

## 染色体分配における染色体オシレーションの役割

家村 顕自, 田中 耕三

### 1. はじめに

我々の体を構成する細胞は、一定の染色体数（大部分は23対46本）を維持しながら分裂増殖している。一方でがん細胞は、分裂のたびに染色体の数や構造が変化する染色体不安定性（chromosomal instability: CIN）と呼ばれる性質を有している。核膜崩壊後、染色体は細胞中央部（紡錘体赤道面）に向かって移動し、すべての染色体が赤道面に集合（染色体整列）した後、娘細胞に均等分配される<sup>1)</sup>。この染色体均等分配機構が破綻すると、染色体は無秩序に分配されるため、CINが誘導される。染色体の移動や分配は、紡錘体を形成する微小管と、セントロメア領域に構築される巨大なタンパク質集合体（キネトコア）の結合を介してなされる。染色体が細胞内を動く間に、キネトコア-微小管結合は染色体を正しく分配するための結合様式に修正・変換される<sup>1,2)</sup>。本稿では、染色体の数を安定に保つために必要な、キネトコア-微小管結合の制御機構と、分裂期中期における染色体の動きを紹介し、最近筆者らが明らかにした分裂期中期染色体動態を介した動原体-微小管結合制御機構<sup>3)</sup>について述べる。

### 2. CINの抑制に必要なキネトコア-微小管結合の制御機構

娘細胞に染色体を均等に分配し、染色体数を一定に維持するためには、姉妹染色分体上のキネトコアが紡錘体両極から伸びる微小管と正しく結合する必要がある。核膜崩壊後、キネトコアはまず微小管の側面に結合し、紡錘体表面へ運ばれる<sup>1)</sup>。その後、紡錘体微小管と染色体腕部に

結合する微小管を利用して紡錘体赤道面に輸送される<sup>1,4)</sup>。この間に、キネトコアと微小管側面への結合は、微小管末端への結合に変換される<sup>1,2)</sup>。末端結合が生じる過程では、1) 姉妹キネトコアのどちらか一方が微小管末端と結合する（モノテリック結合）、2) 姉妹キネトコア双方が同じ紡錘体極から伸びる微小管末端と結合する（シンテリック結合）、3) 姉妹キネトコアのうちどちらか一方が紡錘体両極から伸びる微小管末端と結合する（メロテリック結合）の3種類の誤ったキネトコア-微小管結合が生じる<sup>1,2)</sup>。これらの誤ったキネトコア-微小管結合は、染色体が分配される分裂期後期までにその結合を解離し、正しい結合に修正されなければならない。キネトコアに局在するNdc80複合体は、Hec1（Ndc80）、Nuf2、Spc24、Spc25からなるヘテロ四量体で、Hec1とNuf2が有するカルボニンホモロジドメインを介して、キネトコアと微小管の直接結合に寄与している（図1A）。Hec1のN末端80アミノ酸（Hec1 tail）には、分裂期キナーゼであるAuroraキナーゼによってリン酸化される九つのアミノ酸が存在している（図1B）。Hec1 tailのN末端側から4か所をゾーン2、残り5か所をゾーン1と呼び、ゾーン2はNdc80複合体のオリゴマー化を、ゾーン1は微小管との結合親和性の調節に関わっている<sup>5)</sup>。これら9か所のリン酸化はそのリン酸化量に相関してキネトコア-微小管結合を不安定化するため、Hec1のリン酸化は誤ったキネトコア-微小管結合を修正する主要な機構として知られている<sup>2,6)</sup>。

正しいキネトコア-微小管結合が形成されるまでは、セントロメア領域に局在するAurora BキナーゼによりHec1 tailがリン酸化されており、誤ったキネトコア-微小管結合は速やかに解離・修正される<sup>1,2)</sup>。一方で正しいキネトコア-微小管結合が形成されると、姉妹キネトコアは両紡錘体極から伸びる微小管に引っぱられるため、姉妹キネトコア間に張力が生じる<sup>7)</sup>。その結果、Hec1 tailとAurora Bキナーゼの物理的距離が離れることにより、Hec1 tailのリン酸化が低下し、キネトコア-微小管結合は安定化する<sup>1,7)</sup>。

このように細胞にはCINの発生を抑制するために、Hec1 tailのリン酸化を介して誤ったキネトコア-微小管結合を抑制しつつ、正しいキネトコア-微小管が形成された際にはその結合を保持する制御機構が備わっている。

