

令和 3 年 5 月 6 日現在

機関番号：32660

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06632

研究課題名(和文)染色体分配不安定性とその制御メカニズムにおけるAKTの役割

研究課題名(英文) Possible role of AKT in chromosome segregation, instability and aneuploidy

研究代表者

野口 耕司 (Noguchi, Kohji)

東京理科大学・薬学部薬学科・教授

研究者番号：80291136

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では、染色体分配不安定性とその制御メカニズムにおけるがん関連キナーゼAKTの役割を明らかにすることを目的とした。細胞分裂中期において、AKT1とAKT3はセントラルスピンドルのAurora kinaseの一部とオーバーラップするような局在を示すこと、AKT阻害剤を処理すると染色体分裂に働くチューブリンスピンドルが多極化することを見出した。さらに、AKTの新規標的分子候補としてKIF23を見出した。AKTによるKIF23のリン酸化は、KIF23の細胞分裂時のミッドボディへの局在に関与することが明らかになり、細胞分裂メカニズムにAKT3が機能することが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞分裂不全などで生じた核の多倍数化細胞や異数体性の細胞は最終的に細胞死を起こすが、なぜ異数体性がん細胞が無限増殖できるのかという点については未解明である。本研究で、異数体性がん細胞における染色体不安定性の動的制御機構においてがん関連キナーゼのAKTが関与するメカニズムが解明できれば、新しいがん治療戦略の開発にも貢献できると期待される。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to clarify the role of cancer-related kinase AKT in chromosome instability and its regulatory mechanism. We found that in metaphase, AKT1 and AKT3 were localized to partially overlap Aurora kinase in the central spindle, and that treatment with AKT inhibitors multipolarized the tubulin spindle that acts on chromosome division. Furthermore, we found KIF23 as a new target molecule candidate for AKT. Phosphorylation of KIF23 by AKT was found to be involved in the localization of KIF23 to the midbody during cell division, demonstrating that AKT3 functions in the cell division mechanism.

研究分野：生物系薬学

キーワード：AKT 細胞分裂 キナーゼ

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

無秩序な細胞増殖を続けるがん細胞ではゲノム構造異常や染色体数の増大、核異数体化がしばしば認められるが、がん細胞の悪性化と染色体数増加の関連については100年以上前からドイツの染色体研究者のテオドル・ボヴェリにより指摘されてきた。一方、細胞分裂不全などで生じた核の多倍数化細胞や異数体性の細胞では、しばしば増殖抑制や細胞老化、細胞死が誘導され、染色体数の増大が必ずしも細胞増殖に有利にはならないという「Aneuploidy Paradox」と呼ばれる現象も広く知られている。細胞における多数の染色体数の増大は、細胞分裂時の異常、例えば細胞分裂チェックポイントの異常、多極化スピンドル (multipolar spindle) による染色体分配遅延、コヒージョン機能異常による姉妹染色体分離異常などが主な原因と思われてきたが、通常は、そのような異常な細部分裂の後は細胞死が誘導される。一方、なぜ異数体性がん細胞が無限増殖できるのかという点については解明されていない。従って、異数体性がん細胞の細胞死回避メカニズム、増殖メカニズムの解明は、がんの本質解明に貢献すると期待されてきた。

### 2. 研究の目的

申請者は、細胞分裂阻害剤存在下でも生存、増殖できる核異数体性細胞を薬剤耐性細胞として樹立してその原因を探索する中で、がん関連セリン・スレオニンキナーゼ AKT3 が、この薬剤耐性の核異数体性細胞に過剰発現していることを見出してきた。

本研究課題では、染色体分配不安定性とその制御メカニズムにおける AKT の役割を明らかにすることを目的とし、異数体性がん細胞の遺伝的不安定性や染色体分配制御機構と薬剤耐性獲得との関連の実体を解明を目指す。この研究成果は、がん細胞の特性である異数体性とがん関連キナーゼとの機能的関連を初めて明らかにするものと期待される。

### 3. 研究の方法

#### (1) 細胞分裂期における AKT の時空間局在変動の解析

細胞分裂期は、前期、前中期、中期、後期、終期、細胞質分裂期に区分する事が出来るが、固定化細胞での予備実験では、中心体に AKT が局在しているかどうか不明であった。そこで、AKT 阻害剤処理で多極化スピンドルを誘発する数種類のがん細胞 (未発表データ) において、AKT1~3 の局在を共焦点レーザー顕微鏡で検討し、イメージングデータを取得する。これまで確認出来なかった染色体分配メカニズムの制御に AKT がどのように挙動するのか解析する。

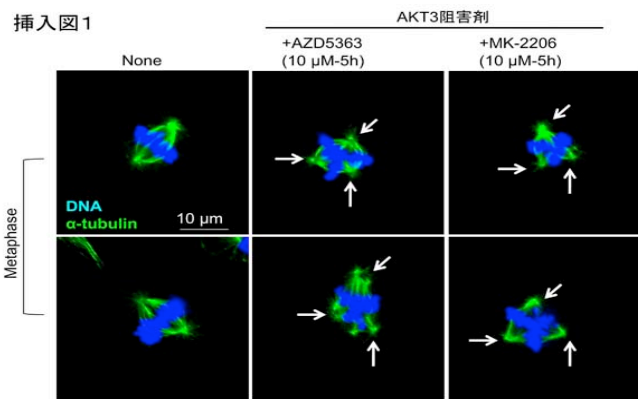
#### (2) 細胞分裂期における AKT の新規リン酸化ターゲットの探索同定

