

論文の内容の要旨

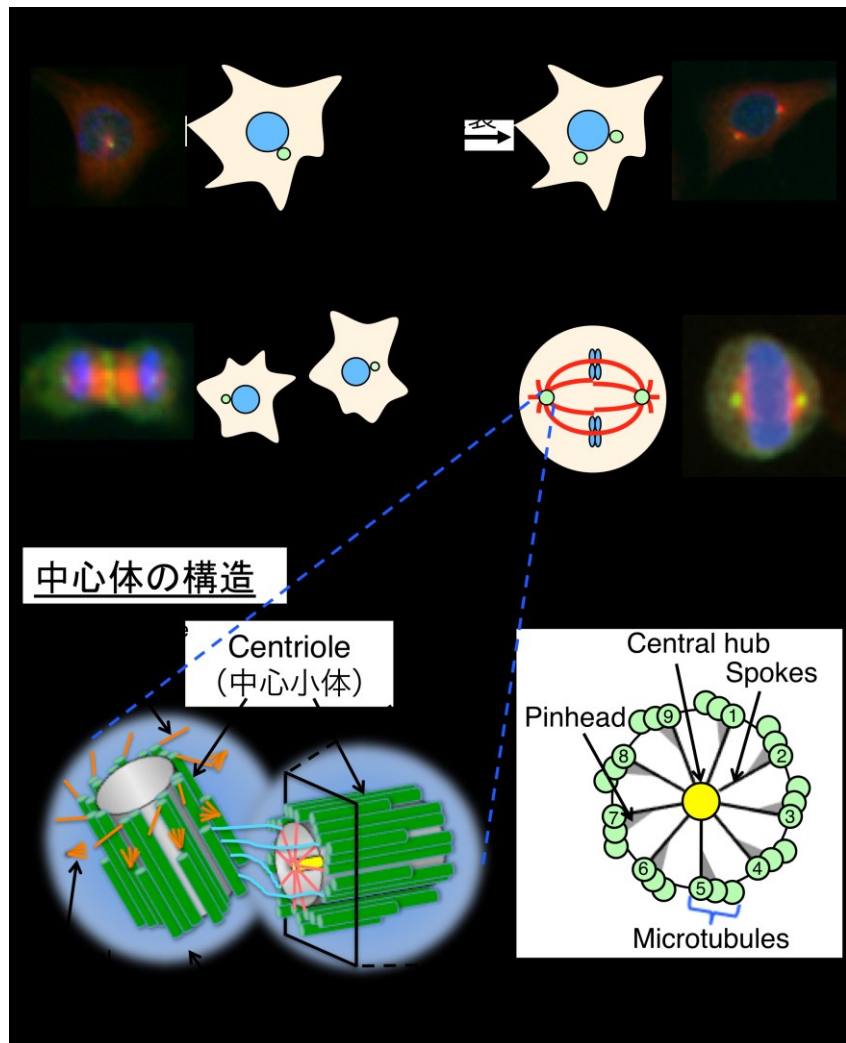
論文題目 「ストレス応答 MAPK 経路及び p53 による PLK4 活性と中心体複製の制御機構」

(Maintenance of centrosome integrity under stress conditions by a PLK4, p53 and SAPK pathway network)

氏名 中村 貴紀

細胞小器官の一つである中心体は染色体を均等分配する役割を担っている。中心体はまず細胞分裂期 (M 期) に進行すると核膜に沿って移動して核膜の両極 (紡錘体極) に局在する。核膜が消失すると、中心体は微小管構造中心 Microtubule organizing center (MTOC) として多くの微小管の伸張に関与する。中心体から伸張した微小管が染色体の動原体部分に結合することで紡錘体を形成する。その後スピンドルチェックポイントが解除されると、紡錘体極 (星状体) へと微小管の収縮が起こる。個々の染色分体は動原体の部分で微小管と結合しているため、微小管の収縮に連動して染色体の均等分配が誘導される。このように中心体は染色体安定性 (染色体の均等分配) と密接に関与している。このため中心体複製は細胞周期 1 回につき一度だけ起こる様に厳密に制御されており、通常中心体数は 1 個または 2 個に保持されている。中心体 (中心小体) の複製は細胞周期の S 期に行われ、母中心小体を構築基盤として新たな娘中心小体の前駆体が形成される。その後、G2 期にかけて中心小体内の微小管の伸長とアセチル化などの修飾を受けて成熟した中心小体が形成さ

