

東京都臨床医学総合研究所 部長

田中 啓二

「超分子システムによる免疫識別の分子機構解明」

生成に利用されるタンパク質分解産物)に関連すると推定されるシャペロン型ユビキチン連結酵素 CHIP の作用機構を解明し、CHIP がタンパク質のネイティブな状態とノンネイティブな状態をシャペロン依存的に識別して、後者を選択的にユビキチン化する“品質管理リガーゼ”として作用することを見出した。一方、関連研究として、常染色体劣性若年性パーキンソン症候群 (AR-JP) の原因遺伝子パーキンの機能解析に成功し、パーキンがユビキチンリガーゼであることを見出した。この結果、パーキンソン病がユビキチン代謝系の破綻によって発症することを特定し、内外の神経変性疾患研究に大きな影響を与えると共に社会的にもインパクトの高い研究成果を得た。その他、ユビキチンプロテアソームシステムは国内外において多様な生体反応を一方向に決定する合理的な手段として細胞周期・アポトーシス・代謝調節・シグナル伝達・転写制御・ストレス応答・免疫応答など生命科学の様々な領域で中心的な役割を果たしていることの報告が相次いでいるが、本研究グループも多くの領域で先駆的な研究成果を挙げた。そして、ユビキチンプロテアソームシステムが新しい生体反応制御系としての調節的分解のみならずタンパク質の異常性を監視しその迅速な処理で細胞の恒常性を維持するタンパク質の品質管理装置としても機能していることを明らかにした。このように本研究グループは、独創性の高い成果を挙げ、その社会的な波及効果も非常に大きいものであった。

丹羽真一郎グループ (住友電工バイオメディカル研究部)

プロテアソームが内在性抗原のプロセッシング酵素であることは、種々の構造学的・細胞生物学的・遺伝学的解析から強く示唆されてきたが、本酵素が抗原エピトープを生成する分子機構についてはほとんど解明されていない状況であった。本研究グループは、白血病腫瘍拒絶抗原の CTL (細胞障害性 T リンパ球) エピトープをモデル系として利用し、その前駆体ポリペプチドからのプロテアソームによるエピトープ生成機構について詳細に解析した。その結果、プロテアソームは抗原エピトープの C-端及び N-端側の両フランキング領域をアンカーとして標的基質を特定し抗原ペプチドを正確に切り出すことができるという“フランキングアンカー仮説”を提唱した。さらに抗原エピトープ内に存在するプロリン残基がプロテアソームによる抗原ペプチド領域をランダムな分解から保護していることを明らかにし、この仮説を“プロリンルール”と名付けた。併せて、プロテアソームの新規活性化因子 PA28 が抗原エピトープの両端を効果的に二重カットして抗原プロセッシング反応を強く促進させることを見出した。これらの結果から、プロテアソームが標的基質の“長さ”と“配列”を認識して、抗原エピトープを正確に造成すると言う仮説を提唱した。これらの研究はプロテアソームによる抗原プロセッシング反応の分子機構解明に大きく寄与する成果と高く評価できる。

笠原正典グループ（総合研究大学院大学）

プロテアソームは主要組織適合遺伝子複合体（Major Histocompatibility Complex : MHC）クラス I 分子によって提示されるペプチドを産生するプロテアーゼである。われわれの研究グループでは、クラス I 分子による抗原提示を促進する機能をもつと想定されたインターフェロン γ （IFN- γ ）誘導性プロテアソーム・サブユニットの構造・機能・起源を明らかにすることを目的として研究を推進し、以下の成果を得た。

1) MHC の染色体重複モデルの提唱

IFN- γ で発現が誘導される 3 個の 20S プロテアソーム・サブユニット遺伝子は、クラス I 分子による抗原提示システムが誕生した際に、構成的に発現されるサブユニット遺伝子から遺伝子重複によって形成されたものであることを明らかにした。さらに、1) この重複は個々の遺伝子の重複ではなく、MHC 領域を巻き込んだ少なくとも 1 回の染色体重複の一環として起きたものであること、2) 上記の重複は脊椎動物進化の初期段階、具体的には有顎脊椎動物の共通祖先が出現するまでに起きたものであり、MHC システムの誕生に不可欠な役割を果たしたと考えられることを明らかにした。これら一連の研究に基づき、MHC のゲノム構造を理論的に説明する「MHC の染色体重複モデル」を提唱した。その後、ヒトやさまざまな生物のゲノムプロジェクトが進行するにつれ、本モデルが基本的に正しいことがほぼ証明されるに至っている。本モデルは、MHC のゲノムダイナミクス、免疫プロテアソームの起源、適応免疫系の起源を理解するうえで基本的に重要であるばかりではなく、ゲノム研究に新たな視点を提供するものであり、国際的にも高い評価を得ることができた。

2) IFN- γ によって制御されるプロテアソーム・サブユニット遺伝子群のクローニングと構造、機能解析

IFN- γ によって制御されるプロテアソーム・サブユニット遺伝子群を 129/SvJ マウスから系統的にクローニングし、遺伝子構造と染色体局在を決定し、発現制御機構を解析した。具体的には、IFN- γ によって発現が制御されることが知られている 9 個の遺伝子中、6 個の遺伝子 (20S プロテアソーム・サブユニット MECL1、Z、X をコードする Psmb10、Psmb7、Psmb5 遺伝子、およびプロテアソーム・アクチベータ PA28 α 、PA28 β 、PA28 γ サブユニットをコードする Psme1、Psme2、Psme3 遺伝子) の解析を行った。Psme1、Psme2、Psme3 遺伝子については、代表研究者との共同研究として knock out マウスを用いた機能解析を行ない、Psme1、Psme2 遺伝子はある種の抗原の提示に不可欠であること、他方 Psme3 遺伝子は抗原提示に関与している可能性は低いことなどを明らかにした。

