

後藤 由季子 博士  
略歴と研究業績

2023年11月

公益財団法人 武田科学振興財団

ごとう ゆきこ  
後藤 由季子 博士 略歴

学歴・職歴

- 1987年3月 東京大学理学部生物化学科卒業
- 1989年3月 東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻修士課程修了  
(酒井彦一研究室)
- 1991年4月 日本学術振興会特別研究員  
(東京大学理学部生物化学教室)
- 1992年3月 東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻博士課程修了  
(酒井彦一研究室)
- 1992年3月 理学博士(東京大学)
- 1993年7月 京都大学ウイルス研究所 助手(西田栄介研究室)
- 1996年10月 Fred Hutchinson Cancer Research Center 研究員(Jonathan Cooper 研究室)
- 1997年5月 Harvard Medical School/Children's Hospital 研究員(Michael Greenberg 研究室)
- 1998年4月 東京大学分子細胞生物学研究所 助教授
- 2002年9月 岡崎国立共同研究機構生理学研究所客員助教授併任(2003年3月31日まで)
- 2003年4月 国立遺伝学研究所客員助教授併任(2006年3月31日まで)
- 2005年4月 東京大学分子細胞生物学研究所 教授
- 2013年10月 東京大学大学院薬学系研究科 教授(現在に至る)
- 2017年10月 東京大学国際高等研究所 ニューロインテリジェンス国際研究機構 主任研究員  
併任(現在に至る)



---

受賞歴

- 2003年 日本分子生物学会三菱化学奨励賞
- 2004年 日本癌学会奨励賞
- 2010年 日本学術振興会賞
- 2010年 日本学士院学術奨励賞
- 2010年 塚原伸晃賞
- 2013年 安田記念医学賞
- 2014年 井上学術賞
- 2014年 長瀬研究振興賞
- 2014年 木原記念財団学術賞
- 2020年 紫綬褒章(秋)

## 後藤 由季子 博士 研究略歴

### MAPキナーゼ経路の解明

後藤由季子博士は、1986年に東京大学理学部生物化学科の酒井彦一博士が主宰する研究室にて、当時助手であった西田栄介博士の指導を受けて研究を開始した。学部4年の卒業研究においては、酒井研究室が細胞骨格を研究対象としていたため、微小管の人為的脱重合により細胞増殖が開始するメカニズムを探索した。その結果、当時は細胞膜上において働くと考えられていた増殖因子受容体が、実は細胞内に小胞として取り込まれた状態で活性化(リン酸化)していること、ならびにそのような細胞内小胞のダイナミクスに微小管が関わることを見出した。

後藤博士は1987年に東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻に進学し、引き続き酒井研究室の西田博士のグループで細胞の増殖制御に関わるシグナル伝達の以下の研究を行なった。当時、増殖因子を細胞に添加すると細胞抽出液中のセリン・スレオニン残基に対するリン酸化活性が上昇することは知られていた。西田博士は、微小管結合蛋白質2(MAP2)を基質に用いるとそのような増殖因子で活性化するリン酸化活性が捉えられることを明らかにしていた。しかし、そのリン酸化活性がいかなるキナーゼによって担われているかが不明であり、そもそも増殖因子により共通に活性化する特定のキナーゼが存在するのかどうかも未知であった。後藤博士は世界で初めて、哺乳類細胞において様々な増殖因子で共通に活性化されるキナーゼが43 kDaと41 kDaの二つの分子であることをゲル内リン酸化法によって示した。さらにこのキナーゼのアフリカツメガエルホモログを精製し、全長の遺伝子配列を決定することにも成功して、MAPキナーゼと呼称することとした。

後藤博士は1992年3月に理学博士を取得し、その後日本学術振興会特別研究員として、また1993年7月に西田博士が京都大学ウイルス研究所において研究室を主宰するにあたっては同研究室の助手として、引き続きMAPキナーゼの研究を行なった。後藤博士は、MAPキナーゼを活性化するタンパク質MAPKKの同定にも中心的な貢献を果たした。このMAPKKとMAPキナーゼのセットは現在「(古典的)MAPキナーゼ経路」と呼ばれ、増殖シグナルを核へと伝える責任経路であること、さらにはこの経路の異常活性化ががん化につながることを明らかにした。

また後藤博士は、脊椎動物のMAPキナーゼと構造的・機能的に類似したキナーゼが酵母や植物に存在する例を示し、MAPキナーゼ経路が酵母から哺乳類まで保存されているという概念を確立することにも貢献した。

### JNKとAKTの制御するシグナル伝達の解明

MAPキナーゼ経路は増殖シグナル伝達のみならず分化シグナルなど多くの細胞内シグナル伝達を担う中心経路であることが明らかになってきたが、後藤博士自身、MAPキナーゼ経路がPC12細胞のニューロン分化、アフリカツメガエルの卵母細胞成熟、初期胚中胚葉誘導などの分化過程に関係することを示した。また、後藤博士らが同定した「(古典的)MAPキナーゼ経路」とは別に、ストレスで活性化される類似キナーゼ(JNK, p38など)が存在することが海外から報告され、これらはストレス活性化型MAPキナーゼと呼ばれるようになった。後藤博士はストレス活性化型MAPキナーゼを制御する上流因子の同定にも携わった。

後藤博士は1996年10月から米国Fred Hutchinson Cancer Research Centerに留学しJonathan A. Cooper博士の元でストレス活性化型MAPキナーゼの上流因子のうち、ASKとMST経路の研究を半年間行なった。そして1997年4月から米国Harvard Medical Schoolに2年間留学しMichael E. Greenberg博士の元でAKTシグナル伝達の研究を開始した。当時、細胞を殺す分子機構(アポトーシスシグナル伝達)についての研究が盛んであったが、細胞を積極的に「生かす」シグナル伝達の研究は端緒についたばかりだった。Greenberg研究室ではインスリンの下流でAKTが細胞生存促進に中心的な役割を果たすことを示していた。後藤博士は留学中にAKTがアポトーシス促進因子BADをリン酸化することで失活させるというメカニズムの解明に携わった。

後藤博士は 1998 年 4 月から東京大学分子生物学研究所(当時)助教授として研究室の主宰を開始した。そこではまず、AKT が生存を促進する際の主要な基質として MDM2, NUR77 などを同定した。また JNK による細胞死促進機構と AKT による細胞生存促進機構が 14-3-3 をハブとして拮抗していることも示した。さらに原がん遺伝子産物 AKT は、細胞生存促進のみならず細胞移動、さらにはがん細胞浸潤活性にも関与することも明らかにした。また AKT がコンテキスト依存的に細胞生存や細胞移動といった機能を使い分けるメカニズムを検討し、PAK が AKT の細胞移動特異的なスキヤフォールド因子として働くことを示した。

### **脳発生の初期段階を神経幹細胞制御から解き明かす**

後藤博士は、個体発生のコンテキストでそれぞれの細胞が適切に運命制御されて組織がロバストに形成される過程に魅せられ、組織幹細胞の運命制御を扱うこととした。そこで Michael E. Greenberg 研究室への留学と Ronald McKay 研究室への短期訪問を契機に、神経幹細胞研究を開始した。一般的に、神経幹細胞は「増殖期」→「ニューロン分化期」→「グリア分化期」と順々に運命を変えることで、整然とした脳組織を形成する。しかし当時、神経幹細胞の時間軸に沿った運命転換機構はほぼ不明であった。後藤博士の研究室(2005年より東大分生研教授、2013年より同薬学部教授)では、増殖期からニューロン分化期、グリア分化期への段階的な運命転換を司るエピゲノム機構を解明した。特に、ポリコーム複合体や HMGA といったクロマチン制御因子がタイミングよくニューロン分化関連遺伝子群の発現を制御することが適切な運命転換に重要であることを示した。

