

平成 30 年 4 月 27 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K14604

研究課題名(和文)紡錘体上で機能するモーター分子の発現異常による染色体不安定性の成立の解析

研究課題名(英文)Induction of chromosomal instability by aberrant expression of motor proteins working on the spindle

研究代表者

田中 耕三(Tanaka, Kozo)

東北大学・加齢医学研究所・教授

研究者番号：00304452

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：ほとんどのがんで見られる染色体不安定性は、細胞の生存を許容する範囲の異常によって起こると考えられる。本研究では、そのような軽度の異常の原因として、紡錘体上で染色体の動態を制御するモーター分子に着目し、その発現異常と染色体不安定性との関連を明らかにすることを目的とした。紡錘体上のモーター関連分子の発現を抑制したところ、染色体が紡錘体中央に整列する時間が有意に延長すると共に、染色体不安定性がひきおこされた。また、整列が遅れた染色体では、動原体と微小管の結合異常が増加しており、分配異常を起こしやすいことが明らかになった。これらのことから、染色体整列の遅れが染色体不安定性につながることを示唆された。

研究成果の概要(英文)：Chromosomal instability, which is found in most cancer cells, is supposedly caused by defects permissive for cell survival. As causes of such mild defects, we focused on motor proteins that regulates chromosome dynamics on the spindle, and investigated the relationship between dysregulated expression of these proteins and chromosomal instability. When we reduced the expression of motor-related proteins on the spindle, time required to align chromosomes to the spindle equator was elongated, and chromosomal instability was induced. We also found that the late-aligning chromosomes are prone to show abnormal kinetochore-microtubule attachment as well as chromosome missegregation. These results suggest that delay in chromosome alignment causes chromosomal instability.

研究分野：細胞生物学・分子腫瘍学

キーワード：癌 細胞・組織 染色体不安定性

### 1. 研究開始当初の背景

がん細胞で高頻度に認められる染色体不安定性は、細胞の生存を許容する範囲の異常によって起こると考えられる。またがんでは染色体分配に関する遺伝子の変異はまれであり、多くは発現量の異常であることがわかっている。応募者は染色体が分配到先立って紡錘体中央に整列する機構について解析を行い、CENP-E と Kid という2つのモーター分子が微小管側面に結合した染色体の移動に協調してはたらいっていることを明らかにした (*Nat Commun.*, 2015)。この研究の過程で、Kid だけを発現抑制しても染色体整列や分裂期の進行には大きな影響は見られないものの、染色体分配異常の増加や染色体数の変動といった染色体不安定性の徴候が見られた (未発表)。紡錘体上には多種類のモーター分子が存在し、これらは何らかの形で染色体の動態に関与していると考えられるが、発現抑制しても分裂期進行に大きな影響がないものが多い。そこで細胞の生存を許容する範囲の異常として、紡錘体上で染色体の動態を制御するモーター分子の発現異常に着目し、その染色体不安定性およびがん化との関連を明らかにするという着想に至った。

### 2. 研究の目的

がんの大部分では染色体の異常が認められ、これは染色体の不均等分配が高頻度に起こること (染色体不安定性) に起因する。しかし染色体分配の重度の異常は致死的であるため、がんに関連する染色体不安定性は細胞の生存を許容する範囲の異常によって起こると考えられる。本研究は、紡錘体上で染色体の動態を制御するモーター分子に着目し、その発現異常と染色体不安定性およびがん化との関連を明らかにすることを目的とする。そのために紡錘体上のモーター分子の発現を変化させた際の染色体分配の異常を、特定の染色体の動態を追跡する手法などにより解析する。

### 3. 研究の方法

#### (1) 紡錘体上で機能するモーター分子の染色体分配への関与の解析

紡錘体上に存在するモーター分子を発現抑制あるいは過剰発現し、分裂期の細胞における紡錘体中央への染色体整列の異常および整列に要する時間を調べる。異常が見られた場合は、正確な染色体分配に重要な動原体と微小管の結合を調べる。