東北大学加齢医学研究所分子腫瘍学研究分野（〒980-8575 宮城県仙台市青葉区星陵町4-1）

**Chromosome oscillation is required for robust chromosome segregation**

Kenji Iemura and Kozo Tanaka (Department of Molecular Oncology, Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University, Seiryomachi 4-1, Aoba-ku, Sendai, Miyagi 980-8575, Japan)

本論文の図版はモノクロ（冊子版）およびカラー（電子版）で掲載。

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2022.940433

© 2022 公益社団法人日本生化学会

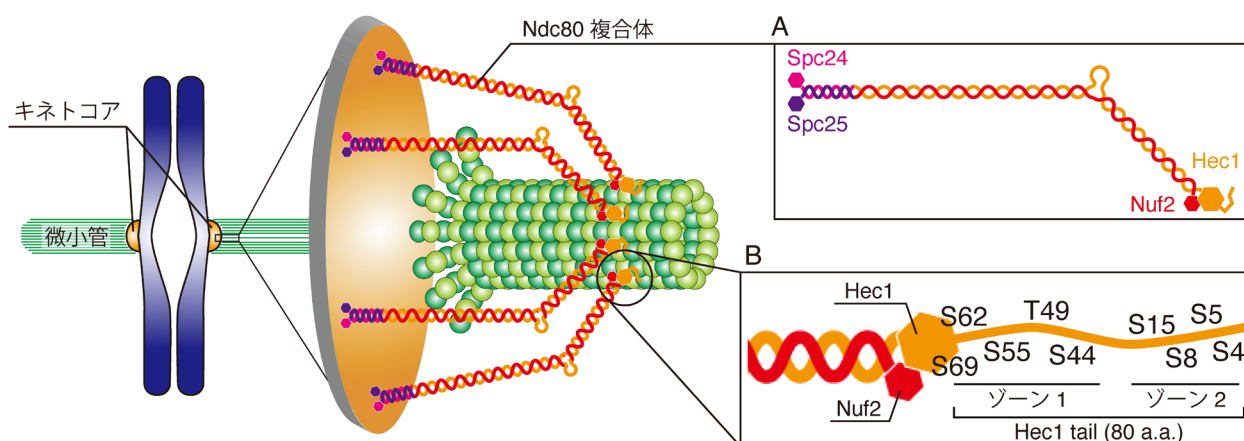


図1 Ndc80複合体とHec1 tailのリン酸化部位の模式図

セントロメア領域に構築されるキネトコアは、分裂期における微小管結合の足場となる。(A) Ndc80複合体はSpc24 (マゼンタ)、Spc25(紫)、Hec1(橙)、Nuf2(赤)のヘテロ四量体からなる。(B) Hec1 tailにおいてAuroraキナーゼが触媒するアミノ酸部位。Sはセリン残基、Tはトレオニン残基を示しS/Tに続く数字はHec1 N末端からの残基数を表している。文献2より一部改変。

### 3. 分裂期中期における染色体動態

分裂期中期において紡錘体赤道面に整列した染色体には、紡錘体極間を行ったり来たりする動きがみられる(図2A)。染色体オシレーションと呼ばれるこの動態は、酵母からヒト細胞まで、体細胞分裂と減数分裂双方でみられる普遍的な染色体動態である<sup>2)</sup>。染色体オシレーションは、キネトコアに結合する微小管の牽引力により主に駆動しているが、反復運動を繰り返すために、染色体腕部を押す力(polar ejection force: PEF)、姉妹染色分体間を接着する力(chromosome cohesion)のバランスによって制御されている(図2B)。姉妹キネトコアの片方が結合する微小管に牽引されると、もう一方のキネトコアは姉妹染色分体間の結合に引っぱられて追従する。この牽引力は、紡錘体極に近づくにつれて増加するPEFによって徐々に打ち消される。PEFが染色体を押し、キネトコアの牽引力が低下することで、染色体は逆の方向の紡錘体極に向かって移動する。このような力の遷移によりオシレーション運動が生じる<sup>2)</sup>。染色体オシレーションに関わる力は、主に分裂期キネシンモーター分子が制御している。キネシン-8ファミリーに属するKif18Aは、微小管の安定化に寄与しており、微小管長に依存して微小管プラス端に集積することで、染色体オシレーションを抑制している<sup>8)</sup>。キネシン-13ファミリーに属するMCAKは、微小管脱重合活性を有しており、キネトコアに結合する微小管の不安定化を介して染色体オシレーションの駆動に寄与している<sup>9)</sup>。キネシン-10/Kidやキネシン-4/KF4Aは、染色体腕部に局在することからクロモキネシンと呼ばれ、染色体腕部に接する微小管を介してPEFの発生に寄与している。PEFは規則的なオシレーション運動に必要であり、染色体が紡錘体赤道面から逸脱しな