後藤博士の研究室ではまた、脳内の場所と発生時期に依存して、神経幹細胞が適切にニューロン分化の「方向」と「程度」を調節する機構を同定した。例えば、幹細胞増殖因子と信じられてきた Wnt シグナルが実は大脳皮質興奮性ニューロン分化のトリガーとしても働くこと、大脳基底核抑制性ニューロン分化のトリガーには AKT シグナルが働くこと、NOTCH-HES シグナルが JAK-STAT 経路とクロストークして神経幹細胞維持に働くこと、神経幹細胞の分裂期に DLL1 蛋白質が非対称分配することが娘細胞運命の非対称性(幹細胞+ニューロン)に寄与すること、神経幹細胞がニューロン分化するとすぐに移動を開始するメカニズムに上皮間葉転換が関わること、などである。さらに後藤博士は、グリア分化期における分化調節機構についても、アストロサイト分化決定因子の同定や大脳皮質内アストロサイト多様性の発見などの貢献を果たした。

### **成体神経幹細胞の胎生期起源細胞の発見**

成体(大人)の脳に存在する神経幹細胞は、学習・記憶など新しい環境に適応するため、あるいは傷を受けた細胞を交換するために使われており、成体神経幹細胞の劣化は老化や疾患における脳機能低下との関連が報告されている。この「成体神経幹細胞」は胎児の脳を作り終えた神経幹細胞の一部から派生すると考えられてきたが、ここには不可解な点があった。胎児の脳を作る神経幹細胞は生後にはグリア分化期に入りニューロンを作れなくなるが、成体神経幹細胞は(少なくとも齧歯類において)一生に渡りニューロンを作り続ける。そこで成体神経幹細胞が胎児の脳を作る神経幹細胞の末裔と考えると矛盾が生じるのである。しかし常識を覆して、後藤博士の研究室ではマウス脳室下帯の「成体神経幹細胞の起源となる胎児期の細胞(=起源細胞)」が胎児の脳を作る神経幹細胞とは別系譜である(末裔ではない)ことを明らかにした。胎児の神経幹細胞は脳を作るために盛んに増殖するが、増殖することで幹細胞は劣化し枯渇する。一方、後藤博士は「成体神経幹細胞の起源細胞」が胎児期から増殖を抑えて長期保持に備えていることも明らかにした。さらには、実は増殖抑制こそが、種々の成体神経幹細胞の特徴を獲得するためのトリガーとなっていることも示した。これらの知見は「成体の組織幹細胞の質と量の制御」を介して、健康長寿や組織再生という重要な分野に貢献することが期待される。

## 研究業績概要

### 「細胞運命を制御するシグナル伝達の解明」

#### 概要

受精卵というたった1つの細胞は、増殖および様々な性質を持った細胞への分化を適切に行うことで、ヒトならば37兆個ほどの細胞から構成される成体となる。この発生過程は、細胞同士の分泌因子や接触因子などを介したコミュニケーションによって司られる。個体の発生原理を解明するためには、組織という場における細胞間相互作用・運命制御を理解する必要がある。

後藤博士はまず、細胞の増殖因子が受容体に結合したのちに核内へと「増殖シグナル」を伝達する分子として MAP キナーゼとその活性化因子の同定に貢献した。またストレスで活性化される MAP キナーゼ類似因子 (JNK) および原がん遺伝子産物 AKT について、細胞死・生存および細胞移動・浸潤を司るシグナル伝達におけるそれぞれの制御機構と機能を明らかにした。これらの研究は細胞内シグナル伝達のプロトタイプとして細胞運命制御機構の理解に貢献しただけでなく、その異常がいかんしてがん化に繋がるかを理解する上でも重要な貢献と言える。

後藤博士はさらに、脳発生という組織形成のコンテキストにおける細胞の振る舞いを研究し、神経幹細胞が発生時間と場に依存して巧妙に運命制御されるメカニズムをいくつも解明した。また定説に反して、胎生期における成体神経幹細胞の起源細胞が脳発生に携わる神経幹細胞とは別系譜であることを示し、胎生期と成体期の組織幹細胞の異なる機能制御戦略を明らかにした。これらの研究は幹細胞を用いた再生医療や健康寿命を目指す上で重要な基盤的知見を提供したと言える。

以下、それぞれの研究成果について具体的に紹介する。

#### (1) MAP キナーゼの発見

細胞の増殖制御には屢々細胞間でやり取りされる分泌性の増殖因子が携わる。増殖因子が細胞表面の受容体に結合すると、その「増殖せよ」という指令は核内に運ばれ、ゲノム中の「増殖開始プログラム」を起動する。1980代には増殖シグナルの細胞内伝達機構はほぼ不明であったが、培養している細胞に増殖因子を添加すると、細胞抽出液中に存在する何らかのタンパク質リン酸化活性が上昇することは様々な基質を用いて見出されていた。例えば、当時東京大学で西田栄介博士(現・理化学研究所)は微小管タンパク質2 (MAP2)をリン酸化の基質として用いると、増殖因子を添加したのちに MAP2 をリン酸化する細胞抽出液中の活性が上昇することを見出していた。しかし、そのリン酸化活性がいかなる分子によって担われているかが不明であり、そもそも増殖因子により共通に活性化する特定の分子(リン酸化酵素:キナーゼ)が存在するののかも未知であった。

後藤博士は西田博士と共に、「ゲル内リン酸化法 (Kameshita & Fujisama, 1989)」を行うことで、MAP2 あるいは塩基性ミエリンタンパク質(MBP)を基質として用い、世界で初めて様々な増殖因子で共通に活性化する質量 43 kDa と 41 kDa の二つのリン酸化酵素の存在を明らかにした(Gotoh et al. Eur. J. Biochem. 1990)。こうして分子を特定したことにより、単なるアーティファクトではなく、本当に増殖因子刺激により共通に活性化するリン酸化酵素(当初はMAP2キナーゼと称した)が存在することを証明した。

当時、タンパク質分子を”発見”したという為には、タンパク質の(純度の高い)精製と、その遺伝子配列の決定が重要であった。しかしながら、当初用いていた哺乳類培養細胞における MAP2 キ

ナーゼの含有量は少なく、また増殖因子を加えてから活性化している期間が数分間と短いため、リン酸化活性に基づくタンパク質精製は困難を極めた。そこで後藤博士らは様々な種・組織を調べ、高い MAP2 キナーゼ活性を有する系の探索を行ったところ、アフリカツメガエルの未成熟卵に非常に高い MAP2 キナーゼ活性が存在することを見出した。そこでこの系を用いて MAP2 キナーゼ活性を担うタンパク質をカラムクロマトグラフィにより精製し、単一バンドまで精製することに世界で初めて成功した(Gotoh et al. Nature 1991)。このリン酸化酵素の名称としては、増殖因子で活性化するキナーゼ (Mitogen-Activated Protein Kinase)、M 期で活性化するキナーゼ(M phase-Activated Protein Kinase)、MAP2 を試験管内でリン酸化する活性を持つキナーゼ (Microtubule Associated Protein 2 Kinase) のすべてを合わせて MAP kinase (MAP キナーゼ) と呼称することとした (Gotoh et al. Nature 1991)。さらに精製した MAP キナーゼの部分アミノ酸配列を決定し、それを元に脊椎動物の MAP キナーゼ遺伝子の全長塩基配列を世界初で同定した (Gotoh et al. EMBO J. 1991)。

## (2) MAP キナーゼ活性化因子 (MAPKK) の発見

後藤博士らは、MAP キナーゼを精製する過程で、このキナーゼの活性には「スレオニンリン酸化」と「チロシンリン酸化」が必要であることを見出した (Gotoh et al. Nature 1991 など)。そこで MAP キナーゼの活性化因子としては「(セリン／)スレオニンキナーゼ」と「チロシンキナーゼ」の二つが必要であろうと予想した。しかし、MAP キナーゼを基質としてそのリン酸化活性を担う分子を精製したところ、二つではなく、一つの分子がスレオニンとチロシンの両方のリン酸化を行うことを見出した。つまり MAP キナーゼ活性化因子は「(セリン／)スレオニン／チロシンキナーゼ」という珍しいクラスに属するリン酸化酵素であることを明らかにした (Matsuda,.. Gotoh\* & Nishida\*. EMBO J. 1992;

