

学内グラント 報告書

平成21-22年度 学内グラント終了時報告書

がん幹細胞において野生型 p53の活動を制限する nucleosteminの役割

研究代表者 加藤 英政 (ゲノム医学研究センター)

研究分担者 片野 幸¹⁾, 佐川 森彦²⁾

緒言

核小体に存在する nucleostemin (NS) は、がん細胞を始めとする様々な増殖性細胞にて、p53の機能と拮抗的に働くことが知られていた。我々の先行研究の結果、本因子はマウスES細胞の生存維持に深く関与することが判明した。近年、がん幹細胞という概念が導入されているが、遺伝子発現プロファイル比較の結果、これらとES細胞の遺伝子発現には根底の部分で強い相似性がある。これは、ES細胞における本因子NSの機能を追求すれば、がん幹細胞の生存維持を操れる可能性を示唆している。我々は、NSのES細胞における役割を注意深く解析し、その中心的なメカニズムに、幹細胞や多くのがん細胞で発現が見られる転写因子 Nanog の安定性を介している部分があることを発見した。また、NSが存在する核小体ということから連想して、我々はさらに「核小体ストレス」がNSの脱失を模倣し、Nanogを不安定化することを見いだした。

材料と方法

マウスES細胞を分子生物学的に改変し、nucleosteminタンパク質の発現がdoxycyclineを加えることで抑制される細胞を用いた¹⁾。解析に用いた分子生物学的・細胞生物学的手法は定法にしたがった。

結果

本研究における最大の発見は、この核小体因子 nucleostemin (以下NS) が、マウスES細胞において、その未分化性・分化多能性のキーとなる因子である Nanog の発現を調整している点である (図1)。

これは、今までその存在が知られていなかった本因子 (Nanog) を直接制御する新しいメカニズムであり、しかもその因子が核小体に主に存在する点が興味深い

と考えた。この側面をさらに検証するため、NS低下に伴い発現が減少するNanogを強制発現によって補うことを考えた。その結果、Nanogを強制発現させた細胞では、NSを発現抑制しても、もはや細胞は分化せず、未分化な状態を保つことが示せた (図2)。

ActinomycinD (ActD) などの抗がん剤は、臨床的濃度においては、核小体ストレスを引き起こす。これは、リボソームを構成するリボソームタンパク質が核質に遊離することで発生するとされている細胞ストレス応答である。NSも、その脱失により、核小体ストレスを引き起こすことが知られていた。そこで我々は、野生型のマウスES細胞 (CMT1-1株) に対して、ActDを作用させ、その効果を観察した。その結果、ここでも同様に、Nanogは転写量およびタンパク質量共に著明に減少することが観察できた (図3)。

考察

いくつかのがん種には、抗がん剤として ActinomycinD (ActD) が用いられている。ActDは通常RNAポリメラーゼIIの阻害剤 (μM) と考えられているが、おそらくは臨床的な濃度 (nM) では、RNAポリメラーゼIの阻害に選択的に働き、前述の核小体ストレスを引き起こすことが知られている。現在のところ、がん幹細胞とNanogの関連はまだ確定はしていないものの、glioblastoma multiformeなどの悪性型に現れるがん幹細胞様の細胞はNSを強く発現していることが報告されている。未分化性 (= 治療抵抗性) の強い細胞表現型を実現するために、生体内では通常未分化幹細胞・生殖細胞系列で発現するNanogを再利用して、根治の難しいがん幹細胞を含んだがん種が生存している可能性が想定され、本研究の成果は、がん対策に直結すると強く自負している。

引用文献

1) ゲノム医学研究センター
2) 総合医療センター 血液内科

1) Nomura J, Maruyama M, Katano M, Kato H, Zhang J, Masui S, et al. Differential requirement

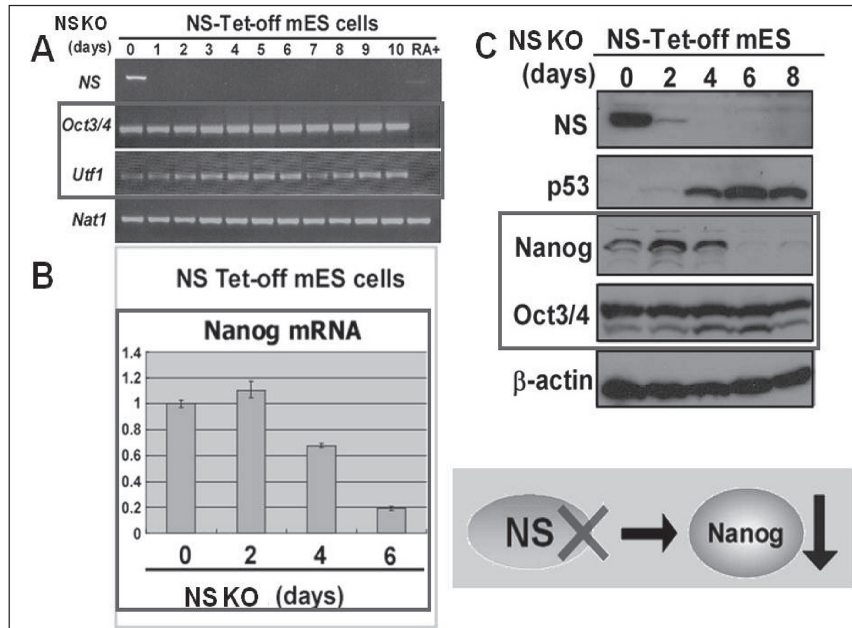


図 1. NSの発現抑制に伴うNanog発現減少. NSの発現抑制は, Oct3/4やUtf1の発現には影響がないが(A), Nanogは, てきめんに発現抑制される(B, C).

