



細胞診マーカーである核小体形成異常を引き起こす 新規分子メカニズムの発見

研究成果のポイント

- ・ 癌の細胞診の重要な項目の一つである核小体形成異常について新規分子メカニズムを解明。
- ・ 複数の癌で過剰発現している脱リン酸化酵素 PPM1D が核小体数増加に起因することを初めて発見。
- ・ 新規抗癌剤の開発に期待。

研究成果の概要

北海道大学大学院理学研究院化学部門の坂口和靖教授の研究グループは、癌の細胞診マーカーである核小体形成異常を引き起こす新規分子メカニズムを発見しました。核小体数やサイズの増加を含む核小体形成異常は、癌の細胞診の重要な項目の一つです。また、複数の癌で、脱リン酸化酵素 PPM1D の遺伝子増幅や過剰発現が報告されており、癌との関連が示唆されています。今回、PPM1D が核小体数やサイズを増加させる分子であることを初めて明らかにし、癌で見られる核小体形成異常の新規分子メカニズムの解明に成功しました。これらの発見は、PPM1D を標的とした新規抗癌剤の開発だけでなく、核小体形成異常に着目した新規抗癌剤の開発への応用も期待できる非常に画期的な発見です。

論文発表の概要

研究論文名: PPM1D controls nucleolar formation by up-regulating phosphorylation of nucleophosmin (PPM1Dは核小体タンパク質ヌクレオホスミンのリン酸化を正に調整することで核小体形成を制御している)

著者: 小境夕紀, 鎌田瑠泉, 古田純也, 清田雄平, 中馬吉郎, 坂口和靖 (北海道大学大学院理学研究院化学部門生物化学研究室)

公表雑誌: Scientific Reports

公表日: 日本時間(現地時間) 2016年9月13日(火)午後6時 (英国時間 2016年9月13日(火)午前10時) (オンライン公開)

研究成果の概要

(背景)

細胞がいろいろな刺激やストレスを受けた場合、タンパク質からタンパク質へとその情報が伝えられ、最終的に細胞は適切な応答をします。この情報を伝えるのに非常に重要な役割を担うのが、リン酸化と脱リン酸化¹⁾です(図1)。リン酸化と脱リン酸化は、タンパク質の構造の安定性や活性を劇的に変化させます。その結果、刺激やストレスの情報が次のタンパク質へ伝達されます。これを細胞内シグナル伝達といい、リン酸化酵素と脱リン酸化酵素により厳密に制御されています。癌では、この細胞内シグナル伝達の制御が不全を起こしていることが多いため、癌治療において、細胞内シグナル伝達の異常を正しく理解することは極めて重要です。これにより、癌治療のための新しい標的を明らかにすることができ、抗癌剤などの開発につながります。

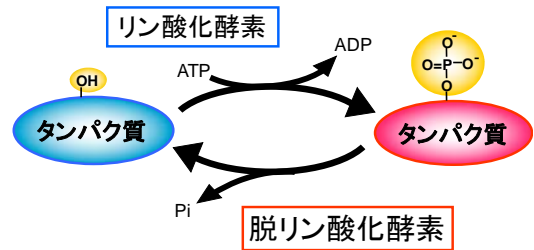


図1 リン酸化・脱リン酸化によるタンパク質機能の制御

脱リン酸化酵素である PPM1D は、乳癌などの多くの癌細胞でその遺伝子増幅やタンパク質の過剰発現が示されており、癌との関連が注目されているタンパク質です。現在までに、PPM1Dは癌抑制タンパク質 p53 を脱リン酸化し、機能を不活化させることが明らかになっていますが、それ以外の新規経路はほとんど明らかにされていませんでした。

細胞内の核²⁾に存在する核小体³⁾は、リボソーム⁴⁾合成場としてよく知られており、リボソーム DNA、リボソームタンパク質やヌクレオホスミン(NPM)を含む核小体タンパク質などから構成されています。古くから、癌細胞では、核小体の数やサイズの増加などの形成異常が知られており、現在の細胞診⁵⁾の重要な項目の一つです。このため、それらの異常を引き起こす詳細な分子メカニズムを明らかにすることは非常に重要です。