Kosako, Gotoh\*,..& Nishida\* . EMBO J. 1992 \*共同責任著者)。MAP キナーゼ活性化因子は MAP キナーゼキナーゼ、あるいは MAPKK と呼称することとした。さらにこの MAPKK の部分アミノ酸配列を決定し、脊椎動物の MAPKK 遺伝子の全長塩基配列を世界初で同定した (Kosako, Gotoh\*,..& Nishida\* et al. EMBO J. 1992; Kosako, Nishida\* & Gotoh\* EMBO J. 1993)。

## (3) ストレス活性化 MAP キナーゼ経路の解明

MAPKK と MAP キナーゼの両方の塩基配列を解読したことにより、このキナーゼ経路が (MAPKK と MAP キナーゼのセットとして) 酵母からヒトまで進化的に幅広く保存されたものであることが明らかになった (Kosako, Gotoh\*, ..& Nishida\* et al. EMBO J. 1992; Nishida & Gotoh Trends Biochem. Sci. 1993)。酵母において MAP キナーゼ経路は複数存在し、細胞に対するストレス (浸透圧、酸化など) に対する防御応答に関わる MAP キナーゼ経路や、接合 (酵母の生殖) シグナル応答に関わる MAP キナーゼ経路が、それぞれ役割分担していることが示され、後藤博士らも酵母 MAP キナーゼ経路のひとつの同定に関わった (Gotoh et al. Mol. Cell Biol. 1994)。これを受けて、哺乳類にも、MAP キナーゼに加えてそれに「類似した」分子が複数存在することが海外のグループにより 1994 年以降に報告された。まず、哺乳類細胞に対するストレス (浸透圧、酸化、DNA 損傷、紫外線、ウイルス感染など) に応答して活性化する MAP キナーゼの類似分子 (p38, JNK など) が存在することが報告され (Han et al. 1994; Derijard et al. 1994)、これらは「ストレス活性化 MAP キナーゼ」と呼ばれるようになった。その後、ストレス活性化 MAP キナーゼの上流分子が続々と同定され、後藤博士もそのいくつかの同定に貢献した (Moriguchi et al. J. Biol. Chem. 1995; 1996a; 1996b; Ichijo et al. Science 1997; Shirakabe et al. J. Biol. Chem. 1997; Moriguchi et al. EMBO J. 1997)。たとえばがん化や神経変性疾患など炎症が関与する種々

の疾患で主要な役割を果たす ASK キナーゼは、一條秀憲博士が同定したストレス活性化 MAP キナーゼの上流因子のひとつであり、後藤博士もその活性の検出などを行なった (Ichijo et al. Science 1997)。ストレス活性化 MAP キナーゼ経路は、細胞が様々なストレスから回避するために使われる応答を司ることが、多くの研究者により明らかになった。特に JNK というストレス活性化 MAP キナーゼは、細胞死や炎症などを引き起こす。後藤博士の研究室では JNK が細胞死を促進する機構についても明らかにした (Tsuruta et al. EMBO J. 2004; Sunayama et al. J. Cell Biol. 2005)。

#### (4) 原がん遺伝子産物 AKT による細胞生存と運動性の制御

後藤博士は、上述のようにストレス活性化 MAP キナーゼ (JNK) による細胞死制御機構を研究する一方で、細胞の「生存」を促進する機構についても研究を行った。後藤博士の留学先である Greenberg 研究室などにより、インスリンシグナルの下流で AKT というキナーゼが細胞の生存を促進することが報告されていた。後藤博士の留学中および研究室立ち上げ後の研究等により、AKT が細胞死誘導に関わる分子群 (BAD, MDM2, NUR77 など) をリン酸化し、それらを不活性化することで細胞の生存を促進していることが明らかになった (Datta et al. Cell 1997; Masuyama et al. J. Biol. Chem. 2001; Ogawara et al. J. Biol. Chem. 2002; Tsuruta et al. J. Biol. Chem. 2002; Sunayama et al. J. Cell Biol. 2005)。このような AKT による細胞生存促進機構が異常に活性化することが、がん化メカニズムの一部となっていると考えられている。

AKT の異常な活性化は、特にがんの浸潤/悪性化との相関が高いことも知られている。後藤博士らは、AKT が実は細胞の運動性の制御に関わっており、AKT の異常な活性化が細胞移動の亢進を介してがん細胞の浸潤に寄与していることを示した (Higuchi et al. Curr. Biol. 2001)。さらに

AKT が細胞を極性化し、移動を促進する分子機構も解明した (Onishi et al. Genes Cells 2007; Higuchi et al. Nat. Cell Biol. 2008; Higuchi et al. J. Cell Sci. 2013; Itoh et al. PNAS 2016)。また AKT が細胞生存や細胞移動といったコンテキスト依存的に機能するメカニズムを検討し、PAK が AKT の細胞移動特異的なスキヤフォールド因子として働くことを示した (Higuchi et al. Nat. Cell Biol. 2008)。これらの成果は、がんの発生だけでなく悪性化の治療標的を提供するものである。

#### (5) 胎児の脳を作る神経幹細胞の運命制御

神経幹細胞は、脳を構成する様々な種類のニューロン (数百種類とも言われる) とそれを支えるグリア細胞を生み出す元の「親」細胞である。神経幹細胞は、これらの細胞をランダムに生み出すのではなく、脳発生の時間経過に従って、それぞれの種類の細胞をタイミングよく、必要な場所に必要な数だけ生み出す。一般的に、哺乳類神経幹細胞は、「増殖期」(対称分裂により幹細胞数を増やす時期) → 「ニューロン分化期」(主に非対称分裂し幹細胞およびニューロンの両方を生む時期) → 「グリア分化期」(グリアを生む時期) と順々に運命を変えることで、整然とした脳組織を形成する。しかし神経幹細胞の時間軸に沿った運命転換機構は不明であった。後藤博士らは、増殖期からニューロン分化期、およびニューロン分化期からグリア分化期への段階的な運命転換が、ポリコム複合体タンパク質や HMGA タンパク質と呼ばれる因子がタイミングよく遺伝子発現を制御することによって行われることを明らかにした (Hirabayashi et al. Neuron 2009; Kishi et al. Nat. Neurosci. 2012; Morimoto-Suzuki et al. Development 2014; Tsuboi et al. Dev. Cell 2018; Eto et al. Nat. Comm. 2020)。大脳新皮質のニューロン分化期においては発生時期に依存して異なるタイプの興奮性ニューロンが産生されるが、このニューロンタイプの転換にもポリコム複合体によるエピゲノム制御が関与することも示した。これらの知見は、神経幹細胞の”

時間情報”が組織の”空間情報”に反映する仕組みの理解につながった。

後藤博士らはまた、脳内の場所と発生時期に依存して、神経幹細胞が適切にニューロン分化の「方向」と「程度」を調節する機構を同定した。例えば、幹細胞増殖因子と信じられてきた Wnt シグナルが実は大脳皮質興奮性ニューロン分化のトリガーとしても働くことを示した(Hirabayashi et al. Development 2004; Kuwahara et al. Development 2010)。大脳基底核抑制性ニューロン分化のトリガーとしては AKT シグナルが働くことも示した(Oishi et al. PNAS 2009; Itoh et al. PNAS 2016)。また神経幹細胞の維持において NOTCH-HES シグナルと JAK-STAT 経路がクロストークして働くことを示した(Kamakura et al. Nat. Cell Biol. 2004; Yoshimatsu et al. Development 2006)。ニューロン分化期においていかにして神経幹細胞が非対称分裂を行うかは長らく謎であったが、分裂期に DLL1 蛋白質(NOTCH リガンドのひとつ)が非対称分配することが娘細胞運命の非対称性(幹細胞 + ニューロン)に寄与することを示した(Kawaguchi et al. Development 2008; Kawaguchi et al. Nat. Comm. 2013)。神経幹細胞はニューロン分化するとすぐに移動を開始するが、分化と移動をカップリングするメカニズムは不明であった。後藤博士らはニューロン分化マスター制御因子の下流で上皮間葉転換誘導因子が働くことでこのカップリングが成立していることを示した(Itoh et al. Nat. Neurosci. 2013)。さらに後藤博士は、グリア分化期における分化調節機構についても、アストロサイト分化決定因子 HMGN, ZBTB20 の同定や大脳皮質内アストロサイト多様性の発見などの貢献を果たした(Nagao et al. Stem Cells 2014; Nagao et al. Nat. Comm. 2016; Lanjakornsiripan et al. Nat. Comm. 2018)。

