

課題番号 30

寿命関連因子 TORC1 の染色体異常関与の分子機構の解析

[1] 組織

代表者：丑丸 敬史

(静岡大学理学部生物科学科)

対応者：田中 耕三

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：宅間 恒行

(静岡大学創造科学技術大学院)

研究費：物件費 13 万円

[2] 研究経過

分裂期における染色体の凝縮や分離などのダイナミックな変化は、姉妹染色分体を等しく配分するうえで不可欠である。従来の知見の多くは、分裂に適した環境下で培養した細胞を材料として得られており、栄養飢餓などのストレス条件下で分裂期がどのように進行するかについては未解明な点が少なくない。さらに、加齢に伴う染色体の不均衡分配が染色体異常につながることは知られているものの、その分子機構は十分に整理されていない。

栄養応答と老化制御の中核となるプロテインキナーゼ複合体 TORC1 (ヒトでは mTORC1) は、細胞機能の切り替えに深く関与する (Kapahi et al. 2010 Cell Metab ; Harrison et al. 2009 Nature)。代表者らは、TORC1 が DNA 損傷チェックポイントの維持に重要することを報告した (Moshed et al. 2020 BBRC ; Miyamoto et al. 2019 BBRC)。加えて、紡錘体形成チェックポイント (SAC) においても、TORC1 の不活性化が酵母とヒト細胞のいずれにおいても SAC による中期停止を解除し得ることを明らかにした (Yamada et al. 2022 iScience。東北大学加齢医学研究所・田中耕三教授との共同研究)。この停止解除は、ヒトではユビキチンリガー APC/C-Cdc20 に依存する一方で、酵母では異常な APC/C-Cdh1 経路 (Toda et al. 2012 Cell Div; Nagai and Ushimaru 2014 Cell Signal) の活性化が関与した。

研究代表者は、出芽酵母を用いて、分裂期の染色体接着と解離に中心的なコヒーシン複合体が、TORC1 不活性化によって広範に失われることを見いだした (未発表データ)。コヒーシンは Scc1、Smc1、Smc3、Scc3、Pds5 から構成され、リング状の複合体

として姉妹染色分体を保持する。分裂後期の開始時には、分裂期プロテアーゼセパラーゼ Esp1 が Scc1 を切断してリングを開き、姉妹染色分体の分離を可能にする (図 1)。このほか prophase における Scc1-Smc3 の結合解除が知られているが、今回観察されたような大規模なコヒーシンの分解は新規の現象であり、不適切な姉妹染色分体の解離を誘発することが示唆される。

以上を踏まえ、本共同研究では TORC1 不活性化後に挙動が変化するコヒーシン複合体について検証した。実験計画および解釈は、所内対応者である田中耕三教授と随時協議しつつ進めた。

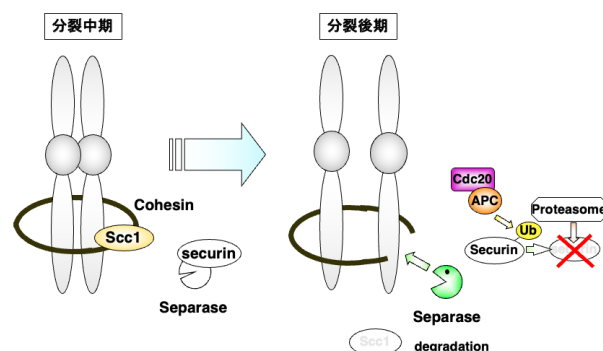


図1. コヒーシンサブユニットScc1は分裂後期開始時にセパラーゼにより切断を受け分解されることでコヒーシンが開裂し姉妹染色分体が分離可能になる。分裂中期にはセパラーゼはセクリンによる結合阻害を受けているが、分裂後期開始時にセクリンがユビキチン化され除去されることで活性化する。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

コヒーシンサブユニット Scc3 の分解がプロテアソーム変異株 *pre10-5001* では阻害されたことから、この分解がユビキチン・プロテアソーム系 (UPS) 依存的に起こることが示唆された。本年度は、さらにプロテアソーム阻害剤 (MG132 と bortezomib のカクテル) を用いて、Scc3 の分解がプロテアソーム依存的かどうか検証した。その結果、ラパマイシン処理後の Scc3 の減少 (分解) が、プロテアソーム阻害剤で顕著に抑制された (図 2)。このことは、TORC1 不活性化後に、Scc3 のプロテアソーム依存的な分解が促進されることを示す。さらに、Scc1 についても同様な結果を得た。以上のことから、TORC1 不活性化はコヒーシン複合体のプロテアソーム分解を促進

