

YIA-3 足場非依存性細胞増殖への cyclin D1 の関与

森 一憲、野瀬 清、柴沼 質子 (昭和大学 薬学部 微生物薬品化学教室)

がん細胞の足場非依存性増殖は、転移にとって重要な意義がある。我々は、乳がんを含む多くのヒトがんで過剰発現が認められ、かつ足場非依存性増殖誘導活性を持つ cyclin D1 (D1)の局在が、細胞の接着状態に依存しており、浮遊状態下で強制的にD1を核に局在化させると、浮遊状態での細胞の生存を促進させることを見出した。本研究では、接着依存性のD1核局在とがん化シグナルによる転移能誘導との関係について活性化 ras を用いて検討を加えた。NIH3T3細胞に v-Ki-ras を導入して内在性D1の局在を検討したところ、浮遊状態において強いD1の核局在がみられ、D1核局在の接着依存性が消失していた。しかし興味深いことに、外来性のD1について同様に検討したところ、内在性のD1と異なり、v-Ki-ras 導入の影響はみられず、浮遊状態にすると核局在は低下する傾向を示し、接着依存性を示した。D1にはヒトがん組織に特異的に発現しているアイソフォーム (D1b) が存在することが報告されている。D1bは、D1a (全 Exon から成る) との違いとして、核外排出に寄与するC末端部をコードする Exon5 の代わりに Intron4 を含んでいるために核外排出を受けず、恒常的に核に局在することが示唆されている。上述のように、v-Ki-ras 発現細胞では外来性D1 (D1a) と内在性D1との間で細胞内局在の接着状態に対する挙動の違いがみられたが、その原因として浮遊状態で核に存在していたD1がD1bアイソフォームである可能性考えられた。実際にv-Ki-ras 発現 NIH3T3細胞について、D1の Exon5 が欠損し、Intron4 を含む splice variant が発現していることが確認された。そこで、D1とそのアイソフォームであるD1bについて、v-Ki-ras 導入による発現変化を real time PCR 法により検討したが、D1a及びD1bの発現量に変化はみられなかった。しかし、D1bで生じている Exon5 欠損の細胞内局在への影響について、Exon5 欠損D1を構築し、v-Ki-ras と共に NIH3T3細胞に導入して、その局在を検討したところ、浮遊状態において強い核染色像が確認され、内在性D1の挙動と一致した。以上のことから、ras がん化シグナルによる cyclin D1 核局在の接着依存性消失は、局在制御機構の変化ではなく、Exon5 でコードされる核外排出に関与するドメイン欠損アイソフォームが関与することが示唆された。