これら一連の神経幹細胞の運命制御機構の解明は、脳の構築原理の理解に貢献するだけでなく、脳の修復(再生)の道筋を拓くものである。例えば、生後の中枢神経系(脳・脊髄)はグリア分化

期に入ってしまったため、神経幹細胞が損傷によって増殖してもニューロンを生むことはない。しかし、ニューロン分化期からグリア分化期への運命転換メカニズムがわかれば、その知識を使って再びニューロンが生めるようになる可能性がある。実際後藤博士らは、神経幹細胞を操作して生後にニューロンを生むように若返りさせることに成功した(Hirabayashi et al. Neuron 2009; Kishi et al. Nat. Neurosci. 2012)。

## (6)成体の脳に存在する神経幹細胞の起源細胞の発見

成体(大人)の脳には、ごく限られた部位にのみ、一生に渡ってニューロンを生み続ける神経幹細胞(成体神経幹細胞)が存在する。成体で新たに作られたニューロンは、外界の状況に応じて神経回路を組み替えて環境適応する(学習・記憶)ために重要な役割を果たし、また損傷を受けた脳を修復するのにも使われていることが報告されている。ヒト成体においては海馬と線条体に毎日数百個の新生ニューロンが組み込まれているが、老衰や神経変性疾患に伴いこの新生ニューロンの供給が減少して機能不全(認知能力の低下)につながっていることも報告されている(Emst et al. Cell 2014 など)。従って、成体の脳に存在する神経幹細胞をいかに機能を保ったまま維持し、多くの新生ニューロンを供給し続けさせるかは、健康長寿という人類の大きな夢にとって非常に重要な課題である。

この成体神経幹細胞は長年、胎児の脳を作り終えた神経幹細胞の一部から派生すると考えられてきた。しかし上述のように、一般的に胎児の脳を作る神経幹細胞は、生後にはニューロン分化期からグリア分化期へと運命転換してニューロンを生まなくなるため、成体神経幹細胞がその末裔でありながらニューロンを生み続けているのであればそれは矛盾であり、謎であった。しかし後藤博士らは、世界で初めて成体神経幹細胞の胎生期における「起源細胞」を同定し、常識に反し



てこれらが胎生期に脳を作る神経幹細胞とは別の系譜である(末裔ではない)ことを証明した(Furutachi et al. Nat. Neurosci. 2015)。しかも、脳を短期間に作るために盛んに増殖する胎生期の神経幹細胞とは異なり、この起源細胞については増殖の頻度が低く抑えられていることも見出した(Furutachi et al. Nat. Neurosci. 2015; Harada et al. Nat. Comm. 2021)。幹細胞は盛んに増殖すると DNA 等にダメージが蓄積して枯渇することが知られている(Furutachi et al. EMBO J. 2013)。故に、一生にわたり維持する必要のある成体神経幹細胞は、「早い時期から増殖を抑制してダメージの蓄積を回避し、長期維持に備えている」ということが、後藤博士らの発見から明らかになった。

この後藤博士らの成果は、胎生期の組織幹細胞と成体期の組織幹細胞を連続的に捉えていたこれまでの幹細胞分野の常識を覆すものである。胎生期と成体期の組織幹細胞の役割が大きく異なること(短期間に胎児の組織をつくる vs 長期間組織の機能を高く維持する)を考えると、これらの系譜が分かれていることは理に叶っており、この発見を元に今後、胎生期と成体期の組織幹細胞の違いがさらに明らかになることであろう。またこれは、成体組織幹細胞の機能維持を助け、老齢による組織の機能低下を阻む手段を開発する上で重要な基盤情報となると考えられる。

## 医学への貢献

後藤博士らによる MAP キナーゼ経路の発見は、「がん」ができるメカニズムの理解につながり、抗がん剤の開発に大きく貢献した。MAP キナーゼ経路は増殖シグナル伝達を担う主要な経路であるため、その異常な活性化は細胞の過剰な増殖、そしてがん化を引き起こす。実際に多くの「がん遺伝子産物」(例えば頻度の高いがん遺伝子産物として知られる RAS、BRAF、EGFR、ERBB2

など)はいずれも MAP キナーゼ経路を異常に活性化することでがん化を誘導していることが明らかになった。MAPKK を分子標的とした抗がん剤の開発が進められており、すでにトラメチニブ、コビメチニブ、ビニメチニブ等が米国・欧州・日本で承認され(あるいは審議中であり)、黒色腫、結腸直腸癌、非小細胞肺癌、線維肉腫、胆管癌、膵臓癌、甲状腺未分化がんなどに対して抗腫瘍効果を示すことが示されている。

後藤博士らにより明らかになった神経幹細胞の運命制御メカニズムの知識は、神経幹細胞を用いた再生医療において大きな意味を持ちうる。脳疾患の患者由来の iPS 細胞(多能性幹細胞)が入手できても、それを正しい脳の細胞の種類に分化できなければ、その疾患解明のための実験や有効な薬剤のスクリーニングは行えない。ましてや、移植に用いることもできない。現在使われている iPS 細胞からニューロンへの分化方法はいずれも、ばらつきが大きく特定の種類のニューロンにすることが難しいものばかりである。オルガノイド(試験管内で作製する擬似組織)についても、脳を再現することは困難を極めている。故に、神経幹細胞がどのようにして脳を作っているのかについての正確な知識が非常に重要な役割を果たす。例えば、後藤博士らは神経幹細胞をニューロンへと分化誘導する因子として Wnt 経路が重要な役割を果たすことを世界で初めて報告した(Hirabayashi et al. Development 2004)が、Wnt 経路の活性化は現在では iPS 細胞から神経系へとばらつき少なく分化誘導する際の標準的な方法のひとつとなっている。また、後藤博士らにより明らかになった神経幹細胞の発生時期による運命転換メカニズムや脳の部位特異的な分化誘導メカニズムについても、生み出すニューロンの種類を操作する方法への応用が現在試みられている。

