

## 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

(公益財団法人がん研究会がん研究所・  
実験病理部)

対応者：田中 耕三

(東北大学加齢医学研究所・分子腫瘍学  
研究分野)

分担者：なし

研究費：物品費28.3万円、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決定する「微小管と動原体の相互作用」に依存している。近年の研究によって、正確な染色体分配を達成するためには、染色体と微小管の正しく結合することと、染色体を適時に同期的に分離することが肝要であることが分かってきた。これらは、微小管の誤接続を解除する「修正機能」と、すべての結合を正しく修正するまでの時間を確保する「紡錘体チェックポイント」という細胞機能に、それぞれ依存していることが分かってきた。

われわれは、これらの細胞機能の制御にかかわっていると考えられているAurora B kinaseあるいはPolo-like kinase 1(Plk1)といった高度に保存されている2つの分裂期キナーゼの役割を切り口に、染色体動態制御の分子機構、ひいては、その破綻による染色体不安定性の分子背景をテーマとして研究を進めている。本研究では、Aurora Bについて、セントロメア特異的な蛋白質およびヒストン修飾の分布とその意義を明らかにし、この特殊な染色体ドメインの分子基盤を示すことを目指した。具体的には、セントロメアにおける修飾ヒストンH3/CENP-Aの分布、Aurora Bパッセンジャー複合体やシユゴシン等のセントロメア特異的な蛋白質の動態について、あるいはコンデンシンとコヒーシンといった染色体全般の構築を担う複合体の動態を解析する。次いで、これらセントロメア構成分子群の動態にAurora Bの関与を検討する。そして、セントロメアの構造と機能における、Aurora Bとセントロメア構成分子群との連携の重要性を明らかにすることを旨とする。

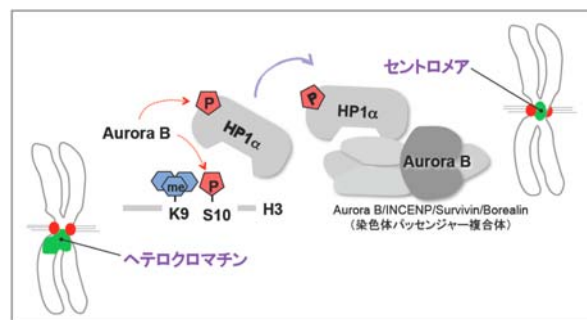
本共同研究においては、第一に、上記の既知の染色体動態関連分子の制御を解析する、第二に、新たなAurora Bの基質分子の同定を試みる。以下、研究活動状況の概要を記す。研究代表者、対応者はそれぞれ定期的(平均一ヶ月に一回程度)に加齢医学研究所(仙台)あるいはがん研究所(東京・有明)において、実験の方針やデータの解釈等の議論を行った。

### [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。

(1) 分裂期においてAurora Bの活性依存的にクロマチンより解離するHP1αの動態と機能を追究した。その結果、期せずして、動原体と微小管の正しい結合を保証する仕組みの中でAurora Bがいかに重要な役割を担っているのかということを見出すことができた。まず、HP1αはM期特異的にAurora Bによってリン酸化を受けることと、リン酸化サイトの一つがSer92であることが分かった。リン酸化HP1αの大部分は細胞質に存在したが、興味深いことに一部のリン酸化HP1αはAurora B/染色体パッセンジャー複合体(CPC)と相互作用し、その結果セントロメアに局在することが、免疫沈降法や免疫染色法によって判明した(下図参照)。さらにHP1αとAurora Bの結合はHP1α Ser92のリン酸化によって安定化することがFRAP解析で示唆された。



(2) セントロメアにおけるHP1αとAurora Bの相互作用の意義をノックダウン実験あるいは種々の変異体の補完実験を行って検討したところ、この相互作用はメロテリック結合(一つの動原体に両極から延びた微小管が結合)のような動原体における微小管の誤接続を防ぐという特異な役割を担っていることを明らかにし

た。つまり、このような誤接続は Aurora B 依存性に M 期チェックポイントが維持されて、そして修復されると考えられていたが、これらの Aurora B の機能は HP1 $\alpha$  との連携があって始めて可能となることが分かった。換言すれば、Aurora B は、HP1 $\alpha$  をセントロメアに引き込むことによって、微小管の誤接続を防ぎ、染色体の不均等分配を未然に防ぐことによって、染色体の安定した分配を保証していると解釈できる。

