

## 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ふ重大な課題がある。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。

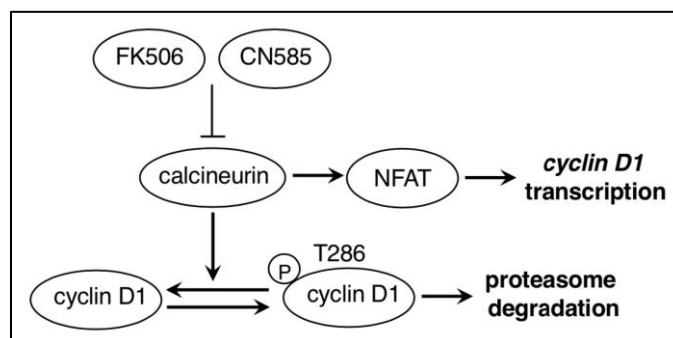
### 研究方法

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>**

所	属	山口大学 共同獣医学部
氏	名	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abstract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		Habara M, Sato Y, Goshima T, Sakurai M, Imai H, Shimizu H, Katayama Y, Hanaki S, Masaki T, Morimoto M, Nishikawa S, Toyama T, and <b>Shimada M*</b> . FKBP52 and FKBP51 Differentially Regulate the Stability of Estrogen Receptor in Breast Cancer. <b>PNAS.</b> , in press, 査読有
2		Masaki T and <b>Shimada M*</b> . Decoding the Phosphatase Code: Regulation of Cell Proliferation by Calcineurin. <b>Int J Mol Sci.</b> , 23: 1–17, 2022, 査読有
3		Masaki T, Habara M, Sato Y, Goshima T, Maeda K, Hanaki S, and <b>Shimada M*</b> . Calcineurin regulates the stability and activity of estrogen receptor $\alpha$ . <b>PNAS.</b> , 118: e2114258118, 2021, 査読有
4		Maeda K, Habara M, Kawaguchi M, Matsumoto H, Hanaki S, Masaki T, Sato Y, Matsuyama H, Kunieda K, Nakagawa H, <b>Shimada M*</b> . Essential role of FKBP51 and FKBP52 in the dimer formation of androgen receptor. <b>Mol Oncol.</b> , 1–17, 2021, 査読有
5		Hanaki S, Habara M, Masaki T, Maeda K, Sato Y, Nakanishi M, <b>Shimada M*</b> . PP1 regulatory subunit NIPP1 regulates transcription of E2F1 target genes following DNA damage. <b>Cancer Sci.</b> , 0: 1–14, 2021, 査読有
6		Hanaki S and <b>Shimada M*</b> . Targeting EZH2 as cancer therapy. <b>J Biochem.</b> , 0: 1–4, 2021, 査読有
7		Hanaki S, Habara M, <b>Shimada M*</b> . UV-induced activation of ATR is mediated by UHRF2. <b>Genes to Cells</b> , 26: 447–454, 2021, 査読有
8		Mikawa T, Shibata E, <b>Shimada M</b> , Ito K, Ito T, Kanda H, Takubo K, Shimada A, Lleonart ME, Inagaki N, Yokode M, Kondoh H*. Characterization of genetically modified mice for phosphoglycerate mutase, a vitally-essential enzyme in glycolysis. <b>PLoS One</b> , 16: e0250856, 2021, 査読有
9		Mikawa T, Shibata E, <b>Shimada M</b> , Ito K, Ito T, Kanda H, Takubo K, Lleonart ME, Inagaki N, Yokode M, Kondoh H*. Phosphoglycerate mutase cooperates with Chk1 kinase to regulate glycolysis. <b>iScience</b> , 23, 101306, 2020, 査読有
10		Goshima T, Habara M, Maeda K, Hanaki S, Kato Y, <b>Shimada M*</b> . Calcineurin regulates cyclin D1 stability through dephosphorylation at T286. <b>Sci Rep.</b> , 9: 12779, 2019, 査読有

