

学位研究紹介

**Pontin/Reptin の新規結合因子である HEATR1 は、Pontin/Reptin の安定化と口腔扁平上皮癌細胞の増殖促進に寄与する HEATR1, a novel interactor of Pontin/Reptin, stabilizes Pontin/Reptin and promotes cell proliferation of oral squamous cell carcinoma**

新潟大学大学院医歯学総合研究科 組織再建口腔外科学分野

中村 彬彦

Division of Reconstructive Surgery for Oral and Maxillofacial Region, Faculty of Dentistry & Graduate School of Medical and Dental Sciences

Akihiko Nakamura

【背景および目的】

口腔扁平上皮癌 (Oral Squamous Cell Carcinoma; OSCC) は頭頸部領域において最も頻度の高い悪性腫瘍であり、頸部リンパ節へ転移をきたす確率が高い。OSCC はその治療方法および診断技術の進歩にもかかわらず、進行癌の生存率は依然として低いままであり、OSCC の新たな治療標的の探索と進展メカニズムの解明が求められる。

Pontin と Reptin は、互いに相同性を有する AAA+ (ATPases Associated with various cellular Activities) ファミリータンパク質である。これらはヘテロオリゴマー複合体である Pontin/Reptin complex を形成し、分子シャペロンとしてタンパク質の安定性やタンパク質複合体の会合に関与している。Pontin および Reptin はがん細胞においてその過剰発現が報告されているほか、MYC および  $\beta$ -カテンンなどの転写因子の活性化や E2F1 転写促進による細胞周期・アポトーシスの制御、機能獲得型変異 p53 との相互作用による細胞浸潤促進や p14ARF 阻害による細胞増殖、TIP60 複合体や INO80 複合体との相互作用による DNA 損傷修復などを通じて様々ながんの進行に関与していることが報告されている。われわれは先行研究で Pontin と Reptin が OSCC の増悪に関与していることを報告した。しかしながら、OSCC 進展における Pontin/Reptin complex の役割と分子メカニズムは未だ解明されておらず、その基礎的なメカニズムを理解するためにはさらなる研究が必要である。

【材料および方法】

本研究では3種のヒト OSCC 由来細胞 (HSC-3, HSC-4, SAS) とヒト OSCC 組織を用いて Pontin/Reptin complex の新規結合因子の探索と、これらタンパク質の機能を解析した。

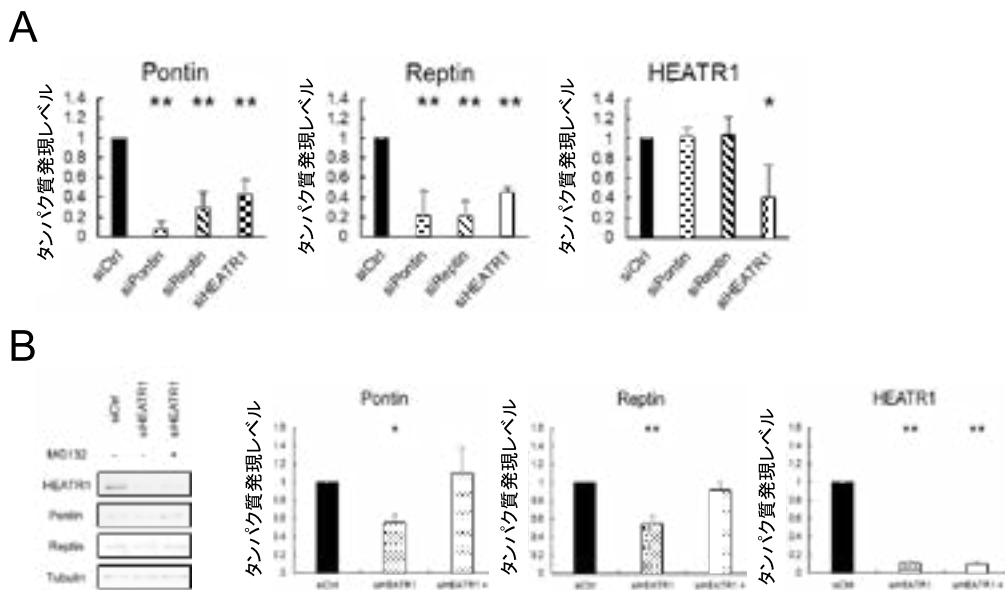


図1. HEATR1 は Pontin と Reptin を安定化する (A) RNA 干渉, (B) タンパク質安定化試験 \*p<0.05, \*\*p<0.01