2. 研究構想

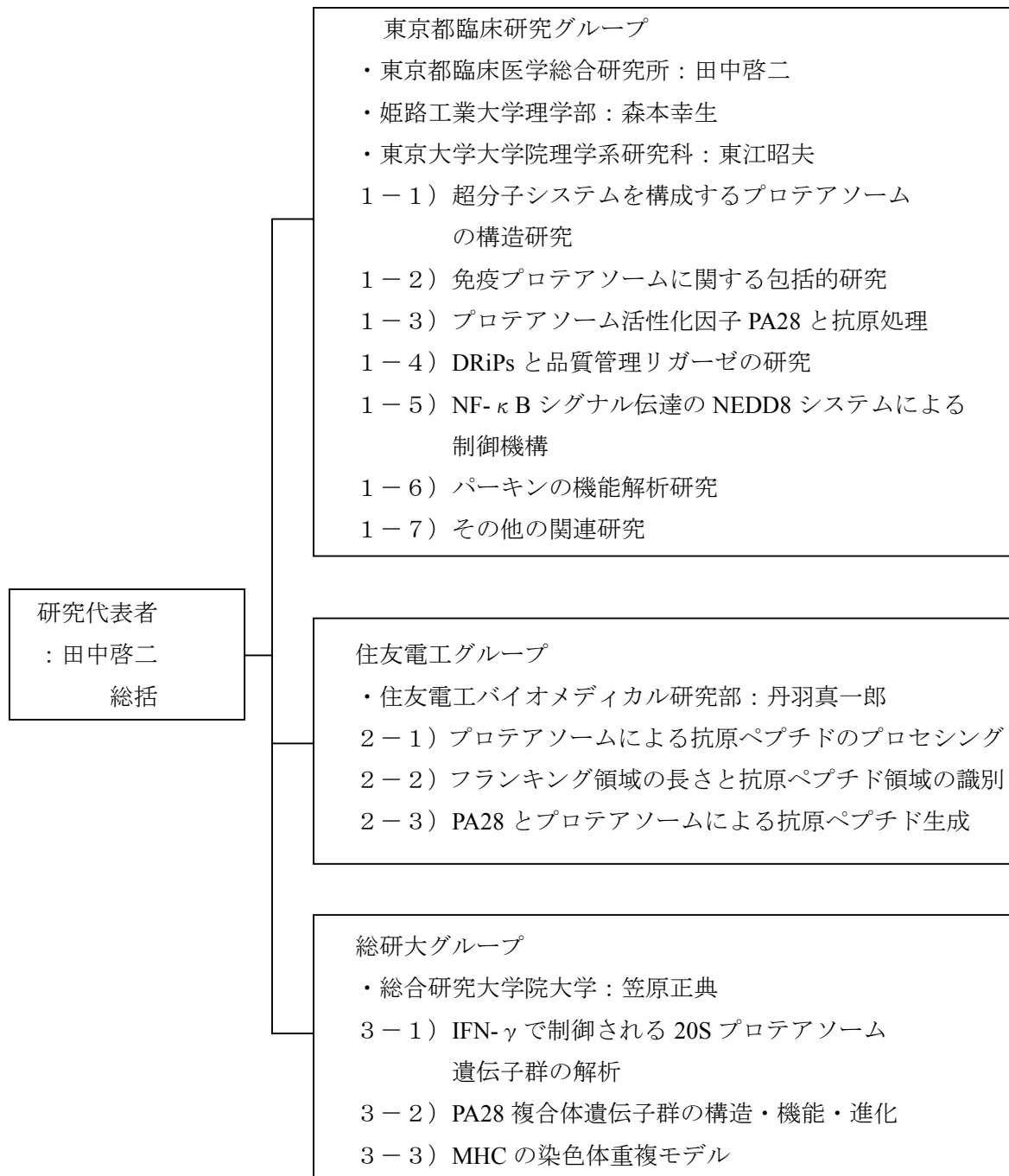
適応免疫は非自己の侵入による素乱から自己の恒常性を守るために、非自己を特定して選択的に破壊する合目的な生体の防御応答システムである。この外的から身を守る生存戦略として、生物は進化的に様々な創意工夫を施し、巧妙な細胞内機構を作り上げてきた。本提案研究の立案にあたって当初に目指した研究目標は、免疫応答の原点ともいえるべき「免疫識別」の分子機構を分子のレベルで解明することによって、病気から健康を守る仕組みの解明であった。「自己」と「非自己」の識別は抗原の特定の領域、即ち抗原ペプチドを T リンパ球に提示することであり、この「免疫応答の開始反応」の研究は、“非自己”を造成する抗原処理機構とは何か、と言う免疫学的な基本命題に科学的に迫ることである。抗原のプロセッシングと提示は多様な T リンパ球から特異的な抗原に反応する唯一の T リンパ球を選別して、その抗原の非自己性を識別する生体反応であり、具体的には抗原特異的な細胞障害性 T 細胞を活性化して自在に細胞性免疫を発動させることである。主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) は抗原ペプチドレセプターであり、遺伝子の再構成で多様性を獲得した T 細胞受容体 (TCR) は抗原ペプチド・MHC 複合体を認識してリンパ球活性化の引き金を引き免疫応答を開始させる。従って、リンパ球に活性化シグナルを導入できる抗原ペプチド・MHC 複合体の形成が、自己と非自己を峻別する分子的基础である。この MHC リガンドとしての抗原エピトープの生成機構と T リンパ球の活性化機構を明らかにし、細胞性免疫を任意に誘導できる再構成システムを構築することができれば、免疫反応を自在に操ることができ、引いては免疫病に対する新たな戦略が構築できる可能性を秘めている。本提案研究は、このような野心的な背景をもって基礎的研究を拡充発展させることを意図して立案した。しかし、自己も非自己も同じ素材としてのアミノ酸から構成されていることを考えると、抗原のプロセッシング提示機構の理解は決して単純ではないことを意味している。そのために適応免疫システムは既存の細胞システムの大規模な改良・変換を通して精緻な防御装置を造成してきたのである。

内在性抗原のプロセッシング酵素として同定されたプロテアソームは生命科学史上もっとも巨大で複雑な酵素複合体であり、超分子システムを構成している。本提案研究はプロテアソームの構造と機能を物理学的方法及び遺伝学的方法を駆使して解析し、“なぜ生物がこのような超分子システムを進化的に構築し、かつその免疫学的改変を企及する必要があるのか”という免疫の根本的な課題の解明を目指した。研究代表者は、長年、プロテアソームの構造・機能・病態に関する包括的研究を推進してきた。その過程で超分子システムを構成するプロテアソームが外環境に応答して構造-機能変換することを見出し、その結果として、サイトカイン誘導性の「免疫プロテアソーム」や「ハイブリッドプロテアソーム」を発見した。本研究グループは、プロテアソームの X 線結晶構造解析による高次構造の解析と分子集合機構を解明して超分子複合体の解離・会合システムを確立することを目標とした。さらに免疫学的な機構解析として発生工学的手法を駆使し、抗原提示を担当するプロテアソーム関連分子群の遺伝学的解析を行い、新しい抗原提示機構の存在を明ら

かにした。そして、これらの抗原処理に専門的に働く誘導型プロテアソーム関連遺伝子群の分子進化研究から、免疫プロテアソームやハイブリッドプロテアソームを構成する遺伝子群が、MHC の獲得と同時期に誕生したことを突き止めた。この抗原提示担当遺伝子群の分子進化研究から導き出した結論は、生物が適応免疫を獲得した基盤は、既存遺伝子の剽窃・改良であったが、その機構は染色体重複によるゲノムの増幅であったという新規な概念の提唱である。この免疫の起源に対する新規な「MHC の染色体重複モデル」は、ゲノム研究の飛躍的な進展に後押しされ、いまや定説になりつつある。抗原ペプチド・MHC 複合体による“非自己”選別を実行するシステム、即ち、適応免疫は、ゲノムの進化的再編の結果として獲得されたことが如実のものとなった。抗原特異的な免疫システムは脊椎動物が遺伝子進化の結果として獲得した非自己破壊機構である。本研究は免疫識別系遺伝子群の進化適応機構を解明し、生物が遭遇したこともない非自己の侵入に柔軟に対処できる新しい細胞性免疫の確立に向けての基盤的研究として推進した。

3. 研究実施体制

(1) 体制



4. 研究期間中の主な活動

(1) 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
November 25-27, 1998	The Thirteenth RINSHOKEN International Conference "Ubiquitin and Proteasome: A New World of Proteolysis"	Nippori Sunny Hall, Tokyo		国内外においてユビキチンとプロテアソームを研究している主な研究者が一同に会して、非常にレベルの高い国際学会であった。特に海外の講演者が全体の 2/3 以上を占め、国内で開催される国際学会としては、本格的なものであった。ユビキチンについては、その発見者であるハーシュコー（イスラエル）教授やパーシヤブスキー博士（米国）をはじめとして、新進気鋭の学者達が激しい議論を巻き起こし、我が国の若い研究者達に大きな影響を与えた。内容的にも、当時の最先端の講演が相次いだ。一方、プロテアソームについてはノーベル賞学者である R. Huber 教授（独マックスプランク研究所）をはじめとして、構造・機能・病態にいたる多くのテーマで、世界的な研究が披瀝された。国内からもポスター発表の参加者が多くいて、この研究領域の世界の超一流のメンバーと討議・情報交換できた。
平成 11 年 5 月 25 日 ~ 5 月 29 日	The Sixth International Workshop on MHC Evolution	総合研究 大学院大学 葉山キャンパス	99 名 (海外 55 名、国内 44 名)	国内外の MHC 研究者が集まり、MHC のゲノム構造、起源、MHC とパラサイトの共進化、自然集団における多形性の形成・維持機構、無脊椎動物における自己・非自己認識などのテーマについて討議した。プログラムは 5 題の特別講演と 6 つのセッションから成り、口演が 52 題 (国内 13、海外 39)、ポスターが 23 題 (国内 8、海外 15) であった。本シンポジウムの成果は、Major Histocompatibility Complex: Evolution, Structure, and Function (Springer-Verlag) として出版された。

5. 主な研究成果

「I」：臨床研グループと住友電工グループ（全て共同発表）

(1) 論文発表（国内：総説 56 件、海外：原著 89 件，総説 23 件）

「海外：原著論文」

Kominami, K., Okura, N., Kawamura, M., DeMartino, G.N., Slaughter, C.A., Shimbara, S., Chung, C.H., Shimizu, Y., Tanahashi, N., Tanaka, K., and Toh-e, A. (1997) Yeast counterparts of subunits S5a and p58 (S3) of the human 26S proteasome are encoded by two multicopy suppressors of *nin1-1*. *Mol. Biol. Cell* 8, 171-187.

