

ゲノム DNA 量に応じた選択的な細胞増殖抑制を実現

～新たながん細胞抑制法の確立に向けた重要な一歩～

ポイント

- ・ゲノム DNA 量が増大した異常細胞を選択的に攻撃できる分子標的を発見。
- ・DNA 量増大によって細胞分裂の制御に「弱み」が生まれる原理を解明。
- ・副作用の少ない、がん細胞の増殖を抑制する薬理制御法の構築に繋がると期待。

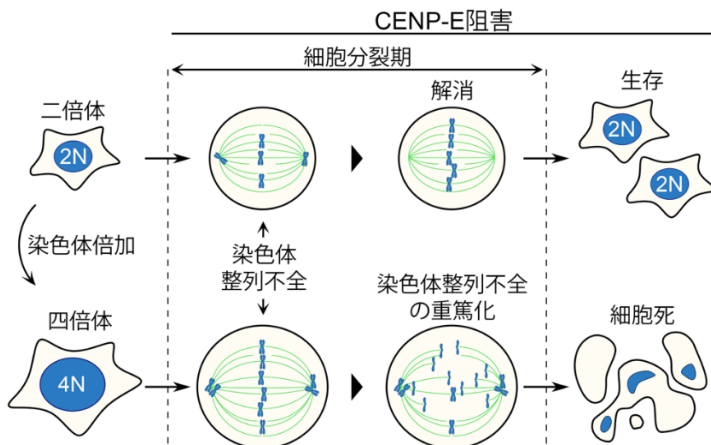
概要

北海道大学大学院生命科学院博士後期課程の吉澤晃弥氏、同大学院先端生命科学研究院の上原亮太准教授らの研究グループは、細胞の持つゲノム DNA^{*1} 量に応じて細胞増殖抑制効果に変化する化合物を探索し、その過程で染色体運動を司るモータータンパク質^{*2}CENP-E を阻害することにより、DNA 量の増大した異常細胞を高い選択性で攻撃できることを発見しました。

近年のがんゲノム解析により、広範なタイプのがん細胞でゲノム DNA 量が増大する染色体倍加という異常が起こることが分かってきました。この染色体倍加を起こした細胞を選択的に攻撃できれば、副作用の少ない細胞増殖抑制法の実現が可能になると期待されます。しかし、特定の遺伝子変異などを伴わない染色体倍加をよりどころとして異常細胞を見分け、その選択的攻撃を可能にすることは容易でなく、これを可能にする分子標的の発見が望まれました。

研究グループは遺伝的背景が同一で DNA 量のみが異なる細胞株シリーズを作製し、これを用いた比較薬理実験を行い、細胞分裂期に染色体整列運動を司る微小管モータータンパク質の CENP-E に対する阻害剤が、DNA 量と比例して細胞増殖抑制効果を高めることを発見しました。詳細な細胞分裂動態の解析によって、DNA 量の増大した細胞では CENP-E 阻害時に重篤な染色体不全が起こりやすく、極端な分裂遅延に伴う細胞死の頻度が極端に増加することが DNA 量に応じたに選択的な攻撃性の原因となっていることを突き止めました。本研究で見出された DNA 量に応じた選択的な攻撃の原理を応用発展させることで、異常細胞を優れた特異性で増殖抑制する薬理制御法の構築に繋がると期待されます。

なお本研究成果は、2023 年 1 月 23 日（月）公開の Molecular Oncology 誌にオンライン掲載されました。



CENP-E 阻害による DNA 量選択的な細胞攻撃の概略。染色体倍加が分裂異常を重篤化させ、選択的な細胞死を引き起こす。

【背景】

通常、我々の体をつくる細胞は母方父方のゲノム（ヒトの場合 23 種の染色体の総体）を 1 セットずつ引き継いだ「二倍体」の状態、染色体複製と細胞分裂時の染色体分配を交互に繰り返すことで、このゲノム DNA 量と正しい遺伝情報を保ちながら増殖します。ところが、このプロセスに異常が生じて複製した染色体の分配に失敗した細胞は、ゲノム DNA 量が增大する染色体倍加という状態に陥ります。

近年のがんゲノム解析から、広範ながん組織でこの染色体倍加が共通して発生しており、がん病態の形成に関与することが明らかになりつつあります。染色体倍加を起こした細胞を正常細胞と区別して選択的に攻撃することができれば、病気のリスクを生み出す細胞を選択的に駆逐することが可能になり、副作用を抑えた細胞増殖制御技術の確立に資することが期待できます。

しかし、染色体倍加細胞は、元の二倍体細胞と全く同じ遺伝的背景を持つため、特定の遺伝子の変異というような細胞識別のよりどころにできる違いに乏しいことが、選択的攻撃の実現の妨げとなっていました。そこで、ゲノム DNA 量の違いをよりどころにして、染色体倍加細胞の増殖を優れた選択性で抑制できる方法論を特定し、その原理を理解することが求められていました。

