

Stress Granule をターゲットとした癌の治療法の探求

名古屋大学大学院 医学系研究科
環境労働衛生学 特任助教 前田真男
名古屋大学大学院 医学系研究科
環境労働衛生学 教授 加藤昌志

【背景】

がんは、1981年以降、日本人の死因の第1位をしめており、2014年にがんで亡くなった人は約37万人で、死亡総数の28.9%を占めている。がんの中でも、肺がん、胃がん、大腸がん、乳がんなどの固形がんの占める割合は高い。固形がんの治療は、手術、放射線、化学療法が中心となっているが、化学療法の効果は限られていることが多く、症状緩和と延命のために考慮されることが多い。このような状況で、進行した固形がんに対する効果的な治療法の開発が待たれている。

固形がんは、がん細胞の増殖時にしばしば低酸素や低栄養というストレス状態に陥る。このような低酸素、低栄養というストレスや、過剰なタンパク合成のために起こるストレス、抗がん剤の投与により受けるストレスに対して、細胞質内に Stress Granule (SG) と呼ばれる斑状の構造体を形成し、これらのストレスから回避していることが知られている。

【目的】

申請者は、予備的研究により培養細胞に温度ストレスやヒ素を負荷した時に、SGを構成する RasGAP SH3-domain-binding protein 1 (G3BP1) というタンパク質が斑状に集積し、SGを形成することを確認した。この時、Ubiquitin Associated Protein-2 Like (UBAP2L) と呼ばれるタンパク質も SG に集積し、UBAP2L の発現を抑制するとヒ素を負荷しても SG の形成が抑制されるのが観察された。このことから、UBAP2L が SG の形成に関与していることが考えられた。また、申請者はがん細胞の細胞分裂時に、この UBAP2L というタンパク質がないと正確なゲノムの分配が起こらず、細胞分裂が進まないことを発見している。UBAP2L がメチルトランスフェラーゼ PRMT1 によりメチル化されること、およびメチル化された UBAP2L が細胞分裂時の正確なゲノムの配列に必須であることも見出している。

本研究では、ストレス負荷時の SG の形成、および細胞分裂に関わると考えられる UBAP2L というタンパク質について解析し、このタンパク質を標的とする新たながんの治療法の開発を目指すことを目的とする。

【方法】

UBAP2L と結合する新規分子を探索するため、FLAG-tag を付加した UBAP2L を恒常的に発現させた細胞株を作成し、FLAG beads で免疫沈降し質量分析装置を用いて結合タンパクの同定を行った。強制発現ベクターによる遺伝子導入法や siRNA 導入によるノックダウン法により、新規結合タンパク質の発現量を変化させその機能を解析した。

さらに、UBAP2L の細胞分裂時の機能を調べるために、細胞分裂時に相同染色体と紡錘体微小管の結合に重要な働きをしている HEC1、CENP E、Aurora B などのタンパクに注目し、siRNA 導入によるノックダウン法により UBAP2L をノックダウンし、目的のタンパクの発現量の変化や局在を観察した。

【結果・考察】

FLAG-tag を付加した UBAP2L を発現させている細胞株を用いて質量分析を行い、UBAP2L の新たな結合タンパク質の同定を行ったところ、fragile X mental retardation protein 1 (FMR1)、fragile X mental retardation syndrome-related protein 1 (FXR1)、fragile X mental retardation syndrome-related protein 2 (FXR2) などのタンパク質が見つかった。FXR2 と UBAP2L の関係を解析するため、GFP-tag を付加した FXR2、および FXR2 の mutant を作成した。GFP-FXR2 発現ベクターを HeLa 細胞株に遺伝子導入したところ、細胞内で UBAP2L と同一部位に局在することが判明した。また、FXR2 は UBAP2L と半分切断した N 末の部分で結合することが判明した。HeLa 細胞株への siRNA 導入による FXR2 のノックダウンを行ったところ、多核細胞が多数出現し FXR2 も細胞分裂に関わっていることが推測された。このことから FXR2 と UBAP2L が結合し、細胞分裂に関わっている可能性が示唆され、現在、この両者の関係については解析中である。

HEC1 や CENP E タンパクは、ノックアウトすると細胞分裂時に相同染色体と紡錘体微小管の正常な結合ができなくなり、細胞分裂が進まなくなる。HeLa 細胞株に siRNA 導入による UBAP2L のノックダウンを行ったところ、HEC1 タンパク質については発現量や局在に変化はみられなかったが、CENP E タンパクの発現量が低下し、相同染色体の動原体上への局在があまり見られなくなった。このことから、UBAP2L は CENP E の発現を調節し、細胞分裂時の相同染色体と紡錘体微小管の結合に関与している可能性が示唆された (Maeda M, et al. 2016)。このように、PRMT1 によりメチル化された UBAP2L が、CENP E の発現を制御して細胞分裂時の相同染色体と紡錘体微小管の結合を調節し、正常な細胞分裂を進める重要な働きをしていると考えられた。

UBAP2L と結合することが判明した FXR2 と Stress Granule の形成の関係については、現在解析中である。

Maeda M, Hasegawa H, Sugiyama M, Hyodo T, Ito S, Chen D, Asano E, Masuda A, Hasegawa Y, Senga T : Arginine methylation of ubiquitin-associated protein 2-like is required for the accurate distribution of chromosomes. *FASEB Journal*. 30(1):312-23. 2016