

## 2021年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	<b>破綻したリン酸化シグナルによるがん細胞分裂の支持機構解明</b>
キーワード	①細胞分裂、②がん化、③リン酸化シグナル

### 研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏名	ユキ リュウザブロウ 幸 龍三郎
配付時の所属先・職位等 (令和3年4月1日現在)	京都薬科大学 薬学部 助教
現在の所属先・職位等 (令和4年7月1日現在)	京都薬科大学 薬学部 助教
プロフィール	京都薬科大学 生化学分野・助教、博士(薬学)。2012年千葉大学薬学部卒業(6年制課程1期生)、2016年千葉大学大学院 薬学研究院博士課程修了、同大学 医学研究院博士研究員、日本学術振興会特別研究員(PD)を経て2019年より現職。

### 1. 研究の概要

日本で死亡原因第一位の疾患であるがんの治療成績は、分子標的薬の登場などによって大きく進歩したものの、がんの根治には至っておらず、新たな治療法の創出が急務である。がんの化学療法において、がん細胞の分裂過程を標的とした抗がん剤は多数臨床応用されており、代表的な分裂標的薬である微小管障害薬は、がん細胞を分裂期に停止させることで最終的に細胞死を誘導する。しかし、多くのがん細胞では分裂期停止機構が弱まっており、染色体不安定性によるがんの進展や抗がん剤への抵抗性を示すなど、がん細胞には有利に働くことになる。このようながん細胞の生存戦略に繋がる分裂機構の適応変化を背景に、正常細胞とは異なるがん細胞における分裂機構の解明が、有効な抗がん剤開発につながると考えられる。

### 2. 研究の動機、目的

がん細胞に特徴的なリン酸化シグナル伝達の異常は、がんの進展に寄与する。申請者らは、破綻したリン酸化シグナルが、がん細胞の異常な分裂を推し進めることを見出しており、受容体型チロシンキナーゼ ALK は染色体の赤道面への移動と紡錘体の配向性を調節することでがん細胞分裂の進行を支持することを見出した。更に、非小細胞肺癌のドライバー変異によって生じる EML4-ALK 融合型チロシンキナーゼもまたがん細胞の分裂・増殖に重要であることを明らかにした(Munira et al., *Cancers*, 2020)。また、インスリン様成長因子1受容体 IGF1R やエフリン受容体 EphA2 といった受容体型キナーゼも、がん細胞の分裂進行に重要であることを見出した(Yamagishi et al., *Int. J. Mol. Sci.*, 2020; Kaibori et al., *Exp. Cell Res.*, 2020)。更に、がん遺伝子 v-Src キナーゼは、染色体分配異常や分裂期停止機構の減弱など分裂異常を誘導することでゲノムの多様性をもたらし、足場非依存的ながん細胞増殖へと導くこと(Horiuchi et al., *J. Biol. Chem.*, 2018; Honda et al., *Sci. Rep.*, 2018)、微小管障害薬の感受性を低下させるとともに、染色体異常によるがん化・がん悪性化へと帰結する可能性がある4倍体細胞を誘導することを明らかにした(Yuki et al., *J. Cell. Mol. Med.*, 2021)。これらの結果から、これまで分かっていたがん細胞に特徴的なリン酸化シグナルが、がん細胞の異常な分裂進行を支持し、がんの進展を導くことが示

唆されている。しかし、その詳細な分子機序は明らかになっていない。

我々は、リン酸化シグナルによるがん細胞の分裂を担う新たな分子機序を明らかにするために、質量分析により分裂期特異的にリン酸化される基質分子の探索を行った。その結果、分裂の進行に伴ってダイナミックなリン酸化変動が存在するとともに、細胞分裂への関与が報告されていない1924種類のリン酸化分子が検出され、更なるリン酸化シグナルの重要性が示唆された。そこで本研究では、破綻したリン酸化シグナルが、がん細胞の分裂を支持していると考え、リン酸化基質候補分子の中からがん細胞特異的に分裂を担う分子を同定し、どのような機序で分裂に関わり、リン酸化修飾によって機能調節され、がんの進展をもたらすのかを解析する。既に、予備的なsiRNAスクリーニングを始めており、分裂進行に関わる新たな分子をいくつか見出している。本研究の結果から、がん細胞に特有の分裂機構が明らかになることで、がん細胞の分裂特異的ながん創薬に繋がるのが期待される。

### 3. 研究の結果

同定したリン酸化分子を標的とした siRNA を用いて、ハイコンテントイメージングスクリーニングを行った。その結果、いくつかの分子のノックダウンにおいて、分裂期中期の延長とともに、分裂軸配向性異常や染色体の整列異常が生じた。更なる siRNA の検討によって、三種類、新たに分裂制御に関わる候補分子を同定した。そのうちの一つ Protein-X は、各種がん細胞に特異的に発現する分子であることが分かった。

Protein-X のノックダウンは、その分子の活性低下とともに、増殖を低下させ、顕著な分裂時間の延長をもたらす。Protein-X の阻害剤は、膀胱癌に対する臨床研究が進んでいることから、細胞分裂に対する影響を調べた。驚くべきこと、阻害剤の処理は Protein-X の活性低下と増殖抑制をもたらす一方で、分裂に対する影響は観察されなかった。この結果から、Protein-X は、その活性非依存的に分裂進行に関わる可能性が示唆された。現在、不活性化変異体を用いた詳細な検討を行う。今後、各種分裂標的薬との併用を行うことで、がん細胞の分裂期を標的とした新規介入法の検討を行っていく予定である。

### 4. 研究者としてのこれからの展望

分裂進行を担う分子の同定を目指した siRNA スクリーニングの結果、様々ながん細胞で高発現が見られる分子 Protein-X を同定することに成功した。したがって、正常細胞と異なり、がん細胞では Protein-X に適応した分裂制御機構が存在すると考えられる。特に、Protein-X の減少は分裂軸配向性異常を呈することから、紡錘体軸の制御に Protein-X が関わると推測される。一方、Protein-X はファミリー分子が存在しており、正常細胞では別の分子がその機能を担っていると考えられる。

細胞分裂研究は、治療学からはほど遠い基礎研究ではあるものの、我々を構成する細胞にとって必須な過程であり、重要な学問の一つである。例えば、がん細胞の増殖過程であり、分裂標的薬が臨床で使用されている。また、我々の組織を構成する幹細胞では不均等な細胞分裂を生じることで、自己複製と分化の両立を行っている。細胞分裂機構の詳細な分子機構や疾患において介入法の検討が進むことで、細胞分裂に根ざした新たな治療法の創出に繋がると期待している。

### 5. 支援者（寄付企業等や社会一般）等へのメッセージ

がん細胞特異的な分裂機構の探索を目的とした本研究に対して、ご支援いただきましたこと、心より御礼申し上げます。ご支援により、がん細胞の分裂を支持するような分子機構を同定することができました。今後、治療への応用に向けて更なる研究を進めていきたいと存じます。