

# 細胞周期制御の分子メカニズム

土屋 勇一

東邦大学医学部生化学講座

**要約**：細胞周期は単細胞生物から多細胞高等生物に至るまで、すべての生命体にとって欠くことのできない重要な過程である。細胞周期では単に1つの細胞が2つに分裂するだけでなく、遺伝情報の担い手である染色体DNAを正確に複製し、紡錘体を形成して染色体を正確に娘細胞へ分配する必要がある。そのため染色体DNAおよび紡錘体に損傷が生じた場合にはチェックポイントが発動して、損傷の修復が完了するまで細胞周期を停止する。また高等生物において細胞周期とチェックポイントは、発生や分化および個体の恒常性維持と深く関連しており、その破綻は発生異常や癌などの疾患につながる。本総説では真核生物の細胞周期とチェックポイントを制御する分子メカニズムを概説する。また細胞周期と概日リズムの機能的な関連に触れ、時計分子医療に対する展望を紹介する。

東邦医学会誌 60(5)：292-294, 2013

**KEYWORDS** : cell cycle, checkpoint, chronotherapy

## 細胞周期とは何か？

細胞周期とは、細胞分裂で生じた娘細胞が母細胞となり、再び分裂して2つの娘細胞になる過程を指す。この際には遺伝情報の担い手である染色体DNAを正確に2倍に複製し、紡錘体を介して染色体を正確に娘細胞へ半分ずつ分配することで、細胞周期の継続性が保証される。したがって染色体DNAが合成される時期と細胞が分裂する時期が交互に現れる必要があり、前者をDNA合成=DNA Synthesisが起こる時期としてS期、後者を細胞分裂=Mitosisが起こる時期としてM期と呼ぶ。S期およびM期の前には準備段階であるGap期が存在し、それぞれG1期およびG2期と呼ばれる。したがって細胞周期はG1期-S期-G2期-M期の繰り返して進行する。またG1期の特定の時期において、細胞が増殖を始めるか、増殖を止めて静止期(G0期)に入るかが決定される<sup>1)</sup>。

## サイクリン依存性キナーゼとサイクリンの複合体による細胞周期制御

1970年のRaoとJohnsonによる培養細胞の融合実験および1971年のMasuiとMarkertによるカエル卵の微量注入実験から、M期細胞の細胞質には他の時期の細胞をM

期に変換するM期促進因子が存在することが示唆されたが、その分子の実体は不明であった。その後1970年代にHartwell et al.は出芽酵母を、Nurse et al.は分裂酵母を用いて多数の細胞周期変異体を単離し遺伝学的解析を進めた。その結果、細胞周期に必須の遺伝子産物である出芽酵母Cdc28および分裂酵母Cdc2は互いに類似したキナーゼであり、よく似た蛋白質が高等生物にも複数種類存在することが分かった。一方1983年にHunt et al.は海産生物の初期胚を用いた実験から、細胞分裂ごとに合成と分解を繰り返す蛋白質を同定しサイクリンと命名した。サイクリンに類似した蛋白質も真核生物に広く存在し、複数種類のサイクリンが細胞周期の異なった時期に発現することも明らかになった。これらの先駆的な発見を契機に細胞周期の研究が進化した結果、Cdc28/Cdc2類似キナーゼはサイクリンとの複合体形成によって蛋白質リン酸化酵素としての活性を示すことが分かり、現在ではサイクリン依存性キナーゼ(cyclin-dependent kinase: Cdk)と総称される。そして1980年代後半には、Cdk1とサイクリンBの複合体が生物種を超えて保存されたM期促進因子であることが明らかになった。これらの重要な発見に対して、Hartwell, Hunt, Nurseの3氏に2001年ノーベル医学生理学賞が授与された。