#### (2) 紡錘体上で機能するモーター分子の異常による染色体不安定性の出現の解析

(1)で検討したモーター分子を発現抑制あるいは過剰発現する条件で、染色体不安定性の出現を a) 分裂後期における lagging chromosome の出現頻度、b) 間期における微小核の出現頻度、c) chromosome spread による染色体数のカウント、により検討する。染色体不安定性が見られた場合には、染色体の不均

等分配がどのようにして起こるのかをライブセルイメージングで観察する。

#### (3) 紡錘体上で機能するモーター分子の異常と発がんとの関連の解析

(1)で検討したモーター分子を発現抑制あるいは過剰発現する条件で、前がん状態の細胞に見られる細胞老化マーカーの発現を調べる。また細胞老化の過程の細胞における、紡錘体上で機能するモーター分子の発現を検討する。

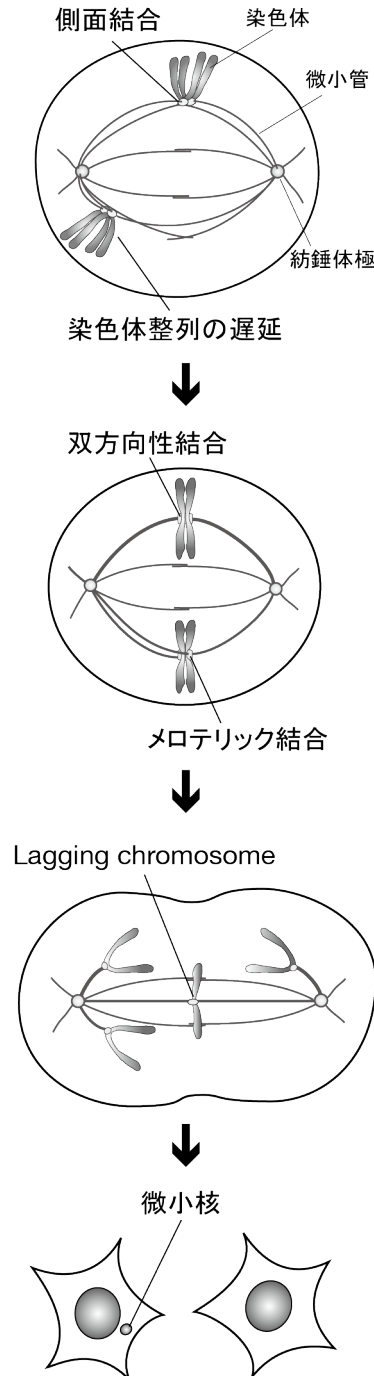


図1 染色体整列の遅延から染色体の分配異常が生じるモデル

### 4. 研究成果

#### (1) 紡錘体上で機能するモーター分子の染色体分配への関与の解析

紡錘体上に存在するモーター分子(MCAK, KIF4A, HSET, Kid)およびダイニン関連分子(Zw10, p150)を発現抑制し、染色体整列の異常を調べた。その結果、いずれにおいても整列異常自体は顕著ではなかったが、整列に要する時間が有意に延長することがわかった。同様の知見がMCAK, HSET, Kidを過剰発現させた場合にも得られた。整列が遅れた染色体での動原体と微小管の結合を調べたところ、不適切な結合が増加していることが明らかになった。

(2) 紡錘体上で機能するモーター分子の異常による染色体不安定性の出現の解析

(1)で検討したモーター分子・ダイニン関連分子を発現抑制あるいは過剰発現する条件で、染色体不安定性の出現を検討した。その結果、lagging chromosome・微小核を持つ細胞が有意に増加し、また染色体数が異常な細胞の増加が認められたことから、染色体不安定性が出現することがわかった。これをふまえ、整列が遅れた染色体をライブセルイメージングで観察した。その結果、このような染色体は、すでに整列している染色体と比較して、分裂異常を起こしやすい傾向が見られた。また染色体分配異常を起こした細胞では、起こさなかった細胞と比較して、染色体整列に要する時間が有意に延長していた。これらの結果から、整列が遅れた染色体では動原体と微小管の不適切な結合が起こりやすく、その結果染色体不安定性が生じるというモデルが考えられた(図1)。

