

令和 4 年 6 月 19 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K15987

研究課題名（和文）血球細胞の特殊な細胞分裂マシナリーの解明

研究課題名（英文）Understanding the specific mitotic machinery of blood cells

研究代表者

知念 拓実（Chinen, Takumi）

東京大学・大学院薬学系研究科（薬学部）・助教

研究者番号：40775607

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本課題では血球細胞の特殊な分裂マシナリーを理解することを目的として研究を行った。血液がん由来の細胞の分裂期中心体を詳細に解析したところ、中心体マトリクスの集積が弱いことを見出した。このことから、血液がん細胞は脆弱な紡錘体を形成する可能性がある。次に、染色体異数性を示す血液がん細胞群に着目した。染色体異数性は特定の分裂マシナリーの破綻により生じる可能性がある。DepMapに登録されているデータを用いて解析した結果、異数性を示す血液がん細胞は動原体-微小管結合や姉妹染色体接着に強く依存して生育することが示唆された。以上より、血球細胞の脆弱な分裂マシナリーの抽出に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、血液がん細胞の特殊な分裂機構の解析を行った。血液がん細胞の分裂システムの理解は、血液がん発症機構の理解や血液がん治療薬の開発に繋がるため、医学・薬学における重要な課題である。本研究で得られた知見をベースにさらなる理解が進むことで、新たな創薬標的分子の同定が可能になる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we tried to understand the specific mitotic machinery of blood cells. The pericentriolar materials of blood cancer cells did not accumulate into the centrosome in mitosis. The result suggests the vulnerability in mitotic spindle formation of blood cancer cells. Next, we focused on blood cancer cells with aneuploidy. Aneuploidy can occur due to some defects in mitotic machinery. Analysis using DepMap suggests that the cell proliferation of blood cancer cells with aneuploidy is strongly dependent on kinetochore-microtubule attachment and sister chromatid cohesion. Overall, we succeeded in extracting the vulnerability in mitotic spindle formation of blood cells.

研究分野：細胞生物学

キーワード：血球細胞 細胞分裂 急性リンパ性白血病 急性骨髄性白血病 DepMap 分裂期の脆弱性 染色体異数性

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

血球細胞は造血幹細胞が分裂や分化を繰り返すことで、日々我々の体内で生み出されている。その過程で生じる染色体分配エラーが血液がんの発症や予後不良に繋がる可能性が示唆されている。しかし、細胞分裂研究において標準的に使用されてきた接着性のモデル細胞とは異なり、活発に増殖する血球細胞の分裂システムはよく理解されていない。血球細胞の分裂システムの理解は、血液がん発症機構の理解や血液がん治療薬の開発に繋がるため、医学・薬学における重要な課題である。

2. 研究の目的

これまでに解析が進んでいない血球細胞の細胞分裂システムを解析する。血球細胞のモデルとして血液がん細胞に焦点を当て、細胞骨格の詳細な顕微鏡観察と CRISPR/Cas9 スクリーニングのデータを活用した情報解析を行う。それにより、血液がん細胞の分裂システムを理解する。

3. 研究の方法

本研究課題では以下の3つの観点・アプローチにより、血液がん細胞の分裂システムの解析を行った。

3-1: 血液がん細胞の分裂期中心体の解析

これまでに行われてきた接着性のモデル細胞の知見では、分裂期の中心体において中心体マトリクス因子の強い集積が起こることが報告されている。この中心体マトリクスの働きにより、中心体の微小管形成能が上昇し、安定な染色体分配が保証される。そこで、接着性のがん細胞と血液がん細胞の分裂期における中心体マトリクスの集積を免疫蛍光染色により観察し、血液がん細胞において中心体マトリクスがどのような動態を示すかを解析した。

3-2: 血液がん細胞のライブセルイメージング条件の検討

血液がん細胞の詳細な分裂様式を経時的に観察するため、ライブセルイメージングの条件を検討した。浮遊している血液がん細胞は接着性の細胞とは異なり、液中で移動しやすい。そのため、経時的に紡錘体形成や分裂期進行を解析することが一般的に困難である。そこで、ライブセルイメージングの条件を検討し、長時間に渡り細胞分裂を観察可能な実験系の立ち上げを行った。

