

【目的】 サイクリン D1 は CDK4、6 と結合して主に G1/S 期の細胞周期進行を制御する。予後不良な乳癌のサブタイプとして知られているトリプルネガティブ乳癌を含む多くのがんでは、サイクリン D1 が過剰発現していることが知られている。サイクリン D1 の発現制御、特にタンパク質分解制御にはサイクリン D1 の Thr286 のリン酸化がプロテアソームによるタンパク質分解を誘導する。本研究ではサイクリン D1 の発現制御に関わる新たな分子としてカルシニューリンを同定した。その分子機構の解明はトリプルネガティブ乳癌治療における新たなターゲットの発見につながる可能性がある。

【方法】 トリプルネガティブ乳癌細胞株である Hs578T をカルシニューリン阻害薬である FK506、CN585 で処理し、FACS を用いた細胞周期解析、ウエスタンブロッティングおよび real time PCR を用いた細胞周期関連タンパク質の発現解析を行った。FK506 存在下でプロテアソーム阻害剤 MG132 を用いて、サイクリン D1 分解における FK506 の影響を解析した。リコンビナントカルシニューリン、精製した Flag-サイクリン D1 を用いて、サイクリン D1 分解制御に重要である Thr286 の脱リン酸化作用を *in vitro* で検証した。またレンチウイルスの系を用いた shRNA により、カルシニューリンをノックダウンすることにより、サイクリン D1 への発現への影響を検証した。

【結果】 Hs578T を FK506、CN585 で処理すると G1/S 期の進行が遅延することが分かった。G1/S 期の進行に必要なサイクリン D1 の発現が顕著に低下し、サイクリン D1 を過剰発現すると部分的に G1/S 期の進行遅延が抑制された。またサイクリン D1 の発現減少はタンパク質分解が亢進することにより引き起こされていることが分かった。*in vitro* の脱リン酸化アッセイにより、カルシニューリンがサイクリン D1 の Thr286 を脱リン酸化することを見出した。さらにカルシニューリンをノックダウンすると、サイクリン D1 の発現量は減少した。以上のことから、カルシニューリンはサイクリン D1 の Thr286 を脱リン酸化することにより、サイクリン D1 の発現を制御していることを明らかとした。

カルシニューリンによる Thr286 脱リン酸化を介したサイクリン D1 の分解制御