Tanahashi, N., Yokota, K., Ahn, J.W., Chung, C.H., Fujiwara, T., Takahashi, E., DeMartino, G.N., Slaughter, C.A., Toyonaga, T., Yamamura, K., Shimbara, N., and

Tanaka, K. (1997) Molecular properties of the proteasome activator PA28 family proteins and γ -interferon regulation. *Genes Cells* 2, 195-211.

Ito, N., Tomizawa, K., Tanaka, K., Matsui, M., Kendrick, R.E., Sato, T., and Nakagawa, H. (1997) Characterization of 26S proteasome α -, β -, and ATPase subunits from spinach and their expression during early stages of seeding development. *Plant Mol. Biol.* 34, 307-316.

Miyazaki, M., Aito, M., Ito, N., Yanagawa, Y., Kendrick, R.E., Tanaka, K., Sato, T., and Nakagawa, H. (1997) Changes in proteasome levels in Spinach (*Spinacia oleracea*) seeds during imbibition and germination. *Biosci. Biotech. Biochem.* 61, 998-1001.

Attaix, D., Taillander, D., Combaret, L., Ralliere, C., Larbaud, D., Aourousseau, E. and Tanaka, K. (1997) Expression of subunits of the 19S complex and of the PA28 activator in rat skeletal muscle. *Mol. Biol. Rep.* 24, 95-98.

Soza, A., Knuehl, C., Groettrup, M., Henklein, P., Tanaka, K., and Kloetzel, P.-M. (1997) Expression and subcellular localization of mouse 20S proteasome activator complex PA28. *FEBS Lett.* 413, 27-34.

Makino, Y., Yamano, K., Kanemaki, M., Morikawa, K., Kishimoto, T., Shimbara, N., Tanaka, K., and Tamura, T. (1997) SUG1, a component of the 26S proteasome, is an ATPase stimulated by specific RNAs. *J. Biol. Chem.* 272, 23201-23205.

Baek, S.H., Woo, S.K., Lee, J.I., Yoo, Y.J., Cho, C.M., Kang, M.-S., Tanaka, K., and Chung, C.H. (1997) A new deubiquitinating enzyme, ubiquitin C-terminal hydrolase-8 in chick skeletal muscle. *Biochem. J.* 325, 325-330.

- Hayashi, M., Ishibashi, T., Tanaka, K., and Kasahara, M. (1997) The mouse genes encoding the third pair of β -type proteasome subunits regulated reciprocally by IFN- γ : Structural comparison, chromosomal localization, and analysis of the promoter. *J. Immunol.* 159, 2760-2770.
- Ii, K., Ito, H., Tanaka, K., and Hirano, A. (1997). Immunocytochemical co-localization of the proteasome in ubiquitinated structures in neurodegenerative diseases and the elderly. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 56, 125-131.
- Kandil, E., Kohda, K., Ishibashi, T., Tanaka, K., and Kasahara, M. (1997) PA28 subunits of the mouse proteasome: primary structures and chromosomal localization of the genes. *Immunogenetics* 46, 337-344.
- Baek, S.U., Choi, K.S., Yoo, Y.J., Cho, J.M., Baker, R.T., Tanaka, K., and Chung, C.H. (1997) Molecular cloning of a novel ubiquitin-specific protease, UBP41, with isopeptidase activity in chick skeletal muscle. *J. Biol. Chem.* 272, 25560-25565.
- Magae, J., Illenye, S., Wu, C.-L., Tanaka, K., Omura, S., and Heintz, N.H. Transcriptional squelching by ectopic expression on E2F family proteins and p53 alleviated by proteasome inhibitors MG-132 and lactacystin. (1997) *Oncogene* 15, 759-769.
- Mori, S., Tanaka, K., Kanai, H., Nakao, M., Anan, T., Yokote, K., Tamura, K., and Saito, Y. (1997) Identification of the ubiquitin-ligation system for the epidermal growth factor receptor: Herbimycin A induces *in vitro* ubiquitination in rabbit reticulocyte lysate. *Eur. J. Biochem.* 247, 1190-1196.
- Saito, A., Watanabe, T.K., Shimada, Y., Fujiwara, T., Slaughter, C.A., DeMartino, G.N., Tanahashi, N., and Tanaka, K. (1997) cDNA cloning and functional analysis of p44.5 and p55, two regulatory subunits, of the 26S proteasome. *Gene* 203, 241-250.
- Kohda, K., Matsuda, Y., Ishibashi, T., Tanaka, K., and Kasahara, K. (1997) Structural analysis and chromosomal localization of the mouse *Psm5* gene coding for the constitutively expressed β -type proteasome subunit. *Immunogenetics* 47, 77-87.
- Shimbara, N., Nakajima, H., Tanahashi, N., Ogawa, K., Niwa, S., Uenaka, A., Nakayama, E., and Tanaka, K. (1997) Double-cleavage production of the CTL epitope by proteasomes and PA28: role of the flanking region. *Genes Cells* 2, 785-800.

- Tanahashi, N., Fujiwara, T., Takahashi, E., Shimbara, N., Chung, C.H., and Tanaka, K. (1998) Chromosomal localization and immunological analysis of a family of human 26S proteasomal ATPases. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 243, 229-232.
- Chang, Y-C. , Lee, Y.-S., Tejima, T., Tanaka, K., Omura, S., Heintz, N.H., Mitsui, Y., and Magae, J. (1998) Mdm-2 and bax, downstream mediators of the p53 response, are degraded by the ubiquitin-proteasome pathway. *Cell Growth Differ.* 9, 79-84.
- Fujimuro, M., Tanaka, K., Yokosawa, H., and Toh-e, A. (1998) Son1 is a component of the 26S proteasome of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett.* 423, 149-154.
- Kohda, K., Ishibashi, T., Shimbara, N., Tanaka, K., Matsuda, Y., and Kasahara, M. (1998) Characterization of the mouse PA28 activator complex gene family: Complete organizations of three member genes, and a physical map of the -150-kb region containing the α - and β -subunits genes. *J. Immunol.* 160, 4923-4935.
- Hendil, K.B., Khan, S., and Tanaka, K. (1998) Simultaneous binding of PA28 and PA700 activators to proteasomes. *Biochem. J.* 332, 749-754.
- Oikawa, T., Sasaki, T., Nakamura, M., Shimamura, M., Tanahashi, N., Omura, S., and Tanaka, K. (1998) The proteasome is involved in angiogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 246, 243-248.
- Watanabe, T.K., Saito, A., Suzuki, M., Fujiwara, T., Takahashi, E., Slaughter, C.A., DeMartino, G.N., Hendil, K.B., Chung, C.H., Tanahashi, N., and Tanaka, K. (1998) cDNA cloning and characterization of a human proteasomal modulator subunit p27 (*PSMD9*). *Genomics* 50, 241-250.
- Osaka, F., Kawasaki, H., Aida, N, Saeki, M., Chiba, T., Kawashima, S., Tanaka, K., and Kato, S. (1998) A new Nedd8-ligating system for cullin-4A. *Genes & Dev.* 12, 2263-2268.
- Yanagawa, Y., Ueda, T., Yamamoto, K., Sasaki, T., Tanaka, K., Hashimoto, J., Sato, T., and Nakagawa, H. (1998) Cloning and Sequencing of cDNA encoding a non-ATPase subunit homolog of *Arabidopsis thaliana* MBP1 from the *Oriza sativa* 26S proteasome. *Plant Biotechnol.* 15, 147-150.
- Shimbara, N., Ogawa, K., Nakajima, H., Yamasaki, N., Hidaka, Y., Niwa, S., Tanahashi, N., and Tanaka, K. (1998) Contribution of proline residue for efficient production of MHC class I-ligands by proteasomes. *J. Biol. Chem.* 273, 23062-23071.

