

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 39万8千円，旅費 0円

[2] 研究経過

背景

がんは不均一な細胞の集団であり、それ故に、がんは多様性を獲得し、その治療を難しくしている。つまり、この不均一性を作り出している背景を掌握することによって、がん病態の本質的な理解につながり、より効果の高い治療を考案できると考えられる。多くのがん細胞は、染色体数が正二倍体から逸脱した「異数性」であることが古くから知られ、細胞分裂の度に染色体数が変動する「染色体不安定性」と呼ばれる細胞病態に陥っていると思われる。がんの不均一性の背景の一つに、異数性からくるゲノムの量的変化があげられる。実際、異数性と臨床的な悪性度とは強い相関があることからその可能性が裏付けられる。従って、染色体不安定性の原因を明らかにすることによって、がん病因の掌握に重要な手掛かりが得られるのではないかと考えられる。

目的

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、先ずもって染色体をただしく構築することが必須であることが肝要であることが分かってきた。われわれの研究室では、分裂期キナーゼの機能を追究することによって、染色体の構築原理を明らかにしようとしている。本研究では、生物種を越えて普遍的なPolo-like kinase 1(Plk1)という分裂期キナーゼの役割を切り口に、染色体構成因子の動態制御機構、ひいては、その分子連携の破綻から染色体不安定性獲得までの病的パスウェイを明らかにすることを目指している。

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。我々は先行研究で、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。

平成25年度は、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。またこの KIF4A とコンデンシン I の結合は Cdk1 依存性に起こることがわかった。この KIF4A とコンデンシン I の結合の意義として、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。

平成26年度はこれまでの研究をふまえ、KIF4AとコンデンシンIとの結合とその意義をさらに解析した。その結果、KIF4AとコンデンシンIの結合は細胞分裂期に特異的に起こることがわかった。

またKIF4AとコンデンシンIの結合の意義について、KIF4Aを発現抑制した細胞でのコンデンシンIの局在を詳細に検討した。その結果、本来分裂期染色体の軸索構造に局在しているコンデンシンIが染色体上に広がって分布することが明らかになった。

第2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。CLIP-170に結合したPlk1は、CLIP-170やその他のタンパク質をリン酸化することにより、染色体分配を制御しているのではないかと考えられる。

(3-2) 波及効果と発展性など

これまでの研究によって、Plk1の新たな基質であるKIF4AがコンデンシンIとの結合を介して染色体凝縮に関与することが明らかになりつつある。またPlk1がCLIP-170依存性にキネトコアに局在するとともにCLIP-170をリン酸化することによって染色体分配を制御するというモデルの提示に至った。

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。しかし、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・染色体分配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) Amin, M. A., Itoh, G., Iemura, K., Ikeda, M., Tanaka, K. (2014) CLIP-170 recruits PLK1 to kinetochores during early mitosis for chromosome alignment. *J. Cell Sci.* 127, 2818-2824.