

厚生労働科学研究費補助金

第3次対がん総合戦略研究事業

ヒトがんで高頻度に変異の見られるがん関連遺伝子の発がんにおける
意義の解明とその臨床応用に関する研究

平成16年度～18年度 総合研究報告書

主任研究者 田矢 洋一

平成19（2007）年 4月

目 次

I. 総合研究報告	
ヒトがんで高頻度に変異の見られる がん関連遺伝子の発がんにおける意義 の解明とその臨床応用に関する研究 田矢 洋一	-----1
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----7

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
総合研究報告書

ヒトがんで高頻度に変異の見られるがん関連遺伝子の発がんにおける
意義の解明とその臨床応用に関する研究

主任研究者 田矢 洋一 国立がんセンター研究所放射線研究部・部長

研究要旨： MOZがp53の転写コアクチベーターとして作用し、DNA障害時のp53に依存したp21の発現誘導に必須であり、細胞周期停止を選択的に誘導する因子であることが示唆された。血管新生抑制に関与するSEMA3FとNRP2をp53ターゲット遺伝子として同定した。活性型p53-46Fが、正常型p53に比べより強力な抗腫瘍活性を示すことを明らかにした。また、p53が細胞膜周辺でエンドサイトーシスや細胞運動を制御しているということも全く予想されていなかったことを発見したが、これはがん転移を防ぐ方法の開発に応用できるのではないかと期待できる。DNAダメージを細胞に与えると、E2F種のうちE2F1のみがRB蛋白質と強く結合するようになることを見出した。この時、RB蛋白質のSer612のリン酸化がこの複合体形成を促進することも発見した。しかも、このリン酸化Chk1とChk2によってなされることも明らかにした。一方、生体内におけるp16^{INK4a}およびp21^{Waf1}遺伝子の発現動態をリアルタイムに解析出来るインビボ・イメージングシステムの構築に成功した。

分担研究者

1. 田矢 洋一 国立がんセンター研究所
放射線研究部・部長
2. 荒川 博文 国立がんセンター研究所
生物物理部・部長
3. 北林 一生 国立がんセンター研究所
分子腫瘍学部・部長
4. 原 英二 徳島大学
ゲノム機能研究センター・教授
5. 北川 雅敏 浜松医科大学
医学部生化学第一講座・教授

A. 研究目的

非常に多くのヒトがんにおいて、p53とRB蛋白質を中心とした細胞周期、チェックポイント関連蛋白質に変異が起きていることがわかってきた。したがって、これらの蛋白質の生理機能を集中的に解析することによって、多くのヒトがんに共通した発がん機構を明らかにでき、新しいがん治療法開発への応用の道も開けると期待できる。本研究はそれを目指した。

B. 研究方法

1) MOZとp53

MOZ複合体及びPML複合体を精製することによりこれらに結合して作用するタンパク質を同定し、これらの機能を調べた。MOZ欠損胎児性繊維芽細胞MEFにおけるDNA傷害に対する感受性を調べることにより、p53を介した細胞周期やアポトーシスの制御におけるMOZの役割について検討した。

2) 新規p53標的遺伝子

アデノウイルスを用いて正常型p53と活性型p53を肝癌細胞株に導入し、これらp53によって発現誘導される遺伝子群をスクリーニングした。複数の新規p53ターゲット遺伝子群を同定し、個々の機能解析を行った。細胞死誘導に関与するターゲット遺伝子や活性型p53は、アデノウイルスベクターを構築し、ヌードマウスに移植した腫瘍に対する抗腫瘍効果を判定した。

3) 核と細胞膜周辺でのp53の新機能

エンドサイトーシスで重要な役割を演じるクラスリン重鎖（CHC）が一部分核内にも存在してp53と直接結合し、p53依存性転写に必須の役割を演じるこ

とを見つけていたので、その解析を続けた。さまざまなCHCの変異体を作製してp53との結合にどの領域が使われるのか詳細に調べた。一方で、細胞膜周辺でのp53を蛍光顕微鏡や免疫電子顕微鏡で観察した。

4) RB蛋白質

細胞にDNAダメージを与え、リン酸化部位特異的な抗体でRB蛋白質のリン酸化状態を解析した。さらにその際のE2F-1とRB蛋白質との結合を解析した。

5) p16^{INK4a}及びp21^{Waf1}

(1) *SEI-1*遺伝子を欠損したノックアウトマウスを作成することにより、*SEI-1*によるCDK4キナーゼ活性化機構を解析した。(2) 老化細胞においてp16^{INK4a}遺伝子の発現をRNA干渉法により抑制することによりp16^{INK4a}による細胞老化誘導の作用機序を解析した。(3) p16^{INK4a}およびp21^{Waf1}遺伝子の転写調節領域の下流にルシフェラーゼ遺伝子を挿入した組み換えDNA断片を用いてトランスジェニックマウスを作製した。それらのトランスジェニックマウスを用いてp16^{INK4a}およびp21^{Waf1}遺伝子の生体内での発現をリアルタイムに解析した。