(研究成果)

坂口和靖教授の研究グループは、まず正常な p53 を持つが PPM1D の過剰発現が見られる乳癌由来の細胞株を用いて、PPM1D をノックダウン⁶⁾させたときに、核小体数が顕著に減少することを見出しました(図2)。さらに、開発した PPM1D 酵素活性阻害剤 SPI-001 により核小体数が減少することを示しました。

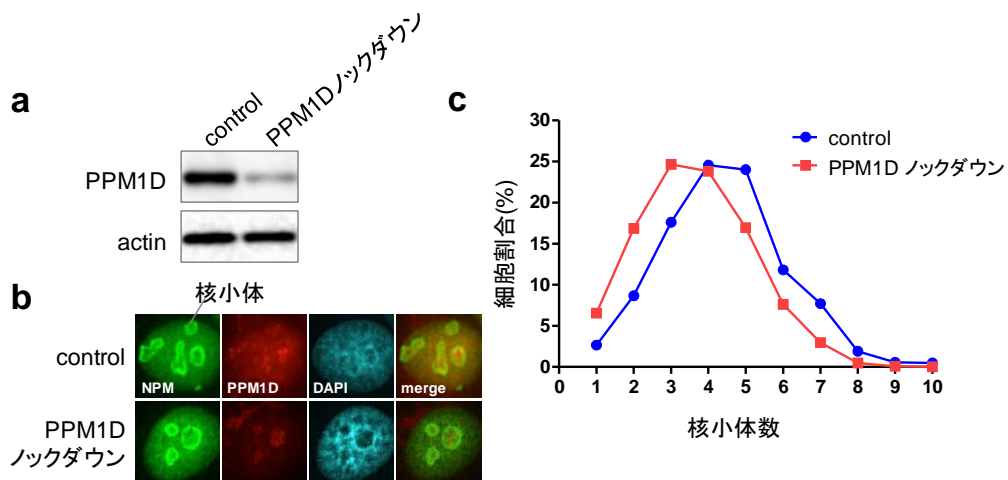


図2 PPM1D ノックダウンによる核小体数の減少

a) PPM1D のタンパク質量変化 b) 細胞画像 c) 核小体数変化

また、異なる量の PPM1D を発現させた p53 を持たない細胞株を作製し、核小体形成に及ぼす効果を解析すると、PPM1D の発現量に応じて核小体の数やサイズの増加が観察されました。さらに、PPM1D の脱リン酸化機能を持たない変異体では、核小体数の増加を示しませんでした。

これらのことから、PPM1D はその脱リン酸化機能を介して、核小体数を増加させること、p53 の遺伝子状態に関わらず PPM1D 過剰発現による核小体数の増加が観察されたことから、PPM1D-p53 非依存的なシグナルカスケード⁷⁾ の存在も示唆されました。

これらの現象を説明する分子メカニズムを明らかにするため、核小体形成に重要なタンパク質ヌクレオホスミンのリン酸化状態の解析を実施しました。その結果、PPM1D 過剰発現によりヌクレオホスミンの 2 か所のリン酸化部位 (Ser4, Thr199) が亢進されていることを初めて明らかにしました。また、ヌクレオホスミンの変異体を用いた実験により、これらのリン酸化が核小体数の増加に起因することを示しました。さらに、p53 遺伝子が正常なときは、PPM1D は p53 を介して CDC25C のタンパク質量を減少させること、p53 遺伝子が欠損しているときは、CDC25C を直接脱リン酸化し、活性化する可能性が示唆されました。このように、PPM1D 過剰発現は CDC25C を異なるメカニズムで活性化し、結果的に CDC25C-CDK1-PLK1 経路を促進しヌクレオホスミンのリン酸化を誘導していることを見出しました(図 3)。

