

# mRNAスプライシング阻害剤ががん細胞の細胞周期進行異常を引き起こすメカニズムの解析



大学院医学系学術研究部(医学)  
研究員 石田 健

研究分野

Research area

## 細胞生物学

研究のキーワード 細胞周期

研究内容

Research content

非常に強力な抗がん活性を持つスプライノスタチンA (SSA) は、正確な遺伝子発現に必須な機構であるmRNAスプライシングの阻害剤である。SSAは細胞周期をG1期ならびにG2/M期で停止させることが知られており、この細胞周期停止活性が抗がん活性の原因だと考えられる。本研究では、細胞周期を停止させる詳細な分子機構を明らかにし、世界初のスプライシング機構を標的とした抗がん剤の開発に貢献することを目的とする。

研究のポイント

Research point

ヒトにおいては、約97%程度の遺伝子がスプライシングを受けており、スプライシング機構の阻害は、ほとんどすべての遺伝子発現に影響を与えると考えられる。したがって、スプライシング阻害による表現型の原因遺伝子特定することは容易ではない。しかしながら、本研究においては、SSAによるG2/M期停止の原因遺伝子としてAurora Aを特定できており、世界的に見ても非常に稀なケースである。これらの知見は新規の抗がん剤開発に役立つと考えられる。

研究への取組、今後の展望

すでに、いくつかの企業がスプライシングをターゲットとした抗がん剤の研究開発を行なっているが、現在のところスプライシング阻害による抗がん剤は上市されていない。これは正常細胞のスプライシングまで阻害してしまうことによる副作用が懸念されることが一因となっている。その問題を解決するための一つの手段が薬剤の処理濃度を下げることである。上記のように、SSAによりM期進行に必須な因子のAurora Aの発現量が減少することがM期停止の原因であることを見出した。このため、SSAとAurora Aの阻害剤の同時処理により、より低濃度の薬剤処理によっても同等の抗がん活性が発揮されることが期待される。また、SSAと併用することにより強い抗がん活性を発揮する薬剤のスクリーニングを、和漢研の化合物ライブラリーや理化学研究所の保有する化合物ライブラリーなどを用いて行う予定である。

## 研究 REPORT

本研究ではSSA処理により発現に影響を受けるM期間連タンパク質を同定し、SSAによる細胞周期停止のメカニズムを解析した。

### 研究手法

培養したHeLa細胞の細胞周期を同期させ、SSAで処理した。処理後2~14hの細胞周期進行を観察した。また、同様に処理後2~26hの細胞からそれぞれタンパク質抽出を行ない、western blotで細胞周期関連タンパク質の発現レベルを確認した。さらに、蛍光顕微鏡により微小管と染色体の局在も観察した。

### 結果1:細胞周期計測

コントロール細胞 (MeOH) においては、正常に細胞周期進行が観察されたものの、一方、SSA処理細胞は8hまでにG2/M期が増加した後、G1/G0期に移行せずG2/M期で停止してしまっった。

### 結果2:顕微鏡観察

M期においては、微小管による紡錘体が形成され、染色体が分配される。そこで、微小管と染色体の局在を観察したところ、コントロール細胞 (MeOH) においては、正常な細胞分裂が観察されたものの、SSA処理細胞では紡錘体の形成ができず、染色体の分配にも異常が観察された。さらに、紡錘体の形成に必須な中心体の分離にも異常が観察された。

### 結果3:細胞周期関連タンパク質のwestern blot

M期進行に重要なCyclin A2, Cyclin B1, Aurora A, Plk1の発現量をwestern blotで調べた。コントロール細胞 (MeOH) では細胞周期に則した変動が観察された。一方、SSA処理細胞ではCyclin A2, Cyclin B1, Plk1は、発現が遅延していたものの、最終的には高発現していた。しかしながら、Aurora Aは発現が顕著に低下していた。このことから、Aurora Aの発現低下がM期停止の原因だと考えられる。

### まとめと今後の展望:

SSA処理細胞では、細胞周期計測、western blot、顕微鏡観察のいずれにおいても細胞周期の停止が観察された。また、これらの細胞においては染色体分配に必須である中心体の分離に異常が生じた。さらに、その原因遺伝子としてAurora Aを特定した。今後は、これらの知見をもとに、世界初のスプライシング機構をターゲットとした抗がん剤の開発に貢献したいと考えている。

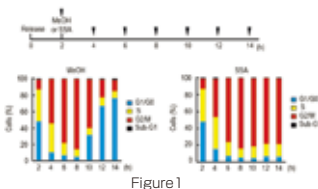


Figure1

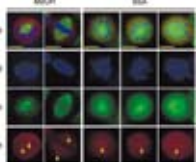


Figure2



Figure3