細胞分裂期 AKT が選択的に作用する新規標的候補分子を探索する。さらに細胞分裂時にダイナミックな変化を起こすチューブリンやアクチン、キネシンモーター蛋白質のに AKT がどのように関与するか検討する。これらの解析が進め、AKT の機能を阻害するとなぜ多極化スピンドルが生じて染色体分配の不安定性が誘導されるのか、そのメカニズム解明を目指す。

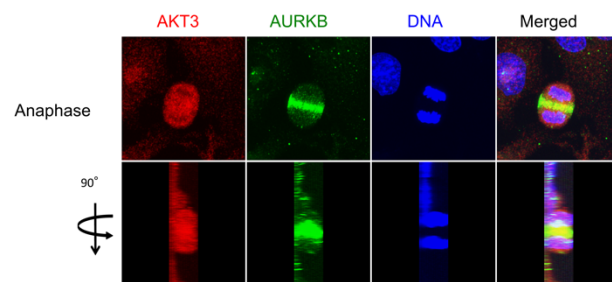
### 4. 研究成果

本研究課題では、染色体分配不安定性とその制御メカニズムにおけるAKTの役割を明らかにすることを目的とし、異数体性がん細胞の遺伝的不安定性や染色体分配制御機構と薬剤耐性獲得能に関与する分子群の機能解明を試みた。

AKT阻害剤処理をすると、細胞分裂時のチューブリンのスピンドルが多極化する異常を示すことから、AKTが染色体分裂機構のスピンドル形成に関わる可能性が示唆されたため（右挿入図1）、共焦点レーザー顕微鏡を用いてAKT1-3の細胞分裂期における局在を詳細に解析したところ、分裂中期において、AKT1とAKT3はセントラルスピンドルのAurora kinaseに一部オーバーラップするような局在を見出した（右写真）。したがって、従来、AKTは細胞増殖を促進するシグナリングに関係し、DNA合成、細胞生存にかかわると理解されてきた機能以外にも、細胞分裂期に何かしら重要な働きを持つことが示唆された。