- Baek, S.U., Park, K.C., Kim, K.I., Yoo, Y.J., Tanaka, K., Baker, R.T., and Chung, C.H. (1998) A novel family of ubiquitin-specific protease in chick skeletal muscle with distinct amino- and carboxyl-terminal extensions. *Biochem. J.* 334, 677-684.
- Yoo, S.J.I., Kim, H.H., Shin, D.H., Lee, C.S., Seong, I.S., Seol, J.H., Shimbara, N., Tanaka, K., and Chung, C.H. (1988) Effects of the Cys mutations on structure and function of the ATP-dependent HslVU protease in *Escherchia coli*.: The Cys287 to Val mutation in HslU uncouples the ATP-dependent proteolysis by HslVU from ATP hydrolysis. *J. Biol. Chem.* 273, 22929-22935.
- Taya, S., Yamamoto, T., Kano, K., Kawano, Y., Iwamatsu, A., Tsuchiya, T., Tanaka, K., Kanai, M., Wood, S.A., and Kaibuchi, K. (1998) The Ras target AF-6 is a physiological substrate of the Fam deubiquitinating enzyme. *J. Cell Biol.* 142, 1053-1062
- Wojcik, C., Paweletz, N., Tanaka, K., and Wilk, S. (1998) The functional relationship of proteasome activator (PA28) subunits, α , β , and γ (Ki antigen) in NT2 neuronal precursor cells and HeLa S3 cells. *Eur. J. Cell. Biol.* 77, 151-160.
- Hori, T., Kato, S., Saeki, M., DeMartino, G.N., Slaughter, C.A., Takeuchi, J., Toh-e, A., and Tanaka, K. (1998) cDNA cloning and functional analysis of p28 (Nas6p) and p40.5 (Nas7p), two novel regulatory subunits, of the 26S proteasome. *Gene* 216, 113-122.
- Ueda, Y., Wang, M., Ou, B.R., Huang, J., Tanaka, K., Ichihara, I., and Forsberg, N.E. (1998) Evidence for the participation of the proteasome and calpain in early phases of muscle cell differentiation. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 30, 679-694.
- Fujiwara, T., Saito, A., Suzuki, M., Shinomiya, H., Suzuki, T., Takahashi, E., Tanigami, A., Ichiyama, A., Chung, C.H., and Tanaka, K. (1998) Identification and chromosomal assignment of USP1, a novel gene encoding a human ubiquitin-specific protease. *Genomics* 4, 155-158.
- Fujimuro, M., Takada, H., Saeki, Y., Toh-e, A., Tanaka, K., and Yokosawa, H. (1998) Growth-dependent regulation of the 26S proteasome assembly in the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 251, 818-823
- Furukawa, H., Murata, S., Yabe, T., Shimbara, N., Keicho, N., Kashiwase, K., Watanabe, K., Ishikawa, Y., Akaza, T., Tadokoro, K., Tohma, S., Inoue, T., Tokunaga, K., Yamamoto, K., Tanaka, K., and Juji, T. (1999) Splice acceptor site mutation of the TAP1 gene in HLA class I deficiency. *J. Clin. Inv.* 103, 755-758.

- Suzuki, H., Chiba, T., Kobayashi, M., Takeuchi, M., Furuichi, K., and Tanaka, K. (1999) *In vivo* and *in vitro* recruitment of an I κ B α -ubiquitin ligase to I κ B α phosphorylated by IKK, leading to ubiquitination. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 256, 121-126.
- Suzuki, H., Chiba, T., Kobayashi, M., Takeuchi, M., Suzuki, T., Ichiyama, A., Ikenoue, T., Omata, M., Furuichi, K., and Tanaka, K. (1999) I κ B α ubiquitination is catalyzed by an SCF-like complex containing Skp1, cullin-1, and two F-box/WD40-repeat proteins β TrCP1 and β TrCP2. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 256, 127-132.
- Mugita, N., Honda, Y., Nakamura, H., Fujiwara, T., Tanaka, K., Omura, S., Shimbara, N., Ogawa, M., Saya, H., and Nako, M. (1999) The involvement of proteasome in myogenic differentiation of murine myocytes and human rhabdomyosarcoma cells. *Int. J. Mol. Med.* 3, 127-137.
- Urano, T., Yashiroda, H., Muraoka, M., Tanaka, K., Hosoi, T., Inoue, S., Ouchi, Y., Tanaka, K., and Toyoshima, T. (1999) p57Kip2 is degraded through the proteasome in osteoblasts stimulated to proliferation by transforming growth factor β 1. *J. Biol. Chem.* 274, 12197-12200.
- Fujiwara, T., Suzuki, M., Tanigami, A., Ikenoue, T., Omata, M., Chiba, T., and Tanaka, K. (1999) The TCP1 gene encoding a human F-box/WD40 repeat protein map to chromosome 10q24-q25 by fluorescence *in situ* hybridization. *Genomics* 58, 104-105.
- Combaret, L., Rallièrè, C., Taillandier, D., Tanaka, K., and Attaix, D. (1999) Manipulation of the ubiquitin-proteasome pathway in cachexia: pentoxifylline suppresses the activation of 20S and 26S proteasomes in muscles from tumor-bearing rats. *Mol. Biol. Rep.* 26, 95-101.
- Katagiri, K., Yokosawa, H., Kinashi, T., Kawashima, S., Irie, S., Tanaka, K., and Katagiri, T. (1998) Ubiquitin-proteasome system is involved in the induction of LEF-1/ICAM-1-dependent adhesion of HL-60 cells. *J. Leucocyte Biol.* 65, 778-785.
- Okada, K., Wangpoengtrakul, C., Osawa, T., Toyokuni, S., Tanaka, K., and Uchida, K. (1999) 4-Hydroxy-2-nonenal-mediated impairment of intracellular proteolysis during oxidative stress *in vivo*. Identification of the proteasome as a target molecule. *J. Biol. Chem.* 274, 23787-23793.
- Kawakami, T., Suzuki, T., Baek, S.H., Chung, C.H., Ichiyama, A., Hirano, H., Omata, M., and Tanaka, K. (1999) Isolation and characterization of cytosolic and membrane-bound deubiquitinating enzymes from bovine brain. *J. Biochem.* 126, 612-623.

