

綜 説

細胞周期の調節とその異常

二階堂 敏 雄

信州大学医学部産科婦人科学教室

Cell Cycle Regulation and Disease

Toshio NIKAIDO

Department of Obstetrics and Gynecology, Shinshu University School of Medicine

Key words: cell cycle, cyclin, cdc2, oncogene, tumor suppressor gene
細胞周期, サイクリン, cdc2, 発癌遺伝子, 腫瘍抑制遺伝子

はじめに

細胞周期の研究はこの15年の間で飛躍的に進んだ。その理由は酵母やウニなどで行われていた研究によって明らかにされた細胞周期調節機構が、基本的にヒトを含む哺乳動物でも同じであることが分かり、更にその異常が癌化や老化に係わることが明らかにされたからである。最近では細胞周期に関する研究は癌化や老化にとどまらず、アポトーシスや動脈硬化などの分野にまで及んでいる。

これらの研究を推し進めたのは、cdc2とサイクリンの発見である。cdc2とサイクリンはそれぞれファミリーを形成し、複合体を作る。この複合体は、セリン/スレオニンキナーゼ活性を持ち、組合せの違いにより、キナーゼ活性の基質特異性や活性ピークが細胞周期で異なり、細胞内で時計の役割を果たす。最近これらの調節因子と発癌遺伝子およびp53やRBなどの腫瘍抑制遺伝子が密接に関係し、時計の調節が狂うことによって癌化や老化やアポトーシスが引き起こされるといふ証拠が見いだされている。

本稿では基礎編¹⁾と臨床との関わり²⁾に大別して、基礎編では分子生物学の観点から細胞周期調節因子とそ

れらの制御機構を解説する。また臨床との関わり編では、様々な角度から細胞周期調節の異常と疾病との関連について考察する。

I 基礎編

A 細胞周期

細胞周期は、G1(the time gap before synthesis), S(DNA synthesis), G2(the time gap after synthesis), M(mitosis)の4つに区分され、G1期は更にG0, early G1, late G1期に区分される³⁾。通常細胞増殖にはG0期からearly G1期にかけて必要なcompetence factor (FGF, PDGF, 各種mitogenなど)とlate G1からS期に必要なprogression factor (IL-2, insulin, insulin like growth factor-1; IGF-1など)の少なくとも2つ以上の増殖因子が必要である。白血病細胞を含む癌細胞はしばしばこれらの増殖因子を増殖に必要としない。Pardee⁴⁾は、細胞分裂を開始する点(Restriction Point)の存在を仮定し、この点を越えられないと増殖が止まり、quiescence cell(静止細胞)となり、細胞が分化するという考えを出した。このRestriction Pointを越えるために必要と思われる蛋白質(Restriction Protein)は、progression factorによって誘導され⁵⁾、その後DNA合成に必要な蛋白質の活性化や新たな蛋白質の誘導を導き、DNAが合成される。MPFはM期を誘導し、mitosisに必要な

別刷請求先: 二階堂敏雄

〒390-8621 松本市旭3-1-1

信州大学医学部産科婦人科

な一連の反応を引き起こし、細胞分裂が引き起こされる。細胞周期はRestriction Point を含む3つのポイント G0/early G1期, late G1/S 期, 分裂 (G2/M) 期で調節される。T細胞はG0/G1期に抗原などの competence factor によって活性化され初期G1応答遺伝子, c-myc, c-fosなどを誘導する。次にIL-2がその受容体 (IL-2リセプター- α , β , γ) に結合すると、リセプターは, src family の tyrosin kinase や ras を活性化する。これらの活性化は細胞質内のセリン/スレオニンキナーゼである raf や p70S6 kinase (ribosome small S6 kinase) を活性化させ、その後サイクリン E や A が late G1/S 期に産生され、p34cdc2 および p33cdk2 と結合する。サイクリン A は、p34cdc2/サイクリン A, p33cdk2/E2F/p107RB'/サイクリン A などの複合体を作る。これらの複合体の働きにより、DNA 合成が開始される。サイクリン B は S/G2 期に産生され、細胞質内で p34cdc2 と結合し、G2 期の終わりに核内に輸送され、p80cdc25 により脱リン酸され、セリン/スレオニンリン酸化酵素の活性が誘導される。この活性化されたリン酸化酵素によってラミンをはじめ様々な蛋白質のリン酸化が引き起こされる。Immune suppressor であるラバマイシン⁶⁾や、フラボノイドのケルセチン⁷⁾は、IL-2 での刺激伝達路を late G1 期でブロックすることができる。また TGF- β は上皮系の細胞において late G1 期で細胞増殖を停止する。これらの一連の細胞周期の調節機構を図1に示