(3) 紡錘体上で機能するモーター分子の異常と発がんとの関連の解析

紡錘体上のモーター分子の発現を抑制した細胞で、細胞老化マーカーの上昇が見られた。また正常線維芽細胞の複製老化にともなって、紡錘体上のモーター分子、特にキネシン分子の発現が減少する傾向があることがわかった。

〔雑誌論文〕(計 6件)

1. Itoh G\*, Ikeda M\* (\*equally contributors), Iemura K, Amin MA, Kurimiya S, Tanaka M, Mizuno N, Osakada H, Haraguchi T, Tanaka K. Lateral attachment of kinetochores to microtubules is enriched in prometaphase rosette and facilitates chromosome alignment and bi-orientation establishment. *Sci Rep* (2018) 8, 3888. 査読有. DOI: 10.1038/s41598-018-22164-5.
2. Li J, Shima H, Nishizawa H, Ikeda M, Brydun A, Matsumoto M, Kato H, Saiki Y, Liu L, Watanabe-Matsui M, Iemura K, Tanaka K, Shiraki T, Igarashi K. Phosphorylation of BACH1 switches its function from transcription factor to mitotic chromosome regulator and promotes its interaction with HMMR. *Biochem J* (2018) 475, 981-1002. 査読有.

DOI: 10.1042/BCJ20170520.

3. Ikeda M, Tanaka K. Plk1 bound to Bub1 contributes to spindle assembly checkpoint activity during mitosis. *Sci Rep* (2017) 7, 8794. 査読有. DOI: 10.1038/s41598-017-09114-3.
4. 田中耕三. 染色体不安定性とがん. **血液内科** (2017) 75, 117-122. 査読無. <http://www.kahyo.com/item/KS201707-751>
5. Tanaka K, Hirota T. Chromosomal instability: A common feature and a therapeutic target of cancer. *Biochim Biophys Acta* (2016) 1866, 64-75. 査読有. DOI: 10.1016/j.bbcan.2016.06.002.
6. Takahashi M, Tanaka K, Wakai T, Hirota T. Phosphoproteomic analysis of human mitotic chromosomes identified a chromokinesin KIF4A. *Biomed Res* (2016) 37, 161-165. 査読有. DOI: 10.2220/biomedres.37.161.

〔学会発表〕(計 20件)

1. Manuel Campos, 家村顕自, 田中耕三. 染色体オシレーションと異常な結合の修正を記述する動原体-微小管結合の数学的モデル. 2017年度生命科学系合同年次大会(第40回日本分子生物学会年会) 2017年12月6日~12月9日 神戸ポートアイランド(神戸市・兵庫県)
2. Kenji Iemura, Kinue Kuniyasu, Manuel Campos, Guan Chen, Kozo Tanaka. Chromosomal instability in cancer and aging. 第12回研究所ネットワーク国際シンポジウム 2017年11月28日~11月29日 東京大学(港区・東京都)
3. Kenji Iemura, Kozo Tanaka. A novel mechanism for maintenance of chromosomal stability. 第76回日本癌学会学術総会 2017年9月28日~9月30日 パシフィコ横浜(横浜市・神奈川県)
4. 國安絹枝, 家村顕自, 田中耕三. 染色体整列の時空間的な遅延が染色体不安定性を引き起こす. 第69回日本細胞生物学会大会 2017年6月13日~6月15日 仙台国際センター(仙台市・宮城県)
5. 池田真教, 田中耕三. 紡錘体チェックポイント活性の維持に関わる分子基盤の解明. 第69回日本細胞生物学会大会 2017年6月13日~15日 仙台国際センター(仙台市・宮城県)
6. 家村顕自, 田中耕三. Aurora Aは正常細胞における染色体均等分配システムの堅牢性を保証する. 第69回日本細胞生物学会大会 2017年6月13日~6月15日 仙台国際センター(仙台市・宮城県)
7. Kenji Iemura, Kozo Tanaka. Chromosome oscillation ensures faithful chromosome segregation through Hecl1 phosphorylation by Aurora A. EMBO Workshop "Dynamic

