

論文名：R2TP complex は口腔扁平上皮癌（OSCC）進展に寄与する

新潟大学大学院医歯学総合研究科

氏名 木口 哲郎

---

分子シャペロン複合体 R2TP complex は、Pontin、Reptin、RPAP3、PIH1D1 の 4 種類のタンパク質より構成され、ヒートショックプロテイン 90 (Hsp90) と相互作用する因子として単離された。R2TP は、リボソーム生合成の他、細胞周期調節やアポトーシス、TELO2 タンパク質を介した PIKK ファミリーへのシグナル伝達などに関与する。口腔扁平上皮癌 (Oral squamous cell carcinoma, OSCC) 細胞では、核小体の肥大化を認めることから、リボソーム合成の活性化が明らかである。我々は、リボソーム合成を調節する R2TP が OSCC 進展に関与するという仮説を立て、OSCC 細胞や組織における R2TP の局在や他のタンパク質 (TELO2、p53) との相互作用について解析することとした。

OSCC 由来培養細胞 (HSC-2、HSC-3、HSC-4、Ca9-22、SAS) および HeLa 細胞の増殖能について MTT アッセイで検討したところ、HSC-4 細胞が最も高い増殖能を示し、ウェスタンブロット解析で R2TP、TELO2、Hsp90 の発現が他の OSCC 細胞や正常歯肉上皮細胞より上昇していた。このことから、R2TP 各因子の発現と OSCC 細胞の増殖能の関連が示唆された。そこで、R2TP 各因子や TELO2 をノックダウンしたところ、OSCC 細胞の増殖や遊走が有意に抑制される結果が得られた。また、免疫沈降法では OSCC 細胞における R2TP 各因子の結合および TELO2 との相互作用が示された。

肺がん細胞において Pontin が p53<sup>R248Q</sup> と相互作用し、癌進展を促進するとの報告がある。p53<sup>R248Q</sup> を内因性に発現する HSC-4 細胞を用いて免疫沈降で検証したところ、Pontin と p53<sup>R248Q</sup> との結合を認め、免疫染色では Pontin と p53 が核に共局在していた。したがって、OSCC 細胞 (HSC-4 細胞) でも Pontin と p53<sup>R248Q</sup> が相互作用し、癌進展へ関与する可能性が示唆された。さらに、R2TP 各因子のノックダウンにより OSCC 細胞の増殖や遊走抑制とともに、p53<sup>R248Q</sup> のセリン 15 のリン酸化レベル低下を認めた。変異型 p53 のリン酸化 (セリン 15) は癌進展を促進させるとの報告がある。また、R2TP は癌化や癌進展に関与する PIKK ファミリータンパク質の安定化や活性化に必須であり、PIKK は、p53 のリン酸化レベルの調節を行っている。したがって、R2TP ノックダウンにより PIKK が不安定化し、p53 のリン酸化レベルの低下が生じたことで、癌の増殖や遊走が抑制されたと推察される。

OSCC 細胞や組織を用いた免疫染色では、Pontin、Reptin、TELO2 は正常・癌に関わらず核への局在傾向を示した。しかし、RPAP3 と PIH1D1 は、正常上皮組織や細胞では細胞質に局在していたのに対し、OSCC 組織や細胞では核に局在していたことから、これらの核移行が癌化や癌進展に関与する可能性が示唆された。

以上より、R2TP complex は OSCC の進展に寄与することが明らかとなった。