

【目的】がんではゲノムの倍加（多倍体化）がしばしば認められ、多倍体化は染色体不安定性を惹起し、がんのクローン進化と予後不良につながるとされる。このため、ゲノムの多倍体化に着目し、多倍体がん細胞の特に細胞増殖の弱点を標的とした治療を確立することができれば、予後不良な多倍体がん、染色体不安定性を示すがんに特異的な治療戦略となることが期待されるが、未だ多倍体がん、染色体不安定性を示すがんに特異的な治療法は確立されていない。我々は、増殖する多倍体がん細胞では特にUBE2Cという細胞周期進行に関わるユビキチンE2結合タンパク質が高発現していることを先行研究において見出した。そこで本研究では、多倍体がん細胞がその増殖過程においてユビキチン・プロテアソームシステムに何らかの変化を生じている可能性に着目し、同システムを多倍体がんの治療標的とするための基礎的検討として、倍数性の違いに伴う細胞周期の進行とUPS制御の変化について検討することを目的とした。

【方法】ヒト肝がん細胞株Huh7を用いてFucciを安定的に発現する細胞Huh7-Fucciを作製した。2倍体細胞または4倍体細胞を主として構成される、異なる倍数性プロファイルを示す細胞株（2倍体株、多倍体株）を樹立し両者をタイムラプス解析することにより、倍数性に伴う細胞周期の進行やタンパク質のユビキチン化分解動態の変化を評価した。また、細胞周期進行過程でのユビキチン化に重要な役割を果たすUBE2Cやそのドミナントネガティブ変異体を発現誘導することにより、UBE2C自体が治療標的となりうるのかどうかについて評価した。

【結果】複数のHuh7-Fucci株を作製し、そのG1期細胞の倍数性をフローサイトメトリーにより評価することで、2倍体細胞または4倍体細胞を主として構成する、2倍体細胞株、多倍体細胞株を得た。両者の細胞周期の進行をタイムラプス観察により評価したところ、多倍体細胞株は2倍体細胞株に比べ、細胞周期全体の長さ、およびG1期、S期の時間が有意に短かった。一方、多倍体細胞株はM期において染色体が赤道面に並ぶためにかかる時間が長く、M期全体の長さも2倍体細胞株より優位に長かった。特に多倍体細胞株は、M期終了後のG1期、S期への進行が早く、この移行中におけるGemininの分解をFucciの蛍光タンパクの輝度によりモニターしたところ、倍数性が高い細胞ほどGemininの分解が遅延していることが示唆された。多倍体化することによる、細胞周期中のタンパク質のユビキチン化・分解の遅延が示唆されたため、UBE2Cを過剰発現、あるいはドミナントネガティブ体の発現により阻害することで、多倍体細胞の減少が認められるか検討したが、これらの処理ではHuh7細胞における多倍体細胞の出現は抑止されなかった。

倍数性の違いに伴う細胞周期進行とユビキチン化タンパク分解の変化