した。

B cdc2ファミリー

1970年 Hartwell は、出芽酵母の *S. cerevisiae* から初めて150の cell-division-cycle (cdc) 突然変異株を単離⁸⁾、その中から細胞分裂を誘導する G1/S 付近の突然変異株 cdc28 を単離した。1976年、Nurse ら⁹⁾ は、分裂酵母 (*S. pombe*) より、27個の cdc 突然変異株を単離し、cdc2 と呼ばれる G1/S 付近と G2/M 付近を制御する突然変異株を単離した⁹⁾。cdc2 と cdc28 は62%の相同性を持ち¹⁰⁾、それぞれの遺伝子産物がセリン/スレオニンキナーゼ活性を有することが明らかにされた¹¹⁾¹²⁾。その後、ヒトの cdc2 に相当する遺伝子が単離され (p34cdc2)¹³⁾、また p34cdc2 に類似した p33cdk2, cdk3, cdk4, cdk5 が次々と単離され¹⁴⁾、これらのキナーゼが DNA 合成や分裂を促進させることが明らかにされた。p34cdc2 は、M 期を誘導する MPF の主成分で、この MPF のキナーゼ活性はヒストン H1 をリン酸化する。アフリカツメガエルの卵抽出液による DNA 合成系では、p33cdk2 の除去は DNA 合成開始を阻害するので、p33cdk2 は DNA 合成開始に必要なキナーゼであると考えられている¹⁵⁾。また、ヒトの p33cdk2 は出芽酵母の cdc28 の温度感受性突然変異を機能的に代換することができる¹⁶⁾。このように、p33cdk2 は構造的、機能的¹⁷⁾に p34cdc2 に極めて良く類似している。p33cdk2 は、サイクリン A の他に E2F¹⁸⁾、Rb 類似の p107Rb にも結合する¹⁹⁾。今

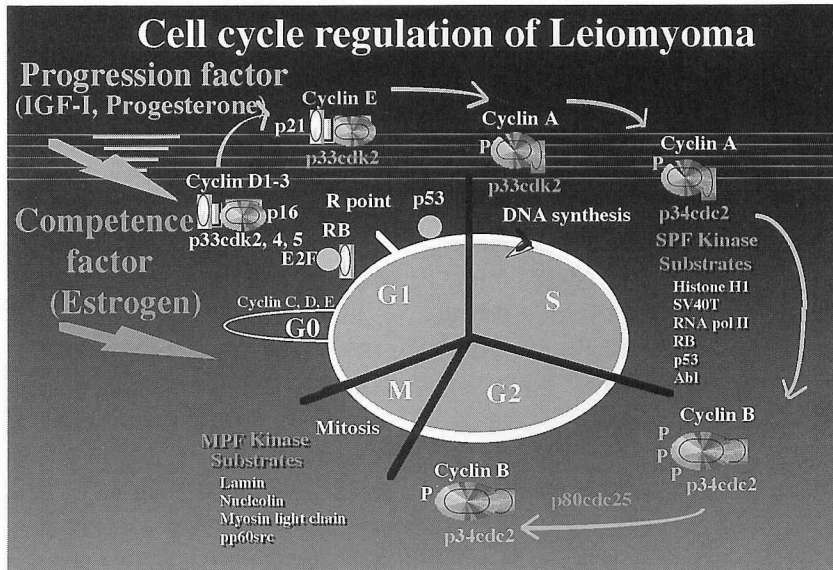


図1 子宮筋腫における細胞周期の調節機構

では、cdk2, cdk3, cdk4, cdk5を含む10種類以上の遺伝子が単離され cell cycle dependent kinase (cdk) family として解析されている。これらの kinase は、単独では殆ど活性を持たず co-factor として後述するサイクリンを活性化に必要とする。

C サイクリンファミリー

サイクリンは1982年、マサチューセッツ州のウッドホールにある海洋生物学研究所において生理学コースの実習中に Hunt らによって発見された²⁰⁾。彼らは、受精したウニの卵を³⁵S-メチオニンで標識し、ポリアクリルアミドゲルで解析し、約5万 kd の³⁵S-メチオニンで強く標識され、各細胞周期が終わるごとに分解される蛋白質を見だし、サイクリンと命名した。その後、分子量や分解される時期の違う2つのサイクリンが見いだされ、それぞれサイクリンAとサイクリンBと命名された²¹⁾。サイクリンAとサイクリンBはいろいろな種から単離され、アミノ酸配列の中ほどに大変類似した配列が見いだされ、“サイクリンボックス”と命名された。その後G1サイクリン (Cyclin C, Cyclin D1-3, Cyclin E) が見いだされた²²⁾。G1サイクリンは他のサイクリンとアミノ酸配列だけが似ており、G1サイクリンは細胞周期における役割も、他のサイクリンとは異なり、G1期に特異的である²³⁾。今では30種以上のサイクリンの塩基配列が明らかにされている²⁴⁾ (サイクリンの構造 図2)。最近サイクリンAおよびEがRbのリン酸化を促進すること、またcdc2の他、cdc2の family の1つであるcdk2がRbをリン酸化することが明らかにされた。このcdk2とcyclin A

およびEは複合体を作ってセリン/スレオニンリン酸化酵素活性を持ちRbをリン酸化し、Rbの不活化はRbの核から細胞質への移行を促す。またRbのリン酸化は転写因子であるE2Fとの結合を解除し、DNA合成を誘導する。サイクリンEとcdk2はmid G1 response geneであり、cyclin E/cdk2の複合体の活性は、late G1期にピークに達し、Rbのリン酸化を促すと考えられる。