- Kinetochore” 2017年6月6日～6月9日 エジンバラ大学（エジンバラ，英国）
8. 池田真教，三上嘉子，藤田拓樹，古寺哲幸，安藤敏夫，田中耕三. 細胞周期制御因子CAMPの天然変性タンパク質としての制御基盤の解明. 日本生化学会東北支部第83回例会・シンポジウム 2017年5月27日 東北大学さくらホール（仙台市・宮城県）
  9. Kozo Tanaka. Chromosomal instability in aging and cancer. Tohoku Forum for Creativity Thematic Program 2017 Aging Science: from Molecules to Society Topic1 “Aging Biology” 2017年5月10日～5月12日 東北大学（仙台市，宮城県）
  10. Kozo Tanaka. Alterations in chromosome dynamics impair the fidelity of chromosome transmission. International Workshop on Quantitative Biology 2017 2017年4月14日～4月15日 慶応大学（横浜市，神奈川県）
  11. Kinue Kuniyasu, Kenji Iemura, Kozo Tanaka. Defect in efficient chromosome alignment cause chromosomal instability The 2017 Japan-NIH Joint Symposium 2017年2月15日～2月17日 Seiry Auditorium, Tohoku University（Sendai・Miyagi）
  12. Kozo Tanaka. Impact of chromosome dynamics on the fidelity of chromosome transmission. 国立遺伝学研究所バイオロジカルシンポジウム 2017年1月25日 国立遺伝学研究所（三島市・静岡県）
  13. 國安絹枝，家村顕自，田中耕三. 染色体整列の効率性の低下が染色体不安定性を引き起こす. 第34回染色体ワークショップ 第15回核ダイナミクス研究会 2017年1月11日～1月13日 かずさアカデミアホール（木更津市・千葉県）
  14. Kinue Kuniyasu, Kenji Iemura, Kozo Tanaka. Defect in efficient chromosome alignment cause chromosome instability. 第39回日本分子生物学会年会 2016年11月30日～12月2日 パシフィコ横浜（横浜市・神奈川県）
  15. 國安絹枝，家村顕自，田中耕三. 効率的な染色体整列の染色体安定性への関与. 第3回加齢研リトリート 2016年11月11日 秋保リゾートホテルクレセント（仙台市・宮城県）
  16. Kozo Tanaka. Chromosomal instability caused by defective chromosome dynamics. 2016 International Conference of the Korean Society for Molecular and Cellular Biology 2016年10月12日～10月14日 COEX（ソウル・韓国）
  17. 田中耕三. 染色体不安定性とがん. 第75回日本癌学会学術総会 2016年10月6日～10月8日 パシフィコ横浜（横浜市・神奈川県）
  18. Kozo Tanaka. Chromosomal instability caused by defective chromosome dynamics. 第75回日本癌学会学術総会. 2016年10月6日～10月8日 パシフィコ横浜（横浜市・神奈川県）
  19. 國安絹枝，家村顕自，田中耕三. 効率的な染色体整列の染色体安定性への関与. 第89回日本生化学会大会 2016年9月25日～9月27日 仙台国際センター/東北大学川内北キャンパス（仙台市・宮城県）
  20. 國安絹枝，家村顕自，田中耕三. 効率的な染色体整列の染色体安定性への関与. 第2回 研究所若手アンサンブルワークショップ 2016年7月12日～7月13日 東北大学金属材料研究所（仙台市・宮城県）
- 〔その他〕  
ホームページ等  
田中耕三研究室 Department of Molecular Oncology  
<http://www2.idac.tohoku.ac.jp/dep/molonc/index.html>  
東北大学加齢医学研究所 分子腫瘍学研究分野  
[http://www.idac.tohoku.ac.jp/ja/activities/research/molecular\\_oncology/index.html](http://www.idac.tohoku.ac.jp/ja/activities/research/molecular_oncology/index.html)
6. 研究組織
- (1)研究代表者  
田中 耕三（TANAKA, Kozo）  
東北大学・加齢医学研究所・教授  
研究者番号：00304452
  - (2)研究分担者  
なし
  - (3)連携研究者  
池田 真教（IKEDA, Masanori）  
東北大学・加齢医学研究所・教育研究支援者  
研究者番号：80645010