することが示された。

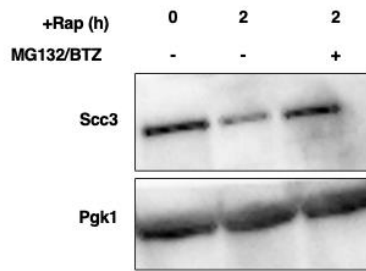


図2. ラパマイシン処理後のScc3の分解をプロテアーゼ阻害剤は抑制する。

以上、2022年度から本年度2025年度にかけて一連の共同研究を行った結果、以下のようなモデルを提唱する(図3、赤矢印)。TORC1不活性化は、未同定のE3リガーゼを活性化し、それによりScc1, Scc3, Smc1, Pds5のコヒーシンサブユニットのプロテアソーム分解が促進される(論文投稿中、成果資料1)。一方、この共同研究に先立つ共同研究で、TORC1不活性化が、APC/C-Cdh1によるsecurin分解を介した、separase依存的なScc1切断をもたらすことをすでに報告している(図3、黒矢印)(Yamada et al. 2022 iScience)。このように、多経路によるコヒーシン分解により、コヒーシンによる姉妹染色分体の繋ぎ止めに解除されてしまい、姉妹染色体の誤った分配が起こり、染色体異常が生じることが示された。

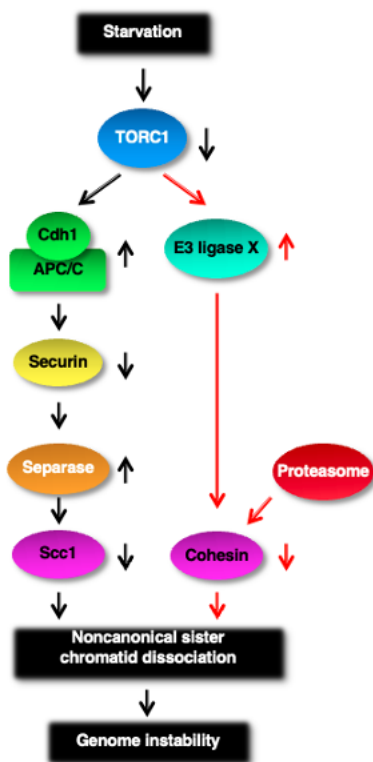


図3. TORC1不活性化は2つの経路でコヒーシン分解を誘導する。

卵子老化に伴い、Sgo2を介したコヒーシンの染色体脱落が促進され姉妹染色分体が解離する(Mihalas et al. 2024 Curr Biol)。申請者達の上記投稿論文は、これとは異なる機構で姉妹染色分体の解離が起こることを明らかにした。老化細胞でのmTORC1活性低下は(Wu et al. 2019, Front Cell Dev Biol)、染色体の不安定性増加させると考えられる。本共同研究はその機構に迫る有益な情報を提供する。

(3-2) 波及効果と発展性など

本研究は、栄養状態の低下や、抗がん剤・免疫抑制剤として広く使われるラパマイシンの処理が、通常の細胞において染色体の安定性を損なう可能性を改めて示すものであり、細胞の腫瘍化リスクを高める恐れがあることを示唆する。今後は、同様の現象がヒト細胞でも生じるかどうかを検証し、より普遍的な仕組みの理解につなげる予定である。

さらに本研究は、TORC1シグナルを中心軸として、ストレス応答・老化・染色体制御といった複数領域を結び付ける学際的アプローチの発展につながる可能性を持ち、今後は多様な関連分野との連携研究が期待される。

[4] 成果資料

代表者が責任著者の査読付き関連論文。1, 2に関しては、東北大学加齢医学研究所の田中耕三教授との共同研究。

1. C. Yamada, H. Goto, A. Futaguchi, K. Tanaka and T. Ushimaru* (2026) TORC1 inactivation induces a noncanonical, separase-independent cohesin degradation. (submitted).
2. C. Yamada, A. Morooka, S. Miyazaki, M. Nagai, S. Mase, K. Iemura, M.N. Tasnin, T. Takuma, S. Nakamura, S. Morshed, N. Koike, M.G. Mostofa, M.A. Rahman, T. Sharmin, H. Katsuta, K. Ohara, K. Tanaka, and T. Ushimaru* (2021) TORC1 inactivation promotes APC/C-dependent mitotic slippage in yeast and human cells. *iScience*. 25:103675
3. I. Miyamoto, R. Ozaki, K. Yamaguchi, K. Yamamoto, A. Kaneko and T. Ushimaru* (2019) TORC1 regulates the DNA damage checkpoint via checkpoint protein levels. *BBRC* 510, 629-35.
4. M. Nagai, and T. Ushimaru* (2014) Cdh1 is an antagonist of the spindle assembly checkpoint. *Cell Signal* 26, 2217-22.
5. K. Toda, K. Naito, S. Mase, M. Ueno, M. Uritani, A. Yamamoto and T. Ushimaru* (2012). APC/C-Cdh1-dependent anaphase and telophase progression during mitotic slippage. *Cell Div* 7, 4. 10.1186/1747-1028-7-4.