D 細胞周期調節と情報伝達

増殖因子で刺激された細胞は、細胞内ではどんな反応が起こるのだろうか？ 前述のコンピテンスファクターには線維芽細胞増殖因子 (FGF)、血小板由来増殖因子 (PDGF)、免疫系においては抗原刺激などがある。婦人科系組織ではエストロゲンがそれに相当する。このようなコンピテンスファクターはそれぞれ固有の受容体レセプターに結合する。ファクターと結合したレセプターは構造変化を起こし、次々にリン酸化酵素を活性化し、細胞表層の刺激は核内に伝わる。これらの刺激は核内で遺伝子の発現を調節している。この時期に誘導される遺伝子群はG1初期応答遺伝子と呼ばれ、jun や fos などの転写因子やインシュリン様細胞増殖因子 (IGF-I) などの増殖因子を含む。G1初期応答遺伝子の転写因子や増殖因子の発現と外からのプログレッションファクターにより、次のステップであるG1後期が起こる。プログレッションファクターには上皮系細胞増殖因子 (EGF) やインシュリン様細胞増殖因子 (IGF-I) などが含まれる。ファクターが結合したレセプターは構造変化を起こし発癌遺伝子である ras や raf などを活性化し、次にリン酸化酵素を活性

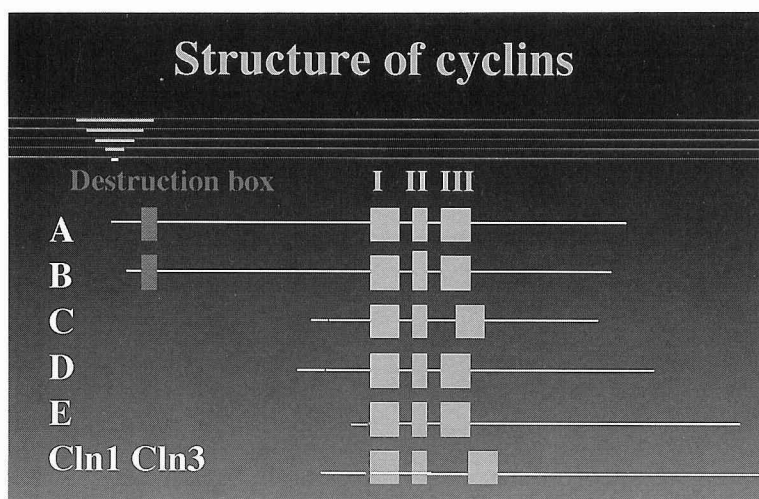


図2 サイクリンの構造

化して一連の刺激が核まで伝達され新たな遺伝子の発現を誘導する。この時期に誘導された遺伝子群はG1後期応答遺伝子と呼ばれ cyclin E, cdk2などを含む。これらの cyclin と cdk 遺伝子は転写され翻訳された後、複合体を作り、リン酸化酵素活性を持つ。これらの複合体は腫瘍抑制遺伝子の RB や p53などをリン酸化する²⁵⁾。腫瘍抑制遺伝子は正常細胞では細胞増殖を抑制する働きがあり、サイクリンと cdk の複合体でリン酸化されると、一時的に増殖を抑制す機能が失われて細胞増殖が起こる。ところが腫瘍抑制遺伝子に欠損や突然変異が起こると、増殖を抑制する働きが常に失われて細胞は癌化する。p53にも同様な働きがある(図3)。また cyclin/cdk のリン酸化酵素は幾つかの蛋白質で制御されている。CAK (cyclin associated kinase) は cdk2, cdc2をリン酸化して活性化する。また逆に p16は cdk4に結合して cdk4のリン酸化酵素活性を阻害する。また p21は cdk2に結合して cdk2のリン酸化酵素活性を阻害する。結果的に p16と p21はG1期の一連の活性化を抑制するので、これらも腫瘍抑制遺伝子と考えられている。実際メラノーマを始め多くの癌で p16や p21の欠損や突然変異が報告されている。また腫瘍増殖因子の1つである TGF- β は上皮系の細胞増殖を停止するが、p27という27Kダルトンの蛋白質

を誘導し、cyclin E/cdk2のリン酸化酵素活性を阻害することによって下流の一連の反応を抑さえる。また老化した細胞ではp21が誘導され、cyclin E/cdk2のリン酸化酵素活性が阻害されることによって下流の一連の反応が抑さえられている。またアポトーシスの場合でも cyclin A/cdk2や cdk2が一連の活性化を伴わずに不適当に活性化すると引き起こされることが報告されている。このように細胞周期調節に異常が起こることによって癌化をはじめ老化、アポトーシスという大変広い範囲の現象が引き起こされる(図4)。

