



正常な細胞機能を保証する細胞構造の制御機構に関する研究

広島大学大学院先端物質科学研究科分子生命機能科学専攻 助教 久 米 一 規

はじめに

生命の基本単位である細胞が、正常な機能を発揮するためには、細胞増殖と連動した細胞構造の適切な制御が必須である。つまり、正常な細胞機能を保証する細胞構造の制御機構（以降：本機構、図1）の存在が示唆される。実際、異常な細胞機能を示す癌細胞や老化細胞では、核サイズや細胞極性などの細胞構造にも異常を示すことから、本機構の破綻が細胞の癌化や老化を誘導・促進する要因となることが示唆されている（図1）。それゆえ、本機構の解明は、癌化や老化を理解する上で極めて重要であるが、その実態は未だ不明点が多い。

私は、細胞の癌化や老化の解明を念頭に、真核細胞のモデル生物である酵母を用いて、特に、細胞構造の中の核サイズと細胞極性に焦点をあて（図2）、本機構の解明を目指し、研究に取り組んできた。そして、細胞増殖と連動する核サイズの制御機構、細胞増殖と連動する細胞極性の制御機構、それぞれの機構の解明につながる重要な成果を得た。以下に概要を紹介する。

1. 細胞増殖と連動する核サイズの制御機構の解明

1) 核サイズ異常変異体の選抜

核は、真核細胞において、正常な細胞機能の基盤となるゲノム情報を収納・保護する重要なオルガネラである。ほとんどの真核細胞において、核サイズは、細胞サイズと比例関係にあり（図2）、核と細胞の体積比（以降：N/C ratio）は一定に維持されている（図2）。しかし、細胞がいかんして核サイズを決定し、制御しているのか？ その実態については不明である。癌細胞や老化細胞では、核サイズや核形態に異常を示すことから、核サイズ制御機構の解明は、細胞の癌化や老化を理解する上で重要である。

私は、真核細胞に普遍的な核サイズ制御機構の解明を目指し、分裂酵母を用い、核サイズ異常変異体の網羅的スクリーニングを実施した。その結果、遺伝子破壊株ライブラリー（約3,000株）や温度感受性変異株の中から、N/C ratioに異常を示す変異体の選抜に成功した（図3）。

2) 核サイズ制御に重要な細胞内プロセスの発見

選抜したN/C ratio増加変異体の解析から、mRNAの核外輸送もしくは膜の供給に重要な脂質代謝の制御が破綻すると、N/C ratioを変化させることを発見した（図3）。mRNAの核外輸送が破綻する変異体では、mRNAの核内蓄積により、タンパク質が核内に蓄積し、脂質合成に依存して核の肥大化を引き起こすことで、N/C ratioが増加する（図3）。一方、脂質代謝の制御が破綻する変異体では、核膜が異常供給されることにより、核の肥大化を引き起こし、N/C ratioが増加することを明らかにした（図3）。以上の結果から、核サイズ制御には、核-細胞質間の輸送と核膜供給に関わる脂質代謝の両プロセスの適切な制御が重要であることを提唱した。さらに本発見をもとに、癌細胞や

