

〈8〉新規癌関連遺伝子 NAC-1 の卵巣癌染色体不安定性誘導機構に関する研究

島根大学医学部産科婦人科 中山 健太郎

我々が発見した新規癌遺伝子 *NACC1* は再発卵巣癌で過剰発現し、タキサン製剤の耐性を誘導する事を明らかにした。*NACC1* を正常細胞に過剰発現させると、Abnormal mitosis の頻度を有意に増加させ、染色体不安定性を誘導する可能性が示された。これらの *NACC1* 導入細胞株は足場非依存性増殖能、ヌードマウスでの腫瘍産生能を獲得していた。近年の研究では染色体不安定をもった細胞は腫瘍産生能を獲得すると報告されており、*NACC1* 過剰発現による腫瘍産生能獲得はこの報告をサポートするものとなる。すなわち、*NACC1* は CIN 誘導遺伝子であり CIN 誘導の後、付随の遺伝子変化が生じて正常細胞が癌化した事が示唆される。*NACC1* の siRNA や Dominant negative な作用をもつ *NACC1* の N 末領域の deletion mutant を作成し、*NACC1* が過剰発現している SKOV3 細胞に発現させると、細胞死を引き起こす事を発見した。*NACC1* を強制発現させた細胞株において遺伝子レベルが低下する遺伝子群を網羅的に検索し、NAC1 の下流の標的遺伝子として GADD45GIP1 を同定した。GADD45GIP1 はアポトーシスを誘導し、NAC1 は GADD45GIP1 遺伝子の転写を抑制的に制御していると考えられた。

NAC1 は BEN 領域を有するファミリータンパク質である NACC2 とはヘテロ二量体を形成できるが、BEN 領域を有しない他の BTB 領域タンパク質とはヘテロ二量体を形成できなかった。NAC1 タンパク質は、コンピュータ検索により最近同定された BEN 領域を有する。試験管内結合実験により、BEN 領域を介して NAC1 タンパク質は直接 DNA と結合することを証明した。PCR を利用したランダムオリゴ DNA 結合スクリーニング法により、BEN 領域依存的に NAC1 タンパク質に結合する DNA 配列を決定した。この DNA 配列は GADD45GIP1 遺伝子のプロモーター領域に 4 カ所存在する。試験管内結合実験により NAC1 タンパク質は BEN 領域を介して GADD45GIP1 遺伝子のプロモーターに直接結合する事を発見した。

緑色蛍光タンパク質 (GFP) あるいは赤色蛍光タンパク質 (m Cherry) を融合させた NAC1 タンパク質発現 HeLa 細胞を作製し、コンフォーカル顕微鏡を用いた FRAP および FLIP 解析により詳細な NAC1 の細胞内動態を検討した。GFP 単独には及ばないまでも NAC1 の流動性は高く、BEN 領域欠損や二量体形成能を有しない変異体ではさらに流動性は亢進していた。一方、二量体形成能を有しない変異体では DNA 結合能の有無に関わらず、その流動性は同じであった。つまり、二量体形成能を有しなければ、DNA 結合能も有しないと考えられる。

参考文献

1. Nakayama K, Rahman MT, Rahman M, Ishikawa M, Yeasmin S, Katagiri A, Iida K, Nakayama N, Miyazaki K. Biological role and prognostic significance of NAC1 in ovarian cancer. *Gynecol Oncol.*, 119: 469-478, 2010.
2. Shih IeM, Nakayama K, Nakayama N, Zhang J, Wu G, Cope L, Wang TL. Amplification of the ch19p13.2 NACC1 locus in ovarian high-grade serous carcinoma. *Mod Pathol.*, Jan 14. [Epub ahead of print], 2011.