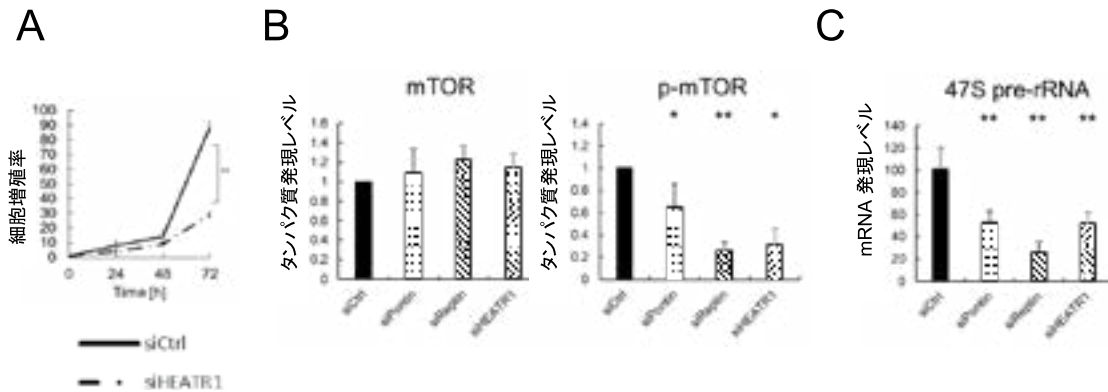


図2. Pontin, Reptin, HEATR1 は mTOR シグナル伝達経路を介して細胞増殖を制御する (A) 細胞増殖試験, (B) RNA 干渉, (C) real-time PCR, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$

ヒト OSCC 由来細胞を用いてウェスタンブロット, 共免疫沈降, 免疫細胞染色, 質量分析, RNA 干渉, 細胞増殖試験, RT-PCR, タンパク質安定性試験を行い, ヒト OSCC 組織を用いて免疫組織染色を行った。ヒト OSCC 組織を用いた実験は新潟大学医歯学総合病院医療倫理委員会の承認を得て行った。

### 【結 果】

Pontin/Reptin complex の新規結合因子として, リボソーム合成関連タンパク質である HEAT repeat-containing protein 1 (HEATR1) を同定し, HEATR1 が Pontin と Reptin のタンパク質を安定化することを明らかにした (図1)。機能的には, HEATR1 は Pontin/Reptin complex と共に, mTOR と pre-rRNA 合成を活性化することで OSCC 細胞の増殖を正に制御した (図2)。また, ヒト OSCC 組織の腫瘍領域における HEATR1 の発現が顕著に上昇していることがわかった (図3)。

### 【考察および結論】

近年, Pontin/Reptin complex は mTOR の N 末端 HEAT repeat 領域と直接相互作用することが示されており, Pontin/Reptin complex と HEATR1 の相互作用も HEAT repeat が介在している可能性が示唆された。さらに, HEATR1 が OSCC における Pontin/Reptin complex の安定化因子として, mTOR とリボソーム生合成の制御に関与している可能性が示唆された。今後, HEATR1 タ

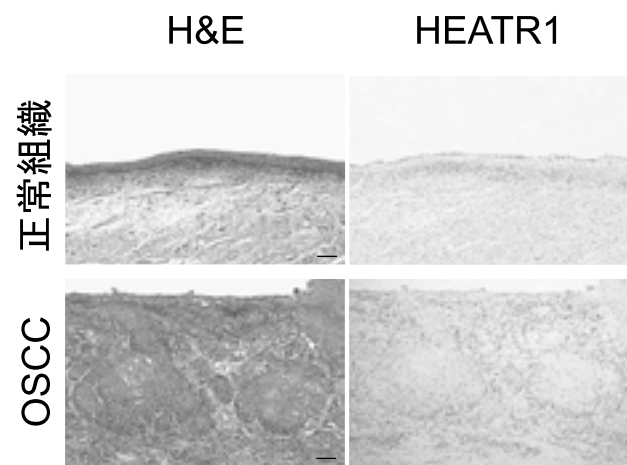


図3. ヒト OSCC 組織における免疫染色 HEATR1 は OSCC 組織において発現レベルが上昇していた

ンパク質の相互作用ネットワークをさらに解明し, mTOR 経路を含む OSCC 進展機構における HEATR1 の機能的役割を包括的に明らかにすることが必要である。

### 【参考文献】

Nakamura A, Kakihara Y, Funayama A, Haga K, Mikami T, Kobayashi D, Yoshida Y, Izumi K, Kobayashi T, Saeki M: HEATR1, a novel interactor of Pontin/Reptin, stabilizes Pontin/Reptin and promotes cell proliferation of oral squamous cell carcinoma. BBRC. 557: 294-301, 2021. (図はすべて参考文献より改変して引用)