II 臨床との関わり編

A 細胞周期調節異常

ヒトの各組織において細胞周期がどのように調節されているのか、また化学発癌剤やウイルスの感染などの異常によってどのように細胞周期調節に狂いが生じ病気が引き起こされるのであろうか? 前述のように最近 cdc2/サイクリンファミリーの癌化への直接的関与が幾つか明らかにされた。肝細胞癌では、B型肝炎ウイルス遺伝子がヒトサイクリンA遺伝子の中に挿入され²⁶⁾、サイクリンA蛋白質のN末端が肝炎ウイルスの pre-S蛋白質と置換され、安定して存在できるカIMERリック蛋白質を産生することが明らかにされた。また

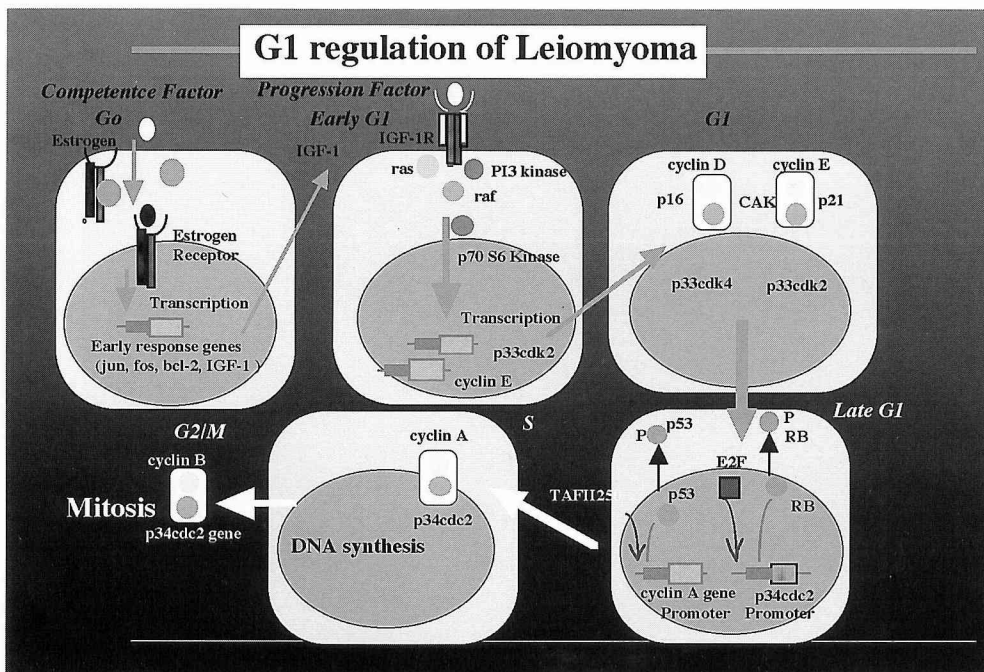


図3 子宮筋腫のG1期におけるシグナル伝達

G1 regulation of cell cycle

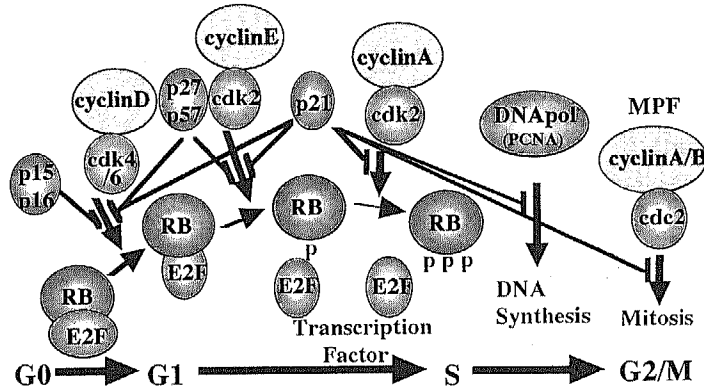


図4 G1期におけるサイクリン, サイクリン依存性リン酸化酵素, およびその阻害物質における細胞周期調節

Cell cycle regulators: Cyclins

Cyclin	Associated Cdk inhibitor	Peak activity phase of cell cycle	Regulation of expression	Potential spectrum of malignancies
D	Cdk 2-6	G1	Growth factors (e.g., CSF-I)	
1				Lymphoma, breast, oesophagus parathyroid, bladder, lung
2				Colon, testicular, chronic, lymphocytic leukemia
3				Retinoblastoma, lymphoma, acute lymphocytic leukemia
E	Cdk-2	LateG1-EarlyS		Breast, prolymphocytic, leukemia, lu stomach, kidney, prostate, colon
A	Cdk-1 [cdc-2], Mid S-G2		Cycle-dependent	Liver
B	Cdk1 [cdc 2	G2-M	Cycle-dependent	Breast?
F				
G				
H	Cdk7		All phases	