6) RB蛋白質、p27^{Kip1}、Tob1の量的制御機構

癌抑制活性を持つRB蛋白質、p27^{Kip1}、Tob1の量的制御機構の解明のため、各タンパクのユビキチンリガーゼの候補分子を用い、両者の結合、ユビキチン化、分解速度を解析した。さらにノックダウンやノックアウト細胞を用いこれを検証した。

(倫理面への配慮)

1) 国立がんセンターの実験において用いる癌細胞株は世界的にも広く実験室で用いられている細胞であり、特定の患者検体を用いたものではない。また、ヌードマウスを用いた実験は、国立がんセンター動物実験倫理委員会の実験指針に従って行われた。

2) 徳島大学と浜松医大での臨床サンプルの使用にあたっては、それぞれの大学の倫理委員会の承認を得た後にインフォームドコンセントを経て行った。また、データの発表に関してはサンプルの提供者が特定出来ないように配慮した。

C. 研究結果

以下の様な結果が得られた。

1) MOZとp53

MOZがp53と結合してp53を介した転写を活性化することを見出した。MOZ欠損MEFではアドリアマイシン処理後にG1期での細胞周期の停止が見られず、野生型に比べてアポトーシスを起こす細胞が顕著に増加していた。p53の下流遺伝子を調べたところ、MOZ欠損細胞では細胞周期の停止に関わるp21の発現上

昇が見られず、アポトーシスに関わるBaxの発現がアドリアマイシン処理後早期から上昇していた。

2) 新規p53標的遺伝子

細胞死誘導に関与する新規p53ターゲット遺伝子として、BLNK遺伝子、DFNA5遺伝子を同定した。これら遺伝子がp53によって誘導される細胞死や、抗癌剤によって誘導される細胞死に重要な働きをする可能性を明らかとした。血管新生抑制に関与するSEMA3FとNRP2をp53ターゲット遺伝子として同定した。活性型p53-46Fが、正常型p53に比べより強力な抗腫瘍活性を示すことを明らかとした。

3) 核と細胞膜周辺でのp53の新機能

CHCは核内でp53結合する時には3量体を形成する必要がないことがわかった。EGFを加えるとp53は細胞膜付近のアクチンファイバー周辺に集まることや、p53をノックダウンするとアクチンファイバーのメッシュ状構造が形成されなくなることも見いだした。さらにp53をノックダウンすると細胞運動が亢進し、そこに正常なp53を戻してやると再び細胞運動が抑制されることもわかった。

4) RB蛋白質

DNAダメージを細胞に与えると、E2F種のうちE2F1のみがRB蛋白質と強く結合するようになることを見出した。この時、RB蛋白質のSer612のリン酸化がこの複合体形成を促進することも発見した。しかも、このリン酸化はChk1とChk2によってなされることも明らかにした。

5) p16^{INK4a}及びp21^{Waf1}

(1) *SEI-1*遺伝子を欠損したES細胞では、通常分化誘導の際に見られるサイクリンD1キナーゼの活性化が起こらないことを見出した。またSEI-1蛋白質は細胞内においてPP2A複合体と結合していることを見出した。(2) 老化細胞においてp16^{INK4a}は細胞周期のG1期からS期への進行だけでなく、ROSの産生を介してPKCδを恒常的に活性化することで細胞質分裂も不可逆的に抑制することを明らかにした。(3) p16^{INK4a}およびp21^{Waf1}遺伝子の生体内における発現をリアルタイムに解析できるシステムの構築に成功した。

6) RB蛋白質、p27^{Kip1}、Tob1の量的制御機構

RB蛋白質、p27^{Kip1}、Tob1のそれぞれMdm2、Pirh2、SCF-Skp2と結合し、ユビキチン化され、分解を受けることが判明した。さらにMdm2、Pirh2、Skp2のノックダウンやノックアウト細胞でRB蛋白質、p27^{Kip1}、Tob1が安定化していることがわかった。

D. 考察

1) MOZとp53

p53はDNA障害などのストレスに伴う細胞周期停止やアポトーシスの制御に重要であるが、細胞周期停止かアポトーシスかを選択する制御機構は不明であった。MOZはp53の標的遺伝子の内p21遺伝子を特異

的に誘導し、細胞周期停止に必須であるが、Baxなどのアポトーシス関連の発現誘導には必要ではなく、むしろ抑制していることが示された。

2) 新規p53標的遺伝子

BLNK遺伝子やDFNA5遺伝子の機能解析は、p53依存性細胞死のメカニズムを明らかとするだけでなく、それを応用した細胞死誘導を基盤とする新しいがん治療法の開発につながると考えられる。また、新しい血管新生抑制因子であるSEMA3F-NRP2経路のメカニズムの詳細な解析は、腫瘍血管を標的とした全く新しいがん治療法の開発につながることが期待される。さらに、活性化型p53-46Fを用いた遺伝子治療は、これまでの正常型p53の遺伝子導入に耐性であった腫瘍に対する新しい治療戦略となる可能性がある。