## 代表論文

- Hirata, Y., Kitanishi, Y., Sugishita, H. and Gotoh, Y. Fast reconstruction of an original continuous series from a recurrence plot. **Chaos** 31, 121101, 2021
- Harada, Y., Yamada, M., Imayoshi, I., Kageyama, R., Suzuki, Y., Kuniya, T., Furutachi, S., Kawaguchi, D. and Gotoh, Y. Cell cycle arrest determines adult neural stem cell ontogeny by an embryonic Notch-nonoscillatory Hey1 module. **Nat. Comm.** 12, 6562, 2021.
- Kitanishi, Y., Sugishita, H., Gotoh, Y. and Hirata, Y. Three-dimensional chromatin architecture of early-stage mouse embryos reconstructed via recurrence plots. **bioRxiv**, 2021.
- Yuizumi, N., Harada Y., Kuniya T., Sunabori T., Koike M., Wakabayashi M., Ishihama Y., Suzuki Y., Kawaguchi D. and Gotoh Y. Maintenance of neural stem - progenitor cells by the lysosomal biosynthesis regulators TFEB and TFE3 in the embryonic mouse telencephalon. **Stem Cells** 39, 929-944, 2021.
- Omiya, H., Yamaguchi, S., Watanabe, T., Kuniya, T., Harada, Y., Kawaguchi, D. and Gotoh, Y. BMP signaling suppresses *Gem1* expression and ependymal differentiation of mouse telencephalic progenitors. **Sci. Rep.** 11, 613, 2021.
- Eto, H., Kishi, Y., Yakushiji-Kaminatsu, N., Sugishita, H., Utsunomiya, S., Koseki, H. and Gotoh, Y. The Polycomb group protein *Ring1* regulates dorsoventral patterning of the mouse telencephalon. **Nat. Comm.** 11, 5709, 2020.
- Aoyama-Ishiwatari, S., Okazaki, T., Iemura, S., Natsume, T., Okada, Y. and Gotoh, Y. NUDT21 links mitochondrial IPS-1 to RLR-containing stress granules and activates host antiviral defense. **J. Immunol.** 206, 2020.
- Nagahama, K., Sakoori, K., Watanabe, T., Kishi, Y., Kawaji, K., Koebis, M., Nakao, K., Gotoh, Y., Aiba, A., Uesaka, N. and Kano, M. *Setd1a* insufficiency in mice attenuates excitatory synaptic function and recapitulates Schizophrenia-related behavioral abnormalities. **Cell Rep.** 32 (11):108126, 2020.
- Imaizumi, Y., Furutachi, S., Watanabe, T., Miya, H., Kawaguchi, D. and Gotoh, Y. Role of the imprinted allele of the *Cdkn1c* gene in mouse neocortical development. **Sci. Rep.** doi: 10.1038/s41598-020-58629-9, 2020.
- Tsuboi, M. and Gotoh, Y. Endfoot regrowth for neural stem cell renewal. **Nat. Cell Biol.** 22, 3-5, 2020.
- Kawaguchi, D. and Gotoh, Y. Neurexin nanoclusters: A novel structure at presynaptic terminals. **J. Cell Biol.** 218, 2442-2443, 2019. Spotlight.
- Tsuboi, M., Hirabayashi, Y. and Gotoh, Y. Diverse gene regulatory mechanisms mediated by Polycomb group proteins during neural development. **Curr. Opin. Neurobiol.** 59, 164-173, 2019.
- Tanaka, H., Okazaki, T., Aoyama, S., Yokota, M., Koike, M., Okada, Y., Fujiki, Y. and Gotoh, Y. Peroxisomes control mitochondrial dynamics and the mitochondrion-dependent pathway of apoptosis. **J. Cell Sci.** 2019, doi: 10.1242/jcs.224766.
- Tsuboi, M., Kishi, Y., Kyojuka, W., Koseki, H., Hirabayashi, Y. and Gotoh, Y. Ubiquitination-independent repression of PRC1 targets during neuronal fate restriction in the developing mouse neocortex. **Dev. Cell** 47, 758-772, 2018.
- Kishi, Y. and Gotoh, Y. Regulation of chromatin structure during neural development. **Frontiers Neurosci.** 12, 874, 2018.
- Okazaki, T. and Gotoh, Y. An unexpected calm: *Mfge8* controls stem cell quiescence and maintenance. **Cell Stem Cell** 23, 311-312, 2018.

Lanjakornsiripan, D., Pior, B.J., Kawaguchi, D., Furutachi, S., Tahara, T., Katsuyama, Y., Suzuki, Y., Fukazawa, F. and Gotoh, Y. Layer-specific heterogeneity of astrocytes and its dependence on neuronal layers. **Nat. Comm.** 9,1623, 2018.

Kawai, H., Kawaguchi, D., Kuebrich, B.D., Kitamoto, T., Yamaguchi, M., Gotoh, Y. and Furutachi, S. Area-Specific Regulation of Quiescent Neural Stem Cells by Notch3 in the Adult Mouse Subependymal Zone. **J Neurosci.** 37, 11867-11880, 2017.

Itoh, Y., Higuchi, M., Oishi, K., Kishi, Y., Okazaki, T., Sakai, H., Miyata, T., Nakajima, K., Gotoh, Y. The PDK1-Akt Pathway Regulates Radial Neuronal Migration and Microtubules in the Developing Mouse Neocortex. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.** 113(21) E2955-64, 2016

Nagao, M., Ogata, T., Sawada, Y., and Gotoh, Y. Zbtb20 promotes astrocytogenesis during neocortical development. **Nat. Comm.** 7, 11102, 2016.

Furutachi, S., Miya, H., Watanabe, T., Kawai, H., Yamasaki, N., Harada, Y., Imayoshi, I., Nelson, M., Nakayama, K.I., Hirabayashi, Y., and Gotoh, Y. Slowly dividing neural progenitors are an embryonic origin of adult neural stem cells. **Nat. Neurosci.** 18, 657-665, 2015.

Okazaki, T., Higuchi, M., Takeda, K., Iwatuki-Horimoto, K., Kiso, M., Miyagishi, M., Yanai, H., Kato, A., Yoneyama, M., Fujita, T., Taniguchi, T., Kawaoka, Y., Ichijo, H. and Gotoh, Y. The ASK family kinases differentially mediate induction of type I interferon and apoptosis during the antiviral response. **Sci. Signal.** 8, ra78. Doi: 10.1126/scisignal.aab1883, 2015.

Morimoto-Suzuki, N., Hirabayashi, Y., Tyssowski, K., Singa, J., Vidal, M., Koseki, H. and Gotoh, Y. The polycomb component Ring1B regulates the timed termination of subcerebral projection neuron production during mouse neocortical development. **Development** 141, 4343-4353, 2014.

Nagao, M., Lanjakornsiripan, D., Itoh, Y., Kishi, Y., Ogata, T. and Gotoh, Y. High mobility group nucleosome-binding family proteins promote astrocyte differentiation of neural precursor cells. **Stem Cells** 32, 2983-2997, 2014.

Kuwahara, A., Sakai, H., Xu, Y., Itoh, Y., Hirabayashi, Y. and Gotoh, Y. Tcf3 represses Wnt-b-catenin signaling and maintains neural stem cell population during neocortical development. **PLoS One** 9, e94408, 2014.

Tyssowski, K., Kishi, Y. and Gotoh, Y. Chromatin regulation of neural development. **Neuroscience** 264, 4-16, 2014 doi:10.1016/j.neuroscience. 2013.10.008, 2013.

Itoh, Y., Tyssowski, K. and Gotoh, Y. Transcriptional coupling of neuronal fate commitment and the onset of migration. **Curr. Opin. Neurobiol.** 23, 957-964, 2013.

Kawaguchi, D., Furutachi, S., Kawai, H., Hozumi, K. and Gotoh, Y. Dll1 maintains quiescence of adult neural stem cells and segregates asymmetrically during mitosis. **Nat. Commun.** 4, 1880, 2013.

Furutachi, S., Matsumoto, A., Nakayama, K.I. and Gotoh, Y. p57 controls adult neural stem cell quiescence and modulates the pace of lifelong neurogenesis. **EMBO J.** 32, 970-981, 2013.

Itoh, Y., Moriyama, Y., Hasegawa, T., Endo, T.A., Toyoda, T. and Gotoh, Y. Scratch regulates neuronal migration onset via an epithelial-mesenchymal transition-like mechanism. **Nat. Neurosci.** 16, 416-425, 2013.

Higuchi, M., Kihara, R., Okazaki, T., Aoki, I., Suetsugu, S. and Gotoh, Y. Akt1 promotes focal adhesion disassembly and cell motility through phosphorylation of FAK in growth factor-stimulated cells. **J. Cell Sci.** 126, 745-755, 2013.

Kishi, Y., Fujii, Y., Hirabayashi, Y. and Gotoh, Y. HMGA proteins regulate global chromatin state and the neurogenic potential in neocortical precursor cells. **Nat. Neurosci.** 15, 1127-1133, 2012.

