

腫瘍細胞にみられる染色体不安定性の 病理解明のための基礎的研究

[1] 組織

代表者：広田 亨
(財団法人癌研究会癌研究所)

対応者：田中 耕三
(東北大学加齢医学研究所)

分担者：なし

研究費：物件費 30 万円、旅費 0 円

[2] 研究経過

細胞分裂に伴う遺伝情報の継承は、「染色体の構築」と、染色体の位置と分離のタイミングを計る「微小管と動原体の相互作用」に依存している。普遍的な分裂期キナーゼ Aurora B が、染色体の形成から分離までを制御する鍵酵素であることが、代表者自身の結果を含め最近の研究で明かされつつある。さらに「微小管と動原体の相互作用」の制御には Aurora B 以外にも多くの分子が関与しており、なかでも紡錘体チェックポイントは、微小管と動原体の相互作用と染色体の分離のタイミングを同期させる鍵となる機構である。従って、染色体制御の分子メカニズムの解明に向けては、Aurora B の活性がどのような局面に必要か? どのような分子と連携しているか?、また紡錘体チェックポイントに関連する分子がどのような局面でどのような分子と連携しているかを紐解いていくことが一つの突破口となるはずであり、本課題ではそのポイントを主題とする。

第一の目的として染色体の形態や動態、さらに染色体関連因子の分子代謝が、Aurora B によってどのように制御されるのかを明らかにする。具体的には、Aurora B の機能の観点から、

- (1) 染色体構成分子の制御機構
- (2) 微小管・動原体相互作用の制御機構 (図1)

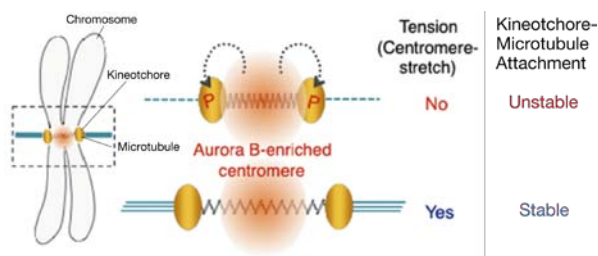


図1 Aurora B による微小管・動原体相互作用の制御

という染色体動態制御のポイントとなる局面について、その機構を明らかにすることを旨とする。これに

は、Aurora B のリン酸化基質との分子連係を究明することが欠かせない。そこで本共同研究では、新たな Aurora B の基質分子の同定およびその意義を検討することを目的として研究を行っている。

第二の目的として紡錘体チェックポイント関連分子による染色体分配制御機構について明らかにする。近年、紡錘体チェックポイントに関連する分子が、微小管と動原体の相互作用をモニターするのみならず、微小管と動原体の結合そのものにも関与する例が多く報告されている。そこで本共同研究では、紡錘体チェックポイント関連分子と結合する新たな分子の同定及びその機能の解明を目指している。

以下、研究活動状況の概要を記す。研究代表者、対応者はそれぞれ定期的(一ヶ月に一回程度の頻度)に加齢医学研究所および癌研究所において実験の方針やデータの解釈等の議論を行なった。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

第1に、Aurora B のリン酸化基質の候補として昨年度同定した分子について解析を進めた。その結果、これらの分子はクロマチンや微小管に親和性があることがわかり、Aurora B が染色体の構築および微小管・動原体相互作用を制御する上での有力な基質である可能性が示唆された。

第2に、紡錘体チェックポイントに関連する分子と結合する分子を探索し、同定された分子の染色体分配への機能を検討した。その結果、紡錘体チェックポイント分子 MAD2L1 の類似分子である MAD2L2 と結合する新規分子 C13orf8 をノックダウンすると、分裂中期における染色体の赤道面への整列が維持されず、正常な染色体分配が起こらないことがわかった。また C13orf8 は細胞分裂期にリン酸化され、このリン酸化が正常な染色体分配に必須であることから CAMP (Chromosome alignment-maintaining phosphoprotein) と名付けた。CAMP をノックダウンした細胞では、微小管・動原体相互作用に異常が認められた (図2)。また生細胞観察の結果から、CAMP をノックダウンすると、双方向性結合の成立により姉妹キネトコア間に張力が生じた時に、微小管・動原体結合を維持できないことがわかった (図3)。

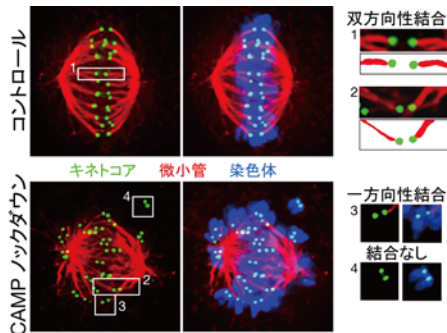


図2 CAMPノックダウン細胞でのキネトコア-微小管結合の異常
CAMP ノックダウン細胞ではキネトコア-微小管結合の異常(2~4)のため、染色体が赤道面に整列しない。

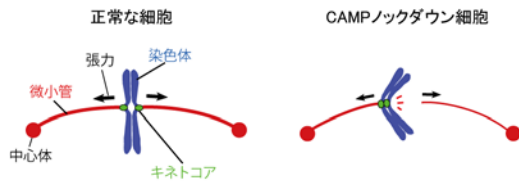


図3 CAMPはキネトコア-微小管結合の維持に関与する

(3-2) 波及効果と発展性など

本研究は、細胞分裂の研究領域の重要課題である染色体の「制御因子」として必須の役割を担う Aurora B キナーゼの機能について明らかにしようとするものであり、今回同定された Aurora B のリン酸化基質候補タンパク質については、継続して共同研究を行い、これらのタンパク質と結合するタンパク質を探索する予定である。これにより Aurora B が制御する新規ネットワークが見出されることが期待される。また、Aurora キナーゼは、癌遺伝子としても位置づけられており、その活性を標的とし

た抗がん薬の開発が急がれている。この観点からもより確かな分子標的治療薬開発に結びつく成果へと繋がる可能性がある。

一方 MAD2L2 に結合する分子である CAMP は、染色体分配に関与する新たな分子であることがわかった。CAMP は脊椎動物においてのみ認められるため、ヒト細胞における繊細な染色体分配制御に関与している可能性がある。このような分子の異常は、癌細胞に特徴的な染色体不安定性の原因となることが疑われる。実際 CAMP 遺伝子は 13 番染色体長腕の末端に存在し、この遺伝子座を含む領域の異常は種々の癌で認められる。今後 CAMP 遺伝子の異常の解析から、癌との関連が明らかになることが期待される。もちろん CAMP による微小管・動原体相互作用の制御機構の詳細についても検討を継続する必要がある。

本共同研究を推し進めた結果、学外研究者との新たな交流が活性化し、染色体分配制御機構についての共同研究に発展してきている。

[4] 成果資料

(1) Itoh, G, Kanno, S, Uchida, K, Chiba, S, Sugino, A, Watanabe, K, Mizuno, K, Yasui, A, Hirota, T, and Tanaka, K. CAMP (C13orf8, ZNF828) is a novel regulator of kinetochore-microtubule attachment. *EMBO J* (2011) 30, p130-144.