いように監視する役目を担っていることが染色体動態シミュレーションで示唆されている<sup>10)</sup>。

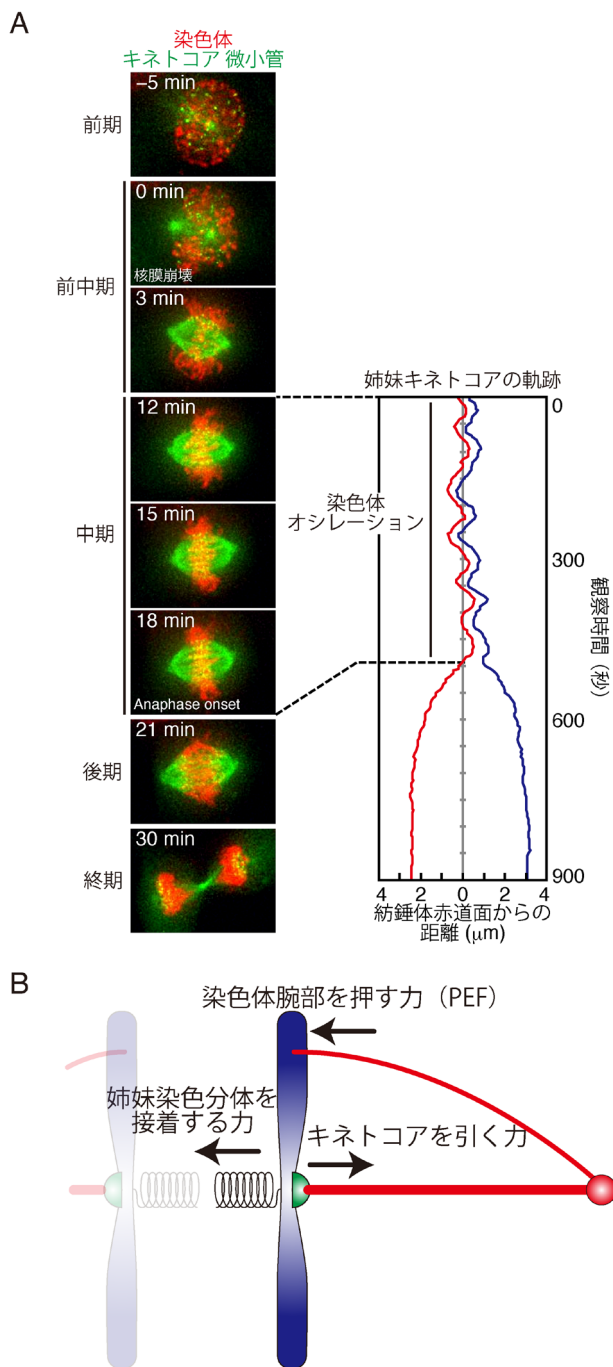
加えて近年、両紡錘体極から伸びた微小管が紡錘体赤道面上で一部会合し、姉妹キネトコア間を橋渡しするような配向を示す微小管(bridging fiber)も染色体オシレーションの制御に寄与しうる可能性が示唆されている。橋渡し微小管がキネトコアに結合する微小管と束化することで、微小管スライディング活性を有するキネシンが束化部位に局在し、互いの微小管をスライドさせることでキネトコアの牽引力発生に寄与するモデルが考えられている<sup>11)</sup>。このように、規則正しく振幅する染色体オシレーションは、複数分子の発現量や活性バランスによって制御されている。

染色体オシレーションを駆動する分子やそれらの関係性、その制御機構については実験系のみならず動態シミュレーションによっても積極的に研究がなされているが、染色体オシレーションが細胞分裂過程にどのように影響しているのか、その必要性についてはいまだ不明な点が多い。

