

[研究区分： 学内共同プロジェクト研究]

研究テーマ： 生体機能分子探索シーズに基づく応用生命科学研究：染色体パッセンジャー関連新規分子の活用	
研究代表者： 生命環境学部 生命科学科 教授・達家 雅明	連絡先： tatsuka@pu-hiroshima.ac.jp
共同研究者： 教授・小西 博昭, 教授・嶋本 文雄, 教授・肖 業貴, 非常勤研究員 金子 博, 博士課程後期 岡本 茉佑美, 博士課程後期 直原 寛	
【研究概要】 Aurora-B をキナーゼ活性として持つ染色体パッセンジャーは娘細胞への正確なゲノム分配を保証する。本研究では、我々が発見した新規関連基質 SAKI の機能解明を目指した。その結果、SAKI はがん細胞で遺伝子増幅を伴い高発現していたが、がん細胞への強制発現とノックダウンの実験から、増殖関連分子でないことが明らかとなった。一方、電離放射線誘発微小核/多核生成に対して SAKI ノックダウンは誘発頻度の有意な増加を招来したことから、SAKI が動物細胞ゲノムの恒常性維持機構に関与する分子であることが示唆された。	

【研究内容・成果】

染色体分配の要として正確な姉妹染色分体分離制御を担っている Aurora-B の新規基質を探す目的から、私たちは Aurora-B の標的分子のひとつである H3 ヒストンの 10 番目セリンでのリン酸化特異的認識抗体（抗 pSer10-Aurora-B 抗体）を作成し、HeLa 細胞の M 期細胞抽出液を用いて抗 pSer10-Aurora-B 抗体による免疫沈降をおこない、その免疫沈降産物の MALDI-TOF-MS (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight-Mass Spectrometer、マトリックス支援レーザー脱離イオン化法) 解析をおこなった。その結果、100-kDa 付近に新規遺伝子にコードされているたんぱく質を発見し、これを SAKI (Substrate of AIM1/Aurora kinase B) と命名した。

SAKI はそのたんぱく質分子内に NOL1/NOP2/Sun domain を持つ。このため、当初から核酸修飾酵素であることが予想されていたが、その後のゲノム解析の進展から、NOL1/NOP2/Sun domain family に属する核酸メチル化酵素である NSUN2 (NOL1/NOP2/Sun domain family, member 2) として現在ではデータベース上で分類されている。また、英国の研究グループにより我々とは独立してがん遺伝子産物 Myc で誘導される遺伝子のひとつとして発見されており、MISU (Myc-induced SUN-domain-containing-protein) としても知られる。

現在までのデータベース照会の結果、NSUN2 と構造的に似たたんぱく質をコードする遺伝子は、生物進化上、真性細菌や古細菌を含む原核生物から酵母、ヒトを含む真核生物に至るまで広く保存されていることがわかっている。また、NSUN2 は、酵母の TRM4 (tRNA methyltransferase 4) のオルソログと考えられ、tRNA のシトシンのメチル化を担っている。HeLa 細胞の NSUN2 ノックダウンによる私たちの解析結果では、細胞増殖、あるいは軟寒天培地中での増殖（悪性腫瘍性増殖）に関与せず、NSUN2 発現低下による細胞生存への影響は見られなかった。同様に、酵母での遺伝子ノックアウトでも生存可能であり、また、マウスでの遺伝子ノックアウトも生存可能であったことから、tRNA の非必須メチル化修飾に関わっていると考えられる。それ故、その生理的意義は不明である。

私たちは、NSUN2 ががん関連分子 Aurora-B の基質であることから、NSUN2 もヒトがんに関わっているのではないかと考え、その発現を調べていた。その過程で、NSUN2 は細胞周期依存的な発現変化は無く、がん遺伝子活性も持たないものの、大腸がんや乳がん、口腔がんなどにおいて高頻度に遺伝子増幅を伴って高発現していることを見つけた。これらの結果は、NSUN2 がヒトがん発症と深くかかわっている新規分子であること、また、その役割は、英国の研究グループの唱えるような Myc 関連の増殖制御での働きでは無さそうであるという考えを私に与えた。

そこで、私たちは NSUN2 が生体内での細胞の増殖や生存を直接助ける因子ではなく、その他の機構によってヒトがん発症に寄与している分子であると考え、(1) M 期チェックポイントとの関連、(2) 電離放射線に対する細胞応答との関連、について調べた。