図5 各種サイクリンと疾患におけるその異常

アデノウイルスによって腫瘍化した細胞では、サイクリンAがE1Aと結合している。またサイクリンDは、副甲状腺腫で副甲状腺ホルモン遺伝子のエンハンサーに転座した遺伝子 (PRAD1) と同じで、腺腫で発現量が増している²⁷⁾。PRAD1はbc1-1と同一でint-2, hst-1と共に乳癌では通常1つの増幅領域として増幅されている。またc-srcとc-ablはM期でサイクリンB/p34cdc2によってリン酸化され²⁸⁾、Rb²⁹⁾やp53³⁰⁾などの腫瘍抑制遺伝子産物はサイクリンA/p34

cdc2の複合体によってリン酸化を受ける。最近サイクリンAおよびEがRbのリン酸化を促進することが明らかにされた。このRbのリン酸化は、Rbを不活化しRbの核から細胞質へ移行を促し、DNA合成を誘導する。またcdc2の他、cdc2のfamilyの1つであるcdk2がRbをリン酸化することが明らかにされた。また白血病細胞を含む癌細胞のおよそ50%にはp53に何らかの異常が報告されており、またp53はlate G1期でDNA合成を抑制し、p53がG1期におけるcheck

point の役割を演じていることが明らかにされた。細胞が stress 状態におかれたり、UV 等で damage を受けると p53 の発現が誘導され、細胞を G1 期でしばらくのあいだ arrest する。その間に DNA の修復が行われ、細胞が正常に増殖を開始する。しかしながら p53 に mutation があると、G1 で細胞を arrest できず増殖し続けるので、DNA に mutation が固定され、遺伝子の増幅が行なわれたり、その子孫から癌細胞が出現したりする。我々は、白血球 T 細胞における細胞周期調節の異常を解析し、cdc2 プロモーターに RB の結合配列を見だし、サイクリン A プロモーターには p53 の結合配列を見出した。また RB は cdc2 プロモーター活性を 30% に抑制し、p53 はサイクリン A プロモーター活性を 18~36% に抑制することを見出した。さらにこれらの腫瘍抑制因子は、白血球細胞では全くこれらのプロモーターへの結合能を失っていたことより、白血球細胞では腫瘍抑制因子である RB と p53 が不活化されているために、cdc2 やサイクリン A の発現を調節できない可能性が考えられ、腫瘍抑制因子が細胞周期調節因子を直接制御することを明らかにした³¹⁾。サイクリンの種類とそれらの異常が引き起こすと考えられる疾患を図 5 にまとめた。最近 p16, p21, p24, p27 と呼ばれる蛋白質などが cdk/サイクリンファミリーの複合体に結合することが明らかにされた。この中

で p21 は p53 によって誘導され、脱リン酸化酵素活性をもち、cdk2/サイクリン E のリン酸化酵素活性を阻害する。また p16 は、cdk4/サイクリン D の複合体に結合して、リン酸化酵素活性を阻害し、癌細胞の中では約 50% の細胞に遺伝子の欠損や突然変異が起きていることが明らかにされた。従って p16 や p21 の遺伝子に欠損や突然変異が起これば、その細胞は cdk/サイクリン複合体のリン酸化酵素活性を抑えられなくなり、癌化すると考えられている。このようにサイクリン/p34cdc2 ファミリー複合体の異常な活性化は、腫瘍抑制遺伝子産物をリン酸化することによって不活化し、細胞増殖を続けるのに貢献するのかもしれない。これらのサイクリン依存性リン酸化酵素阻害物質の異常が引き起こすと考えられる疾患を図 6 にまとめた。

B 子宮内膜癌

子宮内膜癌の発生過程に細胞周期調節異常はどのように係わるのだろうか？細胞周期調節の 1 つである cdk4 の発現を子宮内膜癌組織の連続切片を用いて免疫組織化学的に調べると、cdk4 は内膜癌の部分で発現しているが、正常とおもわれる部分では発現していない。一方、腫瘍抑制遺伝子である p16 は逆に内膜癌の部分では発現していないが正常とおもわれる部分で発現している。このように子宮内膜癌では cdk4 と腫瘍抑制因子である p16 の発現に逆の相関がある。p16

Cell cycle regulator inhibitors of cyclin-dependent kinases

CDK inhibitor	Location/Gene	Mechanism	Cell Source (initial isolation)	Potential diseases
p16 ^{INK4}	9p21 [MTS1]	Binds to cdk4 inhibit cyclin D/ cdk4 activity	Fibroblasts, HeLa	Melanoma, ALL, bladder, head, neck, lung, breast, ovary, esophagus, pancreas
p15 ^{INK4}	9p21 [MTS2] Induced by TGF-β	Binds and sequesters cdk4 and cdk6 Releases bound p27KIP from cyclin D/cdk4 & 6 for binding to complex	Human keratinocytes	Melanoma, T-ALL, head & neck, lung
p21	6p21 Induced by p53 following damage	Binds to G1 and S cdk4 (including cdc2) inhibits cyclin/ cdk complexes involving cyclins D, E, A	Fibroblasts, brain	Brain, lung, colon, leukemias
p27 ^{KIP} p28 ^{ICK}	? Induced by cell contact TGF-β, Lovastatin	Binds to pre-formed G1 and early S cyclin/ cdk complex involving cyclins D, E, A, cdk4, 2, 4		Mink lung epithelium ? Human breast epithelium HeLa

図 6 各種サイクリン依存性リン酸化酵素阻害物質と疾患におけるその異常

Expression of cell cycle-related genes in leiomyoma(LM) and myometrium (MM) by western blotting