AKT3 colocalizes with Aurora kinase at midzone during mitosis



さらに、実際にAKTが機能するための標的分子を探索し、その結果、実際にAKTで制御されうる新規標的分子候補としてKIF23を見出した。AKTによるKIF23のリン酸化は、KIF23の細胞分裂時のミッドボディへの局在に関与することが明らかになり、細胞分裂メカニズムにAKT3が機能することが示された。これらのことから、がん細胞では、AKT3を過剰発現することで、細胞分裂異常による負の影響を回避して増殖を続けている可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takahashi C, Kondo S, Sadaoka K, Ishizuka S, Noguchi K, Kato Y, Sugimoto Y	4. 巻 530
2. 論文標題 Effect of TNIK upregulation on JQ1-resistant human colorectal cancer HCT116 cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications.	6. 最初と最後の頁 230-234
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.06.136	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kamata S, Hashiyama R, Hana-Ika H, Ohkubo I, Saito R, Honda A, Anan Y, Akahoshi N, Noguchi K, Kanda Y, Ishii I	4. 巻 69
2. 論文標題 Cytotoxicity comparison of 35 developmental neurotoxicants in human induced pluripotent stem cells (iPSC), iPSC-derived neural progenitor cells, and transformed cell lines.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Toxicology In vitro	6. 最初と最後の頁 104999
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tiv.2020.104999	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nonomiya Y, Noguchi K, Katayama K, Sugimoto Y	4. 巻 510
2. 論文標題 Novel pharmacological effects of poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor rucaparib on the lactate dehydrogenase pathway	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communicaions	6. 最初と最後の頁 501 - 507
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.01.133.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 野口 耕司	4. 巻 139
2. 論文標題 EBVのウイルスゲノム複製を標的とした分子標的研究	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 薬学雑誌	6. 最初と最後の頁 63-68
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/yakushi.18-00164-1.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 野口 耕司, 藤室雅弘	4. 巻 139
2. 論文標題 次世代創薬に向けた感染症とがんの横断的基礎研究の進展 ヒトがん関連病原体に対する最先端研究を先導する薬学研究者	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 薬学雑誌	6. 最初と最後の頁 61-62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/yakushi.18-00164-F.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nonomiya Y, Noguchi K, Katayama K, Sugimoto Y.	4. 巻 510
2. 論文標題 Novel pharmacological effects of poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor rucaparib on the lactate dehydrogenase pathway	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communicaions	6. 最初と最後の頁 501-507
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.01.133.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 野口 耕司	4. 巻 139
2. 論文標題 EBVのウイルスゲノム複製を標的とした分子標的研究	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 薬学雑誌	6. 最初と最後の頁 63-68
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/yakushi.18-00164-1.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 野口 耕司, 藤室雅弘	4. 巻 139
2. 論文標題 次世代創薬に向けた感染症とがんの横断的基礎研究の進展 ヒトがん関連病原体に対する最先端研究を先導する薬学研究者	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 薬学雑誌	6. 最初と最後の頁 61-62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/yakushi.18-00164-F.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Katayama K, Noguchi K, Sugimoto Y.	4. 巻 9
2. 論文標題 Heat shock protein 90 inhibitors overcome the resistance to Fms-like tyrosine kinase 3 inhibitors in acute myeloid leukemia	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 34240-34258
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.26045.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takami M, Katayama K, Noguchi K, Sugimoto Y.	4. 巻 503
2. 論文標題 Protein kinase C alpha-mediated phosphorylation of PIM-1L promotes the survival and proliferation of acute myeloid leukemia cells.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 1364-1371
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2018.07.049.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyazawa M, Noguchi K, Kujirai M, Katayama K, Yamagoe S, Sugimoto Y.	4. 巻 293
2. 論文標題 IL-10 promoter transactivation by the viral K-RTA protein involves the host-cell transcription factors Specificity Protein 1 and 3.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 662-676
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.M117.802900.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計18件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 野口耕司
2. 発表標題 ウイルス感染に必要な物質 (抗原) の機能解明 ウイルス感染阻害剤の開発
3. 学会等名 TUSフォーラム2020 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野口耕司
2. 発表標題 薬学研究としてのウイルス感染症-ヒトがんウイルスからSARS-CoV-2まで-
3. 学会等名 第69回科学サロン（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野口耕司, 宮澤雅典, 片山和浩, 杉本芳一
2. 発表標題 ウイルス転写因子K-RTAによるヒトCD274/PD-L1プロモーター活性化
3. 学会等名 第31回微生物シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤優, 片山和浩, 野口耕司, 杉本芳一
2. 発表標題 上皮間葉転換によるside population細胞の誘導
3. 学会等名 第23回日本がん分子標的治療学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 近藤慎吾, 片山和浩, 野口耕司, 杉本芳一
2. 発表標題 ABCB5発現細胞のBSO耐性機構
3. 学会等名 第23回日本がん分子標的治療学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野口耕司
2. 発表標題 がんゲノム医療と分子標的治療薬
3. 学会等名 日本薬学会関東支部・市民講座 くすりと健康2019 春季講演会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋ちひろ、野口耕司、石塚周平、片山和浩、杉本芳一
2. 発表標題 JQ1耐性細胞におけるcyclin E1高発現に対するTNIKの関与
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高山 稔、野口耕司、片山和浩、杉本芳一
2. 発表標題 GSK3beta阻害薬によるmultipolar spindleへの効果
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮澤雅典、野口耕司、片山和浩、杉本芳一
2. 発表標題 IL-10プロモーターにおけるK-RTAとSP1/3の相互作用
3. 学会等名 第66回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 野々宮優真、野口耕司、片山和浩、杉本芳一
2. 発表標題 Olaparib 耐性細胞は、rucaparib, veliparib に対して感受性を示した
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 野口耕司、片山和浩、杉本芳一
2. 発表標題 JQ1 耐性HCT 116 細胞におけるTNIK の役割
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 片山和浩、野口耕司、杉本芳一
2. 発表標題 HSP90 阻害薬17-AAG はFLT3-ITD/D835 変異型AML 細胞の増殖を抑制する
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高橋ちひろ、野口耕司、石塚周平、片山和浩、杉本芳一
2. 発表標題 JQ1 耐性細胞における cyclin E1 の発現上昇に対する TNIK の関与
3. 学会等名 第62回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高山 稔、野口耕司、野々宮悠真、片山和浩、杉本芳一
2. 発表標題 AKT による染色体分離の制御
3. 学会等名 第62回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 野口耕司、宮澤雅典、片山和浩、杉本芳一.
2. 発表標題 ウイルス転写因子K-RTAによるヒトIL-10 プロモーター活性化.
3. 学会等名 第30回微生物シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 野口耕司
2. 発表標題 がん分子標的治療の基本講座 DNA合成と細胞増殖
3. 学会等名 第22回日本がん分子標的治療学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 野々宮悠真、野口耕司、片山和浩、杉本芳一.
2. 発表標題 olaparib耐性細胞を用いた耐性形質の解析
3. 学会等名 第22回日本がん分子標的治療学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 片山和浩, 野口耕司, 杉本芳一.
2. 発表標題 Quizartinib耐性急性骨髄性白血病における分子標的としてのHSP90.
3. 学会等名 第22回日本がん分子標的治療学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 野口耕司 (分担)	4. 発行年 2019年
2. 出版社 化学同人	5. 総ページ数 368
3. 書名 進化するがん創薬 (清宮啓之 編)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

Keio Research Highlights <a href="https://research-highlights.keio.ac.jp/2017/08/b.html">https://research-highlights.keio.ac.jp/2017/08/b.html</a>
---

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------