3) 細胞膜周辺でのp53の新機能

エンドサイトーシスとp53というこれまで全く関係ないと思われていた分野をつなぐ新しい研究分野が開かれると期待される。また、p53が細胞運動を抑制しているということは、p53が変異して失活すると癌細胞の浸潤や転移が起き易くなることをも示唆しており、今後そういう方向へ研究が発展することも期待される。

4) RB蛋白質

RB蛋白質のSer612のリン酸化がE2F1との複合体形成を促進することは全く予想していなかった新発見であり、しかも、そこをリン酸化する酵素がChk1と2であることを明らかにしたことは重要であり、RB蛋白質に関する全く新しい研究を切り開くと期待される。

5) p16^{INK4a}及びp21^{Waf1}

発癌と密接な関係があるサイクリンD1キナーゼの活性がSEI-1により正に調節されていることを証明したことになり、今後SEI-1の発現が癌の診断マーカーとして利用されることが期待される。また、本研究により明らかにしたp16^{INK4a}による新たな作用機序を癌の診断や治療法の開発に利用する試みが期待される。更に、インビボ・イメージングシステムを用いることにより生体内における発癌防御反応の解析が可能となり、発癌メカニズムの解析のみならず、抗癌剤のスクリーニング等にも活用されることが期待される。

6) RB蛋白質、p27^{Kip1}、Tob1の量的制御機構

Mdm2、Pirh2、Skp2は多種の癌で高発現していることが報告されている。これらのユビキチンリガーゼは癌遺伝子産物として癌抑制遺伝子産物であるRB蛋白質、p27^{Kip1}、Tob1の分解を亢進し、細胞悪性化を引き起こすことが強く示唆された。

E. 結論

1) MOZと p53

MOZはp53の転写コアクチベーターとして作用し、DNA障害時のp53に依存したp21の発現誘導に必須で

あり、細胞周期停止を選択的に誘導する因子であることが示唆される。

2) 新規p53標的遺伝子

p53標的遺伝子の多くは未だ明らかとなつてはおらず、p53標的遺伝子類を網羅的に同定し、一つ一つの機能を明らかとすることによって、p53によるがん抑制機能の全貌を明らかとできるだけでなく、新しいがん治療法開発のための基盤となる成果が期待できる。

3) 細胞膜周辺でのp53の新機能

p53が細胞膜周辺でエンドサイトーシスや細胞運動を制御しているということも全く予想されていなかった新発見である。これはがん転移を防ぐ方法の開発に応用できるのではないかと期待できる。

4) RB蛋白質

RB蛋白質がサイクリン依存性キナーゼ以外の酵素でリン酸化され、しかもこれが細胞増殖時ではなくてDNAダメージの際に起きるということは誰も予想していなかった新発見である。

5) p16^{INK4a}及びp21^{Waf1}

本研究より、癌抑制の中枢を担うp16^{INK4a}-RB経路の作用機序をより詳細に解明することが出来た。また、本研究により確立されたp16^{INK4a}およびp21^{Waf1}遺伝子の発現を生体内においてリアルタイムにイメージングする遺伝子改変マウスを抗癌剤の開発などに利用出来る可能性が示された。

6) RB蛋白質、p27^{Kip1}、Tob1の量的制御機構

癌抑制活性を持つRB蛋白質、p27^{Kip1}、Tob1のユビキチンリガーゼとしてそれぞれMdm2、Pirh2、SCF-Skp2を同定することに成功した。

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

1. 論文発表

- Inoue, Y., Kitagawa, M. and Taya, Y.: Phosphorylation of pRB at Ser612 by Chk1/2 leads to a complex between pRB and E2F-1 after DNA damage. *EMBO J.*, 26, 2083-2093 (2007)
- Ohki, R., Kawase, T., Ohta, T., Ichikawa, H. and Taya, Y.: Dissecting functional roles of p53 N-terminal transactivation domains by microarray expression analysis. *Cancer Sci.*, 98, 189-200 (2007)
- M. Enari, K. Ohmori, I. Kitabayashi and Y. Taya.: Requirement of clathrin heavy chain for p53-mediated transcription. *Genes Dev.*, 20, 1087-1099 (2006).
- Y. Ziv, D. Bielopolski, Y. Galanty, C. Lukas, Y. Taya, D.C. Schultz, J. Lukas, S. Bekker-Jensen, J. Bartek and Y. Shiloh.: Chromatin relaxation in response to DNA double strand breaks: a novel