- Murakami, Y., Matsufuji, S., Hayashi, S., Tanahashi, N., and Tanaka, K. (1999) ATP-dependent sequestration of ornithine decarboxylase by the 26S proteasome, a process coupled to unfolding, is a prerequisite for the degradation. *Mol. Cell. Biol.* 19, 7216-7227.
- Hiyama, H., Yokoi, M., Masutani, C., Sugasawa, K., Maekawa, T., Tanaka, K., Hoeijmakers, J.H.J., and Hanaoka, F. (1999) Interaction of hHR23 with S5a: The ubiquitin-like domain of hHR23 mediates interaction with S5a subunit of the 26S proteasome. *J. Biol. Chem.* 274, 28019-28025.
- Suzuki, T., Ichiyama, A., Saitoh, H., Kawakami, T., Omata, M., Chung, C.H., Kimura, M., Shimbara, N., and Tanaka, K. (1999) A new 30 kDa ubiquitin-related SUMO-1 hydrolase from bovine brain. *J. Biol. Chem.* 274, 31131-31134.
- Makino, Y., Yoshida, T., Yogosawa, S., Tanaka, K., Muramatsu, M., and Tamura, T. (1999) Multiple mammalian proteasomal ATPases, but not proteasome itself, are associated with TATA-binding protein and a novel transcriptional activator, TIP120. *Genes to Cells* 4, 529-539.
- Suzuki, H., Kobayashi, M., Takeuchi, M., Furuichi, K., Chiba, T., and Tanaka, K. (1999) Identification of a novel 300-kDa factor termed I κ B α E3-F1 that is required for ubiquitinylation of I κ B α . *FEBS Lett.* 458, 343-348.
- Takeuchi, J., Fujimuro, M., Yokosawa, H., Tanaka, K., and Toh-e, A. (1999) Rpn9 is required for efficient assembly of the yeast 26S proteasome. *Mol. Cell. Biol.* 19, 6575-6584.
- Baek, S.H., Yoo, Y.J., Tanaka, K., and Chung, C.H. (1999) Molecular cloning of chick UCH-6 which shares high similarity with human UCH-L3: Its unusual substrate specificity and tissue distribution. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 264, 235-240.
- Hori, T., Osaka, F., Chiba, T., Miyamoto, C., Okabayashi, K., Shimbara, N., Kato, S., and Tanaka, K. (1999) Covalent modification of all members of human cullin family proteins by NEDD8. *Oncogene* 48, 6829-6834.
- Murata, S., Kawahara, K., Tohma, S., Yamamoto, K., Kasahara, M., Nabeshima, Y., Tanaka, K., and Chiba, T. (1999) Growth retardation in mice lacking the proteasome activator PA28 γ . *J. Biol. Chem.* 274, 38211-38215.

- Mitsui, K., Nakanishi, M., Ohtsuka, S., Norwood, T.H., Okabayashi, K., Miyamoto, C., Tanaka, K., Yoshimura, A., and Ohtsubo, M. (1999) A novel human gene encoding HECT domain and RCC1-like repeats interacts with cyclins and is potentially regulated by the tumor suppressor proteins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 266, 115-122.
- Yanagawa, Y., Ohhashi, A., Murakami, Y., Tanaka, K., Hashimoto, J., Sato, T., and Nakagawa, H. (1999) Purification and characterization of the 26S proteasome from cultured rice (*Oryza sativa*) cells. *Plant Science* 149, 33-41.
- Suzuki, H., Chiba, T., Suzuki, T., Fujita, T., Ikenoue, T., Omata, M., Furuichi, K., Shikama, H., and Tanaka, K. (2000) Homodimer of two F-box proteins β TrCP1 or β TrCP2 binds to $\text{I}\kappa\text{B } \alpha$ for signal-dependent ubiquitination. *J. Biol. Chem.* 275, 2877-2884.
- Tone, Y., Tanahashi, N., Tanaka, K., Fujimuro, M., Yokosawa, H., and Toh-e, A. (2000) Nob1, a new essential gene, associates with the 26S proteasome of growing *Schaccaromyces cerevisiae* cells. *Gene* 243, 37-45.
- Minami, Y., Kawasaki, H., Minami, M., Tanahashi, N., Tanaka, K., and Yahara, I. (2000) A critical role of the proteasome activator PA28 in the Hsp-90-dependent protein folding. *J. Biol. Chem.* 275, 9055-9061.
- Kimura, Y., Takaoka, M., Tanaka, S., Sassa, H., Tanaka, K., Sherman, F., and Hirano, H. (2000) *Na*-Acetylation and proteolytic activity of the yeast 20S proteasome. *J. Biol. Chem.* 275, 4635-4639.
- Kim, K.I., Baek, S.H., Nishimori, S., Suzuki, T., Uchida, S., Shimbara, S., Saitoh, H., Tanaka, K., and Chung, C.H. (2000) A new SUMO-1-specific protease, SUSP1, that is highly expressed in reproductive organs. *J. Biol. Chem.* 275, 14102-14106.
- Tanahashi, N., Murakami, Y., Minami, Y., Shimbara, N., Hendil, K.B., and Tanaka, K. (2000) Hybrid proteasomes: Induction by interferon- γ and contribution to the ATP-dependent proteolysis. *J. Biol. Chem.* 275, 14336-14345.
- Tomisugi, Y., Unno, M., Morimoto, Y., Tanahashi, N., Tanaka, K., Tsukihara, T., and Yasuoka, N. (2000) New crystal forms and low resolution structure analysis of 20S proteasomes from bovine liver. *J. Biochem.* 127, 941-943.

- Park, K.C., Choi, E.J., Min, S.W., Chung, S.S., Kim, H., Suzuki, T., Tanaka, K., and Chung, C.H. (2000) Tissue specificity, functional characterization, and subcellular localization of rat ubiquitin-specific protease, UBP109, whose mRNA expression is developmentally regulated. *Biochem. J.* 349, 443-453.
- Shimura, H., Hattori, N., Kubo, S., Mizuno, Y., Asakawa, S., Minoshima, S., Shimizu, N., Iwai, K., Chiba, T., Tanaka, K., and Suzuki, S. (2000) Familial Parkinson's disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase. *Nature Genet.* 25, 302-305.
- Brooks, P., Fuertes, G., Murray, R.Z., Bose, S., Knecht, E., Rechsteiner, M.C., Hendil, K.B., Tanaka, K., Dyson, J., and Rivett, A.J. (2000) Subcellular localization of proteasomes and their regulatory complexes in mammalian cells. *Biochem. J.* 346, 155-161.
- McCutchen-Maloney, S.L., Matsuda, K., Shimbara, N., Tanaka, K., Slaughter, C.A., and DeMartino, G.N. (2000) cDNA cloning, expression, and functional characterization of PI31, a proline-rich inhibitor of the proteasome. *J. Biol. Chem.* 275, 18557-18565.
- Osaka, F., Saeki, M., Aida, N., Toh-e, A., Katayama, S., Kominami, K., Toda, T., Suzuk, T., Chiba, T., Tanaka, K., and Kato, S. (2000) Covalent modifier NEDD8 is essential for SCF ubiquitin-ligase in fission yeast. *EMBO J.* 19, 3475-3484.
- Kawahara, H., Kasahara, M., Nishiyama, A., Ohsumi, K., Goto, T., Kishimoto, T., Saeki, Y., Yokosawa, H., Shimbara, N., Murata, S., Chiba, T., Suzuki, K., and Tanaka, K. (2000) Developmentally regulated, alternative splicing of the Rpn10 gene generates multiple forms of 26S proteasomes. *EMBO J.* 19, 4144-4153.
- Seong, I.S., Oh, J.Y., Lee, J.W., Tanaka, K., and Chung, C.H. (2000) The HslU ATPase acts as a chaperone in prevention of aggregation of SulaA, an inhibitor of cell division in *Escherichia coli*. *FEBS Lett.* 477, 224-229.
- Nishiyama, A., Tachibana, K., Igarashi, Y., Yasuda, H., Tanahashi, N., Tanaka, K., Ohsumi, K., and Kishimoto, T. (2000) A non-proteolytic function of the proteasome is required for the dissociation of Cdc2 and cyclin B at the end of M-phase. *Genes & Dev.* 14, 2344-2357.
- Noda, C., Tanahashi, N., Hendil, K.B., and Tanaka, K. (2000) Tissue distribution of constitutive proteasomes, immunoproteasomes and PA28 in rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 277, 348-354.

