

## 核小体の崩壊が細胞分裂のタイミングを遅延させる

### 研究成果のポイント

1. リボソーム生合成の場として知られている核小体の崩壊が、細胞分裂期の引き金になる酵素 Cdk1 キナーゼの活性化を抑制し、細胞分裂期の開始を遅延させることを明らかにしました。
2. 核小体と細胞分裂の具体的な関連性が、初めて示されました。
3. 核小体の構造異常はがんの悪性度を示す所見の一つであり、核小体構造異常の病理学的意義に関する重要な手掛かりが得られることが期待できます。

国立大学法人筑波大学 生命環境系 木村圭志准教授、日本学術振興会特別研究員 林優樹博士らの研究グループは、公益財団法人がん研究会 がん研究所 実験病理部 広田 亨部長との共同研究により、リボソーム生合成の場である核小体の構造が細胞分裂の開始のタイミングを制御するメカニズムの一端を明らかにしました。

核小体は細胞核内に存在する多種類のタンパク質とRNAから構成される構造体で、リボソームRNA(rRNA)の転写とリボソームの組み立ての場所として古くから知られてきました(図1)。核小体の大きさは細胞の増殖状態を反映しており、増殖の盛んな細胞は巨大な核小体を有していることから、がんの悪性度を示す指標としても使われています。また、近年の研究の進展から、核小体がリボソームの組み立て以外にも、ストレス応答などの種々の細胞機能に関与することがわかってきました。例えば、DNA損傷などの種々のストレスに細胞がさらされた際には、核小体の崩壊が、がん抑制タンパク質を活性化することで細胞増殖の停止や細胞死を引き起こします。一方、細胞分裂の開始/終了に伴って核小体が解体/再構築されることから、核小体と細胞分裂の関連性が示唆されてきましたが、その実態はわかっていません。本研究では、二本鎖RNA(siRNA)<sup>※1</sup>を用いて特定の核小体タンパク質をノックダウン<sup>※2</sup>した際に、細胞分裂期(M期)<sup>※3</sup>を制御する酵素Cdk1キナーゼ<sup>※4</sup>の活性化が抑制され、細胞分裂の開始が遅延することを見出しました。さらに、分裂間期<sup>※5</sup>での核小体の崩壊が、これらのM期の異常の原因であることをつきとめました。

本発見は、新たな視点から細胞分裂の制御機構の基礎的な理解につながる重要な知見です。核小体の構造異常はがんの悪性度を示す所見の一つであることから、核小体の構造とM期の関連性が明らかになることにより、核小体構造異常の病理学的意義に関する重要な手掛かりが得られることが期待できます。

本研究の成果は、2018年6月6日付「*Science Advances*」で公開されました。

\* 本研究は、科学研究費補助金基盤研究(B)(木村)、新学術領域研究(広田)、日本学術振興会特別研究員奨励費(林)などによって実施されました。

## 研究の背景

核小体は、真核生物の核内に存在する最も大きな核内ボディ<sup>注6</sup>であり、その発見は200年以上前にさかのぼります。核小体では、大量のrRNAが転写された後、プロセッシングという過程を経て、タンパク質合成装置であるリボソームが組み立てられます。このように核小体は第一義的にはリボソームの合成工場として機能し、核小体構造は恒常性を持った細胞構成因子であると考えられてきました。しかし近年になって、核小体が様々なストレスや細胞の栄養状態、細胞分化や老化また細胞周期において、ダイナミックに形態を変化させることがわかってきました。また、核小体に存在するタンパク質は非常に流動的であり、その役割が多岐にわたることも明らかになっています。例えば、細胞がDNA損傷などのストレスを受けた際に、核小体は崩壊し、種々の因子が放出されて、がん抑制タンパク質を活性化することが明らかとなっています。本研究グループもこれまでの研究において、様々な細胞ストレスに応じて核小体の形態が変化し、細胞死・細胞老化・細胞分化・オートファジーが引き起こされることを報告しています(図2、参考文献1~4)。

細胞分裂の過程でも核小体の構造はダイナミックに変化します。核小体はM期に先立って解体され、M期の終結とともに再構築されます。さらには、一部の核小体タンパク質はM期染色体の表面に濃縮されます。このような核小体の挙動から、核小体と細胞分裂との関連が示唆されていましたが、その詳細は明らかにはなっていません。そこで本研究は、M期における核小体の役割を解明することを目的としました。

