

**【目的】** 近年、癌治療において EGFR などの受容体型チロシンキナーゼや、その下流に位置するキナーゼカスケードを分子標的とした薬剤が臨床導入され、高い有効性と比較的軽微な副作用から大きな期待が寄せられている。一方、これらの分子標的薬には変異型 RAS 遺伝子を発現する癌に効果が見込めないことや、耐性獲得による再発などの問題も残されている。このような難治性癌に対する治療方法を創出するため、細胞の増殖制御機構を従来とは異なる観点から解析し、新しい分子標的を見つけ出すことが喫緊の課題である。これまでの研究で我々は、従来のキナーゼカスケードによる細胞増殖（図：左側）に加えて、一次線毛と呼ばれる細胞小器官の形成が細胞増殖を制御することを発見し、一次線毛の制御に関与する種々の因子およびシグナル伝達機構を明らかにしてきた（図：右側）。本研究では、これらの研究をさらに進展させ、一次線毛の形成を制御するメカニズムの詳細について解明を進め、これらが癌細胞増殖抑制を誘導する分子標的となるか検証することを目的とする。我々は最近、cyclin/CDK の阻害因子である p27kip1 が一次線毛の新規制御因子である可能性を示唆するデータを得たため、本研究で検証する。

**【方法】** CRISPR/Cas9 テクノロジーにより、p27kip1 (*CDKN1B* 遺伝子) をノックアウトした hTERT-RPE1 細胞（不死化ヒト網膜色素上皮細胞株）を作製し、一次線毛の形成について、免疫細胞染色および電子顕微鏡で解析した。一次線毛の形成に必要な領域を決定するため、種々の p27kip1 変異体を作製し、p27kip1 ノックアウト細胞に発現させて一次線毛の形成能の回復の有無を検証した。一次線毛の制御領域に結合するタンパク質を共免疫沈降法／質量分析で探索した。

**【結果】** p27kip1 ノックアウト細胞は、一次線毛の形成が著しく阻害されていることが明らかとなった。電子顕微鏡解析の結果、一次線毛の形成初期であるシリア小胞が中心小体（基底小体）に輸送される過程が阻害されていることも判明した。この細胞に、p27kip1 の各種変異体を発現させたところ、少なくとも 86~140 aa 領域を含む p27kip1 変異体は、一次線毛の形成を誘導する能力があることが判明した。p27kip1 の 86~140 aa 領域に結合する分子として Hsc70 を同定し、Hsc70 のノックダウンも一次線毛の形成を抑制することが分かった。

一次線毛の形成動態を制御する分子メカニズムと細胞増殖