- Takayanagi, H., Ogasawara, K., Hida, S., Chiba, T., Murata, S., Sato, K., Takaoka, A., Yokouchi, T., Oda, H., Tanaka, K., Nakamura, K., and Taniguchi, T. (2000) T cell-mediated regulation of osteoclastogenesis via novel signalling cross-talk between RANKL and IFN- γ . *Nature* 408, 600-605.
- Yawata, M., Murata, S., Tanaka, K., Ishigatsubo, Y., Kasahara, M. (2000) Nucleotide sequence analysis of the -35 -kb segment containing interferon- γ -inducible mouse proteasome activator genes. *Immunogenetics* 53, 119-129.
- Kang, M.S., Lim, B.K., Seong, I.S., Shimbara, N., Tanaka, K., and Chung, C.H. (2001) The ATP-dependent CodWX (HslVU) protease in *Bacillus subtilis* is a N-terminal serine protease. *EMBO J.* 20, 734-742
- Hartmann-Peterson, R., Tanaka, K., and Hendil, K. (2001) Quaternary structure of the ATPase complex of human 26S proteasomes determined by chemical cross-linking. *Arch. Biochem. Biophys.* 386, 89-94.
- Nishimori, S., Tanaka, Y., Chiba, T., Fujii, M., Imamura, T., Miyazono, K., Ogasawara, T., Kawaguchi, H., Igarashi, T., Fujita, T., Tanaka, K., and Toyoshima, H. (2001) Smad-mediated transcription is required for TGF- β 1-induced p57Kip2 proteolysis in osteoblastic cells. *J. Biol. Chem.* 276,10700-10705.
- Ebisawa, T., Fukuchi, M., Murakami, G., Chiba, T., Tanaka, K., Imamura, T., and Miyazono, K. (2001) Smurf1 is recruited to TGF- β type I receptor by Smad7 and induces receptor degradation. *J. Biol. Chem.* 276, 12477-12480.
- Niwa, J., Ishigaki, S., Doyu, M., Kato, K., Suzuki, T., Tanaka, K., Sobue, G. (2001) A novel human RING-finger/IBR family protein, Dorfin, resides in centrosome and mediates ubiquitin ligase activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 281, 706-713.
- Matsuda, N., Suzuki, T., Uchimiya, H., Tanaka, K., and Nakano, A. (2001) Rma1, a novel type of RING finger protein conserved from Arabidopsis to human, is a membrane-bound ubiquitin ligase. *J. Cell Sci.* 114, 1949-1957.
- Fukuchi, M., Imamura, T., Chiba, T., Ebisawa, T., Kawabata, M., Tanaka, K., and Miyazono, K. (2001) Ligand-dependent degradation of smad3 by a ubiquitin ligase complex of rocl and associated proteins. *Mol. Biol. Cell* 1431-1443.

- Wang, M., Suzuki, T., Kitada, T., Asakawa, S., Minoshima, S., Shimizu, N., Tanaka, K., Mizuno, Y., and Hattori, N. (2001) Developmental changes in the expression of parkin and UbcR7, a parkin-interacting and ubiquitin-conjugating enzyme in rat brain. *J. Neurochem.* 77, 1561-1568.
- Kawakami, T., Chiba, T., Suzuki, T., Iwai, K., Yamanaka, K., Minato, N., Hidaka, Y., Shimbara, N., Suzuki, H., Osaka, F., Omata, M., and Tanaka, K. (2001) NEDD8 recruits E2-ubiquitin to SCF E3-ligase. *EMBO J.* 20, 4003-4012.
- Murata, S., Udono, H., Tanahashi, N., Hamada, N., Adachi, K., Yamano, T., Yui, K., Kobayashi, N., Kasahara, M., Tanaka, K., and Chiba, T. (2001) Immunoproteasome assembly and antigen processing in mice lacking both PA28 α and PA28 β . *EMBO J.* 20, 5898-5907.
- Tateishi, K., Omata, M., Tanaka, K., and Chiba, T. (2001) The NEDD8 system is essential for cell cycle progression and morphogenetic pathway in mice. *J. Cell Biol.* 155, 571-580.
- Murata, S., Minami, Y., Minami, M., Chiba, T., and Tanaka, K. (2001) CHIP is a chaperone-dependent E3 ligase that ubiquitylates unfolded protein. *EMBO Rep.* 20, 5898-5907.
- Takabe, W., Kodama, T., Hamakubo, T., Tanaka, K., Suzuki, T., Aburatani, H., and Noguchi, N. (2001) Regulation of the expression and function of proteasome α -type subunits by the anti-atherogenic compounds in human endothelial cells. *J. Biol. Chem.* 276, 40497-40501.
- Combaret, L., Tilignac, T., Claustre, A., Voisin, L., Taillandier, D., Obléd, C., Tanaka, K., and Attaix, D. (2002) Torbafylline is a powerful inhibitor of enhanced ubiquitin-proteasome-dependent proteolysis in cancer rats. *Biochem. J.* 362, 185-192, 2002.
- Yanagawa, Y., Kimura, S., Komamine, A., Tanaka, K., Hashimoto, J., Sato, T., and Nakagawa, H. (2002) Spacial distribution of the 26S proteasome in meristematic tissues and primordia of rice (*Oryza sativa* L). *Planta* 214, 703-707.
- Hendil, K.B., Hartmann-Petersen, R., and Tanaka, K. (2002) 26S proteasomes function as stable entities. *J. Mol. Biol.* 315, 627-636.
- Unno, M., Mizushima, T., Morimoto, Y., Tomisuga, Y., Tanaka, K., Yasuoka, N., and Tsukihara, T. (2002) Structure determination of the constitutive 20S proteasome from bovine liver at 2.75 Å resolution. *J. Biochem.* 131, 171-173.

- Unno, M., Mizushima, T., Morimoto, Y., Tomisugi, Y., Tanaka, K., Yasuoka, N., and Tsukihara, T. (2002) The structure of the mammalian 20S proteasome at 2.75 Å resolution. *Structure* 10, 609-6018.
- Kadoya, K., Yamamoto, H., Suzuki, T., Yukita, A., Fukui, A., Michine, T., Asahara, T., Tananaka, K., Asashima, N.M., and Kikuchi, A. (2002) Desumoylation activity of Axin, a novel Axin-binding protein, is involved in downregulation of β -catenin. *Mol. Cell. Biol.* 22, 3803-3819.
- Asai, A., Tanahashi, N., Qiu, J.H., Saito, N., Chi, S., Kawahara, N., Tanaka, K., and Kirino T. (2002) Selective proteasomal dysfunction in the hippocampal CAL region after transient forebrain ischemia. *J. Cereb. Blood. Flow. Metab.* 22, 705-710.
- Yanagawa, Y., Hasezawa, S., Kumagai, F., Fujimuro, M., Naito, T., Makino, T., Yokosawa, H., Tanaka, K., Komamine, A., Hashimoto, J., Sato, T., and Nakagawa, H. (2002) Cell-cycle dependent dynamic change of 26S proteasome distribution in tobacco BY-2 cells. *Plant and Cell Physiol.* 43, 604-613.
- Ogawara Y, Kishishita S, Obata T, Isazawa Y, Suzuki T, Tanaka K, Masuyama N, and Gotoh Y. (2002) Akt enhances Mdm2-mediated ubiquitination and degradation of p53. *J. Biol. Chem.* 277, 21843-21850.
- Yamano, T., Murata, S., Shimbara, N., Tanaka, N., Chiba, T., Tanaka, K., Yui, K., and Udono, H. (2002) Two distinct pathways mediated by PA28 and hsp90 in MHC class I antigen processing. *J. Exp. Med.* 196, 185-196.
- Park, K. C., Kim, J.H., Choi, E-J., Min, S.W., Rhee, S., Baek SH, Chung, S.S., Bang O, Park, D., Chiba, T., Tanaka, K., and Chung, C.H. (2002) Antagonistic regulation of myogenesis by two deubiquitinating enzymes, UBP45 and UBP69. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (in press).
- Yoshida, Y., Chiba, T., Tokunaga, T., Kawasaki, H., Iwai, K., Suzuki, T., Ito, Y., Matsuoka, K., Yoshida, M., Tanaka, K., and Tai, T. (2002) E3 ubiquitin-ligase that recognizes sugar chains. *Nature* (in press).