(3) セントロメアにおける Aurora B の機能は、極めて低濃度の Aurora B 阻害薬に感受性があり、その結果、微小管の誤接続が頻発することが報告されたが (Cimini et al., 2006)、本研究で見出した Aurora B と HP1 $\alpha$  との相互作用もこの低濃度の阻害薬によって抑えられることが判明している。HP1 $\alpha$  は分裂酵母でも正常な染色体分配に必須であることが知られていたことから、数多く存在するであろう Aurora B の関連分子の中でも特に重要で且つ普遍的な分子連係である可能性があると考えている。

#### (3-2) 波及効果と発展性など

Aurora や Polo といった分裂期キナーゼは、がん遺伝子としての特性も有している。つまり、分裂期キナーゼをマウス線維芽細胞に過剰発現すると形質転換能を有するがん遺伝子としてふるまうことが示されている。実際に、分裂期キナーゼは様々なヒト癌組織において過剰発現することが知られ、その発現量が予後と相関している癌腫も報告されている。従って、分裂期キナーゼは癌の発生や進展に中心的な役割を担っていると考えられ、分子標的治療薬のターゲットとしても期待されているが、キナーゼの過剰発現がどのようにして細胞の悪性化に寄与するのか? という肝心なところは未だ分かっていない。分裂期の制御異常がもたらす染色体不安定性が細胞の形質転換と関与している可能性に加え、われわれは、がん細胞で分裂期以外の時期に、異所性に発現した Aurora キナーゼが、非生理的なタンパク質をリン酸化基質とし、その結果、細胞周期の回転を促進する可能性があることを報告した (Sasayama et al., 2005)。前立腺がんにおいて過剰なキナーゼの活性化によって過剰なヒストンのリン酸化が起こりうること、そしてその病的なヒストンのリン酸化が実際の癌腫の発生および進展の主因となっている可能性が示された (Metzger et al., 2008)。このような例をみると、Aurora B と HP 1 の分子連携についての病理学的意義を考える場合には、非生理的な経路に依存して細胞が悪性化形質を獲得する可能性、すなわち、分裂期キナーゼ “アディクション” に陥って異常な増殖

性を獲得している可能性を視野に入れることは重要であろうと考えている。

ゲノム学的解析によって得られたがんの遺伝子発現プロファイリング情報を俯瞰すると、がんは従来考えられていたように特定遺伝子の発現の亢進・抑制に起因しているというよりも、むしろ、その変化は多様性に富み、染色体全般で、生理的な遺伝子発現の“パターン”が崩壊した状態にあることが分かってきた。つまり、「細胞のがん化は遺伝子発現制御機構の破綻」という側面に着目すると、遺伝子発現を調節するエピジェネティクスが大々的に変化していると可能性がある。がん細胞ではゲノムの構造がどのように崩れているのかを解明することは、がんという疾患の病態を理解するための根本的な課題であると思う。エピジェネティクスは、現段階ではヒストンおよび DNA の化学修飾というレベルでの研究が盛んに進められているが、本研究で扱ったコンデンシン、コヒーシン、HP1 $\alpha$  といった「染色体構成因子群」は、ゲノムの構造変化をより広い範囲に波及しうる可能性がある。本研究で確立したヒト細胞におけるゲノム学的解析方法を適応すれば、“クロマチンの構造変化に基づいた遺伝子発現制御様式”の端緒が開かれることが期待される。そうなれば、がん細胞における分裂期キナーゼの質的量的異常が、クロマチン構造にいかなる異常をもたらすかを調べることも実現可能であるだろう。

本研究の最終的な狙いは、がんという疾患の本質を理解することにある。そのために、ここに得られた Aurora B による染色体の制御についての知見を基礎にして、Aurora B の関わる細胞の悪性化機構の解明、染色体不安定性と細胞がん化との関連性の解明、あるいは新たながんの分子診断法、分子標的治療法の開発に繋げたい。

#### [4] 成果資料

- 1) Abe, S., Nagasaka, K., Hirayama, Y., Kozuka-Hata, H., Oyama, M., Aoyagi, Y., Obuse, C., \*Hirota, T. (2011) The initial phase of chromosome condensation requires Cdk1-mediated phosphorylation of the CAP-D3 subunit of condensin II. **Genes & Dev.** 25: 863-874.
- 2) Ito, G., Kanno, S., Uchida, K.S.K., Chiba, S., Sugino, S., Watanabe, K., Mizuno, K., Yasui, A., Hirota, T., \*Tanaka, K. (2011) CAMP (C13orf8, ZNF828) is a novel regulator of kinetochore-microtubule attachment. **EMBO J.** 30: 130-144.