

KANK1の機能不全による細胞分裂異常

Abnormal cell division caused by KANK1 dysfunction

工学研究科 産業技術デザイン専攻
物質生命化学 博士後期課程

今村育実

主査 木山亮一

研究背景

KANK1はヒトの9番染色体に位置する腎細胞がんのがん抑制遺伝子として発見された。KANK1タンパク質は、N末端側に核局在化および核外移行シグナルの潜在的なモチーフであるKNモチーフ、遺伝子発現に関与するコイルドコイルドメイン、そして、C末端側にタンパク質相互作用を制御するアンキリンリピートドメインをもつ。さらに、KANK1タンパク質は、主に、細胞分裂、細胞骨格形成の抑制、細胞運動に関与することが報告されている。

研究目的

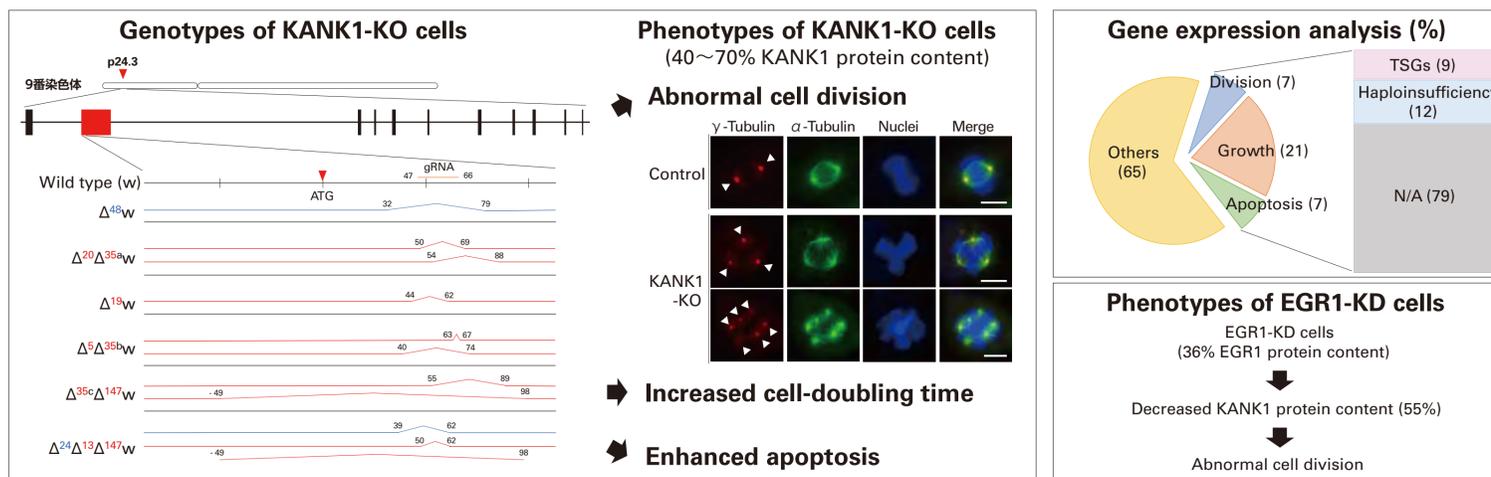
本研究では、KANK1が関わる細胞分裂機構に着目してKANK1の機能低下による細胞機能への影響について解析を行った。まず、ゲノム編集によりKANK1-KO細胞株を樹立し、細胞分裂、細胞増殖、アポトーシスの観点から細胞の表現型を解析した。さらに、KANK1の発現量に影響を受ける他の遺伝子の中で、遺伝子の変異により対立遺伝子から生成されるタンパク質の量が正常な細胞機能に不十分なために機能不全を起こす現象(ハプロ不全)に関連のある遺伝子について解析することで、KANK1の重要性について議論を行った。

研究概要

本研究では、まず、KANK1を標的にゲノム編集を行い樹立した KANK1-KO細胞株について表現型(細胞分裂、細胞増殖、アポトーシス)の解析し、さらに、遺伝子発現解析による関連遺伝子について解析することで、KANK1がハプロ不全を引き起こすメカニズムについて検討した。

- KANK1-KO細胞株のKANK1タンパク質を定量したところ、コントロールに比べて40%~70%に減少した。
- KANK1-KO細胞株の表現型を解析したところ、フレームシフト突然変異がある細胞株では細胞分裂期において中心体数異常を示す細胞の割合が増加し、さらに、長い増殖時間と高いアポトーシス活性を示した。
- 遺伝子発現解析の結果から、KANK1の発現量低下により影響を受けた遺伝子は87遺伝子あり、そのうちの約35%が細胞分裂、細胞増殖、アポトーシスに関係していた。また、がん抑制遺伝子やハプロ不全の報告があるEGR1、BMP3、MDGA2が含まれていた。
- EGR1-KD(ノックダウン)細胞において、EGR1遺伝子の発現が低下することで細胞分裂に異常が起こることを確認した。また、KANK1タンパク質を定量したところ、KANK1タンパク質の量が低下し、さらに、細胞分裂時の中心体数異常を示す細胞の割合が増加していた。

本研究では、ゲノム編集によりKANK1-KO細胞株を樹立し、KANK1の発現量の低下による影響について検討した。その結果、KANK1タンパク質の量が細胞分裂や細胞増殖、アポトーシスに影響を与え、さらに、KANK1の発現が低下することによりEGR1、MDGA2、BMP3の3つのがん抑制遺伝子の発現量にも変化があったことから、KANK1-KO細胞株の表現型にこれらの遺伝子が影響する可能性が示唆された。



総括

本研究の結果、KANK1タンパク質の枯渇が細胞分裂異常を引き起こし、さらにKANK1の発現量が他の遺伝子のハプロ不全を引き起こすことで細胞分裂異常を引き起こすのではないかと考えられる。

今後は、KANK1の発現量の低下により影響を受けたアポトーシスに関係する遺伝子を調べることで、KANK1のアポトーシス経路について解明したい。



指導教員コメント

本研究では、最先端のゲノム編集技術をがん抑制遺伝子の機能解明に利用することでがんのメカニズムに関する研究を進め、ハプロ不全を示すがん抑制遺伝子のネットワークによって引き起こされる細胞分裂異常によるがん化のメカニズムという新たな仮説が得られた。今後はこの仮説をさらに検証することで、基礎分野だけでなくがんの診断や治療の分野に貢献できると考える。