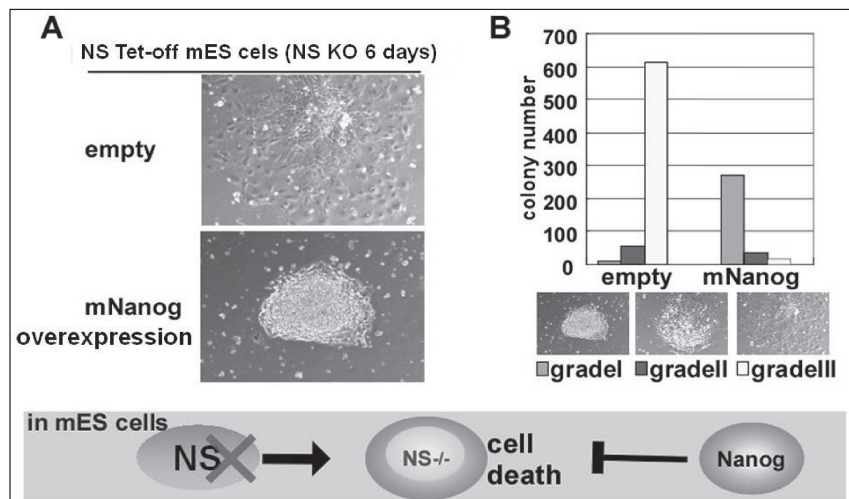


図 2. NS低下時のNanogの強制発現. Nanogの強制発現でES細胞の性質(A)と数(B)は回復する.

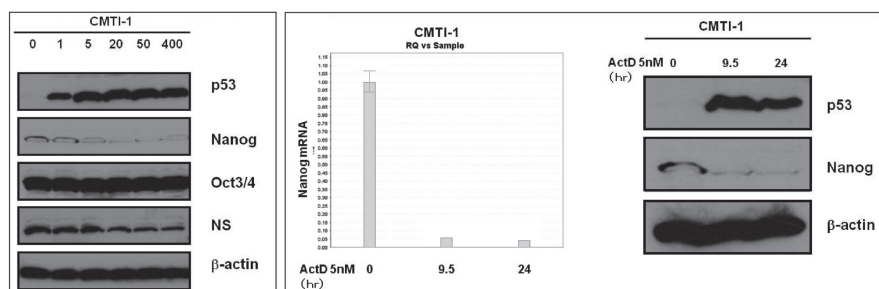


図 3. 核小体ストレス時のマウスES細胞におけるNanogの減少. ActDを, 臨床レベルの低容量作用させるだけで, 幹細胞らしさが失われた.

for nucleostemin in embryonic stem cell and neural stem cell viability. *Stem Cells* 2009;27:1066-76.

研究成果リスト

- 1) Fujino N, Kubo H, Suzuki T, Ota C, Hegab A, He M, Suzuki S, Suzuki T, Yamada M, Kondo T, Kato H, and Yamaya M. Isolation of alveolar epithelial type II progenitor cells from adult human lungs. *Laboratory Investigation* 2011;91:363-78.
- 2) Watanabe Y, Numata K, Murata S, Osada Y, Saito R, Nakaoka H, Yamamoto N, Watanabe K, Kato H, Abe K, Kiyosawa H. Genome-wide analysis of expression modes and DNA methylation status at sense-antisense transcript loci in mouse. *Genomics* 2010;96:333-41.
- 3) Maruyama H, Morino H, Ito H, Izumi Y, Kato H, Watanabe Y, Kinoshita Y, Kamada M, Nodera H, Suzuki H, Komure O, Matsuura S, Kobatake K, Morimoto N, Abe K, Suzuki N, Aoki M, Kawata A, Hirai T, Kato T, Ogasawara K, Hirano A, Takumi T, Kusaka H, Hagiwara K, Kaji R, Kawakami H. Mutations of optineurin in amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 2010;465(7295):223-6.
- 4) Hegab AE, Kubo H, Fujino N, Suzuki T, He M, Kato H, Yamaya M. Isolation and characterization of murine multipotent lung stem cells. *Stem Cells Dev* 2010;19:523-36.
- 5) Miyagi S, Kato H, Okuda A. Role of SoxB1 transcription factors in development. *Cell Mol Life Sci* 2009;66(23):3675-84.