れる。中心体複製制御が破綻すると中心体数の異常 (≥ 3) が惹起されるため M 期において染色体が均等に分配されなくなり、この結果子孫に正確な遺伝情報が伝達できなくなる。また、こうした染色体の異数性は多くの癌細胞に見られる特徴であり、発癌と癌の悪性化を進行させる大きな要因となる。このように中心体複製調節機構は、細胞分裂を繰り返す多細胞生物にとって極めて重要な生命機能であるが、その分子機構に関しては不明な点が多く、その解明は急務である。



PLK4 は Polo-like kinase (PLK) ファミリーの 1 分子であり、ショウジョウバエからヒトに至る広汎な生物種で保存されており、中心体複製制御に中心的な役割を果たすことが報告されている。PLK4 の過剰発現は中心体の異常増幅を惹起することから、PLK4 の制御異常が発癌に寄与すると考えられている。

一方、細胞外からの刺激を細胞核へ的確に伝え、遺伝子発現を制御することで、様々な細胞応答を誘導する細胞内シグナル伝達の 1 つに MAP キナーゼシグナル伝達経路 (MAPKKK-MAPKK-MAPK) がある。MAP キナーゼ経路では、まず活性化因子などにより MAPKKK が活性化される。この MAPKKK は MAPKK の活性化ループ内の Thr 又は Ser 残基をリン酸化することによって MAPKK を活性化し、MAPKK は更に MAP キナーゼの活性化ループ内の Thr 及び Tyr 残基をリン酸化することによって MAP キナーゼを活性化する。このように MAP キナーゼ経路は MAPKKK-MAPKK-MAPK の順に、連続的かつ段階的なリン酸化反応を介して活性化し、シグナルを下流に伝達する。哺乳類においては、細胞増殖及び分化に作用する ERK 経路とストレス応答 (細胞死、細胞周期停止、炎症

反応など)に關与する p38/JNK 経路という 3つの MAP キナーゼ経路が主に知られている。p38/JNK 経路はサイトカインまたは物理化学的なストレスなど外部からの様々な刺激に応答して、アポトーシスや細胞周期停止を誘導することが知られている。本研究で対象としている MTK1(MAP Three Kinase 1)は酵母やショウジョウバエからヒトに至る全ての真核細胞に相同な遺伝子として保存されている。これまでに MTK1 がストレス応答 MAPKKK として DNA 損傷等における p38/JNK 経路の活性化に關与することを明らかにしてきた。

今回私は、この MTK1 を初めとするストレス応答 MAPKKK (MTK1, TAK1, MEKK1 など) が PLK4 を直接リン酸化して活性化することを見出した。更にストレス刺激によって活性化された PLK4 は、中心体複製異常を惹起せず、むしろアポトーシスを抑制することを見出した。また、ストレス応答 MAPK (SAPK) が PLK4 による中心体の過剰複製を阻害すること、さらに p53 は PLK4 の発現抑制を介して PLK4 に依存した中心体の過剰複製を阻害することを明らかにした。従って SAPK および p53 が協調的に作用して細胞運命を決定すると共に、中心体安定性の維持に重要な役割を担っていると考えられる。興味深いことに癌細胞では p53 及び SAPK 経路の不活性型変異が高頻度に見出される。特に SAPK 経路の MKK4 には driver-mutation と呼ばれる直接癌化に寄与する不活性型変異が多数見つかっていることから、MKK4 は癌抑制遺伝子として機能すると考えられている。そこで、p53 及び SAPK を同時に不活性化させた細胞株として、(p53 を失活させる) Large-T 抗原を発現する MKK3/6/4/7 欠損 MEF、及び(p53 を失活させる)HPV16-E6 と不活性型 MKK4 変異体を発現する U2OS 細胞を作製した。これら 2種類の細胞株に DNA 損傷刺激を加えたところ、いずれの細胞株においてもストレス刺激に依存して中心体の過剰複製と染色体の倍数体異常が観察された。従って、p53 及び SAPK はストレス状況下での中心体安定性を制御しており、両分子が同時に不活性化されると中心体数の異常と染色体不安定性が惹起され、最終的に発癌を招くと考えられる。さらに、これまで MKK4 の癌抑制機能に関しては不明であったが、今回 MKK4 が SAPK の活性化を介して中心体の過剰複製を阻害することにより癌抑制効果を発揮することを明らかにした。