Onoguchi, M., Hirabayashi, Y., Koseki, H. and Gotoh, Y. A noncoding RNA regulates the neurogenin1 gene locus during mouse neocortical development. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.** 109, 16939-16944,

2012.

Aoki I., Higuchi M., Gotoh Y. NEDDylation controls the target specificity of E2F1 and apoptosis induction. **Oncogene**, doi: 10.1038/onc.2012.428., 2012.

Ip, J.P., Shi, L., Chen, Y., Itoh, Y., Fu, W.Y., Betz, A., Yung, W.H., Gotoh, Y., Fu, A.K. and Ip, N.Y. 2-chimaerin controls neuronal migration and functioning of the cerebral cortex through CRMP-2. **Nat. Neurosci.** 15, 39-47, 2011.

Hirabayashi, Y. and Gotoh, Y. Epigenetic control of neural precursor cell fate during development. **Nat. Rev. Neurosci.** 11, 377-388, 2010.

Kuwahara, A., Hirabayashi, Y., Knoepfler, P.S., Taketo, M.M., Sakai, J., Kodama, T. and Gotoh, Y. Wnt signaling and its downstream target N-myc regulate basal progenitors in the developing neocortex. **Development** 137, 1035-1044, 2010.

Miyata, T., Kawaguchi, D., Kawaguchi, A. and Gotoh, Y. Mechanisms that regulate the number of neurons during mouse neocortical development. **Curr. Opin. Neurobiol.** 20, 22-28, 2010.

Hirabayashi, Y., Suzki, N., Tsuboi, M., Endo, T.A., Toyoda, T., Shinga, J., Koseki, H., Vidal, M. and Gotoh, Y. Polycomb limits the neurogenic competence of neural precursor cells to promote astrogenic fate transition. **Neuron** 63, 600-613, 2009.

Oishi, K., Watatani, K., Itoh, Y., Okano, H., Guillemot, F., Nakajima, K. and Gotoh, Y. Selective induction of neocortical GABAergic neurons by the PDK1-Akt pathway through activation of Mash1. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 106, 13064-13069, 2009.

Higuchi, M., Onishi, K., Yoneyama, C. and Gotoh, Y. Scaffolding function of PAK in the PDK1-Akt pathway. **Nat. Cell Biol.** 10, 1356-1364, 2008.

Kawaguchi, D., Yoshimatsu, T., Hozumi, K. and Gotoh, Y. Selection of differentiating cells by different levels of delta-like 1 among neural precursor cells in the developing mouse telencephalon. **Development** 135, 3849-3858, 2008.

Mori, Y., Higuchi, M., Hirabayashi, Y., Fukuda, M. and Gotoh, Y. JNK phosphorylates Syt 4 and enhances Ca<sup>2+</sup>-evoked release. **EMBO J.** 27, 76-87, 2008.

Itoh, Y., Masuyama, N., Nakayama, K., Nakayama, K.I. and Gotoh, Y. The cdk inhibitors p57 and p27 regulate neuronal migration in the developing mouse neocortex. **J. Biol. Chem.** 282, 390-396, 2007.

Adachi, K., Mirzadeh, Z., Sakaguchi, M., Yamashita, T., Nikolcheva, T., Gotoh, Y., Peltz, G., Gong, L., Kawase, T., Alvarez-Buylla, A., Okano, H., and Sawamoto, K. Beta-catenin signaling promotes proliferation of progenitor cells in the adult mouse subventricular zone. **Stem Cells** 25, 2827-2836, 2007.

Hayakawa-Yano, Y., Nishida, K., Fukami, S., Gotoh, Y., Hirano, T., Nakagawa, T., Shimazaki, T. and Okano, H. EGF-signaling mediated by Gab1 is required for the spatiotemporally regulated proliferation of Olig2-expressing progenitors in the embryonic spinal cord. **Stem Cells** 25, 1410 – 1422, 2007.

Ura, S., Nishina, H., Gotoh, Y. and Katada, T. Activation of the c-Jun N-terminal kinase pathway by MST1 is essential and sufficient for the induction of chromatin condensation during apoptosis. **Mol. Cell Biol.** 27, 5514-5522, 2007.

Yoshizaki, H., Mochizuki, N., Gotoh, Y. and Matsuda, M. Akt-PDK1 complex mediates EGF-induced membrane protrusion through Ral activation. **Mol. Biol. Cell.** 18, 119-128, 2007.

Yoshimatsu, T., Kawaguchi, D., Oishi, K., Takeda, K., Akira, S., Masuyama, N. and Gotoh, Y. Non-cell-autonomous action of STAT3 in maintenance of neural precursor cells in the mouse neocortex. **Development** 133, 2553-2563, 2006.

Sunayama, J., Tsuruta, F., Masuyama, N. and Gotoh, Y. JNK antagonizes Akt-mediated survival signals by phosphorylating 14-3-3. **J. Cell. Biol.** 170, 295-304, 2005.

Hirabayashi, Y. and Gotoh, Y. Stage-dependent fate determination of neural precursor cells in mouse forebrain. **Neurosci. Res.** 51, 331-336, 2005.

Oishi, K., Kamakura, S., Isazawa, Y., Yoshimatsu, T., Kuida, K., Nakafuku, M., Masuyama, N. and Gotoh, Y. Notch promotes survival of neural precursor cells via mechanisms distinct from those regulating neurogenesis. **Dev. Biol.** 276, 172-184, 2004.

Kamakura, S., Oishi, K., Yoshimatsu, T., Nakafuku, M., Masuyama, N. and Gotoh, Y. Hes binding to STAT3 mediates crosstalk between Notch and JAK-STAT signaling. **Nat. Cell Biol.** 6, 547-554, 2004

Tsuruta, F., Sunayama, J., Mori, Y., Shimizu, S., Tsujimoto, Y., Yoshioka, K., Masuyama, N. and Gotoh, Y. JNK promotes Bax translocation to mitochondria through phosphorylation of 14-3-3 proteins. **EMBO J.** 23, 1889-1899, 2004.

Hirabayashi, Y., Itoh, Y., Tabata, H., Nakajima, K., Akiyama, T., Masuyama, N. and Gotoh, Y. The Wnt-beta-catenin pathway directs neuronal differentiation of cortical neural precursor cells. **Development** 131, 2791-2801, 2004.

Miyagi, S., Saito, T., Mizutani, K., Masuyama, N., Gotoh, Y., Iwama, A., Nakauchi, H., Masui, S., Niwa, H., Nishimoto, M., Muramatsu, M. and Okuda, A. The sox-2 regulatory regions display their activities in two distinct multipotent stem cells. **Mol. Cell. Biol.** 24, 4207-4220, 2004.

Sakoda, H., Gotoh, Y., Katagiri, H., Kurokawa, M., Ono, H., Onishi, Y., Anai, M., Ogihara, T., Fujishiro, M., Fukushima, Y., Abe, M., Shojima, N., Kikuchi, M., Oka, Y., Hirai, H. and Asano, T. Differing roles of Akt and SGK in glucose metabolism, DNA synthesis and oncogenic activity. **J. Biol. Chem.** 278, 25802-25807, 2003.

Ogawara, Y., Kishishita, S., Obata, T., Suzuki, T., Tanaka, K., Masuyama, N. and Gotoh, Y. Akt enhances Mdm2-mediated ubiquitination and degradation of p53. **J. Biol. Chem.** 277, 21843-21850, 2002.

Tsuruta, F., Masuyama, N. and Gotoh, Y. The PI3K-Akt pathway suppresses Bax translocation to mitochondria. **J. Biol. Chem.** 277, 14040-14047, 2002.

Shinohara, M., Terada, Y., Iwamatsu, A., Shinohara, A., Mochizuki, N., Higuchi, M., Gotoh, Y., Ihara, S., Nagata, S., Itoh, H., Fukui, Y. and Jessberger, R. SWAP-70 is a guanine nucleotide exchange factor that mediates signaling of membrane ruffling. **Nature** 416, 759-763, 2002.