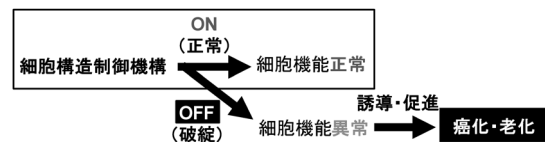


図1. 正常な細胞機能を保証する細胞構造の制御機構

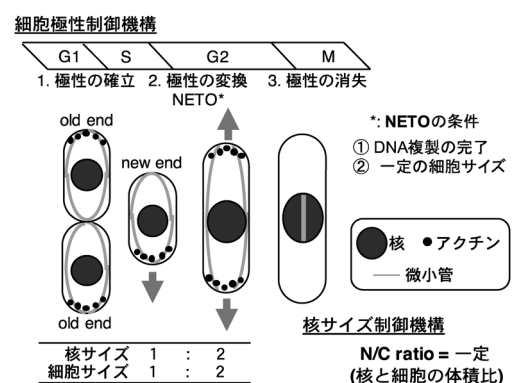


図2. 分裂酵母の細胞増殖と連動する核サイズと細胞極性の制御機構

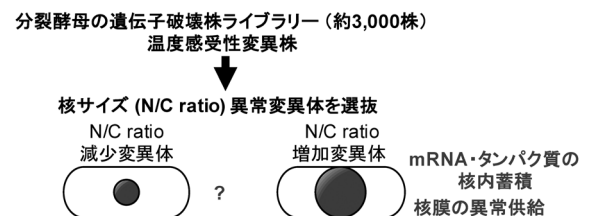


図3. 核サイズ変異体の選抜と核肥大化の原因

老化細胞でみられる核サイズの肥大化が、核-細胞質間の輸送や脂質代謝の制御機構の破綻に起因する可能性を提示した。

2. 細胞増殖と連動する細胞極性の制御機構の解明

2-1. DNA複製チェックポイント経路による細胞極性制御機構の発見から生理活性物質探索系への応用

私は、細胞増殖と連動する細胞極性の制御機構を理解するため、分裂酵母における細胞極性の交換点、NETO (new end take off) に注目した（図2）。NETOは、細胞質分裂後のG1期に、片側の細胞端 (old end) のみで成長する単極成長から両細胞端で成長を始める両極成長への、成長極性交換点であり（図2）、NETO開始には、2つの条件（DNA複製の完了、一定の細胞サイズへの到達）が必要であるが、その実態は不明であった。

1) CCT経路の発見

NETOを解明するため、NETOの起こらない単極成長変異体（原因遺伝子：DNAポリメラーゼalpha）を解析し、DNA複製チェックポイント経路が成長極性交換を制御する、CCT

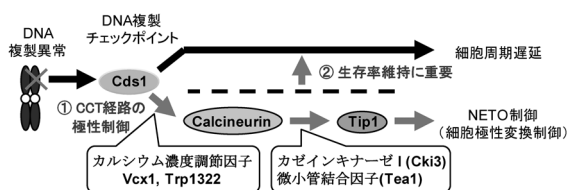


図4. DNA複製チェックポイント経路によるNETOを制御するCCT経路と新規関連因子

経路 (Cds1-Calcineurin-Tip1) を発見した (図4)。CCT経路は、Cds1 (DNA複製チェックポイントキナーゼ)、Calcineurin (Ca^{2+} /カルモデュリン依存性プロテインホスファターゼ)、Tip1 (微小管結合因子) により構成される (図4)。さらなる解析から、CCT経路によるNETO制御の分子機構を解明した。その詳細は、DNA複製異常時に活性化したCds1が、Calcineurinをリン酸化することにより活性化し、CalcineurinがTip1を脱リン酸化し、微小管を安定化させることで、成長極性変換のタイミングを制御するというものである (図4)。さらに、CCT経路がDNA複製異常時の生存率維持にも重要であることを明らかにした (図4)。

2) CCT経路の新規関連因子の同定

CCT経路の新規関連因子として、細胞内カルシウム濃度調節因子 (Vcx1, Trp1322)、カゼインキナーゼ I (Cki3)、微小管結合因子 (Tea1) を同定した (図4)。遺伝学的解析により、Vcx1とTrp1322は、DNA複製異常時のNETO制御において、Cds1の下流、Calcineurinの上流で機能し、Calcineurinの活性化に必要であることを見出した。一方、Cki3とTea1は、Calcineurinの下流でNETO制御に関わることを明らかにした (図4)。

