

井川特別研究室

Ikawa Laboratory

特別招聘研究員 井川 洋二
IKAWA, Yoji

当研究室はがん抑制遺伝子 p53 の先祖遺伝子と推定されている p51/p63 遺伝子の発現と機能を中心課題にしている。p51/p63 は四肢、皮膚、顎顔面の形成に不可欠で、6 種類以上のアイソフォームを産生し、それらの発現は動物発生の時期や組織分化により一様ではなく、各 p51/p63 アイソフォームはそれぞれ分子活性や安定性を異にしている。本年度はマウス組織で *in situ* hybridization, 免疫染色等を実施し RNA とタンパク質の分布を解析するとともに、アフリカツメガエルの発生、特に変態過程での p51/p63 遺伝子発現についても検討した。また、p51A(TAp63 γ), p51B(TAp63 α) タンパク質は p53 と同様に DNA 損傷により細胞内に蓄積するが、その安定性と活性の制御に係る分子内アミノ酸配列と細胞内機構について解析し新しい知見を得た。一方、EGF リピートを有し、皮膚の発生に関連するマウスの遺伝子を新たに単離し、発現部位と時期を明らかにした。

1. がん抑制遺伝子 p53 ファミリー p51/p63 の発現と生理機能についての研究

(1) p51/p63 遺伝子の発現と発生・分化・がん化抑制における機能についての組織学的研究 (井川, 宮谷, 加藤, 富盛^{*1}, 渡辺^{*1}, 岩井^{*2})

マウス組織において *in situ* hybridization 法により TA 型と deltaN 型アイソフォーム mRNA の発現を検討するとともに、免疫染色により p51/p63 タンパク質の分布を調べた。*in situ* ハイブリにおいて、皮膚、腎臓、肺、筋肉等で特異的部位に mRNA が検出され、免疫染色で皮膚の基底層に偏在するタンパク質が検出された。アイソフォームによって転写レベルでの調節とタンパク質レベルでの安定性制御機構が異なっていることが示唆された。また、アフリカツメガエルにおいて p51/p63 遺伝子のクローニングを行い、遺伝子発現について変態期を中心に検討した。ヒト、マウスその他の種との間で配列がよく保存されており、発現部位の特異性でも共通性が見られた。

(2) p51/p63 にコードされるタンパク質の安定性・活性制御機構の分子生物学的解析 (加藤, 井川)

p51/p63 遺伝子から産生されるトランスアクチベーター p51A および p51B について、どちらのタンパク質も DNA 損傷にตอบสนองして細胞内に蓄積し、その分解・安定化には N 末端の TA 特異的配列が機能しているが、p53 とは異なり MDM2 によって制御されている可能性はほとんどないことを明らかにした。また、p51B 単独では細胞死や分化を誘導しないことを示した。定常状態ではプロテアソームで分解されていること、N 末端領域の Ser/Thr 残基のリン酸化が安定性と関係することを示唆する結果を得た。

2. 皮膚に発現する EGF リピート遺伝子群の生理機能についての研究

(1) EGF リピートを持つ遺伝子 WIF, crumbs の発生過程における皮膚での差時的発現の組織学的解析 (宮谷, 渡辺^{*1})

Notch, Delta をはじめとする上皮増殖因子 (EGF) 様

構造 (EGF リピート) を持つ遺伝子の多くが動物の発生過程において細胞の増殖調節・分化誘導に関与している。本年度は皮膚に発現し EGF リピートをコードする WIF, Crb1 をマウス・ライブラリーよりクローニングした。*in situ* hybridization, RT-PCR 法により遺伝子発現について検討したところ、Wnt 阻害因子である WIF は皮膚形成時である 14~19 日目胚の表皮に特異的に発現し、Crb1 は 11 日目以前-成体の皮膚に発現していることを明らかにした。

^{*1} ジュニア・リサーチ・アソシエイト, ^{*2} 共同研究員

Research Subjects and Members of Ikawa Laboratory

1. Tumor Suppressor p53 Gene Family p51/p63: Gene Expression, Protein Features and Biological Activities
2. EGF Repeat Gene Family; WIF and Crumbs: Gene Expression and Physiological Activities

Head

Dr. Yoji IKAWA

Members

Dr. Iyoko KATOH

Dr. Seiji MIYATANI

Visiting Members

Mr. Yoshiya TOMIMORI (Grad. Sch. Allied Health Sci., Tokyo Med. Den. Univ.)

Mr. Tatsuya WATANABE (Kyoritsu Coll. Pharm.)

Dr. Aki IWAI

誌 上 発 表 Publications

[雑誌]

(原著論文) *印は査読制度がある論文誌

- Anzai H., Ikawa Y., and Atsumi T.: “Stem cell factor and interleukin-3 induce stepwise generation of erythroid precursor cells from a basic fibroblast growth factor-dependent hematopoietic stem cell line, A-6”, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **282**, 940–946 (2001). *
- Osada M., Inaba R., Shinohara H., Hagiwara M., Nakamura M., and Ikawa Y.: “Regulatory domain of protein stability of human *P51/TAP63*, a *P53* homologue”, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **283**, 1135–1141 (2001). *
- Shinohara H., Kayagaki N., Yagita H., Oyaizu N., Ohba M., Kuroki T., and Ikawa Y.: “A protective role of PKC ϵ against TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-induced apoptosis in glioma cells”, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **284**, 1162–1167 (2001). *

口 頭 発 表 Oral Presentations

(国際会議等)

- Ikawa Y.: “Friend virus pathogenesis; 40 Years’ efforts”, *Int. Symp. on Leukemia, Lymphoma and Aids: Pathogenesis and Treatment*, (University of Padova and oth-

ers), Padova, Italy, Oct. (2001).

Ikawa Y., Osada M., Miyatani S., Tomimori Y., Watanabe T., Iwai A., Kurata S., and Katoh I.: “Expression and biological activities of the p51/p63 gene products”, 5th US-Japan Gene Therapy Conf., (Center for Biologics Evaluation and Research Food and Drug Administration, USA and others), Bethesda, USA, Feb. (2002).

Ikawa Y., Osada M., Miyatani S., Watanabe T., Tomimori Y., Iwai A., Kurata S., and Katoh I.: “Induction of the p51/p63 gene expression by PPAR γ ligands in colon cancer cell lines”, *Proc. Colon Cancer: Genetics to Prevention*, (American Association for Cancer Research), Philadelphia, USA, Mar. (2002).

(国内会議)

加藤伊陽子, 倉田俊一, 井川洋二: “p53 と p51 (p63) 遺伝子産物の生物活性の違いについて”, 第 60 回日本癌学会総会, 横浜, 9 月 (2001).

倉田俊一, 井川洋二, 加藤伊陽子: “酸化ストレスにより誘導される細胞死シグナル伝達経路”, 第 60 回日本癌学会総会, 横浜, 9 月 (2001).

富盛賀也, 加藤伊陽子, 倉田俊一, 宮谷精二, 神山隆一, 井川洋二: “*Xenopus laevis* p63 遺伝子の解析”, 第 24 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12 月 (2001).