

癌関連タンパク質の発現量を調節する新しいメカニズムの発見

研究成果のポイント

1. 細胞増殖抑制タンパク質 p21 の分解速度は、ユビキチンリガーゼ SCF^{Fbl12}による混合型ユビキチン鎖付加によって遅らされることを見出しました。
2. 選択的タンパク質分解に重要なユビキチン鎖が、結合様式の違いによって、分解速度を調節するという新しい知見を得ました。
3. p21 発現量の異常は、様々な癌発症や悪性化との関連性が示唆されていることから、本成果を基盤とした新たな癌研究へのアプローチが期待されます。

国立大学法人筑波大学生命環境系 鶴田文憲助教、千葉智樹教授らの研究グループは、筑波大学生命環境系 兼森芳紀助教、馬場忠教授らとの共同研究で、細胞増殖抑制遺伝子 p21(注1)の発現量を調節する新しいメカニズムを発見しました。

p21は、細胞周期を促進するサイクリン依存性キナーゼ(CDK)(注2)と結合し、細胞増殖を抑制することが知られています。p21は半減期の短い不安定なタンパク質で、転写翻訳されてから約30分から1時間程度で分解します。先行研究から、p21発現量の異常な変動は、乳癌や膵臓癌を始めとする様々な癌との相関が示唆されています。このことから、p21の厳密な発現量制御は、細胞が正常な状態を維持していく上で非常に重要です。しかし、p21の発現量制御に関する詳細なメカニズムには不明な点が数多く残されていました。

本研究では、タンパク質を分解誘導するユビキチンリガーゼSCF^{Fbl12}(注3)が、予想に反し、p21分解の遅延に関わることを発見しました。ユビキチンリガーゼは標的タンパク質上にポリユビキチン鎖という数珠状の構造物を形成し、プロテアソーム(注4)と呼ばれる巨大プロテアーゼ複合体による分解を誘導します。興味深いことに、SCF^{Fbl12}によるp21のユビキチン鎖は、通常とは異なるユビキチン鎖の形状をとり、CDK2との結合能亢進、プロテアソームによる分解効率の低下を促し、結果的にp21発現量の増加や細胞増殖の抑制に寄与することを見出しました。またプロテアソームの活性化サブユニットの一つPA28 γ が、SCF^{Fbl12}によるp21ユビキチン化効率を低下させ、不安定にさせることも発見しました。本メカニズムのさらなる検証は、p21の異常を原因とする様々な癌発症のメカニズム解明や治療法確立につながることを期待されます。

* 本研究成果は、5月23日付「Molecular and Cellular Biology」で先行公開されており、間もなく正式に公開されます。

* 本研究成果は、科学研究費補助金若手研究B(23770218)によって実施されました。

研究の背景

細胞増殖抑制遺伝子p21の翻訳産物(タンパク質)は、CIP/KIPファミリーに属するサイクリン依存性キナーゼ阻害因子の一つで、細胞の増殖のみならず、分化や走化性にも関わることが報告されています。また、明確な構造を持たない非構造タンパク質で、合成後、約30分から1時間程度で分解されてしまう不安定なタンパク質でもあります。先行研究から、細胞内でのp21発現量は、タンパク質レベルでの合成や分解の制御のみならず、mRNAレベルでも厳密に制御されていることが示唆されていました。またこの調節機構が破綻し、p21発現量が正常な閾値から逸脱すると、乳癌、膵臓癌、脳腫瘍など、様々な癌発症につながる可能性が示唆されています(1)。このことから、細胞内でのp21発現量を厳密に制御することは極めて重要ですが、その詳細な分子メカニズムには不明な点が数多く残されていました。

研究内容と成果

本研究では、p21発現量を制御する候補因子として、ユビキチンリガーゼSCF^{Fbl12}に着目しました。これまでに本研究グループは、SCF^{Fbl12}がCIP/KIPファミリーの一つであるp57をユビキチン化して骨芽細胞分化を調節すること、別のファミリータンパク質であるp27のユビキチン化には影響を与えないことを報告してきました(2)。そこで、まだ未解析であったp21に対する影響を解析したところ、細胞内においてSCF^{Fbl12}はp21を効率良くユビキチン化することを見出しました。次に、このユビキチン化がプロテアソーム依存的な分解を促進するかを解析したところ、予想に反して、p21はSCF^{Fbl12}によるユビキチン化依存的に発現量が増加しました。このことから、p21のユビキチン化はプロテアソーム依存的な分解に重要なLys48連結型ユビキチン鎖ではなく、別の結合様式をとるのではないかと考えました。そこで、ユビキチン変異体やユビキチン結合様式特異的抗体を用いて検証したところ、SCF^{Fbl12}によるユビキチン鎖形成は、Lys48連結型のみならず、Lys63連結型ユビキチン鎖を含んだ混合型ユビキチン鎖を形成することがわかりました。さらにこの混合型ユビキチン鎖が形成されることで、CDK2との結合能が上昇し、p21のプロテアソーム分解の効率を低下させること、また細胞増殖を遅らせることを発見しました。