48. Uchida, C., Miwa, S., Kitagawa, K., Hattori, T., Isobe, T., Otani, S., Oda, T., Sugimura, H., Kamijo, T., Ookawa, K., Yasuda, H., and Kitagawa, M.: Enhanced Mdm2 activity inhibits pRB function via ubiquitin-dependent degradation. *EMBO J.*, 24: 160-169 (2005)
49. Hayakawa, M., Kitagawa, H., Miyazawa, K., Kitagawa, M., and Kikugawa, K.: The FWD1/b-TrCP-mediated degradation pathway establishes a turning off switch of a Cdc42 guanine nucleotide exchange factor, FGD1. *Genes to Cells*,10: 241-251 (2005).
50. Naito, M., Katayama, R., Ishioka, T., Suga, A., Takubo, K., Nanjyo, M., Hashimoto, C., Taira, M., Takada S., Takada, R., Kitagawa, M., Matsuzawa, S.-i., Reed, J. C. and Tsuruo, T.: Cellular FLIP inhibits b-catenin ubiquitylation and enhances Wnt signaling. *Mol. Cell. Biol.*, 24:8418-8427 (2004)
51. Fukasawa, H., Yamamoto, T., Togawa, A., Ohashi, N., Fujigaki, Y., Oda, T., Uchida, C., Kitagawa, K., Hattori, T., Suzuki, S., Kitagawa, M. and Hishida, A.: Down-regulation of Smad7 expression by ubiquitin-dependent degradation contributes to renal fibrosis in mice obstructive nephropathy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101 : 8687-8692 (2004)
52. Nakayama, K., Nagahama, H., Minamishima, Y. A., Miyake S., Matsumoto, M., Ishida, N., Hatakeyama S., Kitagawa, M., Iemura, S.-i., Natsume, T., and Nakayama, K.-i.: Skp2-mediated degradation of p27 regulates progression into Mitosis. *Dev. Cell*, 6 :661-672 (2004)
53. Matsumoto, M., Yada, M., Hatakeyama, S., Ishimoto, H., Tanimura, T., Tsuji, S., Kakizuka, A., Kitagawa, M. and Nakayama K-I : Molecular clearance of ataxin-3 is regulated by a mammalian E4. *EMBO J*, 23: 659-669(2004)
54. Inoue, Y., Kitagawa, M., Onozaki, K, and Hayashi, H.: Contribution of the constitutive and inducible degradation of Smad3 by the ubiquitin-proteasome pathway to transforming growth factor-b signaling. *J. Interferon & Cytokine Research*, 24: 43-54 (2004)
55. Kimura M, Uchida C, Takano Y, Kitagawa M, Okano Y.:Cell cycle-dependent regulation of the human aurora B promoter. *Biochem Biophys Res Commun.* 316: 930-6 (2004)
56. Fukasawa, H., Yamamoto, T., Suzuki, H., Togawa, A., Ohashi, N., Fujigaki, Y., Uchida, C., Aoki, M., Hosono, M., Kitagawa, M. and Hishida, A.: Treatment with anti-TGF- β antibody ameliorates progressive nephritis by inhibiting Smad/TGF- β signaling. *Kidney Int.*, 65: 63-74 (2004)

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
無し
2. 実用新案登録
無し
3. その他
無し

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
服部隆行 北川雅敏	ユビキチンシステムによる細胞周期制御	北川雅敏	細胞周期集中マスター	羊土社	日本	2006	105-115
北川雅敏	p53およびRB蛋白質のプロテアソーム依存的分解機構	田中啓二 大隅良典	ユビキチン-プロテアソーム系とオートファジー	共立出版	日本	2006	1376-1381

