

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年6月10日現在

| | |
|------------|---|
| 機関番号 | 72602 |
| 研究種目 | 若手研究 (B) |
| 研究期間 | 2011~2012 |
| 課題番号 | 23701068 |
| 研究課題名 (和文) | 新規アクチン細胞骨格制御因子TAB182を介したがん浸潤機構の解明とその制御 |
| 研究課題名 (英文) | Elucidation of the mechanism of cancer cell invasion through a novel actin cytoskeleton-associated protein TAB182 |
| 研究代表者 | 大石 智一 (OHISHI TOMOKAZU) |
| | 公益財団法人がん研究会・がん化学療法センター分子生物治療研究部・研究員 |
| | 研究者番号: 50442546 |

研究成果の概要 (和文):

我々が同定し命名した新規タンキラーゼ結合蛋白質 TAB182 は細胞質に局在し cortical actin network と共染色される。しかしながらその意義は不明である。本研究において TAB182 が細胞質において F-actin と共局在すること、さらにアクチン細胞骨格の再構成を介して細胞の運動・浸潤能の制御に関与することを見いだした。

研究成果の概要 (英文):

A novel tankyrase-binding protein TAB182, which we have found and named, localizes to the cytoplasm where it co-stains with the cortical actin network. However, its functional significance remains unknown. In this study, we found that TAB182 colocalizes with F-actin and is involved in the regulation of cell migration and invasion through the reorganization of actin cytoskeleton.

交付決定額

(金額単位: 円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|-------|-----------|-----------|-----------|
| 交付決定額 | 3,400,000 | 1,020,000 | 4,420,000 |

研究分野: 総合領域

科研費の分科・細目: 腫瘍生物学

キーワード: アクチン細胞骨格、細胞運動、ポリ (ADP-リボシル) 化

1. 研究開始当初の背景

アクチン細胞骨格制御系は、細胞の形態変化、運動、接着、分裂など細胞の動きに関する活動を司っており、胚の発生、創傷治癒、神経系構築に重要な役割を果たすと同時に、がんの浸潤・転移、免疫疾患、神経疾患など多くの疾病の発症に深く関わっている。

アクチン細胞骨格の制御については、アクチン脱重合因子の cofilin を介した経路が最も重要な経路の一つであると考えられており、リン酸化酵素の LIM キナーゼと脱リン酸化酵素の Slingshot によって厳密に制御されている。cofilin のリン酸化と脱リン酸化、すなわち cofilin リン酸化サイクルの速度が、アクチン細胞骨格内のアクチンのターンオーバー速度を調節しており、このバランスによって自在に

アクチン構造を変化させることが可能になる。これまである種の浸潤がんにおいて cofilin、LIM キナーゼ、Slingshot の発現変化が報告されており、cofilin リン酸化サイクルの亢進ががんの浸潤に重要であると考えられているが (Wang et al., *Nature Rev. Cancer*, 2007)、いつ、どのような仕組みでがんにおいてアクチン細胞骨格の再構成が起こるか、詳細は明らかになっていない。

一方、我々はこれまでに、ポリ (ADP-リボシル) 化酵素ファミリーの一員でありテロメア伸長因子であるタンキラーゼに着目して実験を行い (Ohishi et al., *Cancer Research*, 2010)、タンキラーゼの阻害ががんの治療に有用であることを示してきた (Seimiya, Ohishi et al., *Cancer Cell*, 2005, McCabe,

Ohishi et al., *Oncogene*, 2009)。この実験の過程でタンキラーゼ結合蛋白質として我々の研究室で同定した新規蛋白質 TAB182 を枯渇させた細胞が、細胞運動能の亢進につながるのに対し、TAB182 を過剰発現させた細胞が細胞運動能を低下させるという、これまでの知見からは予期しえない新しい事実を見出した。

2. 研究の目的

細胞の運動・浸潤能の変化にはアクチン細胞骨格の制御が深く関与していることが知られている。我々の見出した新しい知見に基づき、TAB182 がアクチン細胞骨格の制御に関与している可能性の検証を行う。

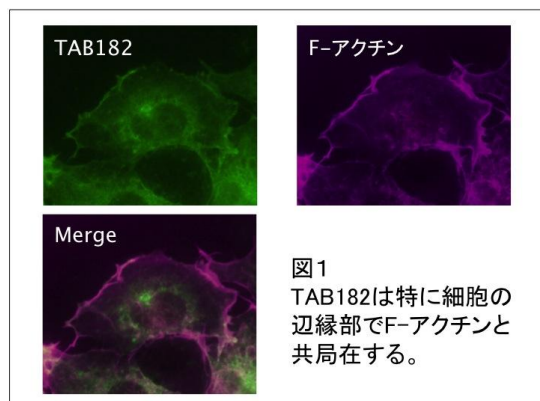
3. 研究の方法

(1) TAB182 の細胞内における局在について細胞内における TAB182 と重合型アクチン(F-アクチン)の局在を観察する。

(2) TAB182 の浸潤能に対する影響について TAB182 を枯渇させたがん細胞を用いて走化性を用いた系により細胞浸潤能の変化を検討する。また同様の検討を TAB182 過剰発現細胞によっても検討する。