次に、詳細な分子メカニズムを検証するため、Fbl12結合タンパク質を探索したところ、プロテアソーム活性化因子の一つPA28 γ を同定しました。先行研究から、PA28 γ はユビキチン非依存的にp21と結合し、プロテアソーム分解を誘導することが報告されていました。私たちは、PA28 γ によるp21分解の制御メカニズムを解析したところ、先行研究とは異なり、PA28 γ はp21をユビキチン非依存的に直接分解するというより、SCF^{Fbl12}によるp21ユビキチン化効率を低下させ、その結果、プロテアソーム分解を受けやすくする現象を見出しました。

これらの結果から、細胞内で形成されるユビキチン鎖は、単一の結合様式によってのみ制御されているのではなく、混合型ユビキチン鎖によってプロテアソームによる分解速度が調節されている可能性が考えられました。

今後の展開

p21の発現量制御は、細胞が正常に機能するための重要な分子機構です。p21のみならずFbl12の変異も腎臓癌発症の関連因子として報告されていることから(3)、本研究によるメカニズム破綻は様々な癌発症や悪性化の新規メカニズム解明、ならびに治療薬開発に貢献できるのではないかと期待しています。

参考図

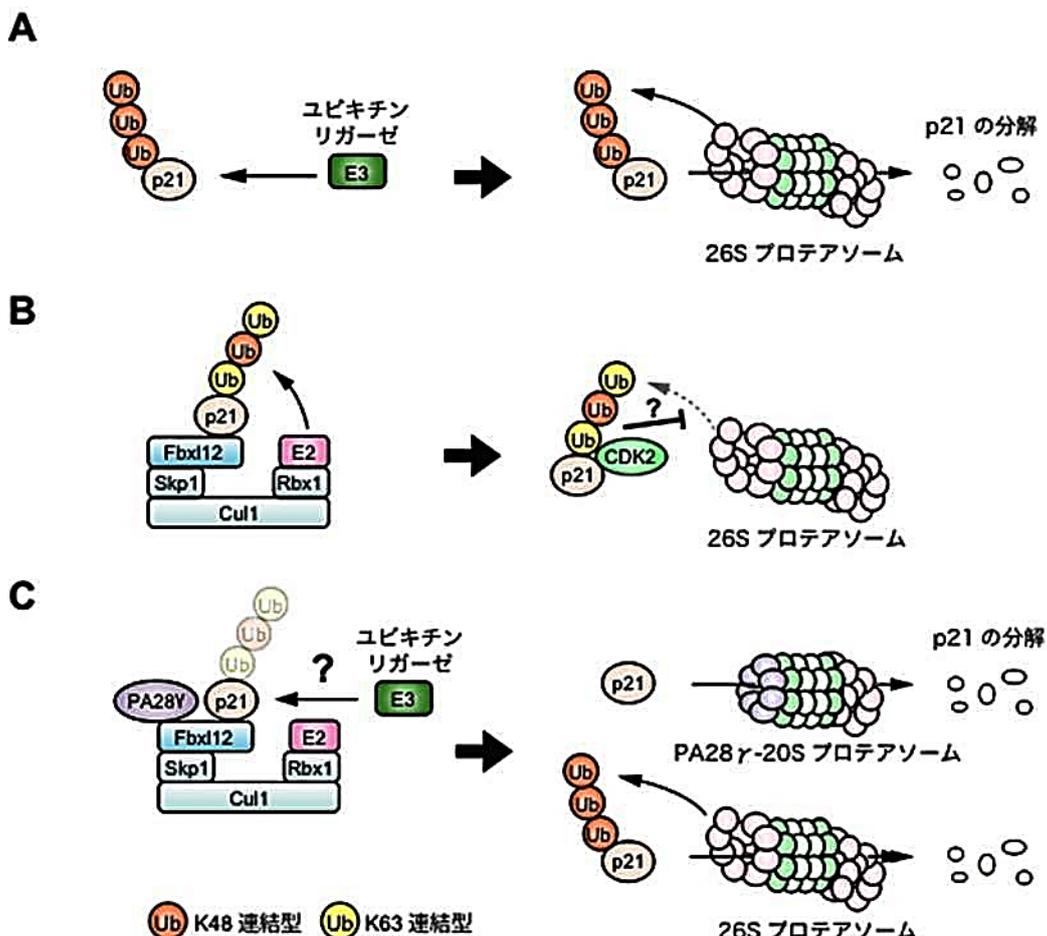


図 p21 分解調節の分子メカニズムのモデル

- A. p21 は半減期の短いタンパク質で、通常の状態でも様々なユビキチンリガーゼによって分解誘導される。
- B. SCF^{Fb112} が p21 を認識すると、K48 結合型以外に K63 結合型ユビキチン鎖を含んだ混合型ユビキチン鎖を形成する。その結果、CDK2 との結合能が亢進し、プロテアソーム依存的な分解効率が低下する。
- C. プロテアソーム活性化因子 PA28γ が結合すると、SCF^{Fb112} による p21 ユビキチン鎖形成の効率が低下し、p21 が不安定となり、分解誘導される。

用語解説

注 1) p21

サイクリン依存性キナーゼ阻害因子の一つで、サイクリン-CDK2 などの CDK ファミリーと結合し、キナーゼ活性を抑制する。p21 は DNA 損傷刺激などによって発現上昇し、細胞周期 G1 期の進行を調節することが知られている。

注 2) サイクリン依存性キナーゼ (CDK)

細胞分裂の周期 (細胞周期) を動かすためタンパク質。同じタンパク質のサイクリンと結合して働く。

注 3) ユビキチンリガーゼ SCF^{Fb112}

ユビキチンは、進化的にも広く保存された 76 アミノ酸からなるタンパク質で、タンパク質分解、DNA 修飾、シグナル伝達、膜輸送など様々な細胞内現象の制御に関与している。中でも 48 番目のリシンを