## 研究内容と成果

本研究グループはまず、HeLa細胞(世界で初めて培養に成功したヒト由来の細胞株)を用いて、約600種類の核小体タンパク質のsiRNAを用いたノックダウンを行い、そのうち約60種類の核小体タンパク質がM期に関与することを見出しました。それらの中からrRNAの転写とプロセッシングに関わるNOL11(nucleolar protein 11)というタンパク質に焦点を絞って研究を進めたところ、NOL11のノックダウンによって、Cdk1キナーゼの活性が抑制されて細胞分裂の開始が遅延することを発見し、その原因が、Cdk1キナーゼの阻害因子であるWee1キナーゼ<sup>注7</sup>の異常な蓄積によることをつきとめました。また、NOL11のノックダウンが分裂間期での核小体の崩壊を引き起こすことから、他の手段によって核小体の崩壊させたところ、NOL11をノックダウンした場合と同じ分子メカニズムで細胞分裂期の開始が遅延することを確認しました。さらにNOL11をノックダウンした場合でも、核小体の崩壊を抑制すると、Wee1キナーゼの蓄積とそれによるCdk1キナーゼ抑制的な制御は軽減されました。

これらの結果は、分裂間期での核小体の崩壊が、Wee1キナーゼの異常な蓄積を介したM期開始の遅延に普遍的に関与することを証明しています(図3)。

## 今後の展開

本研究は、核小体の構造変化と細胞分裂のタイミングを結び付ける新たな視点をもたらし、基礎的な観点からも非常に重要な発見です。しかしながら、その分子メカニズムは未知の部分が残されています。例えば、核小体が崩壊した際にどのようにメカニズムによって Wee1 キナーゼが蓄積していくのかを明らかにすることは今後の課題です。また、本研究グループは NOL11 以外にも約 60 種類の核小体タンパク質が M 期の進行に関与することを見出していますが、それらの因子が M 期のどのステップにどのようなメカニズムで働いているかはわかっていません。核小体と細胞分裂期とのリンクを総合的に理解するためには、それらを解明することが必要不可欠です。

臨床的な観点からは、核小体の構造異常はがん細胞の悪性度を指し示す所見の一つであり、がんの診断に広く用いられてきたものの、なぜ核小体の構造異常はがん細胞の悪性化と関連するのかその意味するところは現在のところ分かっておりません。M 期の異常が進行がんで顕著となる染色体不安定性の原因となることから、核小体の構造と M 期の異常との関連性がさらに明らかになれば、核小体構造異常の病理的意義に関する重要な手がかりが得られることが期待されます。

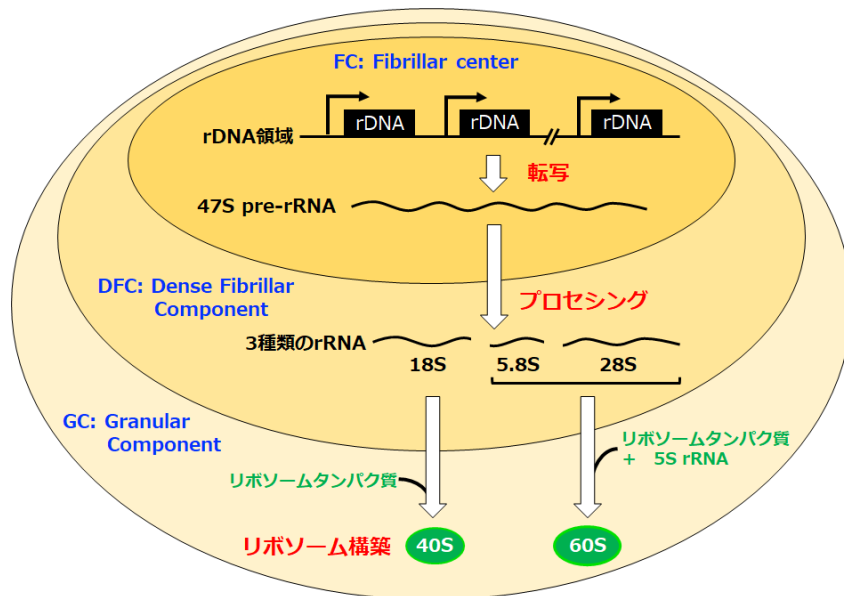


図1. 核小体の構造と核小体でのリボソームの組み立て

核小体は rRNA をコードしている rDNA が反復している領域の周辺に形成される。中心から FC(繊維状中心部)、DFC(高密度繊維状部)、GC(顆粒部)の3つの領域から成り、FC には rRNA 転写に関する因子、DFC には rRNA プロセッシング因子が局在する。

