

足場依存性・非依存性細胞増殖の分子機構

Molecular Mechanism of Anchorage-Dependent and -Independent Proliferation

岡山 博人 (Hiroto Okayama)

東京大学・大学院医学系研究科・教授



研究の概要

造血細胞および癌細胞以外の細胞は、細胞間マトリックスタンパクあるいはそれに相当するものを足場にしなければ増殖できない。本研究は、この分子機構を明らかにすることによって、発癌の根底機構の解明を意図するものである。

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・医化学一般

キーワード：足場、細胞周期、細胞間マトリックスタンパク、Cdc6、APC/C^{Cdh1}

1. 研究開始当初の背景

癌細胞の普遍的性質の一つに、足場非依存性増殖能がある。生体の細胞の中で、造血細胞以外のすべての細胞は、細胞間マトリックスタンパクを足場にして増える。足場を除くと、これらの細胞はG1期に停止し、死に至る。しかし、癌化に伴い、細胞は足場なしに増える能力を獲得し、転移が可能となる。したがって、足場による細胞増殖制御の解明が、発癌機構の解明の鍵となる。

2. 研究の目的

足場に依存したS期開始の制御機構の全貌の解明を目指す。特に、足場消失時のG1期停止機構と足場シグナルの伝達経路ならびにそれによる停止制御の本体を分子レベルで明らかにする。

3. 研究の方法

細胞培養、分子生物学的解析、遺伝子操作を活用する。

4. これまでの成果

Cdc6 タンパクの分解制御を行なう足場シグナル伝達経路の解明

我々は以前に足場消失時のG1期停止機構のひとつが、染色体複製に必須なCdc6タンパクの分解であることを明らかにした。今回Cdc6の分解制御を行なう足場シグナル伝達経路の解明を大きく前進させた。以前に、遺伝性良性腫瘍である結節性硬化症の原因遺伝子であるTsc1/Tsc2からRheb、mTORと連なるシグナル伝達経路がCdc6の発現制御に深く関わっている可能性を指摘したが、このことの確証をラット胎性線維芽細胞およびTsc2変異線維芽細胞を用いた実験で得た。さらに、この経路によるCdc6分解制御機構の実態が明らかになった。以下がその実験根拠である。

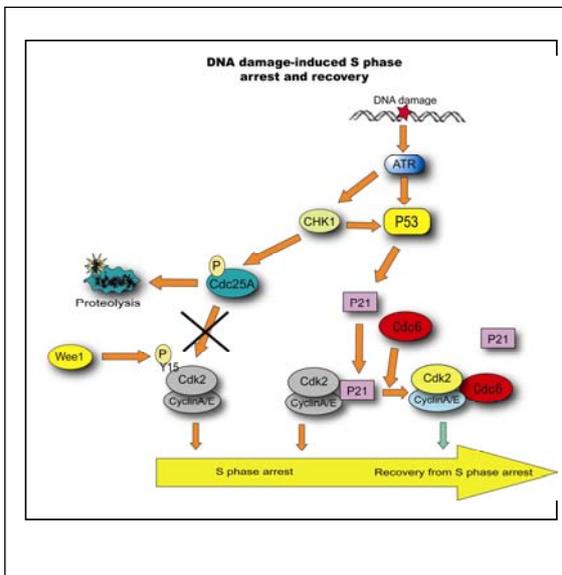
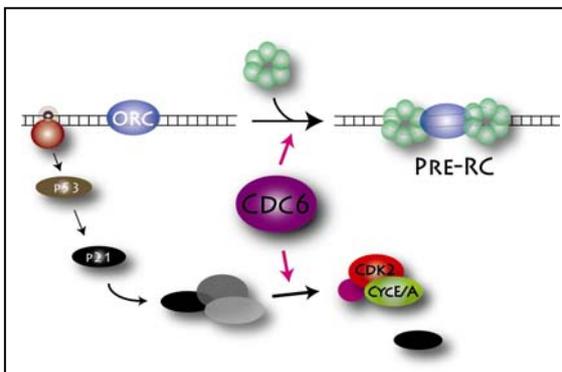
- 1) Tsc2の変異線維芽細胞では、足場をなくしてもCdc6は分解されない。しかしその状態でmTORを阻害すると、Cdc6の分解が起こる。
- 2) Tsc2の不活化変異を持つラット線維芽細胞では、足場が消失してもCdk4は活性化を持続し、その結果APC/C^{Cdh1}の阻害タンパクであるEmi1が発現したままになる。
- 3) 同レベルのEmi1をラット胎性線維芽細胞に強制発現させると、足場をなくしてもCdc6はかなり安定化する。
- 4) 代わりにTsc2が不活化された線維芽細胞にCdh1を過剰発現させると、mTORが活性化されているにもかかわらず、足場がないとCdc6は消失する。