3-3: DepMap を活用した、血液がん細胞の分裂システムの解析

血球細胞の分裂マシナリーの特殊性を解析するために、染色体異数性を示す血液がん細胞群に着目した。染色体異数性は特定の分裂マシナリーの破綻により生じる可能性がある。すなわち、異数性が生じたがん細胞の特徴を解析することで、当該がん細胞種の分裂マシナリーの脆弱性を解析できると考えた。

4. 研究成果

前述のアプローチにより、以下の研究成果を得ることに成功した。

4-1: 血液がん細胞の分裂期中心体の解析

血液がん細胞の分裂期中心体を詳細に解析したところ、接着性の細胞と異なり、中心体マトリクスの集積が弱いことを見出した（未発表）。このことから、血液がん細胞は接着性のがん細胞と比較して、脆弱な分裂期中心体を形成することが示唆される。また、血液がん細胞の紡錘体の長さは短い傾向にあることを見出した（未発表）。続いて、上記の知見をベースに、複数の接着細胞において中心体マトリクスの集積を抑制して紡錘体を解析したところ、中心体マトリクスの集積は紡錘体の長さの維持に重要であることを見出した（Chinen et al, *J. Cell Biol.* (2021)）。以上より、血液がん細胞は分裂期の中心体の機能が低下しており、短い脆弱な紡錘体を形成することが示唆された。

4-2: 血液がん細胞のライブセルイメージング条件の検討

血液がん細胞の液中での移動を押さえて細胞分裂を観察する条件を検討した。培養液量を限界まで減らし、培養液表面を流動パラフィンで覆うことで培養液の流動性と乾燥を抑えた。その結果、細胞の位置を安定に保ち、24時間以上に渡り観察可能なライブセルイメージングの条件を整えることに成功した。

