Y., Zhang, J.M, and Nimura, Y. Expression of CD109 in human cancer. *Oncogene* (in press).

厚生労働省科学研究費補助金（がん克服戦略研究事業）
分担研究報告書

がん細胞の増殖・浸潤にかかわる細胞骨格の研究

分担研究者 稲垣 昌樹
愛知県がんセンター研究所 発がん制御研究部 部長

研究要旨

細胞骨格系の極性形成に関与している ERBIN が、細胞間接着の制御に関与していることを示した。また、白血病転座関連遺伝子セプチン Sept9/MSF と、がん細胞浸潤・転移で重要な役割を果たす Rho シグナルとの連関を解析した。一方、がん細胞で発現異常が見られる Aurora キナーゼは、スレオニン 232 (T232) が自己リン酸化され、この自己リン酸化が Aurora-B の活性化に必須であること、また、このリン酸化は細胞分裂に重要な機能を持つことを示した。

A. 研究目的

がんの増殖・浸潤に関わる細胞骨格蛋白質として、細胞骨格系の極性形成に関与する ERBIN、増殖・浸潤に関与するセプチン、さらに細胞周期制御因子 Aurora キナーゼの機能解析を試みる。更に、抗体を作成し、診断への応用を計る。これらの研究は、いずれもヒト腫瘍を直接対象とした検索であり、得られる成果を、がんの診断・治療・予防に応用することを目指す。

B. 研究方法

(1) 細胞極性制御因子 ERBIN の機能解析

細胞骨格系の極性形成に関与する ERBIN を、培養上皮細胞で siRNA を用いてノックダウンし、細胞間接着の形成を観察した。

(2) セプチン Sept9 の性状と機能の解析

生化学・分子細胞生物学的手法を用いてセプチン MSF ファミリー (Sept9) の性状と機能解析を行い、さらにセプチン間の相互作用の分子機構を解析した。また、種々のが

ん細胞における発現異常を検索した。

(3) Aurora キナーゼの機能解析

Aurora キナーゼががんの細胞周期において果たす役割を解析するため、そのリン酸化部位を同定し、その部位に対する抗リン酸化抗体を用いて、解析を行った。

C. 研究結果

(1) 細胞極性制御因子 ERBIN の機能解析

LAP (leucine-rich repeats and PDZ) 蛋白質ファミリーは細胞極性形成に関与していることが最近報告されており、ショウジョウバエの Scribble は、がん抑制機能をもつことが知られている。がん遺伝子産物である c-erbB-2 レセプターと結合する分子として同定された ERBIN は、c-erbB-2 レセプターを basolateral membrane (側基底面) に局在化させる機能をもつ。これまでに私共は、ERBIN の PDZ ドメインと結合する蛋白質として、p120 カテニン・サブファミリーに属し、アルマジロ蛋白質である p0071

蛋白質を同定している。培養上皮細胞において ERBIN を siRNA を用いてノックダウンすると細胞間接着の形成が遅延する傾向が認められ、ERBIN が細胞間接着の形成を制御していることが示された。

(2) セプチン Sept9 の性状と機能の解析

私共は、酵母 Two-hybrid 法を用い、Sept9 の結合蛋白質をスクリーニングした。その結果、新規 Rho 活性化因子 (GEF) を同定し、SA-RhoGEF と命名した。ノーザンブロット法により、この遺伝子は約 7.5 kb の mRNA として全身の種々の臓器で発現していた。次に、Sept9 と SA-RhoGEF の分子内のどの領域が相互作用に関わっているのかを酵母 Two-hybrid 法で検討した。その結果、Sept9 の N 末端を含む領域が SA-RhoGEF の C 末端近傍に結合することが示された。さらに、*in vivo* における種々のセプチンと SA-RhoGEF の結合の特異性を検討したところ、SA-RhoGEF が Sept9 と特異的に結合することが判明した。ついで、SA-RhoGEF に対する特異抗体を作成し、REF52 細胞から内在性の Sept9 を免疫沈降したとき、SA-RhoGEF の共沈が確認された。この結果は、REF52 細胞内で Sept9 と SA-RhoGEF は生理的な複合体を形成していることを示唆する。さらに REF52 で細胞染色を行ったところ、SA-RhoGEF は Sept9 と直接結合しながらアクチン繊維上に局在すると考えられた。

(3) Aurora キナーゼの機能解析

Aurora-B は細胞周期において染色体の分離や細胞質分裂の進行に重要な役割を果たしているキナーゼと考えられている。これまでに私共は III 型中間径フィラメント (IF) タンパク質であるビメンチン、デスミンと GFAP が Aurora-B によりリン酸化され、フィラメント形成能を失うことを見出して

いる。私共はさらに、Aurora-B キナーゼは、スレオニン 232 (T232) が自己リン酸化されていることを見出した。そして、この自己リン酸化が Aurora-B の活性化に必須であること、また、Aurora-B によってリン酸化された INCENP は Aurora-B をより活性化すること、を示した。さらに、Aurora-B の T232A 変異体を発現させると多核の細胞の出現を認め、この部位のリン酸化は細胞分裂に重要な機能を持つことが明らかとなった。

