

**研究助成 2017 –がん領域–**  
**研究成果報告書（最終） <概要>**

<b>所 属</b>	山口大学 共同獣医学部
<b>氏 名</b>	島田 緑
<b>研究テーマ</b>	がんの増殖制御の解明と革新的治療法の確立

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は1ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

**研究目的**

乳癌は日本人女性が罹患する悪性腫瘍の第1位であり、その罹患数及び死亡数は増加の一途をたどっている。乳癌の70%にはホルモン療法が有効であるが、その後に治療抵抗性である再発性乳癌が起こるという重大な課題がある。また、エストロゲン受容体、プロゲステロン受容体、HER2 全てが陰性のいわゆるトリプルネガティブ乳癌に対しては、薬物療法は化学療法に限定され、その予後は極めて不良である。したがって乳癌に対する有効な分子標的治療の開発が緊急課題となっている。本研究で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を発見する目的で、トリプルネガティブ乳癌で高活性化されているカルシニューリンによるサイクリン D1 の発現調節の分子機構を解明した。

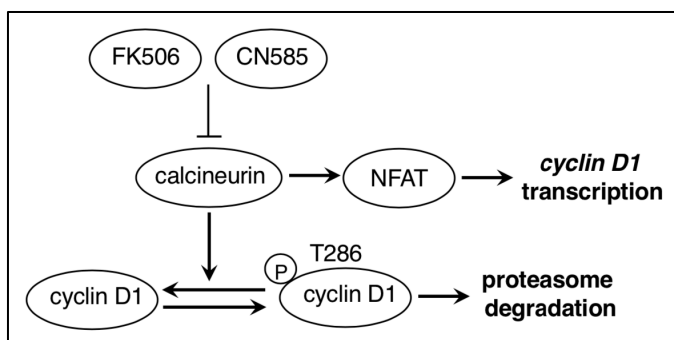
**研究方法**

トリプルネガティブ乳癌細胞株に対して、カルシニューリンを阻害もしくはカルシニューリン発現抑制を行い、FACS を用いた細胞周期解析、ウエスタンブロットティングおよび 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。カルシニューリン阻害剤阻存在下でプロテアソーム阻害剤 MG132 を加え、サイクリン D1 安定性への寄与を検討した。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 の発現への影響を検証した。

**結果**

カルシニューリンを阻害すると 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、G1/S 期の進行が遅延することが分かった。この時サイクリン D1 を過剰発現すると 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* 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。以上のことから、カルシニューリンはサイクリン D1 を脱リン酸化することにより、サイクリン D1 を安定化させ細胞増殖に寄与することが判明した (Goshima et al., Sci Rep, 2019)。

カルシニューリンによる Th286 脱リン酸化を介したサイクリン D1 の発現調節機構



**研究助成 2017 –がん領域–**  
**研究成果報告書（最終） <発表実績/予定一覧>**

<b>所</b>	<b>属</b>	山口大学 共同獣医学部
<b>氏</b>	<b>名</b>	島田 緑

<b>1. 論文発表実績</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。</li> <li>・ 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。</li> <li>・ 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年(西暦)、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。</li> <li>・ 国内外雑誌を問わない。</li> <li>・ 印刷中は in press と記入、投稿中の論文はその旨を記載すること。なお学会のアブストラクトは含めない。</li> <li>・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。</li> </ul>	
1	<p>Goshima T, Habara M, Maeda K, Hanaki S, Kato Y, <u>Shimada M</u>.</p> <p>Calcineurin regulates cyclin D1 stability through dephosphorylation at T286.</p> <p>Sci Rep. 9: 12779, 2019, 査読有</p>
2	<p>Nishimura K, Johmura Y, Deguchi K, Jiang Z, Uchida KSK, Suzuki N, <u>Shimada M</u>, Chiba Y, Hirota T, Yoshimura SH, Kono K, Nakanishi M.</p> <p>Cdk1-mediated DIAPH1 phosphorylation maintains metaphase cortical tension and inactivates the spindle assembly checkpoint at anaphase.</p> <p>Nat Commun. 28: 981, 2019, 査読有</p>
3	
4	

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。</li> <li>・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。</li> <li>・ 国内外を問わない。</li> <li>・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。</li> </ul>		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2019年9月	第162回 日本獣医学会学術集会、花木駿介、 <u>島田 緑</u> PP1 脱リン酸化酵素を介した転写抑制機構
2	2019年9月	第162回 日本獣医学会学術集会、前田啓介、 <u>島田 緑</u> プロリン異性化酵素による癌細胞の増殖制御機構の解明
3	2019年9月	N C Uライフサイエンス研究会、五島隆宏、 <u>島田 緑</u> 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制御
4	2018年11月	日本女性科学者の会 第12回学術大会、 <u>島田 緑</u> 、前田啓介、五島隆宏、 中川秀彦、 プロリン異性化酵素によるがん増殖制御機構の解明
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2019年5月	Journal of Clinical Investigation
2		
3		
4		