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Inoue, Y., Kitagawa, M. and Taya, Y.	Phosphorylation of pRB at Ser612 by Chk1/2 leads to a complex between pRB and E2F-1 after DNA damage.	<i>EMBO J.</i>	26	2083-2093	2007
Ohki, R., Kawase, T., Ohta, T., Ichikawa, H. and Taya, Y.	Dissecting functional roles of p53 N-terminal transactivation domains by microarray expression analysis.	<i>Cancer Sci.</i>	98	189-200	2007
M. Enari, K. Ohmori, I. Kitabayashi and Y. Taya	Requirement of clathrin heavy chain for p53-mediated transcription.	<i>Genes Dev.</i>	20	1087-1099	2006
Y. Ziv, D. Bielopolski, Y. Galanty, C. Lukas, Y. Taya, D.C. Schultz, J. Lukas, S. Bekker-Jensen, J. Bartek and Y. Shiloh.	Chromatin relaxation in response to DNA double strand breaks: a novel ATM- and KAP-1 dependent pathway.	<i>Nature Cell Biol.</i>	8	870-876	2006
S. Ohkubo, T. Tanaka, Y. Taya, K. Kitazato and C. Prives.	Excess HDM2 impacts cell cycle and apoptosis and has a selective effect on p53 dependent transcription.	<i>J. Biol Chem.</i>	281	16943-16950	2006
Y. Pereg, S. Lam, A. Teunisse, S. Biton, Meulmeester, L. Mittelman, D. Delia, K. Okamoto, Y. Taya, Y. Shiloh and A. Jochemsen.	Differential roles of ATM- and Chk2-mediated phosphorylation of Hdmx in response to DNA damage.	<i>Mol. Cell. Biol.</i>	26	6819-6831	2006
Okamoto K., Kitabayashi I. and Taya Y	KAP1 dictates p53 response induced by chemotherapeutic agents via Mdm2 interaction.	<i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i>	351	216-222	2006
Futamura M, Kamino H, Miyamoto Y, Kitamura N, Nakamura Y, Ohnishi S, Masuda Y, Arakawa H	Possible role of Semaphorin 3F, a candidate tumor suppressor gene at 3p21.3, in p53-regulated tumor angiogenesis suppression.	<i>Cancer Research</i>	67 (4)	1451-1460	2007
Masuda Y, Futamura, M., Kamino, H., Nakamura Y, Kitamura N, Ohnishi S, Miyamoto Y, Ichikawa H, Ohta T, Ohki M, Kiyono T, Egami H, Baba H, Arakawa, H	The potential role of DFNA5-a hearing impairment gene-in p53-mediated cellular response to DNA damage.	<i>Journal of Human Genetics</i>	51 (8)	652-664	2006
Nakamura, Y., Futamura, M., Kamino, H., Yoshida, K., Nakamura, Y., Arakawa, H.	Identification of p53-46F as a super p53 with an enhanced ability to induce p53-dependent apoptosis.	<i>Cancer Science</i>	97 (7)	633-641	2006
Ono M, Yaguchi H, Ohkura N, Kitabayashi I, Nagamura Y, Nomura T, Miyachi Y, Tsukada T, Sakaguchi S.	Foxp3 controls regulatory T cell function via interacting with AML1/Runx1.	<i>Nature</i>	446	in press	2007
Nakamura Y, Yamagata T, Maki K, Sasaki K, Kitabayashi I, Mitani K.	TEL/ETV6 Binds to Corepressor KAP1 via the HLH Domain.	<i>Int J Hematol.</i>	84	377-380	2006

Xu G, Kanezaki R, Toki T, Watanabe S, Takahashi Y, Terui K, <u>Kitabayashi I</u> , Ito E.	Physical association of the patient-specific GATA1 mutants with RUNX1 in acutemegakaryoblastic leukemia accompanying Down syndrome.	<i>Leukemia</i>	20	1002-1008	2006
Katsumoto T, Aikawa Y, Iwama A, Ueda S, Ichikawa H, Ochiya T, <u>Kitabayashi I</u> .	MOZ is essential for maintenance of hematopoietic stem cells.	<i>Genes & Dev.</i>	20	1321-1330	2006
Aikawa Y, Nguyen LA, Isono K, Takakura N., Tagata Y, Schmitz ML, Koseki H, <u>Kitabayashi I</u> .	Roles of HIPK1 and HIPK2 in AML1- and p300-dependent transcription, hematopoiesis and blood vessel formation.	<i>EMBO J.</i>	25	3955-3965	2006
Takahashi, A., Ohtani, N., Yamakoshi, K., Iida, S., Tahara, H., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Ide, T., Saya, H. and <u>Hara, E.</u>	Mitogenic signalling and the p16 ^{INK4a} /Rb pathway co-operate to enforce irreversible cellular senescence.	<i>Nature Cell Biology</i>	8	1291-1297	2006
Claudia Zannetti, Michele Mondini, Marco De Andrea, Patrizia Caposio, <u>Eiji Hara</u> , Gordon Peters, Giorgio Gribaudo, Marisa Gariglio and Santo Landolfo	The expression of p16 ^{INK4a} tumor suppressor is upregulated by human cytomegalovirus infection and required for optimal viral replication.	<i>Virology</i>	349	79-86	2006
Murao, K., Kubo, Y., Ohtani, N., <u>Hara, E.</u> and Arase, S.	Epigenetic abnormalities in cutaneous squamous cell carcinomas: frequent in activation of the RB1/p16 and p53 pathways.	<i>British Journal of Dermatology</i>	155	999-1005	2006
Suzuki, M., Yamada, T., Kihara-Negishi, F., Sakurai, T., <u>Hara, E.</u> , Tenen, D.G., Hozumi, N. and Oikawa, T.	Site-specific DNA methylation by a complex of PU.1. and Dnmt3a/b.	<i>Oncogene</i>	25	2477-2488	2006
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. and <u>Kitagawa, M</u>	Up-regulation of GPR48 induced by down-regulation of p27 ^{Kip1} enhances carcinoma cell invasiveness and metastasis.	<i>Cancer Research</i>	66	11623-11631	2006
Kono, S., Suzuki, H., Oda, T., Miyajima, H., Takahashi, Y., Shirakawa, K., Ishikawa, K., and <u>Kitagawa, M</u>	Biochemical features of ceruloplasmin gene mutations linked to aceruloplasminemia.	<i>Neuromolecular Med.</i>	8	361-374	2006
Gao, Y., Kitagawa, K., Shimada, M., Uchida, C., Hattori, T., Oda, T. and <u>Kitagawa, M.</u>	Generation of a constitutively active mutant of human GPR48/LGR4, a G-protein-coupled receptor.	<i>Hokkaido. J. Med. Sci.</i>	8	101-105	2006
Hiramatsu, Y., Kitagawa, K., Suzuki, T., Uchida, C., Hattori, T., Kikuchi, H., Oda, T. Hatakeyama, S., Nakayama K.I., Yamamoto, T., Konno, H. and <u>Kitagawa, M.</u>	Degradation of Tob1 mediated by SCF ^{Skp2} -dependent ubiquitination.	<i>Cancer Research</i>	66	8477-8483	2006
Uchida, C., Miwa, S., Isobe, T., Kitagawa, K., Hattori, T., Oda, T., Yasuda, H. and <u>Kitagawa, M</u>	Effect of MdmX on Mdm2-mediated downregulation of pRB.	<i>FEBS Letters</i>	580	1753-1758	2006
Isobe, T., Uchida, C., Hattori, T., Kitagawa, K., Oda, T. and <u>Kitagawa, M.</u>	Ubiquitin-dependent degradation of adenovirus E1A protein is inhibited by BS69.	<i>Biochem Biophys Res Commun</i>	339	367-374	2006
Miwa, S., Uchida, C., Kitagawa, K., Hattori, T., Oda, T., Sugimura, H., Yasuda, H., Nakamura, H., Chida K., and <u>Kitagawa, M.</u>	Mdm2-mediated pRB downregulation is involved in carcinogenesis in a p53-independent manner.	<i>Biochem Biophys Res Commun</i>	340	54-61	2006

