

課題番号 31

ゲノムストレス応答因子 Plk1 を介したオートファジー経路の 染色体維持機構における機能考察

[1] 組織

代表者：古谷 寛治
(京都大学大学院生命科学研究科
附属放射線生物研究センター)

対応者：田中 耕三
(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 15 万円

[2] 研究経過

がん細胞は、ゲノム DNA 上に、ある程度の損傷が生じて細胞増殖を続けることが知られている。その結果、DNA 損傷ストレスに耐性を示す。これまでに我々は、この耐性を生む機構の一つとして細胞増殖促進キナーゼである PLK1 がゲノム DNA 損傷の感知機構 (RAD9 タンパク質) を抑制し、がん細胞に DNA 損傷ストレス下でも増殖停止が起こりにくくなる仕組みが考えられることをこれまでに報告してきた (eLife 誌, Wakida et al. 2017)。実際、PLK1 が、がん細胞において高発現となることで、放射線療法や化学療法に対する抵抗性を生むことが報告されている。

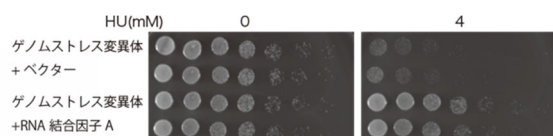
一方、がんは多様であり、様々な原因でゲノムストレスに対して抵抗性を示す。我々は、そういったゲノムストレスを増強する要因にオートファジー経路やリン酸化のネットワークなどが相互に影響し変化することを想定しているが、その知見を補完する目的で、今回は、分裂酵母を用いたスクリーニングの途中経過を報告する。我々はゲノムストレス応答を増強する要因を、より広汎な視点で探るため、ゲノムストレスに対して増殖が脆弱になった変異体に対し、大量発現がゲノムストレスに対する抵抗性を付与する因子の獲得を試み、それによりどう言った細胞内環境の変化がゲノムストレスへの抵抗性獲得の際に見られるかを探った。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

分裂酵母において、ゲノムストレスに対して増殖が脆弱になった変異体ツールとして用い、その変異体に遺伝子ライブラリーを導入し、ヒドロキシウレアに対する増殖感受性を回復する遺伝子産物を獲得した。複数の遺伝子産物が得られた。用いた変異体に対しては、複数の遺伝子産物とその機能を補完することが知られているため、PCR にて、その既知の因子を特定し、それらを解析リストから除外した。それらを除外したのち、最もゲノムストレスへの抵抗性を付与する機能を有する遺伝子断片として RNA 結合タンパク質 A が得られた。この RNA 結合タンパク質 A は細胞内において、RNA 顆粒の中心因子として働き、RNA の翻訳促進因子としての機能を有していることが報告されているものの、ゲノムストレス応答との関連は知られていない。また、この因子の高発現は野生型細胞に対してもゲノム損傷ストレスに対する抵抗性を付与し、一方で、低発現はゲノムストレスに対する感受性を付与することを見出した。また、この RNA 結合タンパク質 A の発現抑制の、ゲノムストレスに対する脆弱性は、アミノ酸を枯渇させた際に非常に脆弱になった。

以上の結果から、この RNA 結合タンパク質 A の機能はスクリーニングに用いた変異体の機能欠損を補完する働きを持つものではなく、また、細胞に対して栄養源環境に応じたゲノムストレス下での細胞増殖の規定因子として位置付けられた。



さらに詳しく RNA 顆粒構成因子としての機能とゲノムストレス応答を探るため、標的 RNA の特定を試みた。すでに出芽酵母において相同タンパク質の機能として、特定の RNA 配列が直接の標的となり、それを有する RNA の安定性を増強させる機能が報告されていた。そこで、その情報を活用し、分裂酵母においても同様の機能を有するかを検討した。結果、いくつ

かの RNA に対して RNA 結合タンパク質 A の発現抑制が減少したため、同様の機能を有することを確認した。本研究課題は、加齢医学研究所内の対応者である、田中耕三教授とメール、電話等でやりとりをしながら遂行した。

(3-2) 波及効果と発展性など

現在の主な解析成果としては以上となるが、核小体への結合を確認したほか、この RNA 結合タンパク質 A の高発現は通常の細胞増殖に対しては若干抑制的に働くことを見出している。おそらくは量のダイナミックな変動がゲノムストレスや栄養源環境下での効率良い細胞増殖を調節するのに必要ではないかと考えられる。そこで、現在は RNA 結合タンパク質 A のコピー数の変動をリアルタイムで検出する系を構築中であり、それらと PLK1 の発現やオートファジー機能との関連性を探る研究へと展開したいと考えている。また、RNA 顆粒は細胞増殖との密接な機能関連や、オートファジーとの関連性、がんのみならず、さらには神経変性疾患等への関連も報告されており、そういった機能連携を少しでも明らかにできると期待している。

[4] 成果資料

(ワークショップ講演)

(1) ワークショップ「Understanding the Genome Stress Response as a Cellular Risk Management System」(オーガナイザー：古谷寛治、飯田哲史)

発表者：古谷寛治、井倉正枝、井倉毅

講演タイトル「オートファジー機構によるがん増殖におけるリン酸化シグナル経路の調節」

第 43 回日本分子生物学会年会

2020 年 12 月 3 日