その結果、(1) については、ノコダゾール処理時（紡錘体形成不全によるチェックポイント誘導）及びタキソール処理時（紡錘体形成後の張力不全によるチェックポイント誘導）いずれの場合においても NSUN2 ノックダウンの影響は見られなかった。一方、(2) については、電離放射線照射後の細胞周期解析から、NSUN2 ノックダウン細胞では電離放射線誘発間期細胞周期チェックポイント制御に異常は見られなかったものの、電離放射線誘発多核細胞の出現が増加していた。

これらの結果より、NSUN2 は、電離放射線などのゲノム損傷性ストレス下での染色体分配制御に対して防衛的機能をもっていると考えられる。NSUN2 が M 期紡錘体安定化因子である NUSAP1 (nucleolar and spindle associated protein 1) の結合たんぱく質であるという報告があることから、電離放射線照射後に M 期へと到達した細胞の M 期紡錘体安定化を通じた NSUN2 の機能が想像される。また、NSUN2 は DNA メチル化酵素活性が存在し、ゲノム DNA のメチル化修飾をすることが報告されていることから、NSUN2 過剰発現ががん細胞で観察されるメチル化によるエピジェネティックな変化の原動力のひとつ（がん細胞の生体内生き残り戦略の重要な担い手）になっているのではないかと考え、今後の研究に臨みたい。特に、電離放射線照射後に生存した細胞での NSUN2 発現と DNA メチル化の関係を明らかにしていきたい。

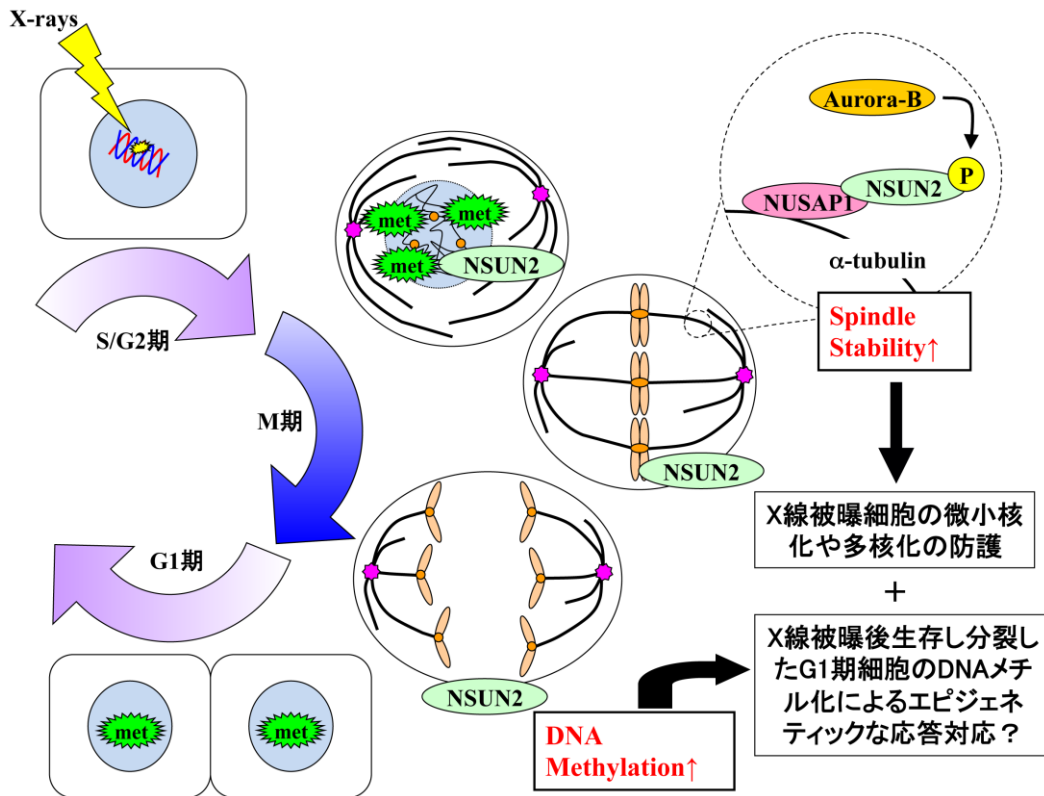


図. ゲノム損傷誘発時の NSUN2 の機能のモデル。NSUN2 は放射線被曝細胞の紡錘体安定性に寄与する。一方で、DNA のメチル化を通じてエピジェネティックな変化に貢献していると思われる。