## リン酸化と蛋白質分解による Cdk1-サイクリン B 複合体の機能制御

Cdk1の活性化にはサイクリンBとの結合だけでなく、リン酸化による制御も必要であることが明らかになった。サイクリンBと結合したCdk1の14残基目のトレオニンおよび15残基目のチロシンが、Wee1/Myt1キナーゼによってリン酸化されるとCdk1は不活性化し、Cdc25ホスファターゼによって脱リン酸化されるとCdk1は活性化する。G2期においてはWee1/Myt1が優位であり、Cdk1の活性化は抑制される。しかしサイクリンBのさらなる合成に伴ってCdk1の活性がある閾値を超えると、Cdk1がWee1/Myt1をリン酸化して不活性化する一方で、Cdc25をリン酸化して活性化する。これにより形成が逆転しCdc25が優位となって、さらにCdk1の活性化が進むというポジティブフィードバックが形成される。こうしてCdk1は速やかに活性化し、多数の基質蛋白質をリン酸化してM期を誘導するが、基質の1つに分裂後期促進複合体(anaphase-promoting complex: APC)がある。Cdk1によってリン酸化されたAPCは、サイクリンBにポリユビキチン鎖を付加する。するとプロテアソームがポリユビキチン鎖を認識しサイクリンBを分解して、Cdk1は活性を失いM期は終了する。すなわちCdk1の活性化が自身の不活性化を誘導するというネガティブフィードバックが形成される。安定した細胞周期の進行にはネガティブフィードバックとポジティブフィードバックの両者が必要であることは、数理モデルを用いた解析からも支持されている。

## 高等生物における Cdk-サイクリン複合体の 分業体制

出芽酵母や分裂酵母では1種類のCdkが細胞周期を制御するのに対して、高等生物では複数のCdkが存在する。生化学的および細胞生物学的解析により、高等生物ではそれぞれのCdkに固有の役割があることが示された。すなわちCdk1-サイクリンB複合体がM期を誘導するのに対して、Cdk2-サイクリンE複合体は染色体DNAの複製を開始させると考えられている。またサイクリンAはCdk1およびCdk2と複合体を形成して、S期からG2期への進行に関与すると推測されている。一方G0期からG1期への移行には、Cdk4/6-サイクリンD複合体が重要な役割を担うとされる。しかし遺伝子改変マウスを用いた最新の研究によれば、Cdk1のみで細胞の分裂と初期発生までは可能であることが分かった。一方Cdk2遺伝子破壊マウスは正常に生まれ発育するが雌雄とも不妊であり、Cdk4/6遺伝子破壊マウスは胎児後期まで成長するものの造血不全により致死となった。これらの結果から、高等生物は複数の

Cdkを獲得することによって多様な組織の形成が可能になったと想像できる<sup>2)</sup>。

## チェックポイントによる細胞周期制御

1989年にHartwell et al.は、細胞周期の進行を常に監視して、異常が生じた場合には細胞周期を停止させる機構の存在を提唱し、チェックポイントと名付けた。チェックポイントは細胞周期を停止させる時期によって、①G1-Sチェックポイント、②S期チェックポイント、③G2-Mチェックポイント、および④M期チェックポイントの4種類に大別される。特にDNA損傷によるチェックポイントの発動には、癌抑制遺伝子産物であるp53が重要な役割を果たす。

G1-Sチェックポイントにおいては、増殖因子の受容、複製開始前の染色体DNAの損傷、複製開始の準備状況などが監視される。細胞周期がS期に進行するために必要な遺伝子の発現はE2Fと総称される一群の転写因子によって誘導されるが、静止期においては癌抑制遺伝子産物であるRbが結合してE2Fの機能を阻害している。Cdk4/6-サイクリンD複合体とCdk2-サイクリンE複合体が順次活性化すると、Rbはリン酸化されてE2Fに結合できなくなる。その結果E2Fが転写を開始して細胞周期がS期に進行する。G1-Sチェックポイントが発動すると、INK4ファミリーおよびCip/Kipファミリーと呼ばれるCdk阻害蛋白質が発現して、CdkによるRbのリン酸化を阻害し細胞周期をG1期で停止させる。RbやINK4ファミリーの機能喪失は癌で多くみられる。

S期チェックポイントは複製途中の染色体DNAに生じた損傷や、DNA合成機構自身の異常を監視する。S期チェックポイントは細胞周期を停止させるだけでなく、DNA複製の停止など広範囲な影響を及ぼす大変複雑な機構であり、全容の解明が待たれる。