D. 考察

(1) 細胞極性制御因子 ERBIN の機能解析

LAP ファミリー蛋白質群の一員である ERBIN が p0071 との相互作用を介して、細胞間接着制御に関与していることを見出した。最近、がん細胞における細胞極性の異常が注目されているが、ERBIN による細胞間接着制御をさらに解析することで、がんの浸潤・転移の分子メカニズムを明らかにしていきたい。

(2) セプチン Sept9 の性状と機能の解析

これまでの遺伝学的・生化学的・細胞生物学的研究結果から、セプチンはアクチン・微小管などの細胞骨格の構造・機能と密接な関連があると推測されてきた。しかし、セプチンとアクチンの相互関連の分子機構は殆ど不明であった。私共は、Sept9 結合蛋白質として Rho 特異的 GEF を同定し SA-RhoGEF と命名した。SA-RhoGEF は *in vitro* と *in vivo* で Sept9 と複合体を形成し、特異抗体を用いた REF52 細胞の蛍光染色ではアクチン繊維に沿った共局在を示した。また、Sept9 が SA-RhoGEF 依存性の Rho 活性化を特異的に抑制することを *semi-in vivo* の実験系で確認した。以上の結果より、SA-RhoGEF はセプチンフィラメントを足場

としてアクチンの再構成を制御し、その破綻が白血病などのがんの病態形成に関与する可能性が示唆される。

(3) Auroraキナーゼの機能解析

これまでに私共は細胞質分裂期に分裂溝で特異的に活性化され、中間径フィラメントをリン酸化する分裂溝キナーゼとして、Rhoキナーゼを同定していた。そして、ビメンチン、GFAP、デスミンを用いて、Aurora-Bキナーゼがもう一つの分裂溝キナーゼであることを明らかにした。本研究において、Aurora-Bキナーゼの活性化機構の解析を行い、スレオニン232 (T232)の自己リン酸化がAurora-Bの活性化に必須であることを見出した。このリン酸化部位を特異的に認識する抗リン酸化抗体は、がん細胞におけるAurora-Bの活性化状態を検出することに応用可能である。また、この活性化機構の解明は、Aurora-Bをターゲットとした抗がん剤の開発にも役立つものと期待される。

E. 結論

(1) 細胞極性の制御に関与している分子であるERBINが、p120カテニン類似蛋白質であるp0071と相互作用し、細胞間接着の制御に関与していることを見出した。

(2) 白血病転座関連遺伝子・セプチンSept9とがん細胞浸潤・転移のキー分子であるRhoとの接点を初めて見出した。

(3) がん細胞で発現異常が見られるAurora-Bキナーゼは、スレオニン232 (T232)が自己リン酸化され、この自己リン酸化がAurora-Bの活性化に必須であること、また、このリン酸化は細胞分裂に重要な機能を持つことを示した。

F. 健康危険情報

該当無し

G. 研究発表

1) Kawajiri, A., Yasui, Y., Goto, H., Tatsuka, M., Takahashi, M., Nagata, K. and Inagaki, M.: Functional significance of the specific sites phosphorylated in desmin at cleavage furrow : Aurora-B may phosphorylate and regulate type III intermediate filaments during cytokinesis coordinatedly with Rho-kinase. *Mol.Biol.Cell* 14: 1489-1500, 2003.

2) Goto, H., Yasui, Y., Kawajiri, A., Nigg, E.A., Terada, Y., Tatsuka, M., Nagata, K. and Inagaki, M.: Aurora-B regulates the cleavage furrow-specific vimentin phosphorylation in the cytokinetic process. *J. Biol. Chem.* 278: 8526-8530, 2003.

3) Minoshima, Y., Kawashima, T., Hirose, K., Tonozuka, Y., Kawajiri, A., Bao, Y.C., Deng, X., Tatsuka, M., Narumiya, S., May, W.S.Jr., Nosaka, T., Semba, K., Inoue, T., Satoh, T., Inagaki, M. and Kitamura, T.: Aurora B phosphorylates MgcRacGAP and induces PhoGAP activity during M phase: identification of a RhoGAP indispensable for cytokinesis. *Dev.Cell* 4:549-560, 2003.

4) Nagata, K., Kawajiri, A., Matsui, S., Takagishi, M., Siromizu, T., Izawa, I., Kiyono, T., Itoh, T.J., Hotani, H. and Inagaki, M.: Filament formation of MSF-A, a mammalian septin, in mammary HMEC cells depends on interactions with microtubules. *J. Biol. Chem.* 278: 18538-18543, 2003.

5) Maeda, K., Mizuno, M., Wakabayashi, T., Takasu, S., Nagasaka, T., Inagaki, M. and Yoshida, J.: Morphological assessment of the development of multinucleated giant cells in glioma by using mitosis-specific phosphorylated antibodies. *J. Neurosurg* 98:854-859, 2003.