【研究手法】

研究グループは、同一の遺伝的背景を持ち、ゲノム DNA 量のみが異なるヒト HAP1 細胞株シリーズを独自に作製し、多種の細胞分裂阻害化合物について DNA 量に応じた細胞増殖抑制効果の違いを比較検証しました。ゲノム DNA 量に対応して異なる種類の蛍光タンパク質で細胞をラベルし、これらを 1:1 の比率で混合培養して、種々の薬剤の投与によって細胞集団の分裂増殖パターンやゲノム DNA 量分布がどのような変化をたどるかをフローサイトメトリーやライブイメージングの手法で分析しました。

さらに、優れた DNA 量に依存的な選択的攻撃性を示した化合物をターゲットとして、がん細胞、非がん細胞やがん抑制遺伝子欠損の有無、染色体倍加の経緯などが異なる多様なサンプルで比較解析を展開することで、この選択的性質の一般性を検証しました。

【研究成果】

研究グループはまず、細胞分裂阻害化合物が分子標的に応じて異なる細胞選択性を持つことを突き止めました。例えば、紡錘体形成に関わる微小管モータータンパク質の Kinesin-5 の阻害が DNA 量の少ない細胞を選択的に攻撃するのに対して、分裂期染色体の輸送・整列を司る別の微小管モータータンパク質 CENP-E の阻害は DNA 量の多い細胞を選択的に攻撃することが明らかになりました（図 1）。

CENP-E 阻害が DNA 量の増大に応じて選択的に攻撃性を増す原理を探るために、CENP-E 阻害時の二倍体及び染色体倍加細胞の細胞分裂のダイナミクスをライブイメージングで詳細に解析しました。この結果、二倍体では CENP-E 阻害による染色体整列運動の異常が早期に解消して細胞分裂を達成するのに対し、染色体倍加細胞では染色体運動異常が重篤化し、著しい分裂進行の遅延を経て細胞死に至ることが分かりました。このような DNA 量に応じた染色体運動異常の程度の変化が、鋭い DNA 量選択的な攻撃性を生み出すことを突き止めました。

また、二倍体及び染色体倍加細胞を 1:1 の比率で混合した細胞集団に CENP-E 阻害剤を投与すると、培養 1 週間以降では染色体倍加細胞はほぼ死滅し、二倍体細胞のみが生存し安定増殖を続けたことから、上記の原理により優れた選択性をもって DNA 量の増大した細胞のみを駆除し得ることが示されました（図 2）。

さらに、16 種類の染色体倍加ヒト HCT116 細胞株を用いた薬効比較実験で、これら染色体倍加細胞がパクリタキセルやドキシソルピシンといった抗がん剤に対しては著しく不均一な感受性・抵抗性を示し

たのに対し、CENP-E 阻害剤に対してはいずれも同等に、二倍体と比べて高い感受性を示すことが分かりました。このことから、CENP-E が、薬剤抵抗に関する高い不均一性をもつ染色体倍加細胞を特に優れた普遍性をもって攻撃し得る分子標的であることが示唆されました。

【今後への期待】

染色体倍加はがん細胞特有の異常の中でも特に普遍性の高い異常ですが、細胞選別のよりどころに乏しいことが染色体倍加細胞の選択的攻撃の妨げになっていました。本研究の成果により、ゲノム DNA 量の変化に応じて細胞分裂を制御する仕組みの様々な部品に、特徴的な「弱点」が生じることが明らかになりました。今回突き止めた原理を利用して、さらに DNA 量に応じた細胞選択性を高める分子標的の探索や、化合物の開発を展開することで、染色体倍加を起こしたがん細胞を選択的に攻撃、駆除可能にする新しい、副作用の少ない治療法の開発に繋がることが期待されます。

【謝辞】

本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業・基盤研究 (B) (19H03219)、挑戦的研究 (萌芽) (21K19244)、国際共同研究加速基金 (B) (19KK0181)、新学術領域研究「シンギュラリティ生物学」(公募研究) (19H05413)、第一三共生命科学研究振興財団研究助成、高松宮妃癌研究基金研究助成、中谷医工計測技術振興財団奨励研究、加藤記念バイオサイエンス振興財団研究助成、オレンジ基金研究助成、日立北大ラボ産学共同研究、喫煙科学財団研究助成 (以上、代表者：上原亮太)、日本科学協会笹川科学研究助成、北大・日立協働教育研究支援プログラム (以上、代表者：吉澤晃弥) などの支援により実施しました。