「II」：総合研究大学院大学グループ

(1) 論文発表（国内： 19 件、海外： 28 件）

- Kasahara, M., Nakaya, J., Satta, Y. and Takahata, N. Chromosomal duplication and the emergence of the adaptive immune system. *Trends Genet.* 13: 90-92, 1997.

- Seboun, E., Barbaux, S., Bourgeron, T., Nishi, S., Algonik, A., Egashira, M., Niikawa, N., Bishop, C., Fellous, M., McElreavey, K. and Kasahara, M. Gene sequence, localization, and evolutionary conservation of DAZLA, a candidate male sterility gene. *Genomics* 41: 227-235, 1997.
- Hayashi, M., Ishibashi, T., Tanaka, K. and Kasahara, M. The mouse genes encoding the third pair of β -type proteasome subunits regulated reciprocally by IFN- γ : Structural comparison, chromosomal localization, and analysis of the promoter. *J. Immunol.* 159: 2760-2770, 1997.
- Kandil, E., Kohda, K., Ishibashi, T., Tanaka, K. and Kasahara, M. PA28 subunits of the mouse proteasome: Primary structures and chromosomal localization of the genes. *Immunogenetics* 46: 337-344, 1997.
- Kasahara, M. New insights into the genomic organization and origin of the major histocompatibility complex: Role of chromosomal (genome) duplication in the emergence of the adaptive immune system. *Hereditas* 127 (special issue): 59-65, 1997.
- Kohda, K., Matsuda, Y., Ishibashi, T., Tanaka, K. and Kasahara, M. Structural analysis and chromosomal localization of the mouse *Psm5* gene coding for the constitutively expressed β -type proteasome subunit. *Immunogenetics* 47: 77-87, 1997.
- 笠原正典：主要組織適合遺伝子複合体領域は脊椎動物ゲノムにおいて重複している。臨床免疫 29: 259-264, 1997。
- Kohda, K., Ishibashi, T., Shimbara, N., Tanaka, K., Matsuda, Y. and Kasahara, M. Characterization of the mouse PA28 activator complex gene family: Complete organizations of the three member genes and a physical map of the \sim 150-kb region containing the α - and β -subunit genes. *J. Immunol.* 160: 4923-4935, 1998.
- Tanaka, K. and Kasahara, M. The MHC class I-ligand generating system: Roles of immunoproteasomes and the interferon- γ -inducible proteasome activator PA28. *Immunol. Rev.* 163: 161-176, 1998.
- Suto, Y., Ishikawa, Y., Kasahara, M., Kasai, F., Yabe, T., Akaza, T. and Juji, T. Gene arrangement of the killer cell inhibitory receptor family on human chromosome 19q13.4 detected by fiber-FISH. *Immunogenetics* 48: 235-241, 1998.
- Kasahara, M. What do the paralogous regions in the genome tell us about the origin of the adaptive immune system? *Immunol. Rev.* 166: 159-175, 1998.

- 山本直子、笠原正典：*HLA* 領域の構造・機能・起源。*病理と臨床* 16：415-421、1998。
- 笠原正典：学会だより。第 27 回日本免疫学会総会・学術集会。*現代医療* 30：1320-1321、1998。
- 笠原正典、菊地浩吉：MHC クラス I 分子による抗原提示システム。菊地浩吉（編著）：*周り道免疫学*、メディカルレビュー社、大阪・東京、pp.84-96、1998。
- 笠原正典：主要組織適合遺伝子複合体領域はどのようにして誕生したのか？*臨床免疫* 30：1385-1391、1998。
- 笠原正典：脊椎動物進化の初期に起こった免疫系のビッグバン。高畑尚之（編）：*生命体システムの由来と未来*、総合研究大学院大学グループ研究「生命体科学」、葉山、pp. 38-46、1998。
- 笠原正典：熱ショック蛋白質と分子シャペロン、*医学のあゆみ* 187：231-234、1998。
- Kasahara, M. The chromosomal duplication model of the major histocompatibility complex. *Immunol. Rev.* 167: 17-32, 1999.
- Kirchhoff, C., Osterhoff, C., Kasahara, M. and Ivell, R. Molecular biology of sperm maturation- New strategies for male contraception? In: M. Rajalakshmi and P.D. Griffin (eds.): *Male Contraception: Present and Future*, pp.103-123, World Health Organization, Geneva, 1999.
- Nishi, S., Hoshi, N., Kasahara, M., Ishibashi, T. and Fujimoto, S. Existence of human DAZLA protein in the cytoplasm of human oocytes. *Mol. Hum. Reprod.* 5: 495-497, 1999.
- Kasahara, M. Genome dynamics of the major histocompatibility complex. *Immunogenetics* 50 (special anniversary issue): 134-145, 1999.
- Flajnik, M.F., Ohta, Y., Greenberg, A.S., Salter-Cid, L., Carrizosa, A., Du Pasquier, L. and Kasahara, M. Two ancient allelic lineages at the single classical class I locus in the *Xenopus* MHC. *J. Immunol.* 163: 3826-3833, 1999.
- Murata, S., Kawahara, H., Tohma, S., Yamamoto, K., Kasahara, M., Tanaka, K. and Chiba, T. Growth retardation in mice lacking the proteasome activator PA28 γ . *J. Biol. Chem.* 274: 38211-38215, 1999.

- Kasahara, M. and Tanaka, K. Proteasomes and antigen presentation: biochemistry and genetics. *Recent Res. Dev. Immunol. 1*: 321-337, 1999.
- 笠原正典：顎と免疫系。文部省特定領域研究「免疫病の分子機構とその修復」ニュース・レター6：10-11、1999。
- 田中啓二、笠原正典、村田茂穂：抗原プロセッシングと遺伝子。遺伝子医学3：136-143、1999。
- 笠原正典：自己と非自己の識別。アエラムック「生物学がわかる」、朝日新聞社、東京、pp.30-33、1999。
- Kasahara, M. Genome paralogy: A new perspective on the organization and origin of the major histocompatibility complex. *Curr. Top. Microbiol. Immunol. 248*: 53-66, 2000.
- Kasahara, M. (ed.) *Major Histocompatibility Complex: Evolution, Structure, and Function*. Springer-Verlag, Tokyo-Berlin-Heidelberg-New York, pp.1-561, 2000.
- Kasahara, M., Yawata, M. and Suzuki, T. The MHC paralogous group: Listing of members and a brief overview. In: M. Kasahara (ed.): *Major Histocompatibility Complex: Evolution, Structure, and Function*, pp.27-44, Springer-Verlag, Tokyo-Berlin-Heidelberg-New York, 2000.
- Kawahara, H., Kasahara, M., Nishiyama, A., Ohsumi, K., Goto, T., Kishimoto, T., Saeki, Y., Yokosawa, H., Shimbara, N., Murata, S., Chiba, T., Suzuki, K. and Tanaka, K. Developmentally regulated, alternative splicing of the *Rpn10* gene generates multiple forms of 26S proteasomes. *EMBO J. 19*: 4144-4153, 2000.
- Kobayashi, A., Kasano, M., Maeda, T., Hori, Si., Motojima, K., Suzuki, M., Fujiwara, T., Takahashi, Ei., Yabe, T., Tanaka, K., Kasahara, M., Yamaguchi, Y. and Maeda, M. A half-type ABC transporter TAPL is highly conserved between rodent and man, and the human gene is not responsive to interferon- γ in contrast to TAP1 and TAP2. *J. Biochem. 128*: 711-718, 2000.
- 大田竜也、笠原正典：自己・非自己識別システムの進化。藤原大美（編）：新 移植免疫学、中外医学社、東京、pp. 1-21, 2000。
- Yawata, M., Murata, S., Tanaka, K., Ishigatsubo, Y. and Kasahara, M. Nucleotide sequence analysis of the ~35-kb segment containing interferon- γ -inducible mouse proteasome activator genes. *Immunogenetics 53*: 119-129, 2001.