### 4. 染色体オシレーションを介した動原体-微小管結合の制御

#### 1) 染色体オシレーションはCINの発生頻度と逆相関して減弱する

動物細胞の分裂期における染色体動態観察の多くは、主にヒト子宮頸がん細胞株HeLa細胞を用いて行われてきた。一方筆者らは、核型が二倍体で安定しており非がん細胞株である、RPE-1細胞(ヒト網膜上皮細胞株)の染色体動態を観察し、HeLa細胞の染色体動態と比較した。その結果、分裂期中期での染色体オシレーションが、RPE-1細胞では増強していることがわかった。そこで、RPE-1を含めた非



**図2** 分裂期中期における染色体オシレーション  
(A) RPE-1細胞において、染色体(赤)、キネトコア(緑)、微小管(緑)を可視化し生細胞観察した。分裂期中期から後期にかけて、姉妹キネトコアを追跡し、紡錘体赤道面からの距離をグラフに示した。(B)染色体オシレーションを制御する染色体にかかる力。文献2より一部改変。

がん細胞株および、核型が安定しているがん細胞株3種、染色体不安定性がん細胞株5種について、染色体オシレーションを観察し、その活性を比較したところ、CINの発生頻度が上昇するにつれて、その運動活性が低下しているこ

とを見いだした(図3A)。この結果から、染色体オシレーションがCINの発生を抑制している可能性が予想された。

## 2) 染色体オシレーションはHec1 tailのリン酸化を惹起する

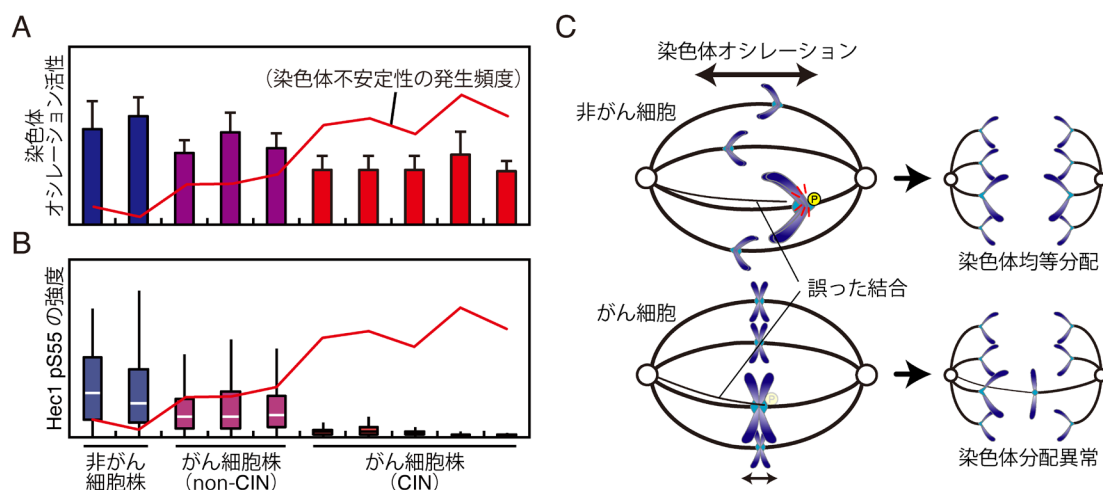
染色体オシレーションとCINの発生との関連性を検証するために、我々はHec1 tailのリン酸化に着目した。染色体オシレーションに伴い動原体は一時的に紡錘体極近傍に位置する。これまでに、分裂期前中期において紡錘体極近傍に位置したHec1 tailが紡錘体極に局在するAurora Aキナーゼによってリン酸化されることが報告されている<sup>12)</sup>。そこで、CINの発生頻度が異なるさまざまな細胞株を用いて、分裂期中期におけるHec1 tailのセリン55番目のリン酸化(Hec1 pS55)の強度を測定したところ、染色体オシレーションの運動活性と相関するようにHec1 pS55が変動していた(図3B)。詳細な検討により、分裂期中期におけるHec1 pS55は、紡錘体赤道面辺縁部に位置するキネトコアでのみ生じていること、また、Aurora Aキナーゼによって触媒されていることがわかった。

染色体オシレーションとHec1 pS55の関連性を検証するために、染色体オシレーション活性が高いRPE-1細胞において染色体オシレーションを抑制した。その結果、Hec1 pS55の減弱がみられた。また、染色体オシレーション活性が低いHeLa細胞で染色体オシレーションを惹起すると、Hec1 pS55が亢進した。これらの結果から、Hec1 tailのリン酸化は染色体オシレーションによって誘導されることが示唆された。加えて、Aurora AキナーゼによるHec1 tailのリン酸化が染色体オシレーションを誘導することも明らかにした。以上の解析により、染色体オシレーション運動と分裂期中期におけるHec1のリン酸化は相互に影響していることが示唆された。