Kikuchi, H., Yamashita, K., Kawabata, T., Yamamoto, M., Hiramatsu, Y., Kondo, K., Baba, M., Ohta, M., Kamiya, K., Tanaka, T., Suzuki, S., Kitagawa, K., <u>Kitagawa, M.</u> , Sugimura, H. and Konno, H.	Immunohistochemical and genetic features of gastric and the metastatic liver GISTs, sequential analyses.	<i>Cancer Sci.</i>	97	127-132	2006
Fukasawa, H., Yamamoto, T., Togawa, A. Ohashi, N., Fujigaki, Y., Oda, T., Uchida, C., Kitagawa, K., Hattori, T., Suzuki, S., <u>Kitagawa, M.</u> and Hishida, A.	Ubiquitin-dependent degradation of SnoN and Ski is increased in renal fibrosis induced by obstructive injury.	<i>Kidney Int.</i>	69	1733-1740	2006
Okamoto, K., Kashima, K., Pereg, Y., Ishida, M., Yamazaki, S., Nota, A., Teunisse, A., Migliorini, D., <u>Kitabayashi, I.</u> , Marine, J-C., Prives, C., Shiloh, Y., Jochemsen, A.G., and <u>Taya, Y.</u>	DNA damage-Induced phosphorylation of MdmX at Serine-367 activates p53 by targeting MdmX for Mdm2-dependent degradation.	<i>Mol. Cell. Biol.</i>	25	9608-9620	2005
Bae, B.I., Xu, H., Igarashi, S., Fujimuro, M., Agrawal, N., <u>Taya, Y.</u> , Hayward, S.D., Moran, T.H., Montell, C., Ross, C.A., Snyder, S.H. and Sawa, A.	p53 mediates cellular dysfunction and behavioral abnormalities in Huntington's disease.	<i>Neuron</i>	4	29-41	2005
Arima, Y., Nitta, M., Kuninaka, S., Zhang, D., Fujiwara, T., <u>Taya, Y.</u> , Nakao, M. and Saya, H.	Transcriptional blockade induces p53-dependent apoptosis associated with translocation of p53 to mitochondria.	<i>J. Biol. Chem.</i>	280	19166-19176	2005
Merlo, P., Fulco, M., Costanzo, A., Mangiacasale, R., Strano, S., Blandino, G., <u>Taya, Y.</u> , Laviam P. and Levrero M.	A role of p73 in mitotic exit.	<i>J. Biol. Chem.</i>	280	30354-30360	2005
Takaki, T., Fukasawa, K., Suzuki-Takahashi, I., Semba, K., <u>Kitagawa, M.</u> , <u>Taya, Y.</u> , and Hirai, H.	Preferences for phosphorylation sites in the retinoblastoma protein of D-Type cyclin-dependent kinases, Cdk4 and Cdk6 in vitro.	<i>J. Biochem.</i>	137	381-386	2005
<u>Arakawa, H.</u>	p53, apoptosis and axon-guidance molecules.	<i>Cell Death and Differentiation</i>	12 (8)	1057-1065	2005
Kishimoto, M., Kohno, T., Okudela, K., Otsuka, A., Sasaki, H., Tanabe, C., Sakiyama, T., Hiramata, C., <u>Kitabayashi, I.</u> , Minna, J.D., Takenoshita, S., and Yokota, J.	Mutations and Deletions of the CBP Gene in Human Lung Cancer.	<i>Clinical Cancer Research</i>	11	512-519	2005
Nguyen, L.A., Pandolfi, P.P., Aikawa, Y., Tagata, Y., Ohki, M. and <u>Kitabayashi, I.</u>	Physical and functional link of the leukemia-associated factors AML1 and PML.	<i>Blood</i>	105	292-300	2005
Laman, H., Funes, J., Ye, H., Henderson, S., Galinanes-Garcia, L., <u>Hara, E.</u> , Knowles, P., McDonald, N., and Boshoff, C.	Transforming activity of Fbxo7 is mediated specifically through regulation of cyclin D/cdk6.	<i>EMBO J.</i>	24	3104-3116	2005
Han, J., Tsukada, Y., <u>Hara, E.</u> , Kitamura, N. and Tanaka, T.	Hepatocyte growth factor induces redistribution of p21Cip1 and p27Kip1 through Erk-dependent p16 INK4a upregulation, leading to cell cycle arrest at G1 in HepG2 hepatoma cells.	<i>J. Biol. Chem.</i>	280	31548-31556	2005
Maehara, K., Yamakoshi, K., Ohtani, N., Kubo, Y., Takahashi, A., Arase, S., Jones N. and <u>Hara, E.</u>	Reduction of total E2F/DP activity induces senescence-like cell cycle arrest in cancer cells lacking functional pRB and p53.	<i>J. Cell Biol.</i>	168 (4)	553-560	2005