Case (No)	Age (years)	Menstrual cycle	Pathology of Leiomyoma	cyclin E		Expression of cell cycle-related genes							
				MM	LM	cdk2	cdk4	cdc2	c-raf				
1	45	Early Proliferative	Usual	+	+	+	+p	+	+	-	+/-	-	+
2	40	Early Proliferative	Usual	-	-	+/-	+/-	+	+	-	-	-	+/-
3	47	Mid-Proliferative	Usual	+/-	+	+p	+p	+	+	+	+	+	+
4	50	Mid-Proliferative	Usual	+	+	+p	+	+	+	+/-	+/-	++	++
5	46	Mid-Proliferative	Usual	-	+	+	+p	+	+	+/-	++	+	++
6	45	Late Proliferative	Usual	-	+	+	+p	+	+	-	+/-	-	++
7	42	Late Proliferative	Usual	+/-	+	+	+p	+	+	+	+	+	+
8	50	Mid-Secretory	Usual	-	+	+/-	+p	+	+	-	+	-	-
9	44	Late Secretory	Usual	-	-	+/-	-	+	+	-	-	-	-
10	47	Late Secretory	Usual	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+
11	49	No Menses	Usual	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
12	46	Atrophy	Usual	+	+	+	+p	+	+	+/-	+	+/-	+
13	46	Atrophy	Usual	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+
14	46	Hyperplasia	Cellular	-	+	+p	+p	+	+	+	+/-	-	++
15	51	Early Proliferative	Cellular	-	-	+p	+p	+	+	-	+/-	-	+/-
		leiomyosarcoma cell line		++		+p		+		++		++	

-:negative; +/-:weakly positive; +: positive; ++: highly positive. ; +p: super shift

A 細胞周期調節関連遺伝子

Expression of suppressor genes in leiomyoma (LM) and myometrium (MM) by western blotting

Case (No)	Age (years)	Menstrual Cycle	Pathology of Leiomyoma	Tumor Suppressor Genes					
				p16		p21		p53	
				MM	LM	MM	LM	MM	LM
1	40	Early Proliferative	Usual	+	+/-	+/-	++	-	-
2	45	Early Proliferative	Usual	-	-	+/-	+	-	+/-
3	47	Mid-Proliferative	Usual	+/-	+/-	+/-	+	+/-	+
4	46	Mid-Proliferative	Usual	-	-	+/-	+	-	+/-
5	50	Mid-Proliferative	Usual	-	-	+/-	+	-	++
6	45	Late Proliferative	Usual	-	+	+/-	+	-	+
7	42	Late Proliferative	Usual	-	+	+/-	++	-	+
8	50	Mid-Secretory	Usual	-	+	-	+	-	++
9	44	Late Secretory	Usual	-	-	-	-	-	-
10	47	Late Secretory	Usual	-	-	-	+	-	+
11	46	No Menses	Usual	-	-	-	+	-	-
12	46	Atrophy	Usual	-	+	+/-	++	-	-
13	49	Atrophy	Usual	-	-	-	-	-	-
14	51	Early Proliferative	Cellular	-	+	+	++	-	+
15	46	Hyperplasia	Cellular	+/-	++	+	+	-	-
16		leiomyosarcoma cell line		-		+/-			++

-:negative; +/-:weakly positive; +: positive; ++: highly positive.

B 腫瘍抑制遺伝子

図7 子宮筋腫における細胞周期調節関連遺伝子Aおよび腫瘍抑制遺伝子Bの発現

は cdk4 と結合し cdk4 のリン酸化酵素活性を抑制することが知られているので、この結果より内膜癌の発生過程には cdk4 の異常発現と本来癌化を抑制する働きを持つ腫瘍抑制因子である p16 の発現低下の両面の異常が起こっていることが明らかになった²²⁾。

C 子宮筋腫

子宮筋腫は子宮で最も頻度の高い良性腫瘍であり、悪性化する頻度は極めて稀である。そこで子宮平滑筋と子宮筋腫はどこが違うか、またなぜ悪性化する頻度が少ないのかを明らかにするために、各組織から蛋白

質を抽出して、電気泳動後フィルターへ移して、細胞周期調節因子のサイクリンおよびcdkの蛋白質をWestern blotting方法で解析した。その結果子宮筋腫では子宮平滑筋に比べ腫瘍抑制遺伝子のp53、発癌遺伝子のraf、細胞周期調節因子のサイクリンE、cdc2の発現が強くみられた。また子宮平滑筋肉腫ではそれらに更に強い発現がみられた。また子宮平滑筋肉腫では腫瘍抑制遺伝子のp21、腫瘍抑制遺伝子のRBと共役するE2F、細胞周期調節因子のcdk5が弱く発現していたが、逆に子宮筋腫では腫瘍抑制遺伝子のp21が強くと発現していた。このように子宮筋腫では、細胞周期調節因子であるサイクリンE、p34cdc2、および発癌遺伝子c-raf、p53などに異常発現があり、その程度は子宮筋平滑筋に比べ子宮平滑筋肉腫により近いものと考えられた。また子宮平滑筋肉腫ではp53の異常発現とp21の発現低下が見られ、これが悪性腫瘍の性格を示すものと考えられる。それでは子宮筋腫にはこのように調節因子の発現異常が有るにもかかわらず、なぜ悪性化する頻度は極めて稀なのだろうか。子宮筋腫には腫瘍抑制因子のp53やp21が強くと発現しているもので、たぶんこのような抑制因子の働きで子宮筋腫は良性腫瘍としての性格を維持しているのではないかと考えられる³³⁾(図7)。