(3) TAB182 のアクチン細胞骨格に対する影響について TAB182 を枯渇させた時のアクチン細胞骨格の変化を F-アクチンの蛍光標識プローブを用いて検討する。

(4) TAB182 によるアクチン細胞骨格制御のメカニズムについて TAB182 を枯渇させた時にアクチン細胞骨格



制御に中心的役割を果たす cofilin リン酸化サイクルへの影響を生化学的な解析を用いて検討する。

4. 研究成果

(1) TAB182 は細胞内において細胞辺縁部の F-アクチンと共局在することが明らかにな

った。このことからアクチン細胞骨格の制御に関与する可能性が示唆された(図1)。

(2) TAB182 が細胞運動能の制御に関与しているという予備検討の結果を得ていることから、浸潤能についても検討した。TAB182 を枯渇させた細胞は浸潤能が亢進するのに対し、TAB182 過剰発現細胞は浸潤能が低下していた。これらのことから TAB182 は細胞運動・浸潤能の制御因子であることが示唆された。

(3) 細胞運動・浸潤能にはアクチン細胞骨格の再構成が必要であることから、TAB182 を枯渇させた時のアクチン細胞骨格を観察した。その結果、対照群にくらべて顕著に F-アクチンの形成が見られた。

(4) TAB182 の枯渇が顕著な F-アクチンの形成につながることから、細胞内における cofilin 経路を検討した結果、顕著な cofilin のリン酸化が誘導されていた。cofilin はリン酸化によってアクチン脱重合活性を失うことから、TAB182 の枯渇は cofilin のリン酸化を亢進させ、アクチン脱重合活性を抑制することにより細胞内のアクチンを重合に傾かせる可能性が示唆された。今後は、このシグナル経路の制御にどのような因子が関与しているかを検討する予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計8件)

(1) 大石智一、清宮啓之
Aurora A 過剰発現による細胞分裂異常はテロメア結合タンパク質 TRF1 によって媒介される
第15回日本がん分子標的治療学会学術集会
(2011年6月22日~24日、東京)

(2) 大石智一、広田亨、鶴尾隆、清宮啓之
がん遺伝子 Aurora A による細胞分裂異常を媒介するテロメアタンパク質 TRF1
「新学術領域研究」修飾シグナル病 第2回
研究交流若手ポスター発表会 (2011年7月1日~2日、東京)

(3) 大石智一
タイムラプス・イメージングによる細胞分裂の時空間的解析
東京大学大学院新領域創成科学研究科メデイカルゲノムサイエンス研究法Ⅱ発表会
(2011年8月12日、東京)

(4) 大石智一、広田亨、清宮啓之
Telomeric protein TRF1 is involved in
controlling the spindle
microtubule-kinetochore attachment in
mitosis
第70回日本癌学会学術総会 (2011年10月3
日～5日、名古屋)

(5) 大石智一、清宮啓之
「Aurora A 過剰発現による細胞分裂異常はテ
ロメア結合タンパク質 TRF1 によって媒介さ
れる」
第16回日本がん分子標的治療学会学術集会
(2012年6月27日～29日、北九州)

(6) 大石智一、村松由起子、清宮啓之
「Telomeric protein TRF1 is involved in
controlling the spindle
microtubule-kinetochore attachment in
mitosis」
第71回日本癌学会学術総会 (2012年9月19
日～21日、札幌)

(7) 村松由起子、大石智一、清宮啓之
「Telomeric protein TRF1 is required for
proper sister chromatid cohesion」
第71回日本癌学会学術総会 (2012年9月19
日～21日、札幌)

(8) Ohishi T, Muramatsu Y, Seimiya H
「Telomeric protein TRF1 is required for
proper chromosome segregation」
Ninth AACR-JCA Joint Conference:
Breakthroughs in Basic and Translational
Cancer Research (February 21-25, 2013,
Maui)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：

取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等
http://www.jfcr.or.jp/chemotherapy/department/molecular_biotherapy/index.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大石 智一 (OHISHI TOMOKAZU)
公益財団法人・がん研究会・がん化学療法セ
ンター・分子生物治療研究部・研究員
研究者番号：50442546