Uchida, C., Miwa, S., Isobe, T., Kitagawa, K., Hattori, T., Oda, T., Yasuda, H. and <u>Kitagawa, M.</u>	Effect of MdmX on Mdm2-mediated downregulation of pRB.	<i>FEBS Letters</i>	580	1753-1758	2006
Ohashi, N., Yamamoto, T., Uchida, C., Togawa, A., Fukasawa, H., Fujigaki, Y., Suzuki, S., Kitagawa, K., Hattori, T., Oda, T., Hayashi, H., Hishida, A. and <u>Kitagawa, M.</u>	Transcriptional induction of Smurf2 ubiquitin ligase by TGF- β .	<i>FEBS Letters</i>	579	2557-2563	2005
Qu, L., Huang, S., Baltzis, D., Rivas-Estilla, A., Hatzoglou, M., Koumenis, C., <u>Taya, Y.</u> , Yoshimura, A. and Koromilas, A.E	Endoplasmic reticulum stress impairs the nuclear import of p53 and prevents p53-mediated apoptosis through the activation of the glycogen synthetase kinase 3 β .	<i>Genes Dev.</i>	18	261-277	2004
Takagi, M., Tsuchida, R., Oguchi, K., Shigeta, T., Nakada, S., Shimizu, K., Ohki, M., Delia, D., Chessa, L., <u>Taya, Y.</u> , Nakanishi, M., Tsunematsu, Y., Bessho, F., Isonuma, K., Hayashi, Y., Kudo, K., Okamura, J., Mizutani, S.	Identification and characterization of polyorphic variations of the ataxia telangiectasia mutated (ATM) gene in childhood Hodgkin disease.	<i>Blood</i>	103	283-290	2004
Ohtani, S., Kagawa, S., Tango, Y., Umeoka, T., Tokunaga, N., Tsunemitsu, Y., Roth, J.A., <u>Taya, Y.</u> , Tanaka, N. and Fujiwara, T	Quantitative analysis of p53-targeted gene expression and visualization of p53 transcriptional activity following intratumoral administration of adenoviral p53 <i>in vivo</i> .	<i>Mol. Cancer Ther.</i>	3	93-100	2004
Yaguchi H, Ohkura N, Takahashi M, Nagamura Y, <u>Kitabayashi I</u> , Tsukada T.	Menin missense mutants associated with multiple endocrine neoplasia type 1 are rapidly degraded via the ubiquitin-proteasome pathway.	<i>Mol Cell Biol</i>	24	6569-6580	2005
Yokoyama A, Wang Z, Wysocka J, Sanyal M, Aufiero DJ, <u>Kitabayashi I</u> , Herr W, Cleary ML.	Leukemia proto-oncoprotein MLL forms a SET1-like histone methyltransferase complex with menin to regulate Hox gene expression.	<i>Mol Cell Biol.</i>	24	5639-5649	2004
<u>Arakawa, H.</u>	Netrin-1 and its receptors in tumorigenesis	<i>Nature Rev. Cancer</i>	4	978-987	2004
Graff, P., Seim, J., Amellen, O., <u>Arakawa, H.</u> , Nakamura, Y., Andersson, K.K., Stokke T., Pettersen, E.O.	Counteraction of pRB-dependent protection after extreme hypoxia by elevated ribonucleotide reductase	<i>Cell Proliferation</i>	37 (5)	367-383	2004
Anazawa, Y., <u>Arakawa, H.</u> , Nakagawa, H., Nakamura, Y.	Identification of STAG1 as a key mediator of a p53-dependent apoptotic pathway	<i>Oncogene</i>	23 (46)	7621-7627	2004
Yoon, K.A., Nakamura, Y., <u>Arakawa, H.</u>	Identification of ALDH4 as a p53-inducible gene and its protective role in cellular stresses	<i>Journal of Human Genetics</i>	49 (3)	134-140	2004
Yoshida, K., Monden, M., Nakamura, Y., <u>Arakawa, H.</u>	Adenovirus-mediated p53AIP1 gene transfer as a new strategy for treatment of p53-resistant tumors.	<i>Cancer Science</i>	95 (1)	91-97	2004
Uchida, C., Miwa, S., Kitagawa, K., Hattori, T., Isobe, T., Otani, S., Oda, T., Sugimura, H., Kamijo, T., Ookawa, K., Yasuda, H., and <u>Kitagawa, M.</u>	Enhanced Mdm2 activity inhibits pRB function via ubiquitin-dependent degradation.	<i>EMBO J.</i>	24	160-169	2005
Hayakawa, M., Kitagawa, H., Miyazawa, K., <u>Kitagawa, M.</u> , and Kikugawa, K.:	The FWD1/b-TrCP-mediated degradation pathway establishes a turning off switch of a Cdc42 guanine nucleotide exchange factor, FGD1.	<i>Genes to Cells</i>	10	241-251	2005
Naito, M., Katayama, R., Ishioka, T., Suga, A., Takubo, K., Nanjyo, M., Hashimoto, C., Taira, M., Takada S., Takada,	Cellular FLIP inhibits b-catenin ubiquitylation and enhances Wnt signaling.	<i>Mol. Cell. Biol.</i>	24	8418-8427	2004