D 老化, アポトーシス, 動脈硬化

老化したヒト正常線維芽細胞は、無血清培地ではG1期のまま数カ月間増殖を静止しているが、血清で刺激されると、c-myc、c-jun、c-Ha-rasなどの増殖関連遺伝子を発現させる。しかしながら、老化細胞は、c-fosの発現やRbのリン酸化ができない。またp34cdc2やサイクリンAの発現が誘導されない。これらの事実は、老化細胞では一部の増殖刺激伝達系が欠損していることを示している。ところが老化細胞をSV40T抗原やアデノウイルスのE1AとE1B、もしくはパピローマウイルスのE6とE7の組合せによって、増殖

を誘導することができる。このことは、老化細胞ではDNA合成に必要な因子はまだ正常であることや、これらのウイルス産物によって、老化細胞内のRbおよびp53が不活化される可能性を示唆している。これは、SV40Tは、Rbとp53の両方とに結合能があり、E1AとE7はRbと、E1BとE6はp53と結合するためと考えられている。最近老化細胞ではcdk2のインヒビターであるp21(Cip, WAF)が蓄積されていることが明らかにされた。このp21は脱リン酸化酵素で、cdk2/サイクリンEのリン酸化酵素活性を阻害し、Rbのリン酸化が抑さえられ、増殖停止が引き起こされるのではないかと考えられている。またT細胞でアポトーシスを起こす際にp34cdc2が関与することが明らかにされ、細胞周期調節異常がアポトーシスを引き起こすのではないかと考えられている。また動脈硬化を起こす原因は酸化型コレステロールの蓄積により血管平滑筋細胞が異常に増殖するためと考えられており、血管平滑筋細胞の細胞周期調節異常が動脈硬化を引き起こすのではないかも考えられはじめている。

おわりに

以上述べてきたように、最初ウニや貝で見いだされたサイクリンや酵母で見いだされたcdc2がヒトにも存在し、基本的に細胞周期の調節機構が酵母からヒトまで同じであることが明らかにされた。これらの細胞周期調節因子には、発癌遺伝子や腫瘍抑制遺伝子産物が含まれ、その働きに異常が起こると癌化することが明らかにされた。最近では細胞周期調節異常は、癌を起こすのみならず老化やアポトーシスや動脈硬化なども引き起こすと考えられている。本稿が最も基本的な生物現象の1つである細胞周期の理解につながり、更に個々の研究者が直面している病気の原因解明に少しでも役立つよう願ってやまない。

文 献

- 1) 二階堂敏雄: Cyclin: 細胞周期調節. Medical Immunology. vol 23, pp 429-441, 国際医書出版, 東京, 1992
- 2) 二階堂敏雄: サイクリンによる細胞周期調節. Cancer Research & Clinics. vol 2, pp 80-90, 中山書店, 東京, 1993
- 3) Howard A, Pelc SR: Synthesis of deoxyribonucleic acid in normal and irradiated cells and its relation to chromosome breakage. Heredity 6 (Suppl): 261, 1953
- 4) Pardee AB: A restriction point for control of normal animal cell proliferation. Proc Natl Acad Sci USA 71: 1286-1290, 1974