G2-Mチェックポイントは複製終了後の染色体DNAの損傷を監視しており、損傷が存在した場合にはCdc25の機能を阻害して、Cdk1-サイクリンBの活性化を防ぎ細胞周期をG2期で停止させる。

M期チェックポイントは紡錘体に異常が生じ染色体が正しく分配できない場合に、APCを阻害してサイクリンBのポリユビキチン化を防ぐ。その結果サイクリンBは分解されず、細胞周期はM期で停止する。M期チェックポイントの破綻は染色体の不安定性を引き起こし癌化につながると推測される。

## 細胞周期、概日リズムと時計分子医療

細胞周期とチェックポイント、DNA損傷修復およびアポトーシスに関与する蛋白質群の中には、概日リズムに沿った発現を示すものがある。また時計蛋白質がDNA損

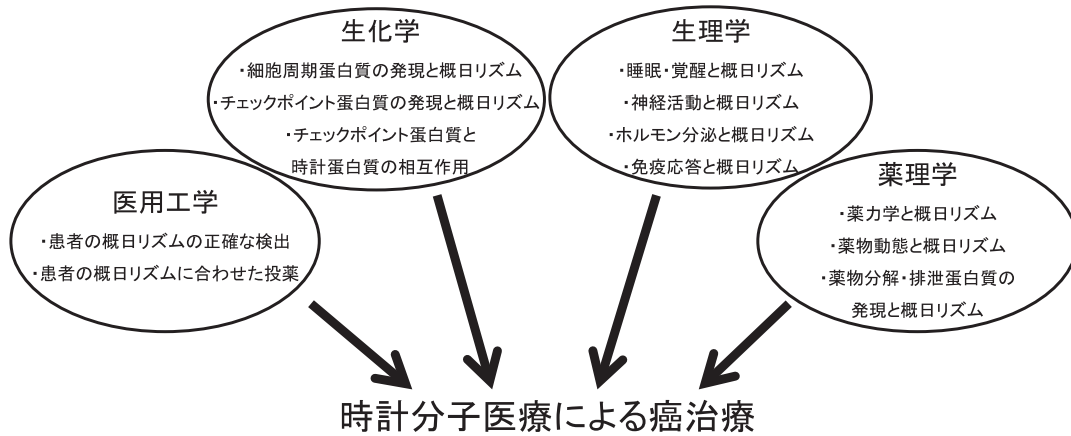


図1 時計分子医療による癌治療の展望

傷チェックポイント蛋白質と相互作用するという報告もある<sup>3,4)</sup>。抗癌剤の多くはDNAに損傷を与えることで癌細胞の細胞周期を止めるため、概日リズムが抗癌剤の効果に影響を与える可能性がある。これらの知見をもとに、正常組織の細胞周期が減速する時間帯、あるいは正常組織のDNA損傷修復能や薬物分解・排泄能が増強される時間帯に抗癌剤を投与することで、正常細胞に対する副作用を低下させ癌細胞への特異性を高める「時計分子医療による癌治療」が試みられている<sup>5)</sup>。今後は細胞周期と概日リズムの生化学的な解析に加えて、生理学的・薬理的な知見との統合や医用工学の進歩により、時計分子医療が一層発展すると期待される(図1)。

## 文 献

- 1) Morgan DO: カラー図説細胞周期—細胞増殖の制御メカニズム(中山敬一, 中山啓子監訳), メディカル・サイエンス・インターナショナル, 東京, 2008
- 2) Berthet C, Kaldis P: Cell-specific responses to loss of cyclin-dependent kinases. *Oncogene* **26**: 4469-4477, 2007
- 3) Hunt T, Sassone-Corsi P: Riding tandem: Circadian clocks and the cell cycle. *Cell* **129**: 461-464, 2007
- 4) Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Kang T-H, et al.: Circadian clock control of the cellular response to DNA damage. *FEBS Lett* **584**: 2618-2625, 2010
- 5) Lévi F, Okyar A, Dulong S, et al.: Circadian timing in cancer treatments. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **50**: 377-421, 2010