Higuchi, M., Masuyama, N., Suzuki, A. and Gotoh, Y. Akt mediates Rac/Cdc42-Regulated Cell Motility in Growth Factor-Stimulated Cells and in Invasive PTEN-Knockout Cells. **Curr. Biol.** 11, 1958-1962, 2001.

Morishima, Y., Gotoh, Y., Barrett, T., Takano, H., Davis, R.J., Shirasaki, Y. and Greenberg, M.E.  $\beta$ -Amyloid Induces Neuronal Apoptosis Via JNK Pathway Activation and the Subsequent Induction of Fas Ligand. **J. Neurosci.** 21, 7551-7560, 2001.

Masuyama, N., Oishi, K., Mori, Y., Ueno, T., Takahama, Y. and Gotoh, Y. Akt Inhibits the Orphan Nuclear Receptor Nur77 and T cell Apoptosis. **J. Biol. Chem.** 276, 32799-32805, 2001.

Ura, S., Masuyama, N., Graves, J. and Gotoh, Y. Caspase Cleavage of MST1 Promotes Nuclear Translocation and Chromatin Condensation. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 98, 10148-10153, 2001.

Graves, J.D., Draves, K.E., Gotoh, Y., Krebs, E.G. and Clark, E.A. Both phosphorylation and caspase-mediated cleavage contribute to regulation of the Ste-20-like Protein Kinase Mst1 during CD95/Fas-induced apoptosis. **J. Biol. Chem.** 276, 14909-14915, 2001.

Kawasaki, H., Fujii, H., Gotoh, Y., Morooka, T., Shimohama, S., Nishida, E. and Hirano, T. Requirement for mitogen-activated protein kinase in cerebellar long term depression. **J. Biol. Chem.** 274, 13498-13502, 1999.

Gotoh, Y. and Cooper, J.A. Reactive oxygen species and dimerization-induced activation of ASK1 in

TNF $\alpha$  signal transduction. **J. Biol. Chem.** 273, 17477-17482, 1998.

Shibuya, H., Iwata, H., Masuyama, N., Gotoh, Y., Yamaguchi, K., Irie, K., Matsumoto, K., Nishida, E. and Ueno, N. Role of TAK1 and TAB1 in BMP signaling in early *Xenopus* development. **EMBO J.** 17, 1019-1028, 1998.

Graves, J.D., Gotoh, Y., Draves, K.E., Ambrose, D., Han, D., Wright, M., Chernoff, J., Clark, E.A. and Krebs, E.G. Caspase-mediated activation and induction of apoptosis by the mammalian Ste20-like kinase Mst1. **EMBO J.** 17, 2224-2234, 1998.

Fukuda, M., Gotoh, I., Adachi, M., Gotoh, Y. and Nishida, E. A novel regulatory mechanism in the mitogen-activated protein (MAP) kinase cascade. Role of nuclear export signal of MAP kinase kinase. **J. Biol. Chem.** 272, 32642-32648, 1997.

Moriguchi, T., Toyoshima, F., Masuyama, N., Hanafusa, H., Gotoh, Y. and Nishida, E. A novel SAPK/JNK kinase, MKK7, stimulated by TNF $\alpha$  and cellular stresses. **EMBO J.** 16, 7045-7053, 1997.

Datta, S.R., Dudek, H., Tao, X., Masters, S., Fu, H., Gotoh, Y. and Greenberg, M.E. Akt phosphorylation of BAD couples survival signals to the cell-intrinsic death machinery. **Cell** 91, 231-241, 1997.

Takenaka, K., Gotoh, Y. and Nishida, E. MAP kinase is required for the spindle assembly checkpoint, but dispensable for the normal M phase entry and exit, in *Xenopus* egg cell cycle extracts. **J. Cell Biol.** 136, 1091-1097, 1997.

Fukuda, M., Gotoh, Y. and Nishida, E. Interaction of MAP kinase with MAP kinase kinase : Its possible role in the control of nucleocytoplasmic transport of MAP kinase. **EMBO J.** 16, 1901-1908, 1997.

Shirakabe, K., Yamaguchi, K., Shibuya, H., Irie, K., Matsuda, S., Moriguchi, T., Gotoh, Y., Matsumoto, K. and Nishida, E. TAK1 mediates the ceramide signaling to SAPK/JNK. **J. Biol. Chem.** 272, 8141-8144, 1997.

Ichijo, H., Nishida, E., Irie, K., ten Dijke, P., Saitoh, M., Moriguchi, T., Takagi, M., Matsumoto, K., Miyazono, K. and Gotoh, Y. Induction of apoptosis by ASK1, a mammalian MAPKKK that activates SAPK/JNK and p38 signaling pathways. **Science** 275, 90-94, 1997.

Kawasaki, H., Moriguchi, T., Matsuda, S., Li, H.Z., Nakamura, S., Shimohama, S., Kimura, J., Gotoh, Y., and Nishida, E. Ras-dependent and Ras-independent activation pathways for the stress-activated-protein kinase cascade. **Eur. J. Biochem.** 241, 315-321, 1996.

Kosako, H., Akamatsu, Y., Tsurushita, N., Lee, K.K., Gotoh, Y. and Nishida, E. Isolation and characterization of neutralizing single-chain antibodies against *Xenopus* mitogen-activated protein kinase kinase from phage display libraries. **Biochemistry** 35, 13212-13221, 1996.

Moriguchi, T., Toyoshima, F., Gotoh, Y., Iwamatsu, A., Irie, K., Mori, E., Kuroyanagi, N., Hagiwara, M., Matsumoto, K. and Nishida, E. Purification and identification of a major activator for p38 from osmotically shocked cells. Activation of MAPKK6 by osmotic shock, tumor necrosis factor- $\alpha$  and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. **J. Biol. Chem.** 271, 26981-26988, 1996.

Fukuda, M., Gotoh, I., Gotoh, Y. and Nishida, E. Cytoplasmic localization of MAP kinase kinase directed by its N-terminal, leucine-rich short amino acid sequence which acts as a nuclear export signal. **J. Biol. Chem.** 271, 20024-20028, 1996.

Moriguchi, T., Kuroyanagi, N., Yamaguchi, K., Gotoh, Y., Irie, K., Kano, T., Shirakabe, K., Muro, Y., Shibuya, H., Matsumoto, K., Nishida, E. and Hagiwara, M. A novel kinase cascade mediated by mitogen-activated protein kinase kinase 6 and MKK3. **J. Biol. Chem.** 13675-13679, 1996.

Shibuya, H., Yamaguchi, K., Shirakabe, K., Tonegawa, A., Gotoh, Y., Ueno, N., Irie, K., Nishida, E. and Matsumoto, K. TAB1: An activator of TAK1 MAPKKK in TGF- $\beta$  signal transduction. **Science** 272, 1179-1182, 1996.