- 5) Croy RG, Pardee AB: Enhanced synthesis and stabilization of Mr 68,000 protein in transformed BALB/c-3T3 cells: candidate for restriction point control of cell growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 80: 4699-4703, 1983
- 6) Calvo V, Crews CM, Vik TA, Bierer BE: Interleukin 2 stimulation of p70 S6 kinase activity is inhibited by the immunosuppressant rapamycin. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 7571-7575, 1992
- 7) Yoshida M, Yamamoto M, Nikaido T: Quercetin arrests human leukemic T cells in late G1 phase of the cell cycle. *Cancer Res* 52: 6676-6681, 1993
- 8) Hartwell LH, Culotti J, Pringle JR, Reid BJ: Genetic control of the cell division cycle in yeast. *Science* 183: 46-51, 1974
- 9) Nurse P, Thuriaux P, Nasmyth K: Genetic control of the cell division cycle in the fission yeast. *Schizosaccharomyces pombe*. *Mol Gen Genet* 146: 167-178, 1976
- 10) Lorincz AT, Reed SI: Primary structure homology between the product of yeast cell division control gene CDC28 and vertebrate oncogenes. *Nature* 307: 183-185, 1984
- 11) Reed SI, Hadwiger JA, Lorincz AT: Protein kinase activity associated with the product of the yeast cell division cycle gene CDC28. *Proc Natl Acad Sci USA* 82: 4055-4059, 1985
- 12) Simanis V, Nurse P: The cell cycle control gene *cdc2+* of fission yeast encodes a protein kinase potentially regulated by phosphorylation. *Cell* 45: 261-268, 1986
- 13) Lee MG, Nurse P: Complementation used to clone a human homologue of the fission yeast cell cycle control gene *cdc2*. *Nature* 327: 31-35, 1987
- 14) Ninomiya-Tsuji, Nomoto S, Yasuda H, Reed SI, Matsumoto K: Cloning of a cDNA encoding a CDC2-related kinase by complementation of a budding yeast *cdc28* mutation. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 9006-9010, 1991
- 15) Fang F, Newport J: Evidence that the G1-S and G2-M transitions are controlled by different *cdc2* proteins in higher eukaryotes. *Cell* 66: 731-742, 1991
- 16) Elledge SJ, Spottswood M: The new human p34 protein kinase, CDK2, identified by complementation of a *cdc28* mutation in *Saccharomyces cerevisiae*, is a homolog of *Xenopus* Eg1. *EMBO J* 10: 2653-2659, 1991
- 17) Tsai L-H, Harlow E, Meyerson M: Isolation of the human *cdk2* gene that encodes the cyclin A- and adenovirus E1A-associated p33 kinase. *Nature* 353: 174-177, 1991
- 18) Mudryj M, Devoto SH, Hiebert SW, Hunter T, Pines J, Nevins JR: Cell cycle regulation of the E2F transcription factor involves an interaction with cyclin A. *Cell* 65: 1243-1253, 1991
- 19) Devoto SH, Mudryj M, Pines J, Hunter T, Nevins JR: A cyclin A-protein kinase complex possesses sequence-specific DNA binding activity: p33cdk2 is a component of the E2F-cyclin A complex. *Cell* 68: 167-176, 1992
- 20) Evans T, Rosenthal ET, Youngblom J, Distel D, Hunt T: Cyclin: a protein specified by maternal mRNA in sea urchin eggs that is destroyed at each cleavage division. *Cell* 33: 389-396, 1983
- 21) Minshull J, Pines J, Standart N, Hunt T: Protein synthesis, proteolysis, and the control of cell division in early embryos: do the synthesis and destruction of cyclin comprise the cytoplasmic oscillator? In: Beach D, Basilico C, Newport J (eds), *Cell cycle control in eukaryotes*. p 128, Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory, 1988
- 22) Hadwiger JA, Wittenberg C, Richardson HE, de Barros Lopes M, Reed SI: A novel family of cyclin homologs that control G1 in yeast. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 6255-6259, 1989
- 23) Richardson HE, Wittenberg C, Cross F, Reed SI: An essential G1 function for cyclin-like proteins in yeast. *Cell* 59: 1127-1133, 1989

- 24) Pines J : Cyclin : wheels within wheels. *Cell Growth Differ* 2 : 305-310, 1991
- 25) Hinds PW, Mittnacht S, Dulic V, Arnold A, Reed SI, Weinberg RA : Regulation of retinoblastoma protein functions by ectopic expression of human cyclins. *Cell* 70 : 993-1006, 1992
- 26) Wang J, Chenivesse X, Henglein B, Brechot C : Hepatitis B virus integration in a cyclin A gene in a hepatocellular carcinoma. *Nature* 343 : 555-557, 1990
- 27) Motokura T, Bloom T, Kim HG, Juppner H, Ruderman JV, Kronenberg HM, Arnold A : Are novel cyclin encoded by a bcl-linked candidate oncogene. *Nature* 350 : 512-515, 1991
- 28) Draetta G : Cell cycle control in eukaryotes : molecular mechanisms of cdc2 activation. *Trends Biochem Sci* 15 : 378-383, 1990
- 29) Milner J, Cook A, Mason J : p53 is associated with p34cdc2 in transformed cells. *EMBO J* 9 : 2885-2889, 1990
- 30) Bandara LR, Adamczewski JP, Hunt T, La Thangue NB : Cyclin A and the retinoblastoma gene product complex with a common transcription factor. *Nature* 352 : 249-251, 1991
- 31) Yamamoto M, Yoshida M, Ono K, Fujita T, Fujita-Ohtani N, Sakai T, Nikaido T : Effect of tumor suppressers on cell cycle regulatory genes : RB suppressses p34cdc2 expression and normal p53 suppresses cyclin A expression. *Exp Cell Res* 210 : 94-101, 1994
- 32) Shiozawa T, Li S-f, Nikaido T, Fujii S : Immunohistochemical analysis of the expression of cdk4 and p16INK4 in human endometrioid-type carcinomas. *Cancer* 80 : 2250-2256, 1997
- 33) Zhai Y, Kobayashi Y, Mori A, Nikaido T, Konishi I, Fujii S : Uterine leiomyosarcoma have abnormal expression of sex steroid receptors, Ki-67, and p53 compared to the other smooth muscle tumors of the uterus. *Int J Gynecol Oncol* (in press)

(10. 4. 15 受稿)