

課題番号 10

がん細胞における染色体動態異常のメカニズム解明に向けた 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)
対応者：田中 耕三
(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 28万3千200円, 旅費 0円

[2] 研究経過

背景

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。すなわち、ゲノムを担うクロマチンは、細胞の分裂に先立って凝縮し、複製した DNA は姉妹染色分体として顕微鏡で観察できるようになり、染色体が構築される。こうして出来上がった染色体を分配するために、微小管が動原体に結合して、後期の開始とともに、同期的に分離される。これら一連のプロセスは、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」という細胞機能に依存している。従って、細胞分裂に際するゲノム情報の継承は、染色体を作る過程と、染色体を分ける過程の両輪が適正に機能することが必須である。

目的

本研究では、これらの細胞機能の制御にかかわっていることが明らかになりつつある Aurora B kinase あるいは Polo-like kinase 1 (Plk1) といった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明らかにすることを目的とした。

染色体構築において中心的な役割を果たす因子がコンデンシン複合体である。ヒトではコンデンシン I と II のサブクラスが存在し、その構造はよく似ているものの、その動態および機能は異なり、それぞれが染色体構築において不可欠な役割を担っている。我々は選考研究で、分裂期キナーゼである Cdk1 と

Plk1 によるコンデンシン II のリン酸化が、分裂期での染色体凝縮の引き金となることをみいだした (Abe et al. Genes Dev. 2011)。しかし、Plk1 のノックダウン細胞とコンデンシン II のノックダウン細胞とでは異なる染色体凝縮異常を示すことから、Plk1 による染色体凝縮制御はコンデンシン II のリン酸化に加え、他のタンパク質を基質とする系が存在することが示唆されていた。そこで本研究においては、染色体の凝縮に関連する分子の中で、Plk1 の基質を探索・同定することを目的とした。

研究打ち合わせ等の開催状況

研究代表者、対応者はそれぞれ定期的（三ヶ月に一回程度）に加齢学研究所（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討議を繰り返し、研究を推進した。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

平成24年度には、分裂期の染色体構築に関わる Plk1 の基質を探索するために、染色体上に存在するタンパク質の中から Plk1 の基質候補を質量分析によって解析した。Plk1 のカルボキシル基末端側の Polo-box domain (PBD) という基質結合部位と結合するタンパク質を調べたところ、モータータンパク質である KIF4A が同定された。KIF4A は分裂期染色体の軸索構造に存在し、染色体凝縮に関与することが知られているが、その分子背景はわかっていない。

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

まず第1に、KIF4A とコンデンシンとの関係を調べた。その結果 KIF4A がコンデンシン I と結合する一方、コンデンシン II とは結合しないことがわかった。

第2に、この KIF4A とコンデンシン I の結合の機構を調べた。その結果この結合は Cdk1 依存性に起こることがわかった。

第3に、この KIF4A とコンデンシン I の結合の

意義を調べた。その結果、分裂期染色体の軸索構造にコンデンシンIが局在するのに、KIF4Aが必要であることが明らかになった。

第4に、Plk1の分裂期での機能の背景として、Plk1の細胞内局在の制御について検討を行った。Plk1は分裂期の中心体や動原体に局在し、それぞれの局在に関与するPlk1結合タンパク質が明らかになっている。このうち動原体への局在については、Bub1, PBIP1, NudC, CLASP2などが関与していることが明らかになっている。今回これらに加えて、動原体に局在する微小管結合タンパク質であり、Plk1の基質であるCLIP-170がPlk1のキネトコア局在に関与していることが明らかになった。CLIP-170とPlk1の結合は、Cdk1によるCLIP-170の287番目のスレオニンのリン酸化に依存していた。

(3-2) 波及効果と発展性など

Plk1は、がん遺伝子としての性質を有し、様々なヒトがん細胞組織において高発現している。そのため分子標的治療薬のターゲットとして期待されているが、この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点については明らかになっていない。そのため、本研究で調べている染色体構築の制御機構との関連性が注目される。

本研究の最終目的は、がんという疾患の本質を理解することであり、Plk1による染色体制御の知見を基礎にして、分裂期キナーゼの関わる細胞の悪性化機構や染色体不安定性と細胞がん化との関連性の解明を目指したい。

[4] 成果資料

(1) Gallego-Paez, L. M., Tanaka, H., Bando, M., Takahashi, M., Nozaki, N., Nakato, R., Shirahige, K., Hirota, T. (2014). Smc5/6-mediated regulation of replication progression contributes to chromosome assembly during mitosis in human cells. *Mol. Biol. Cell* 25, 302-317.

(2) Itoh, G., Sugino, S., Ikeda, M., Mizuguchi, M., Kanno, S., Amin, M.A., Iemura, K., Yasui, A., Hirota, T., and Tanaka K. (2013). The nucleoporin Nup188 is required for chromosome alignment in mitosis. *Cancer Sci.* 104, 871-879.

(3) Tanaka, K. (2013). Regulatory mechanisms of kinetochore-microtubule interaction in mitosis. *Cell. Mol. Life Sci.* 70, 559-579.