R., <u>Kitagawa, M.</u> , Matsuzawa, S.-i., Reed, J. C. and Tsuruo, T.					
Fukasawa, H., Yamamoto, T., Togawa, A. Ohashi, N., Fujigaki, Y., Oda, T., Uchida, C., Kitagawa, K., Hattori, T., Suzuki, S., <u>Kitagawa, M.</u> and Hishida, A	Down-regulation of Smad7 expression by ubiquitin-dependent degradation contributes to renal fibrosis in mice obstructive nephropathy.	<i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i>	101	8687-8692	2004
Nakayama, K., Nagahara, H., Minamishima, Y. A., Miyake S., Matsumoto, M., Ishida, N., Hatakeyama S., <u>Kitagawa, M.</u> , Iemura, S.-i., Natsume, T., and Nakayama, K.-i	Skp2-mediated degradation of p27 regulates progression into Mitosis.	<i>Dev. Cell</i>	6	661-672	2004
Matsumoto, M., Yada, M., Hatakeyama, S., Ishimoto, H., Tanimura, T., Tsuji, S., Kakizuka, A., <u>Kitagawa, M.</u> and Nakayama K-I	Molecular clearance of ataxin-3 is regulated by a mammalian E4.	<i>EMBO J</i>	23	659-669	2004
Inoue, Y., <u>Kitagawa, M.</u> , Onozaki, K., and Hayashi, H.	Contribution of the constitutive and inducible degradation of Smad3 by the ubiquitin-proteasome pathway to transforming growth factor- β signaling.	<i>J. Interferon & Cytokine Research</i>	24	43-54	2004
Kimura M, Uchida C, Takano Y, <u>Kitagawa M</u> , and Okano Y	Cell cycle-dependent regulation of the human aurora B promoter.	<i>Biochem Biophys Res. Commun.</i>	316	930-936	2004
Fukasawa, H., Yamamoto, T., Suzuki, H., Togawa, A. Ohashi, N., Fujigaki, Y., Uchida, C., Aoki, M., Hosono, M., <u>Kitagawa, M.</u> and Hishida, A	Treatment with anti-TGF- β antibody ameliorates progressive nephritis by inhibiting Smad/TGF- β signaling.	<i>Kidney Int.</i>	65	63-74	2004