

課題番号 39

Ola1 ノックアウトマウスの表現型の解析による 新たな発癌機構の解明

[1] 組織

代表者：中村 保宏
 (東北医科薬科大学医学部)
 対応者：千葉 奈津子
 (東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費30万円，旅費0円

[2] 研究経過

*Breast Cancer gene 1 (BRCA1)*はその生殖細胞系列変異により、遺伝性乳がん・卵巣がん症候群を引き起こすがん抑制遺伝子である。散発性がんでは、BRCA1の発現の減少が報告されており、近年は難治性乳がんであるトリプルネガティブ乳がんとの関連も明らかになっている。BRCA1はBRCA1-associated RING domain 1 (BARD1)とヘテロダイマーを形成し、DNA修復、クロマチンリモデリング、中心体制御など、細胞内の様々な機能に参与する。

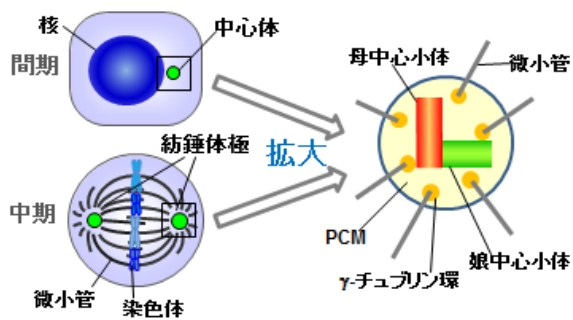


図1 中心体の構造

所内対応者である千葉らがBARD1の結合分子として同定したObg-like ATPase 1 (OLA1)は、間期に細胞質と中心体に、分裂期には紡錘体極に局在する。中心体は、L字型に配置した母中心小体と娘中心小体の2個の中心小体から構成され、微小管形成中心として機能し、分裂期には紡錘体極となり、娘細胞

への染色体の均等な分配を担う(図1)。OLA1は、BRCA1のN末端、BARD1のC末端、中心体の主要構成因子である γ -tubulinと直接結合し、複合体を形成していることが示唆されている。OLA1の発現抑制は、中心体の複製異常と断片化による中心体数の増加(図2)を引き起こす。中心体数の増加は、染色体分配の異常をもたらし、がんの特徴的な染色体不安定性の原因となる。

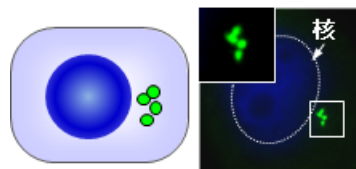


図2 中心体の増加

千葉らは、OLA1の個体レベルで機能を解明するため、*Ola1*のコンディショナルノックアウトマウスを作成し、全身でCreを発現するCAG-Creマウスと交配し、全身でのノックアウトの影響を観察した。生まれた*Ola1*ホモノックアウトマウスは予測値の1/6で、胎生期、生後とも体長が小さく、発育異常が示唆された。*Ola1*ヘテロノックアウトマウスは、雌でのみ脾臓に腫瘍細胞が増加し、脾臓構造が破壊され、老齢マウスには腸間膜リンパ節や肝臓に転移巣が見られた。本共同研究では、*Ola1*ヘテロノックアウトマウスの腫瘍を解析し、さらに、細胞レベルで見られた中心体異常が観察されるかどうかを解析した。これによって*Ola1*の個体レベルでの機能とがん抑制機構を解明し、がんの予防法、治療法開発のための分子基盤を確立することを目的として、研究を行った。