染色体オシレーションが減弱しており、CINの発生頻度が高いHeLa細胞で、染色体オシレーションを誘導し、分裂期中期におけるキネトコア-微小管結合と分裂期後期における染色体分配異常の頻度を調べたところ、誤ったキネトコア-微小管結合の頻度が低下するとともに、染色体分配異常を呈する細胞の割合が低下した。このことから、染色体オシレーションはAurora AキナーゼによるHec1 tailのリン酸化を惹起することで、正しいキネトコア-微小管結合の形成に寄与しており、その結果としてCINの発生が抑制されることが示唆された(図3C)。

## 5. おわりに

我々の研究により、非がん細胞株では染色体オシレーションがHec1 tailのリン酸化を促進することで染色体均等分配の堅牢性を高めていることが明らかになった<sup>3)</sup>。加え



**図3** 染色体オシレーションが触媒する Hec1 tail のリン酸化を介した堅牢な染色体均等分配制御モデル (A) 各細胞株における染色体不安定性の発生頻度 (折れ線グラフ) と、染色体オシレーション活性 (棒グラフ) の比較. (B) 各細胞株における染色体不安定性の発生頻度 (折れ線グラフ) と、Hec1 pS55 のシグナル強度 (箱ひげ図) の比較. (C) 染色体オシレーションによる堅牢な染色体分配モデル. 非がん細胞株の分裂期中期では、染色体オシレーションによって Hec1 tail が紡錘体極に近づき、リン酸化される. その結果、誤ったキネトコア-微小管が修正され、染色体分配の堅牢性につながる. がん細胞株では染色体オシレーションが減弱しているため、誤ったキネトコア-微小管が修正できずに染色体分配異常を呈する. 文献3より改変.

て我々は、Aurora A キナーゼによる Hec1 tail のリン酸化とキネトコア-微小管結合修正の数理モデルを構築し、染色体オシレーションにより誤ったキネトコア-微小管結合が抑制されることも確認している<sup>13)</sup>。我々が見いだしたこの機構はがん細胞株では減弱しており、その結果としてがん細胞株では CIN の原因となる染色体分配異常が高頻度で生じるモデルが示唆された (図3C)。

これまで、Hec1 tail のリン酸化は主にセントロメアに局在する Aurora B キナーゼが触媒するとされてきたが、分裂期中期ではキネトコアに対する Aurora B キナーゼ活性が低下する<sup>14)</sup>。このことは、分裂期中期までに形成された正しいキネトコア-微小管結合を維持する上では理に適っている。一方で、分裂期中期までに修正できなかった誤ったキネトコア-微小管結合や、分裂期中期に意図せず生じた誤ったキネトコア-微小管結合を修正するためには、Aurora B キナーゼに代わって (もしくは協調して) Hec1 tail をリン酸化できる機構が必要である。染色体オシレーションが触媒する Hec1 tail のリン酸化は、分裂期後期に進行する直前まで、誤ったキネトコア-微小管を修正し続けるために機能し、染色体分配の堅牢性を担保するいわゆるバウンサー (bouncer; 用心棒, ゆりかごの意) のような役割を担っていると考えている。今回我々は、さまざまな培養細胞株を用いて染色体オシレーションが CIN の発生を抑制していることを明らかにした。一方で、生体内における分裂期でもこの機構が機能しているのか、また、腫瘍を構築しているがん細胞でも本機構が破綻しているのか、といった点は今後検証していきたい。また、なぜ非がん細胞株で

のみこの機構が維持されているのか、その分子基盤については明らかにできていない。前述した染色体オシレーションに必要な分裂期キネシンはがん細胞で広く発現変動している<sup>2)</sup>。これらの発現変動が染色体オシレーションにどのように寄与しているのかといった点について解析を進め、がん化やがんの悪性進展過程における CIN の発生要因について明らかにしていきたい。