介した結合様式は、プロテアソームによる選択的分解に対して重要な役割を担う。その結合を媒介する酵素がユビキチンリガーゼ。SCF^{Fbl12} は、Skp1、Cul1、Rbx1、Fbl12 からなるユビキチンリガーゼ複合体。Fbl12 が p21 を認識する。

注4) プロテアソーム

細胞内のタンパク質を分解する巨大な酵素複合体。代表的なプロテアソームとして、プロテアーゼ活性を有する 20S プロテアソームと 19S 複合体からなる 26S プロテアソームがある。また、ユビキチン非依存的分解に関与する PA28 γ と 20S 複合体からなるプロテアソームも存在する。

参考文献

- (1) Abbas T. and Dutta A. p21 in cancer: intricate networks and multiple activities. **Nat.Rev.Cancer** 9:400-414 (2009)
- (2) Kim M. et al. A new ubiquitin ligase involved in p57KIP2 proteolysis regulates osteoblast cell differentiation. **EMBO Rep.** 9:878-884 (2008)
- (3) Varela I. et al. Exome sequencing identifies frequent mutation of the SWI/SNF complex gene PBRM1 in renal carcinoma. **Nature** 469:539-542 (2011)

掲載論文

【題名】 SCF^{Fbl12} increases p21^{Waf1/Cip1} expression level through atypical ubiquitin chains synthesis

「SCF^{Fbl12} は非定型ユビキチン鎖形成を介して p21^{Waf1/Cip1} 発現量を増加させる」

【著者名】 Fuminori Tsuruta, Ai Takebe, Kousuke Haratake, Yoshinori Kanemori, Jaehyun Kim, Tomoyuki Endo, Yu Kigoshi, Tomomi Fukuda, Hatsumi Miyahara, Manato Ebina, Tadashi Baba, Tomoki Chiba

【掲載誌】 Molecular and Cellular Biology
doi:10.1128/MCB.00174-16

問い合わせ先

鶴田文憲 筑波大学 生命環境系 助教

千葉智樹 筑波大学 生命環境系 教授

〒305-8572 茨城県つくば市天王台 1-1-1