3) Calcineurin活性を阻害する生理活性物質探索系の開発

Calcineurinは多様な生命現象 (細胞増殖・免疫・記憶) に関わることから、Calcineurin活性を制御する薬剤創製が重要である。そこで、酵母の遺伝子破壊株ライブラリー (約4,800株) を用いた、CCT経路関連因子の探索の過程で、既知のCalcineurin阻害剤 (FK506) により表現型 (高温感受性) が回復する遺伝子破壊株を1株 (Vrp1破壊株: アクチン関連タンパク質) 同定し、本株が、Calcineurin活性を阻害する生理活性物質探索系として有用であることを示した。

2.2. 細胞極性の確立・維持機構に重要な細胞形態形成ネットワークの発見

細胞質分裂後の細胞極性の確立と維持機構については不明な点が多い (図2)。そこで私は、細胞増殖と連動した細胞極性の制御機構を解明するため、本来、円筒形をしている分裂酵母から、高温で増殖停止し、細胞極性を失う (アクチンが細胞全体に分散)、球形変異体を解析し、細胞極性の確立・維持に必須な細胞形態形成ネットワーク・MOR経路 (Morphogenesis Orb6 network経路) を発見した (図5)。また、MOR経路が、細胞質分裂を制御するSIN経路 (Septation initiation network

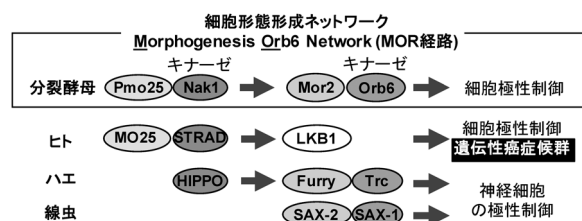


図5. 進化上保存された細胞形態形成ネットワーク Morphogenesis Orb6 Network経路 (MOR経路)

経路) の制御下であり、両経路のクロストークが、細胞周期の間期とM期の細胞極性制御に重要であることを示した。さらに、MOR経路の新規関連因子を同定し、MOR経路における機能を明らかにした。MOR経路は、酵母からヒトまで高度に保存され、MOR経路の構成因子は、ヒトにおいて遺伝性癌症候群と関連することから (図5)、本成果は、細胞癌化の理解や癌治療薬開発に貢献するものと期待される。

おわりに

本研究では、細胞構造の中の核サイズや細胞極性に焦点をあて、それぞれの制御に関わる因子や細胞内プロセスを同定し、その分子機構の一端を解明してきた。同定した因子は、酵母からヒトまで高度に保存されていることから、本研究成果は、普遍的な細胞構造の制御機構の基盤となる基礎的知見であり、細胞の癌化や老化の理解に貢献しうるものである。今後も、細胞の癌化や老化の解明を念頭に、正常な細胞機能を保証する細胞構造の制御機構に関する研究をすすめ、本機構に関わる重要な生命現象を解き明かしていきたい。そして農芸化学研究に貢献していきたい。

謝 辞 本研究は、広島大学大学院先端物質科学研究科分子生命機能科学専攻細胞生物学研究室ならびに英国のフランス・クリック研究所 (旧・英国癌研究所) にて行われたものです。平田大先生 (現・朝日酒造、広島大学客員教授) には、細胞極性の研究に携わる機会をいただき、学生時代から今日に至るまで、終始多大なご指導とご支援を賜り、研究者としての基礎を教えてくださいました。深く感謝申し上げます。Paul Nurse博士 (2001年ノーベル医学生理学賞受賞、フランス・クリック研究所所長) には、核サイズの研究に携わる機会をいただき、英国留学中を含め帰国後も継続して、ご指導とご支援を賜りました。心より御礼申し上げます。本研究を遂行するにあたり、ご指導ご鞭撻を賜りました、登田隆先生 (広島大学特任教授)、宮川都吉先生 (広島大学名誉教授)、水沼正樹先生 (広島大学准教授) をはじめ、広島大学の諸先生方に厚く御礼を申し上げます。また、本研究に携わった学生の皆様、共同研究者の皆様方に感謝いたします。最後になりましたが、本奨励賞にご推薦くださいました日本農芸化学会中四国支部長の川向誠先生ならびに学会の諸先生方に厚く御礼を申し上げます。