FC と DFC の境界で rRNA の前駆体(47S pre-rRNA)が転写され、DFC でプロセッシングされて 3 種類の rRNA になる。GC で rRNA は 5S rRNA や多種類のリボソームタンパク質と複合体を形成してリボソームが形成される。

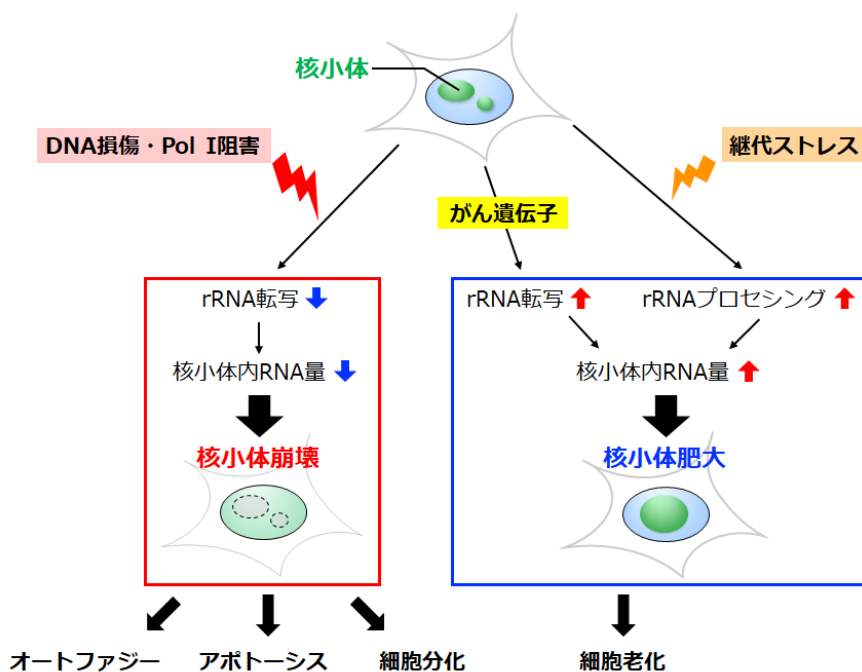


図2. 核小体構造変化による細胞機能の制御

本研究グループは先行研究において、種々の細胞ストレスにより核小体の形態が変化して、アポトーシス・細胞老化・細胞分化・オートファジーが引き起こされることを見出している。核小体形態の変化に応じて局在移行した特定の核小体因子が、これらの過程に関与していると考えられる。