Cdc6 タンパクの新しい生理機能の発見

Cdc6は、G1期でATPエネルギーを利用して

ゲノム DNA の複製に必須な複製前複合体の形成を行なう因子で、酵母から哺乳類までよく保存されている。

今回我々は、この因子が S 期開始および進行の制御に関わる全く新しい生理機能を有することを見出した。(下左図を参照)。すなわち、DNA 障害時に p53 依存性に発現誘導される p21 によって不活化された Cdk2 から ATP の加水分解エネルギーを利用して、結合している p21 を剥がし、活性化する機能を有することを *in vitro*, *in vivo* の実験で明らかにした。この機能には、Cdc6 中の ATPase ドメインとサイクリンと結合する Cy ドメインが必要である。さらに、培養細胞を用いた実験から、Cdc6 が DNA 損傷に伴う p21 依存性 S 期内チェックポイント機構の利用の可否の決定と DNA 傷害による S 期停止からの回復を制御していることを見出した。(下右図を参照)



5. 今後の計画

残りの2年間で、足場依存性ならびに非依存性細胞周期開始制御機構の全貌の解明を目指す。加えて、新たに浮かび上がってきているさらに2種類の Cdc6 タンパクの生理機能の解明を進める。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)
(研究代表者は太字、研究分担者は二重下線、
連携研究者は一重下線)

1. Cdc6 Determines Utilization of p21^{WAF1/CIP1}-dependent Damage Checkpoint in S Phase Cells. Kan, Q., Jinno, S., Kobayashi, K., Yamamoto, H., and **Okayama, H.** J. Biol. Chem. 283, 17864-17872 (2008).
2. ATP-dependent activation of p21^{WAF1/CIP1}-associated Cdk2 by Cdc6. Kan, Q., Jinno, S., Yamamoto, H., Kobayashi, K., and **Okayama, H.** 2008, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **105**, 4757-4762 (2008).
3. Chemical DNA damage activates p21^{WAF1/CIP1}-dependent intra-S checkpoint. Kan, Q., Jinno, S., Yamamoto, H., and **Okayama, H.** FEBS Lett. 30, 5879-5884 (2007).
4. Wilms' tumor 1-associating protein regulates G2_M transition through stabilization of cyclin A2 mRNA. Horiuchi, K., Umetani, M., Minami, T., **Okayama, H.**, Takada, S., Yamamoto, M., Aburatani, H., Reid, P. C., Housman, D. E., Hamakubo, T., and Kodama, T. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103, 17278-17283 (2006).
5. Gene delivery by aminofullerenes: Structure requirement for efficient transfection. Isobe, H., Nakanishi, W., Tomita, N., Jinno, S., **Okayama, H.**, and Nakamura, E. Chemistry-an Asian Journal 1, 168-175 (2006).
6. Nonviral gene delivery by aminofullerene. Isobe, H., Nakanishi, W., Tomita, N., Jinno S., **Okayama, H.** and Nakamura, E. Mol. Pharm. 3, 124-134 (2006).

ホームページ等

[http:// www.cellcycle.m.u-tokyo.ac.jp/](http://www.cellcycle.m.u-tokyo.ac.jp/)