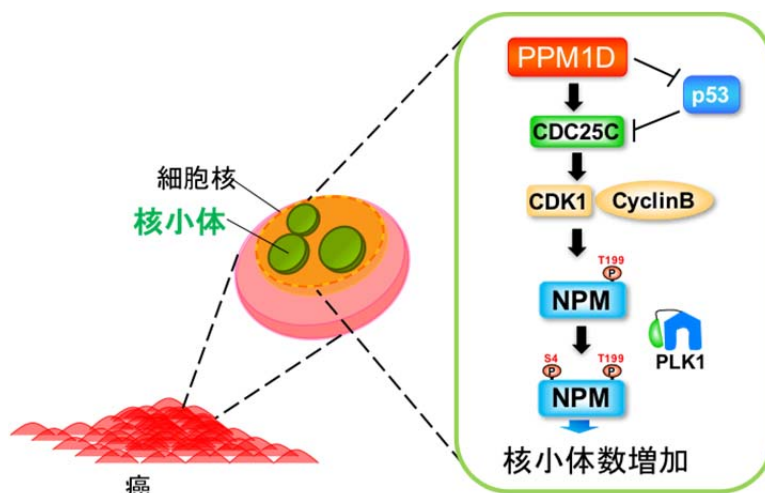


図 3 核小体形成異常を引き起こす新規分子メカニズム

(今後への期待)

今回の成果により、細胞診マーカーである核小体形成異常の新規分子メカニズムが明らかとなりました。また、癌原因遺伝子産物であることが示唆されている PPM1D は、核小体タンパク質ヌクレオホスミンのリン酸化を引き起こし、核小体数の増加を誘導することを発見しました。これらの成果よりは、PPM1D を標的とした新規抗癌剤の開発だけでなく、核小体形成異常に着目した新規抗癌剤の開発への展開も期待できます。

本研究は、文部科学省の基盤研究(B)(No. 24310152)及び基盤研究(C)の一環として行われました。また、日本学術振興会の特別研究員制度(No. 25-3632)により支援されています。

お問い合わせ先

所属・職・氏名: 北海道大学大学院理学研究院化学部門生物化学研究室

教授 坂口 和靖(さかぐち かずやす)

TEL: 011-706-2698 FAX: 011-706-4683 E-mail: kazuyasu@sci.hokudai.ac.jp

ホームページ: <http://wwwchem.sci.hokudai.ac.jp/~biochem/index.html>

[用語解説]

1)リン酸化・脱リン酸化

タンパク質にリン酸が付加される化学反応をリン酸化と呼び、そのリン酸を除去する反応を脱リン酸化と呼ぶ。タンパク質では、代表的な翻訳後修飾の一つで、リン酸化酵素によってタンパク質内のアミノ酸であるセリン、スレオニン、チロシンにリン酸が付加され、脱リン酸化酵素によってそのリン酸基が除去される。タンパク質のリン酸化・脱リン酸化のような可逆的な反応を介して、タンパク質機能のスイッチをオン、オフする。

2)核

細胞内に存在する細胞小器官で、遺伝子 DNA をもち、遺伝情報の保存と伝達を行う。

3)核小体

核内に存在し、リボソーム合成場として機能する場所。

4)リボソーム

RNA の情報をもとにタンパク質を合成する細胞内構造体。

5)細胞診

癌の検査方法の一種。細胞を顕微鏡で観察し、異常な細胞を検出することにより病変の有無や悪性度を判断する。癌の細胞診の場合、核の肥大化や核小体の肥大化・数の増加などにより診断する。

6)ノックダウン

遺伝子 DNA そのものは破壊せず、特定のタンパク質発現を抑制する方法。

7)シグナルカスケード

最初の刺激を受け取った因子が、次々とシグナルを受け渡し、最終的に大きな反応を引き起こす反応の連鎖のこと。