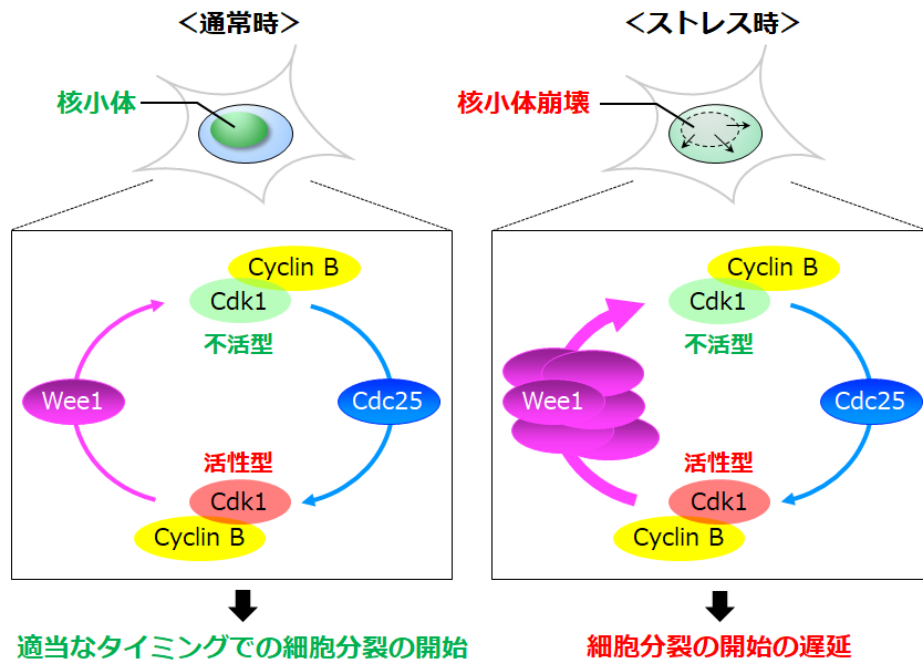


図3. 核小体崩壊によるM期の遅延

Cdk1 キナーゼの活性は、Wee1 キナーゼによるリン酸化で抑制され、それと拮抗する Cdc25 ホスファターゼによる脱リン酸化で活性化される。通常時は、Wee1 キナーゼと Cdc25 ホスファターゼの絶妙なバランスにより、適切なタイミングで細胞はM期に進行する。細胞がストレスを受けた際に rRNA の転写が低下して核小体が崩壊すると、何らかのメカニズムで Wee1 キナーゼが蓄積して Cdk1 キナーゼの活性化が阻害され、M期の開始が遅延する。

#### 用語解説

注1) siRNA

21-23 の塩基対から成る短い二本鎖 RNA。二本鎖 RNA を細胞内に導入すると、これと相補的な塩基配列を持つ mRNA(メッセンジャーRNA)が特異的に分解される(RNA 干渉)。この現象を利用して任意の遺伝子の発現が抑制できる。

注2) ノックダウン

siRNA などにより特定の遺伝子の転写量を低下させることをさす。

注3) 細胞分裂期(M期)

細胞が染色体 DNA などの構成成分を 2 倍にして、2 つの細胞に分配する過程を細胞周期と呼ぶ。細胞分裂期は、細胞周期のうちで細胞が分裂する約 1 時間の短い時期をさす。

注4) Cdk1 キナーゼ

M 期の様々な基質タンパク質をリン酸化する酵素。Cdc2 キナーゼともよばれる。Cdk1/サイクリン B 複合体の活性化が M 期開始の引き金となり、M 期終結時には不活性化される。

注5) 分裂間期

M 期と M 期の間を分裂間期と呼ぶ。大部分の細胞は分裂間期である。

注6) 核内ボディ

特異的な RNA とタンパク質を高濃度に含んだ真核細胞の核内に存在する構造体。現在までに 10 種類以上発見しており、遺伝子機能の効率的な発現に関わると考えられる。

#### 注7) Wee1 キナーゼ

Wee1 キナーゼは Cdk1 キナーゼの抑制的なリン酸化部位をリン酸化してそのキナーゼ活性を抑制する酵素。Cdc25 ホスファターゼは Wee1 キナーゼと拮抗し、Cdk1 を脱リン酸化して活性化する。

#### 参考文献

- 1) Hayashi Y, Kuroda T, Kishimoto H, Wang C, Iwama A, and Kimura K. Downregulation of rRNA transcription triggers cell differentiation.  
*PLoS One* (2014) 9:e98586
- 2) Nishimura K, Kumazawa T, Kuroda T, Katagiri N, Tsuchiya M, Goto N, Furumai R, Murayama A, Yanagisawa J, and Kimura K. Perturbation of ribosome biogenesis drives cells into senescence through 5S RNP-mediated p53 activation.  
*Cell Rep.* (2015) 10:1310–1323
- 3) Katagiri N, Kuroda T, Kishimoto H, Hayashi Y, Kumazawa T, and Kimura K. The nucleolar protein nucleophosmin is essential for autophagy induced by inhibiting Pol I transcription.  
*Sci. Rep.* (2015) 5:8903
- 4) Kumazawa T, Nishimura K, Katagiri N, Hashimoto S, Hayashi Y, and Kimura K. Gradual reduction in rRNA transcription triggers p53 acetylation and apoptosis via MYBBP1A.  
*Sci. Rep.* (2015) 5:10854

#### 掲載論文

- 【題名】 Nucleolar integrity during interphase supports faithful Cdk1 activation and mitotic entry  
(分裂間期における核小体構造の維持が Cdk1 の活性化と細胞分裂期の開始を担保する)
- 【著者名】 林 優樹、藤村 亜紀子、加藤 かざし、宇田川 里奈、広田 亨、木村 圭志
- 【掲載誌】 *Science Advances*

#### 問い合わせ先

木村 圭志(きむら けいじ)  
筑波大学 生命環境系 准教授