4-3: DepMap を活用した、血液がん細胞の分裂システムの解析

染色体異数性を示す血液がん細胞を効率よく選別するため、がん細胞種の遺伝子コピー数が登録されている DepMap (<https://depmap.org/portal/>) に着目した。DepMap に登録されている遺伝子コピー数を統合して、各染色体の数を推察する Python コードを作成した。本コードを用いることで、急性骨髄性白血病（AML）や急性リンパ性白血病（ALL）の細胞群において、染色体異数性を示す群を抽出した。続いて、染色体異数性を示す群と示さない群を比較し、染色体異数性を示す群において生育に重要な分裂期因子の抽出を試みた。DepMap に登録されている CRISPR/Cas9 スクリーニングのデータを用いて解析した結果、異数性を示す AML は動原体-微小管結合に関与する因子（AURKB や CENPE）に、異数性を示す ALL は姉妹染色体接着に関与する因子（SGO1 や RAD21L1）に強く依存して生育することが示唆された。このことから、AML は動原体-微小管結合が、ALL は姉妹染色体接着が脆弱である可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Chinen Takumi, Yamazaki Kaho, Hashimoto Kaho, Fujii Ken, Watanabe Koki, Takeda Yutaka, Yamamoto Shohei, Nozaki Yuka, Tsuchiya Yuki, Takao Daisuke, Kitagawa Daiju	4. 巻 220
2. 論文標題 Centriole and PCM cooperatively recruit CEP192 to spindle poles to promote bipolar spindle assembly	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Cell Biology	6. 最初と最後の頁 e202006085
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1083/jcb.202006085	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Ebisu Haruna, Shintani Kana, Chinen Takumi, Nagumo Yoko, Shioda Shuya, Hatanaka Taisei, Sakakura Akira, Hayakawa Ichiro, Kigoshi Hideo, Usui Takeo	4. 巻 11
2. 論文標題 Dual inhibition of α -tubulin and plk1 induces mitotic cell death	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Pharmacology	6. 最初と最後の頁 620185
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fphar.2020.620185	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Takeda Yutaka, Yamazaki Kaho, Hashimoto Kaho, Watanabe Koki, Chinen Takumi, Kitagawa Daiju	4. 巻 133
2. 論文標題 The centriole protein CEP76 negatively regulates PLK1 activity in the cytoplasm for proper mitotic progression	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Cell Science	6. 最初と最後の頁 jcs241281
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1242/jcs.241281	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Shintani Kana, Ebisu Haruna, Mukaiyama Minagi, Hatanaka Taisei, Chinen Takumi, Takao Daisuke, Nagumo Yoko, Sakakura Akira, Hayakawa Ichiro, Usui Takeo	4. 巻 11
2. 論文標題 Structure optimization of gatastatin for the development of α -tubulin-specific inhibitor	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Medicinal Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 1125 ~ 1129
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsmchemlett.9b00526	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 Ito K Kei, Watanabe Koki, Ishida Haruki, Matsushashi Kyoei, Chinen Takumi, Hata Shoji, Kitagawa Daiju	4. 巻 220
2. 論文標題 Cep57 and Cep57L1 maintain centriole engagement in interphase to ensure centriole duplication cycle	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Cell Biology	6. 最初と最後の頁 e202005153
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1083/jcb.202005153	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nagao Yukiko, Sakamoto Mika, Chinen Takumi, Okada Yasushi, Takao Daisuke	4. 巻 31
2. 論文標題 Robust classification of cell cycle phase and biological feature extraction by image-based deep learning	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Biology of the Cell	6. 最初と最後の頁 1346 ~ 1354
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1091/mbc.E20-03-0187	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hashimoto Kaho, Chinen Takumi, Kitagawa Daiju	4. 巻 7
2. 論文標題 Mechanisms of spindle bipolarity establishment in acentrosomal human cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular & Cellular Oncology	6. 最初と最後の頁 1743899 ~ 1743899
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/23723556.2020.1743899	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takeda Yutaka, Kuroki Kanako, Chinen Takumi, Kitagawa Daiju	4. 巻 45
2. 論文標題 Centrosomal and non-centrosomal functions emerged through eliminating centrosomes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Structure and Function	6. 最初と最後の頁 57 ~ 64
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1247/csf.20007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 竹田 穰, 山崎 香穂, 橋本 佳歩, 渡辺 紘己, 知念 拓実, 北川 大樹
2. 発表標題 中心体構成タンパク質 CEP76 を介した分裂期における PLK1 制御機構
3. 学会等名 第 72 回日本細胞生物学会大会（京都、オンライン）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹田 穰, 山崎 香穂, 橋本 佳歩, 渡辺 紘己, 知念 拓実, 北川 大樹
2. 発表標題 中心体構成因子CEP76はPLK1制御を介して適切な細胞分裂を保证する
3. 学会等名 第19回次世代を担う若手のためのファーマ・バイオフィォーラム2020（仙台、オンライン）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹田 穰, 山崎 香穂, 橋本 佳歩, 渡辺 紘己, 知念 拓実, 北川 大樹
2. 発表標題 中心体構成タンパク質CEP76は分裂期PLK1の適切な活性化と紡錘体配向を制御する
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会（横浜、オンライン）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山崎 香穂, 知念 拓実, 橋本 佳歩, 竹田 穰, 山本 昌平, 土屋 裕樹, 北川 大樹
2. 発表標題 中心小体と中心体マトリックスは CEP192 を協調的に集積することで、ヒト細胞における分裂期紡錘体の二極性を促進する
3. 学会等名 第19回 次世代を担う若手のための ファーマ・バイオフィォーラム2020（仙台、オンライン）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹田 穰, 山崎 香穂, 橋本 佳歩, 渡辺 紘己, 知念 拓実, 北川 大樹
2. 発表標題 中心体構成因子CEP76はがん化関連キナーゼPLK1の過剰な活性化を抑制し、適切な分裂期進行を保証する
3. 学会等名 第141回日本薬学会年会 (広島、オンライン)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹田 穰, 知念 拓実, 寺井 悟朗, 岩切 淳一, 豊田 敦, 浅井 潔, 北川 大樹
2. 発表標題 CRISPR/Cas9スクリーニングによる中心体数検知システムの探索
3. 学会等名 第20回東京大学生命科学シンポジウム (東京、オンライン)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹田 穰, 山崎 香穂, 橋本 佳歩, 渡辺 紘己, 知念 拓実, 北川 大樹
2. 発表標題 中心小体因子CEP76は分裂期PLK1の適切な活性化を制御する
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会 (神戸、オンライン)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山崎 香穂, 知念 拓実, 橋本 佳歩, 竹田 穰, 土屋 裕樹, 高尾 大輔, 北川 大樹
2. 発表標題 中心小体と中心体マトリックスによる分裂期紡錘体の二極性形成メカニズムの解明
3. 学会等名 第20回 東京大学 生命科学シンポジウム (東京、オンライン)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------	---------