Murata, S., Udono, H., Tanahashi, N., Hamada N., Watanabe, K., Adachi, K., Yamano, T., Yui, K., Kobayashi, N., Kasahara, M., Tanaka, K. and Chiba, T. Immunoproteasome assembly and antigen presentation in mice lacking both PA28 α and PA28 β . *EMBO J.* 20: 5898-5907, 2001.

Flajnik, M.F. and Kasahara, M. Comparative genomics of the MHC: Glimpses into the evolution of the adaptive immune system. *Immunity* 15: 351-362, 2001.

Cohen, D.J., Ellerman, D.A., Busso, D., Morgenfeld, M., Piazza, A.D., Hayashi, M., Young, E.T., Kasahara, M. and Cuasnicu, P.S. Evidence that human epididymal protein ARP plays a role in gamete fusion through complementary sites on the surface of the human egg. *Biol. Reprod.* 65: 1000-1005, 2001.

笠原正典：特異的免疫応答。－抗原認識と免疫の発現－。菊地浩吉、上出利光（編）：*医科免疫学*。改訂第5版、南江堂、東京、pp. 77-102, 2001。

笠原正典：ゲノム重複と脊椎動物の進化。小原雄治、榊 佳之（編）：ポストシーケンスのゲノム科学第4巻。ゲノムから個体へ。－生命システムの理解にむけて－。中山書店、東京、pp. 94-107, 2001。

笠原正典：(分担執筆) Fc receptor neonatal。大沢利昭、奥田研爾、小山次郎（編）：*免疫学辞典*。第2版、東京化学同人、東京、2001。

笠原正典：主要組織適合遺伝子複合体のゲノム構造の謎を解く：ゲノムが語る自己非自己識別システムの歴史。*医学のあゆみ* 198 : 781-787, 2001。

笠原正典：ヒトのゲノムは本来8倍体だったのか？*蛋白質 核酸 酵素* 46 臨時増刊号「ゲノムサイエンスの新たな挑戦」、pp. 2473-2476、東京、2001。

Liu, Y., Kasahara, M., Rumfelt, L.L. and Flajnik, M.F. *Xenopus* class II A genes: studies of genetics, polymorphism, and expression. *Dev. Comp. Immunol.* 26: in press, 2002.

Kasahara, M. Polyploid origin of the human genome. In: D. N. Cooper (ed.): *Encyclopedia of the Human Genome*, in press, Nature Publishing Group, Macmillan, London, 2002.

笠原正典：(分担執筆) MHC クラス I 分子。*南山堂医学大辞典* 改訂 19 版、南山堂、東京、印刷中、2002。

笠原正典：(分担執筆) 主要組織適合遺伝子複合体、ほか 15 項目。伊藤正男、井村裕夫、高久史磨（編）：*医学大辞典*、医学書院、東京、印刷中、2002。

1. 研究実施の概要

自己と非自己を峻別する免疫識別は生体防御戦略の要であり、その分子的基礎は主要組織適合遺伝子複合体 (Major Histocompatibility Complex : MHC) クラス I 分子と結合する抗原ペプチドの生成機構である。プロテアソームは 250 万の巨大な多成分複合体 (サブユニット総数 50) であり、生化学史上他に例を見ない超分子システムを構成している。1990 年代の初頭に本酵素が内在性抗原のプロセッシング酵素として MHC クラス I 結合リガンド、すなわち細胞障害性 T リンパ球 (CTL) エピトープ (抗原ペプチド) を生成する酵素であることが判明した。しかし、プロテアソームが CTL エピトープを造成する分子機構および本酵素の免疫生物学的意義はほとんど不明であった。そこで、本提案研究ではプロテアソームの構造生物学的研究および発生工学的的手法による機能解析研究を通して免疫識別の分子機構を解明し、この超分子システムの免疫始動制御における役割の解明を目指した。併せて、抗原提示担当遺伝子群の分子進化研究を推進することによって適応免疫が誕生した遺伝学的背景、すなわち適応免疫の起源に迫ることも主要な研究目標の一つに据えた。

本提案研究を達成するために、東京都臨床医学総合研究所の田中啓二グループ、住友電工バイオメディカル研究部の丹羽真一郎グループ、及び総合研究大学院大学の笠原正典グループが、(1) プロテアソームの構造・機能解析、(2) 抗原プロセッシング反応の機構解明、(3) 抗原提示担当遺伝子群の構造・機能・分子進化、の三つの研究目標を立案して互いに密接に連携しながら、以下に示すような顕著な成果を上げることができた。これらの三つの研究の効果的な遂行により、当初に設定した目標を十分に達成したばかりでなく、当初は予想もしなかった望外な成果を得ることができ、これまでの世界の常識を覆すような斬新な仮説を提案し、その結果、本研究グループの研究は、国内外においても世界の研究を牽引するようなトップクラスの研究成果と高い評価を得ている。以下に本提案研究プロジェクトで成し遂げた研究成果の概要をグループ毎に記載する。

田中啓二グループ (東京都臨床医学総合研究所)

本グループは、巨大な多分子集合体であるプロテアソームの分子構成や高次構造を解明し、この超分子システムの物質的基盤を明確にした。また、多彩な生理機能を担うプロテアソームが抗原プロセッシング酵素として作用するとき、主要な免疫調節サイトカインであるガンマ型インターフェロン (IFN- γ) に応答して構造変換し、抗原提示による免疫識別を巧妙に制御していることを明らかにした。その過程で触媒サブユニットを変換した“免疫プロテアソーム”や PA28 と PA700 の 2 種の活性化因子を共有した“ハイブリッドプロテアソーム”を発見し、適応的な抗原処理機構の仕組みについて新しい知見を得た。さらに発生工学的的手法を駆使した個体レベルでの機能解析研究も押し進め、内在性抗原を識別する免疫識別、引いてはプロテアソームの免疫生物学的意義についての核心に迫る研究へと発展させることに成功した。と同時に DRiPs (defective ribosomal products : 抗原エピトープ

笠原正典：(分担執筆) 免疫、ほか 12 項目。北川高嗣、須藤 修、西垣 通、濱田純一、吉見俊哉、米本昌平 (編)：*情報学事典*、弘文堂、東京、印刷中、2002。

(2) 特許出願

無し

(3) 新聞報道等

① 新聞報道

日本経済新聞・朝刊「パーキンソン病：発症の仕組み解明・都臨床医学研、遺伝性で」2000 年 6 月 27 日。同じ内容の記事が数紙に掲載された。

本研究に関する詳細な解説記事が読売新聞 (夕刊) のサイエンシランドに「若年性パーキンソン病：不要たんぱく質蓄積が引き金・“細胞死” 促し発症」として掲載された (2000 年 8 月 10 日)。さらにこの記事と同じ内容の解説記事が THE DAILY YOMIURI に「Researchers make key discovery in fight against Parkinson's」として掲載された (2000 年 9 月 12 日)。

② 招待講演

34th Nobel Conference - Regulation of cellular functions by the ubiquitin-proteasome system (Stockholm, Sweden), 5/30 - 6/3 (2001).

カロリンスカ研究所主催で開催された第 34 回ノーベル会議 “ユビキチンプロテアソームシステムによる細胞機能の調節” に招待講演を依頼された。講演タイトル：Autosomal recessive juvenile parkinsonism is linked to the ubiquitin-proteasome pathway (Keiji Tanaka).