## 謝辞

本稿は東北大学加齢医学研究所分子腫瘍学研究分野で行った研究をもとに執筆いたしました。同分野メンバーの皆様には研究遂行にあたり多くの助言をいただきました。この場をお借りして御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) Tanaka, K. (2013) Regulatory mechanisms of kinetochore-microtubule interaction in mitosis. *Cell. Mol. Life Sci.*, **70**, 559–579.
- 2) Iemura, K., Yoshizaki, Y., Kuniyasu, K., & Tanaka, K. (2021) Attenuated chromosome oscillation as a cause of chromosomal instability in cancer cells. *Cancers (Basel)*, **13**, 4531.
- 3) Iemura, K., Natsume, T., Maehara, K., Kanemaki, M.T., & Tanaka, K. (2021) Chromosome oscillation promotes Aurora A-dependent Hec1 phosphorylation and mitotic fidelity. *J. Cell Biol.*, **220**, e202006116.
- 4) Iemura, K. & Tanaka, K. (2015) Chromokinesin Kid and kinetochore kinesin CENP-E differentially support chromosome congression without end-on attachment to microtubules. *Nat. Commun.*, **6**, 6447.

- 5) Zaytsev, A.V., Mick, J.E., Maslennikov, E., Nikashin, B., DeLuca, J.G., & Grishchuk, E.L. (2015) Multisite phosphorylation of the NDC80 complex gradually tunes its microtubule-binding affinity. *MBoC*, **26**, 1829–1844.
- 6) Zaytsev, A.V., Sundin, L.J., DeLuca, K.F., Grishchuk, E.L., & DeLuca, J.G. (2014) Accurate phosphoregulation of kinetochore-microtubule affinity requires unconstrained molecular interactions. *J. Cell Biol.*, **206**, 45–59.
- 7) McVey, S.L., Cosby, J.K., & Nannas, N.J. (2021) Aurora B tension sensing mechanisms in the kinetochore ensure accurate chromosome segregation. *Int. J. Mol. Sci.*, **22**, 8818.
- 8) Stumpff, J., Wagenbach, M., Franck, A., Asbury, C.L., & Wordeman, L. (2012) Kif18A and chromokinesins confine centromere movements via microtubule growth suppression and spatial control of kinetochore tension. *Dev. Cell*, **22**, 1017–1029.
- 9) Wordeman, L., Wagenbach, M., & von Dassow, G. (2007) MCAK facilitates chromosome movement by promoting kinetochore microtubule turnover. *J. Cell Biol.*, **179**, 869–879.
- 10) Schwietert, F. & Kierfeld, J. (2020) Bistability and oscillations in cooperative microtubule and kinetochore dynamics in the mitotic spindle. *New J. Phys.*, **22**, 053008.
- 11) Jagric, M., Risteski, P., Martinčić, J., Milas, A., & Tolić, I.M. (2021) Optogenetic control of PRC1 reveals its role in chromosome alignment on the spindle by overlap length-dependent forces. *eLife*, **10**, e61170.
- 12) Ye, A.A., Deretic, J., Hoel, C.M., Hinman, A.W., Cimini, D., Welburn, J.P., & Maresca, T.J. (2015) Aurora A kinase contributes to a pole-based error correction pathway. *Curr. Biol.*, **25**, 1842–1851.
- 13) Campos Medina, M.A., Iemura, K., Kimura, A., & Tanaka, K. (2021) A mathematical model of kinetochore-microtubule attachment regulated by Aurora A activity gradient describes chromosome oscillation and correction of erroneous attachments. *Biomed. Res. (Aligarh)*, **42**, 203–219.
- 14) Zaytsev, A.V., Segura-Peña, D., Godzi, M., Calderon, A., Ballister, E.R., Stamatov, R., Mayo, A.M., Peterson, L., Black, B.E., Ataulakhov, F.I., et al. (2016) Bistability of a coupled Aurora B kinase-phosphatase system in cell division. *eLife*, **5**, e10644.

## 著者寸描

### ●家村 顕自 (いゑむら けんじ)



東北大学加齢医学研究所分子腫瘍学研究分野助教。博士（理学）。

■略歴 1984年京都府に生る。2009年長浜バイオ大学大学院バイオサイエンス研究科／専攻修士過程修了。12年東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻修了。東京大学医科学研究所研究員，東北大学加齢医学研究所研究員を経て16年より現職。

■研究テーマと抱負 分裂期染色体均等分配機構と疾患との関連性。分裂期において染色体は如何にして動き，均等分配されるのか？ その答えを見つけるべく研究に励んでいます。

■ウェブサイト <https://researchmap.jp/k-iemura>

■趣味 キャンプ，低山登山。