- Kato, S., Endo, H., Masuhiro, Y., Kitamoto, T., Uchiyama, S., Sasaki, H., Masushige, S., Gotoh, Y., Nishida, E., Kawashima, H., Metzger, D. and Chambon, P. Activation of the Estrogen Receptor through phosphorylation by mitogen-activated protein kinase. **Science** 270, 1491-1494, 1995.
- Moriguchi, T., Gotoh, Y. and Nishida, E. Activation of two isoforms of mitogen-activated protein kinase kinase in response to epidermal growth factor and nerve growth factor. **Eur. J. Biochem.** 234, 32-38, 1995.
- Gotoh, Y., Masuyama, N., Dell, K., Shirakabe, K. and Nishida, E. Initiation of *Xenopus* oocyte maturation by activation of the mitogen-activated protein kinase cascade. **J. Biol. Chem.** 270, 25898-25904, 1995.
- Gotoh, Y. and Nishida, E. Activation mechanism and function of the MAP kinase cascade. **Molecular Reproduction and Development** 42, 486-492, 1995.
- Fukuda, M., Gotoh, Y., Tachibana, T., Dell, K., Hattori, S., Yoneda, Y. and Nishida, E. Induction of neurite outgrowth by MAP kinase in PC12 cells. **Oncogene** 11, 239-244, 1995.
- Moriguchi, T., Kawasaki, H., Matsuda, S., Gotoh, Y. and Nishida, E. Evidence for multiple activators for stress-activated protein kinases / c-Jun amino-terminal kinases. Existence of novel activators. **J. Biol. Chem.** 270, 12969-12972, 1995.
- Matsuda, S., Kawasaki, H., Moriguchi, T., Gotoh, Y. and Nishida, E. Activation of protein kinase cascades by osmotic shock. **J. Biol. Chem.** 270, 12781-12786, 1995.
- Gotoh, Y., Masuyama, N., Suzuki, A., Ueno, N. and Nishida, E. Involvement of the MAP kinase cascade in *Xenopus* mesoderm induction. **EMBO J.** 14, 2491-2498, 1995.
- Fukuda, M., Gotoh, Y., Kosako, H., Hattori, S. and Nishida, E. Analysis of the Ras p21/mitogen-activated protein kinase signaling in vitro and in *Xenopus* oocytes. **J. Biol. Chem.** 269, 33097-33101, 1994.
- Kosako, H., Gotoh, Y. and Nishida, E. Mitogen-activated protein kinase kinase is required for the Mos-induced metaphase arrest. **J. Biol. Chem.** 269, 28354-28358, 1994.
- Kosako, H., Gotoh, Y. and Nishida, E. Regulation and function of the MAP kinase cascade in *Xenopus* oocytes. **J. Cell Sci.** 18 (supple.), 115-119, 1994.
- Matsuda, S., Gotoh, Y. and Nishida, E. Signaling pathways mediated by the mitogen-activated protein (MAP) kinase kinase/MAP kinase cascade. **J. Leukoc. Biol.** 56, 548-553, 1994.
- Shiina, N., Gotoh, Y., Kubomura, J., Iwamatsu, A. & Nishida, E. Microtubule severing by elongation factor-1 $\alpha$ . **Science** 266, 282-285, 1994.
- Irie, K., Gotoh, Y., Yasher, B.M., Errede, B., Nishida, E. and Matsumoto, K. Stimulatory effects of yeast and mammalian 14-3-3 proteins on the Raf protein kinase. **Science** 265, 1716-1719, 1994.
- Gotoh, Y., Matsuda, S., Takenaka, K., Hattori, S., Iwamatsu, A., Ishikawa, M., Kosako, H. & Nishida, E. Characterization of recombinant *Xenopus* MAP kinase kinases mutated at potential phosphorylation sites. **Oncogene** 9, 1891-1898, 1994.
- Kosako, H., Gotoh, Y. & Nishida, E. Requirement for the MAP kinase kinase/MAP kinase cascade in *Xenopus* oocyte maturation. **EMBO J.** 13, 2131-2138, 1994.
- Mizoguchi, T., Gotoh, Y., Nishida, E., Yamaguchi-Shinozaki, K., Hayashida, N., Iwasaki, T., Kamada, H. & Shinozaki, K. Characterization of two cDNAs that encode MAP kinase homologues in *Arabidopsis thaliana* and analysis of the possible role of auxin in activating such kinase activities in cultured cells. **Plant J.** 5, 111-122, 1994.
- Gotoh, Y., Nishida, E., Shimanuki, M., Toda, T., Imai, Y. & Yamamoto, M. *Schizosaccharomyces pombe* Spk1 is a tyrosine-phosphorylated protein functionally related to *Xenopus* mitogen-activated protein kinase. **Mol. Cell. Biol.** 13, 6427-6431, 1993.

Nishida, E. & Gotoh, Y. The MAP kinase cascade is essential for diverse signal transduction pathways. **Trends Biochem. Sci.** 18, 128-131, 1993.

Kosako, H., Nishida, E. & Gotoh, Y. cDNA cloning of MAP kinase kinase reveals kinase cascade pathways in yeasts to vertebrates. **EMBO J.** 12, 787-794, 1993.

Matsuda, S., Gotoh, Y. & Nishida, E. Phosphorylation of *Xenopus* MAP kinase kinase by MAP kinase kinase and MAP kinase. **J. Biol. Chem.** 268, 3277-3281, 1993.

Shiina, N., Gotoh, Y. & Nishida, E. A novel homo-oligomeric protein responsible for an MPF-dependent microtubule-severing activity. **EMBO J.** 11, 4723-4731, 1992.

Shiina, N., Moriguchi, T., Ohta, K., Gotoh, Y. & Nishida, E. Regulation of a major microtubule-associated protein by MPF and MAP kinase. **EMBO J.** 11, 3977-3984, 1992.

Hattori, S., Fukuda, M., Yamashita, T., Nakamura, S., Gotoh, Y. & Nishida, E. Activation of MAP kinase and its activator by ras in intact cells and in a cell-free system. **J. Biol. Chem.** 267, 20346-20351, 1992.

Shirakabe, K., Gotoh, Y. & Nishida, E. A MAP kinase activating factor in mammalian mitogen-stimulated cells is homologous to *Xenopus* M phase MAP kinase activator. **J. Biol. Chem.** 267, 16685-16690, 1992.

Kosako, H., Gotoh, Y., Matsuda, S., Ishikawa, M. & Nishida, E. *Xenopus* MAP kinase activator is a serine/threonine/tyrosine kinase activated by threonine phosphorylation. **EMBO J.** 11, 2903-2908, 1992.

Nishida, E. & Gotoh, Y. MAP kinase and cytoskeleton in mitogenic signal transduction. **Int. Rev. Cytol.** 138, 211-238, 1992.

Matsuda, S., Kosako, H., Takenaka, K., Moriyama, K., Sakai, H., Akiyama, T., Gotoh, Y. & Nishida, E. *Xenopus* MAP kinase activator: identification and function as a key intermediate in the phosphorylation cascade. **EMBO J.** 11, 973-982, 1992.

Gotoh, Y., Moriyama, K., Matsuda, S., Okumura, E., Kishimoto, T., Kawakami, H., Suzuki, K., Yahara, I., Sakai, H. & Nishida, E. *Xenopus* M phase MAP kinase: isolation of its cDNA and activation by MPF. **EMBO J.** 10, 2661-2668, 1991.

Shinohara-Gotoh, Y., Nishida, E., Hoshi, M. & Sakai, H. Activation of microtubule-associated protein kinase by microtubule disruption in quiescent rat 3Y1 cells. **Exp. Cell Res.** 193, 161-166, 1991.

Gotoh, Y., Nishida, E., Matsuda, S., Shiina, N., Kosako, H., Shiokawa, K., Akiyama, T., Ohta, K. & Sakai, H. *In vitro* effects on microtubule dynamics of purified *Xenopus* M phase-activated MAP kinase. **Nature** 349, 251-254, 1991.

Gotoh, Y., Nishida, E. & Sakai, H. Okadaic acid activates MAP kinase in quiescent fibroblastic cells. **Eur. J. Biochem.** 193, 671-674, 1990.

Gotoh, Y., Nishida, E., Yamashita, T., Hoshi, M., Kawakami, M. & Sakai, H. MAP kinase activated by nerve growth factor and epidermal growth factor in PC12 cells. Identity with the mitogen-activated MAP kinase of fibroblastic cells. **Eur. J. Biochem.** 193, 661-669, 1990.

Shinohara, Y., Nishida, E. & Sakai, H. Initiation of DNA synthesis by microtubule disruption in rat 3Y1 cells. **Eur. J. Biochem.** 183, 275-280, 1989.

Shinohara, Y., Nishida, E. & Sakai, H. Colchicine acts as a progression factor to initiate DNA synthesis in quiescent Balb/c 3T3 cells. **FEBS Lett.** 236, 19-22, 1988.