

118. ヒト一倍体体細胞における核相不安定性の分子機構

上原 亮太

北海道大学 創成研究機構 研究人材育成推進室

Key words : 倍数性, 細胞分裂, 中心体

緒言

細胞がゲノムを何セット持つかを示す「倍数性」は、細胞の根本的性質であるが、倍数性が細胞および個体機能に及ぼす影響に関する知見は非常に乏しい。原生動物や菌類などの比較的シンプルな真核細胞においては、一倍体・二倍体世代を問わず体細胞分裂による細胞増殖が可能であるのに対し、ヒトを含む多くの高等動物では体細胞期は厳密に二倍体世代に限定されている。一方、高等動物においても、単為発生や大規模な染色体喪失などの人為的・病理的原因により、一倍体状態の初期胚や体細胞が得られる。しかし、これまでに調べられている大半の動物種で一倍体胚は重篤な形態異常を伴う胚性致死を示し、また、一倍体体細胞は重篤なゲノム不安定性に伴う形質の不安定性を有することが知られている¹⁾ (図1)。これらのことから、高等動物細胞が安定に形質を維持しながら細胞増殖を行って、高次の形態形成を達成するためには、染色体が1セット揃っているだけでは不十分で、なんらかの理由で二倍体状態であることが要求されると考えられるが、その理由は全く不明である。

本研究では、一倍性のヒト培養細胞とその二倍体コントロール細胞を用いて、倍数性の違いが染色体の量的情報として細胞システムに反映され、細胞複製のプロセスに影響を及ぼす分子的な仕組みを明らかにし、多くの高等動物体細胞で二倍体性が厳密に保持されることの生理的意義を明らかにすることを目標とした。

方法

研究材料には、ヒト骨髓性白血病患者由来の一倍体細胞株 HAP1 細胞²⁾ を用いた。HAP1 は数週間の培養で二倍体化することから、長期培養カルチャーから二倍体細胞をセルソーターで分離濃縮して、二倍体コントロールとして用いた。一倍体、二倍体 HAP1 細胞を用いた生細胞観察、生化学解析によって、倍数性の違いが細胞周期進行や細胞複製などの基本的な細胞現象に与える影響を調べた。さらに、一倍体、二倍体 HAP1 のトランスクリプトームの比較を通して、倍数性依存的に発現変動する因子を網羅的に探索し、一倍体状態特異的に核相が不安定化する分子的な仕組みの手がかりを得ることを試みた。

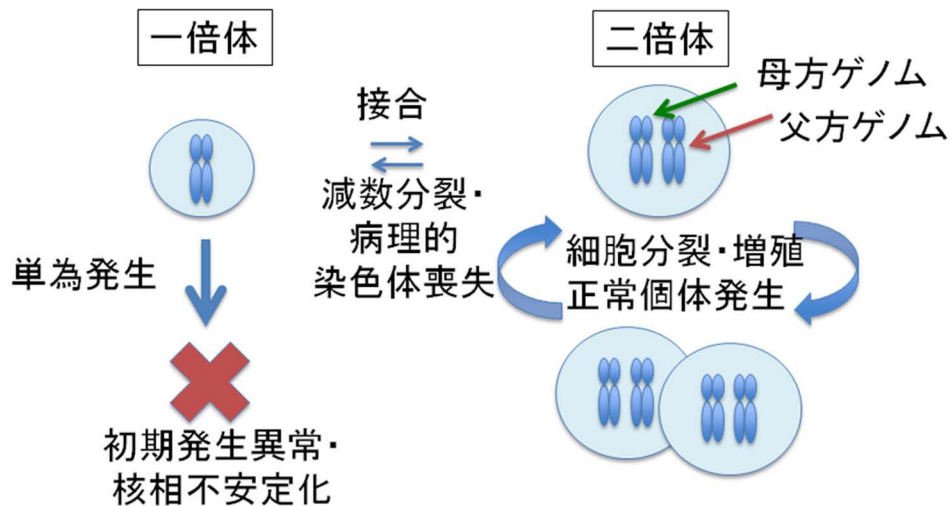


図1. 動物細胞の一倍体状態特異的な異常性

通常動物体細胞は母方、父方ゲノムを一セットずつ有する二倍体であるが、減数分裂した配偶子を単為発生で賦活化したり、細胞のガン化に伴う大規模な染色体喪失などの人為的、病理的原因で一倍体状態の体細胞が生じる。しかし、これらの一倍体体細胞は重篤なゲノム不安定性を有しており、単為発生過程においては初期発生異常による胚性致死となるのが一般的である。