研究代表者の中村と加齢研対応教員の千葉は、以前より共同研究を行っており、本共同研究においても、千葉研究室において議論を重ね、電子メールでも連絡をとり、共同研究を進めた。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度の研究では特に、*Ola1*ヘテロノックアウトマウスの脾臓の腫瘍に関する解析で進展があった。脾臓の腫瘍形成は、雌マウスのみが生じ、特に老齢マウスは転移巣も認められた。脾臓腫瘍は、病理組織学的解析の結果、濾胞構造や細胞の異型性から、①悪性リンパ腫、②異型細胞の増殖、③髄外造血の亢進の3群に分類され、背景組織はいずれも増殖性疾患と考えられた。悪性リンパ腫はB細胞性で、細胞分裂像が多く、中心体異常の結果と考えられる異常な染色体分配が起きている分裂像が多く観察され(図3)、*Ola1*機能欠損による中心体数の異常が起きていることが示唆された。

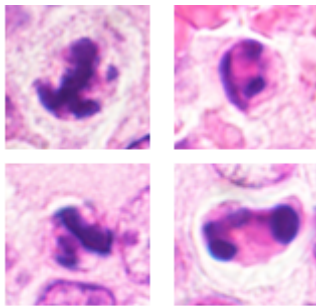


図3 異常細胞分裂像

また各組織での*Ola1*の発現量をWestern blotと免疫染色で検討したところ、脾臓では他の組織に比べて発現量が少なく、そのために、脾臓でヘテロノックアウトの影響が顕著になり、*Ola1*発現量がさらに減少するために、中心体数の異常が起き、異常な染色体分配が生じているのではないかと考えられた。これらの研究成果は、千葉により、第75回日本癌学会学術総会(2016年10月6日、横浜)での招待講演などの学会で発表され、現在、論文を準備中である。

また、雌マウスのみ腫瘍が形成されることに関しては、女性ホルモンが中心体数に影響を与えるという予備的なデータを得ることができた。

(3-2) 波及効果と発展性など

*BRCA1*の機能としては、以前よりDNA修復能が精力的に解析されており、この機能の破綻が発がんの原因になると考えられてきた。しかし、

*BRCA1*はユビキタスに存在し、組織特異的にDNA修復能を発揮するという報告はなく、*BRCA1*変異による発がんが、なぜ女性に組織特異的に発症するのかが不明であった。

しかし、*Ola1*ノックアウトマウスで観察された腫瘍は、雌マウスのみ、特に妊娠マウスで見られ、女性ホルモンの関与が考えられた。これまでの解析により、B細胞型リンパ腫であることが明らかになったが、マウスでは、妊娠時にエストロゲンがエストロゲン受容体を介してリンパ球の増殖能を制御することが報告されている(Lambert et al. *J. Immunol.* 2005)。また、多くのヒトの造血器腫瘍でも、中心体異常が報告されている(Chan et al. *Int J Biol Sci* 2011)。興味深いことにヒト細胞での解析で*BRCA1*の発現抑制では乳腺由来細胞でのみ中心体数の異常を引き起こす。千葉らの解析により、*OLA1*やその新規結合分子の発現量の異常も、乳腺由来細胞でのみ中心体数の増加を引き起こし、*OLA1*とエストロゲン受容体との相互作用も明らかになった。最近、エストロゲン受容体が中心体に局在することも報告もされた(Okada et al. *Mol Endocrinol* 2015)。よって本研究により、組織特異的な発がんのメカニズムが明らかになり、*BRCA1*変異の保因者のがんの発症予防やこれらの治療法の開発にも貢献できると考えられる。

[4] 成果資料

学会発表

(1) Chiba N. Recent advance and further challenge in hereditary breast and ovarian cancer (HBOC) syndrome. 千葉奈津子 遺伝性乳がん・卵巣がんの現状と今後の展望 New frontiers of hereditary cancer towards the precision medicine. 遺伝性腫瘍の新しい展開・プレジジョン医療の実現へ向けて 第75回日本癌学会学術総会(2016年10月6日、横浜)

(2) 齋籟成, 方震宙, 新藤一葉, 吉野優樹, 千葉奈津子. *BRCA1*結合分子*OLA1*の中心体のDNA損傷応答における機能 第34回染色体ワークショップ 第15回核ダイナミクス研究会(2017年1月11日、木更津)