論文情報

論文名	Tetraploidy-linked sensitization to CENP-E inhibition in human cells (ヒト細胞の四倍体化に応じた CENP-E 阻害感受性増大)
著者名	吉澤晃弥 ¹ 、松浦 暉 ¹ 、島田将矢 ¹ 、石田-石原すみれ ^{1,2} 、佐藤美由 ¹ 、山本隆博 ¹ 、矢口 完 ¹ 、川本英嗣 ³ 、黒田垂歩 ³ 、松尾和哉 ⁴ 、玉置信之 ⁵ 、酒井隆一 ⁶ 、島田康人 ³ 、ミシュラ ミトレシュ ⁷ 、上原亮太 ^{1,2} (¹ 北海道大学大学院生命科学院、 ² 北海道大学大学院先端生命科学研究院、 ³ 三重大学大学院医学系研究科、 ⁴ 京都工芸繊維大学分子化学系、 ⁵ 北海道大学電子科学研究所、 ⁶ 北海道大学大学院水産科学研究院、 ⁷ Department of Biological Sciences Tata Institute of Fundamental Research)
雑誌名	Molecular Oncology (分子腫瘍学の専門誌)
DOI	10.1002/1878-0261.13379.
公表日	2023年1月23日(月)(オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院先端生命科学研究院 准教授 上原亮太 (うえはらりょうた)

T E L 011-706-9238 F A X 011-706-9238 メール ruehara@sci.hokudai.ac.jp

U R L <https://life.sci.hokudai.ac.jp/mf/staff/uehara-ryota>

配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

【参考図】

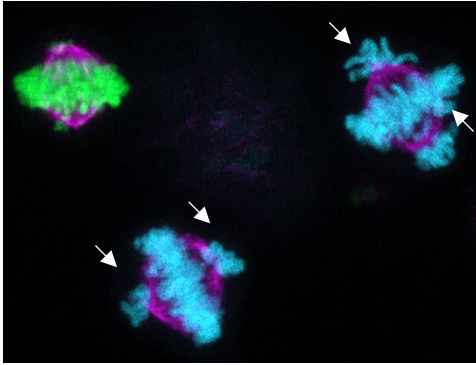


図 1. ゲノム DNA 量の増大による CENP-E 阻害時の分裂異常の重篤化。二倍体細胞（左、緑色と紫色のもの）と染色体倍加細胞（中央・右、青色と紫色のもの）を異なる蛍光タンパク質でラベルしている。染色体倍加細胞ではより重篤な染色体整列不全（矢印）が引き起こされた。

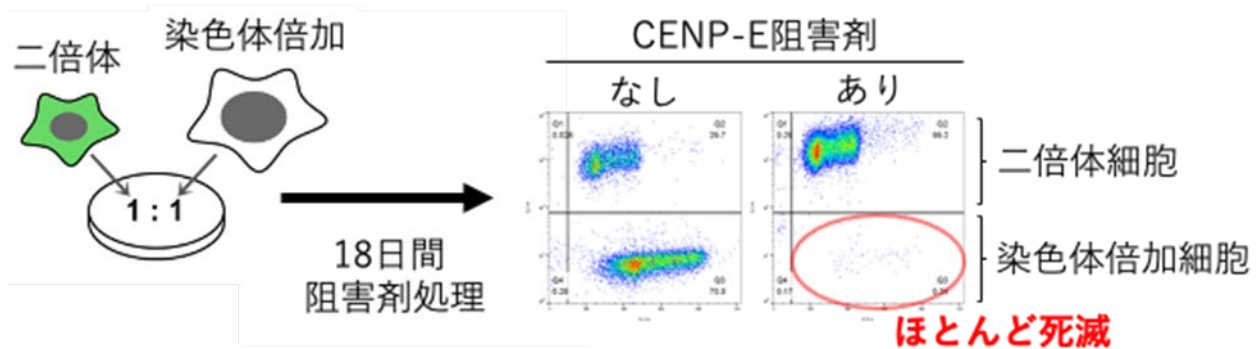


図 2. 混合培養における染色体倍加細胞の選択的駆除。二倍体及び染色体倍加細胞を 1:1 で混合培養し、CENP-E 阻害剤あり、なしの条件で 18 日間培養し、両細胞の存在比をフローサイトメトリー法で解析した。CENP-E 阻害剤ありの条件では、染色体倍加細胞がほとんど死滅し検出されなかった。

【用語解説】

- *1 ゲノム DNA … 細胞の遺伝情報一揃いを担う物質のこと。ヒトの体を作る細胞は通常 2 セットのゲノム DNA をもつ二倍体であるが、細胞分裂の失敗により、ゲノム DNA を 4 セット持つ染色体倍加細胞が生まれる。
- *2 モータータンパク質 … ATP 加水分解のエネルギーを用いて細胞内の収縮や輸送といった運動を司るタンパク質のこと。本研究で分子標的として特定した CENP-E は細胞分裂期に染色体を正しい位置に運ぶ機能を持つ。