結果および考察

一倍体 HAP1 細胞について、長期生細胞観察により細胞周期および細胞複製の進行を解析したところ、重篤な細胞分裂進行の障害が引き起こされていることを見出した。興味深いことに、一倍体 HAP1 細胞を二倍体化させたコントロール細胞においては、細胞分裂障害が解消していたことから、この細胞分裂障害が HAP1 細胞株の遺伝的異常を反映したものではなく、一倍体状態を反映したものであることが示唆された。さらに分裂細胞を固定し、間接蛍光抗体法によって紡錘体の形態を観察したところ、一倍体状態特異的に紡錘体が単極化していることがわかった (図2)。

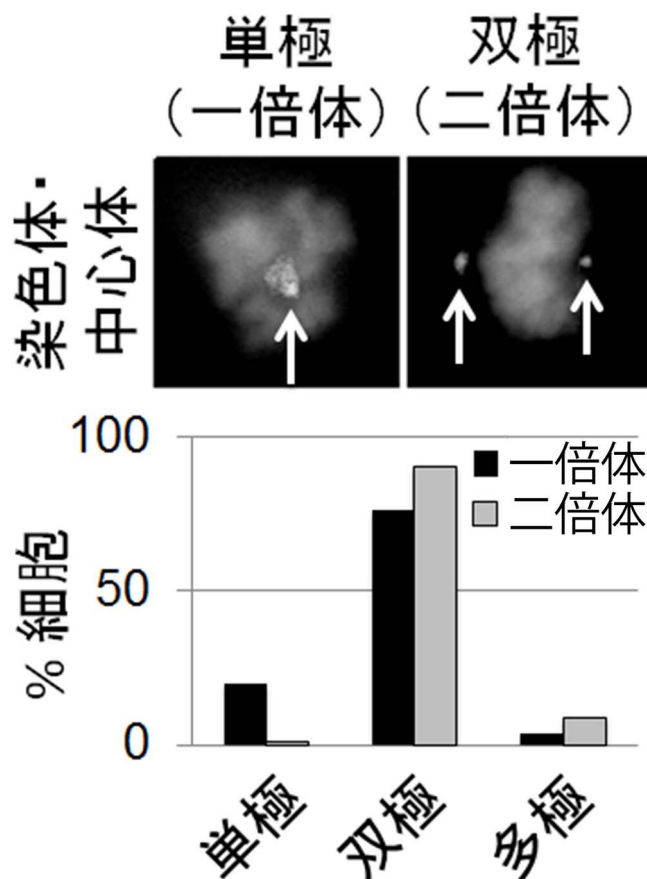


図2. ヒト一倍体細胞特異的な紡錘体の単極化

一倍体および二倍体 HAP1 細胞（細胞分裂期）において間接蛍光抗体法により中心体（矢印）および染色体を可視化した。一倍体状態特異的に中心体複製異常が見られ、紡錘体の単極化と、それに伴う染色体の整列異常が観察された。

細胞周期を同調させた一倍体および二倍体細胞の染色体および中心体複製過程の詳細な解析から、一倍体状態では、染色体複製が二倍体同様のタイミングで正常に起こるのに対し、中心体複製に重篤な遅延が発生していることが明らかになった。中心体を構成する中心小体の一倍体細胞における異常現象の数分布の解析から、紡錘体形成異常が二回以上の細胞周期における中心体複製の障害によって引き起こされていることが明らかになった。

つづいて、一倍体細胞特異的に中心体複製異常を引き起こす原因因子を突き止めるために、次世代シーケンサーを用いたトランスクリプトーム解析により一倍体および二倍体 HAP1 細胞において発現量に差が見られる因子の網羅的解析を行った。その結果、倍数性依存的な発現変動がある因子として、70 以上の遺伝子を同定した。今後はこれらの因子の機能抑制、亢進実験によって、一倍体状態特有の異常を解消できるかどうかを調べ、倍数性異常に起因する核相の不安定化の分子機構の解明を目指す。

一倍体細胞株は、ゲノム編集を用いた細胞機能改変技術の展開を促進する強力な研究ツールとしての可能性を秘めている。一倍体特異的な核相不安定化機構の解明は、倍数性の生物学的意義の理解を助けるにとどまらず、より汎用性の高い一倍体細胞株の樹立を後押しすると考えられる。

文 献

- 1) Leeb and Wutz, Haploid genomes illustrate epigenetic constraints and gene dosage effects in mammals. Epigenetics Chromatin. 2013 Dec 5;6(1):41. doi: 10.1186/1756-8935-6-41.

- 2) Carette JE1, Raaben M, Wong AC, Herbert AS, Obernosterer G, Mulherkar N, Kuehne AI, Kranzusch PJ, Griffin AM, Ruthel G, Dal Cin P, Dye JM, Whelan SP, Chandran K, Brummelkamp TR. Ebola virus entry requires the cholesterol transporter Niemann-Pick C1. *Nature*. 2011 Aug 24;477(7364):340-3. doi: 10.1038/nature10348.