11	Nishimura K, Johmura Y, Deguchi K, Jiang Z, Uchida KSK, Suzuki N, <b>Shimada M</b> , Chiba Y, Hirota T, Yoshimura SH, Kono K, Nakanishi M. Cdk1-mediated DIAPH1 phosphorylation maintains metaphase cortical tension and inactivates the spindle assembly checkpoint at anaphase. <b>Nat Commun.</b> , 28: 981, 2019, 査読有
----	--

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	2022年2月	The 6th International Symposium Association of Japan-Indonesia Veterinary Education 2022 (オンライン開催) Hanaki S, Habara S, Masaki T, Maeda K, Sato Y, Shimada M DNA damage induces downregulation of E2F1 target genes by the dissociation of PP1 and its regulatory subunit NIPP1
2	2022年1月	第10回 日本プロテインホスファターゼ研究会学術集会 (オンライン開催) 花木 駿介、羽原 誠、正木 貴大、前田 啓介、佐藤 悠紀、島田 緑 PP1 脱リン酸化酵素を介した転写調節機構の解明
3	2022年1月	第10回 日本プロテインホスファターゼ研究会学術集会 (オンライン開催) 羽原 誠、正木 貴大、佐藤 悠紀、前田 啓介、花木 駿介、島田 緑 カルシニューリンはエストロゲン受容体 $\alpha$ の安定性および活性を制御する
4	2021年9月	第164回 日本獣医学会学術集会 (オンライン開催) 前田 啓介、羽原 誠、松本 洋明、花木 駿介、正木 貴大、佐藤 悠紀、島田 緑 プロリン異性化酵素によるアンドロゲン受容体機能調節メカニズムの解明
5	2021年9月	第164回 日本獣医学会学術集会 (オンライン開催) 正木 貴大、羽原 誠、佐藤 悠紀、前田 啓介、花木 駿介、島田 緑 カルシウムシグナル伝達経路によるがん細胞の増殖制御機構
6	2020年12月	第43回 日本分子生物学会 (オンライン開催) 正木 貴大、羽原 誠、花木 駿介、前田 啓介、佐藤 悠紀、島田 緑 カルシニューリンはエストロゲン受容体 $\alpha$ の安定性と活性を制御する
7	2020年10月	第63回大会 日本放射線影響学会 (オンライン開催) 島田 緑 PP1 $\gamma$ と NIPP1 の相互作用を介した DNA 損傷後の E2F1 標的遺伝子の転写抑制機構
8	2020年9月	第93回 日本生化学会大会 (オンライン開催) 花木 駿介、正木 貴大、前田 啓介、佐藤 悠紀、羽原 誠、中西 真、島田 緑 PP1 脱リン酸化酵素を介した転写抑制機構
9	2020年9月	第93回 日本生化学会大会 (オンライン開催) 島田 緑 カルシニューリンによる細胞増殖制御
10	2020年9月	第163回 日本獣医学会学術集会 (オンライン開催) 花木 駿介、羽原 誠、正木 貴大、前田 啓介、佐藤 悠紀、中西 真、島田 緑 PP1 脱リン酸化酵素を介した転写抑制機構
11	2020年9月	第163回 日本獣医学会学術集会 (オンライン開催) 羽原 誠、五島 隆宏、正木 貴大、前田 啓介、花木 駿介、佐藤 悠紀、加藤 洋一、島田 緑 乳がんの予後不良因子サイクリン D1 の発現調節機構の解明
12	2019年9月	第162回 日本獣医学会学術集会 花木駿介、島田 緑 PP1 脱リン酸化酵素を介した転写抑制機構
13	2019年9月	第162回 日本獣医学会学術集会 前田啓介、島田 緑 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
14	2019年9月	NCUライフサイエンス研究会 五島隆宏、島田 緑 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

15	2018年11月	第12回 日本女性科学者の会 学術大会 島田 緑、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
<b>3. 投稿、発表予定</b>		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1		
2		
3		
4		