

# Aurora キナーゼの機能と発がんにおける役割

佐谷 秀行

ショウジョウバエの細胞分裂を制御している分子として見出された Aurora キナーゼが、ヒトの多くのがんで高頻度に過剰発現していることがわかって以来、細胞分裂異常と発がんの関係が注目されるようになった。また Aurora キナーゼ阻害剤の開発が始まり、基礎実験においてがんに対する効果が有望であることが見出され、益々 Aurora キナーゼのがん形成とその悪性形質維持における役割が重要視されるようになった。しかし、その病理作用が先行して注目される中、生理作用についてはまだわかっていないことが多い。本稿ではこれまで解析されてきた Aurora キナーゼの主として後生生物細胞における生理機能に焦点をあてて解説し、その病理作用との関連について述べてみたい。

## 1. Aurora キナーゼによる細胞分裂制御

細胞分裂は染色体をはじめとする細胞内の要素を二つの細胞に分配するステップであり、G2 期後半から始まるダイナミックな一連のイベント、すなわち中心体成熟、染色体凝縮、核膜崩壊、中心体分離、染色体整列、染色体分離、細胞質分裂、が一つ一つ確実に遂行されることによって進行する。それらのイベントは、さまざまな分子の連携によって制御されているが、主としてタンパク質の「リン酸化」と「分解」という二つの生化学反応により調節されている。細胞分裂期には多くのタンパク質がリン酸化を受けるが、分裂期に活性化する一群のセリン・スレオニンキナーゼがその働きを担っている。これらのキナーゼは総称して分裂期キナーゼと呼ばれ、その構造は酵母からヒトに至るまで高度に保存されている。分裂期キナーゼは、1) CyclinB-Cdk1, 2) NimA キナーゼ, 3) Polo キナーゼ, 4)

Aurora キナーゼ, 5) Warts キナーゼ, 6) その他チェックポイント関連キナーゼ, に分類される。これらのキナーゼが互いに時には促進的に、また時には抑制的に働きながら、様々な基質をリン酸化し、分裂期の複雑なイベントを遂行していく。

Aurora キナーゼが欠損したショウジョウバエ細胞が異常な細胞分裂像を呈したことから、このキナーゼが分裂期の制御を行うキナーゼ、すなわち分裂期キナーゼであるという概念が示された<sup>1)</sup>。この欠損細胞は主として中心体分離と双極性紡錘体形成が不全となり、単極紡錘体の周囲に放射状に紡錘糸が広がる染色像が極光（オーロラ）を髣髴させることからこの名がついた。哺乳類細胞の Aurora キナーゼには Aurora-A, -B, -C の三つのホモログが存在する（図 1）。Aurora-A, -B は増殖する全ての細胞で発現しているが、Aurora-C は精巣特異的に発現し、構造的には Aurora-B に相同性が高い。

Aurora-A は、G2 期より中心体に集積しはじめ、染色体凝縮が見られる頃（つまり形態学的に分裂期に入る頃）から一部の画分は核内へ移行しはじめ、前期の進行とともに核内蓄積が強くなる。核膜崩壊後は、S 期で複製した中心体が分離することによって生じる紡錘体極と紡錘体上に顕著に集積する。Aurora-A 活性化のタイミングを生化学的に調べると、タンパク質の発現時期と一致して分裂初期から中期にピークとなる<sup>2)</sup>。活性化型 Aurora-A を特異的に認識する抗体を用いて、活性化型酵素の細胞分裂進行に伴う細胞内分布を検討すると、そのタンパク質の局在パターンと

熊本大学大学院医学薬学研究部 腫瘍医学分野（〒860-8556 熊本市本荘 1-1-1）；現在、慶應義塾大学医学部 先端医科学研究所 遺伝子制御研究部門（〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35）

Aurora kinases: Functions and roles in tumorigenesis  
Hideyuki Saya (Department of Tumor Genetics and Biology, Graduate School of Medical Sciences, Kumamoto University, 1-1-1 Honjo, Kumamoto 860-8556, Japan; presently, Division of Gene Regulation, Institute for Advanced Medical Research, Keio University School of Medicine, 35 Shinanomachi, Shinjuku-ku, Tokyo 160-8582, Japan)

ほぼ同様に G2 期の中心体に現れ、前期細胞の核内に集積し、その後は紡錘体極・紡錘体に局在する<sup>3)</sup>(図 2)。そして発現量は後期の開始とともにタンパク質分解によって減少しはじめ、分離した後の核の間に存在する中央紡錘体 (central spindle) に移動した後、消失する。

Aurora-B は S 期の早い時期から核内に出現し、分裂期においては、染色体に乗って移動、途中からは動原体を経由して微小管に乗り換え、最終的には分裂溝に局在する。あたかも列車を乗り換える乗客のような特徴的な局在変化を示すことから、Aurora-B とその結合タンパク質は「染色体パッセンジャー」と呼ばれている<sup>4)</sup>。

Aurora-A と Aurora-B は互いに構造の類似したホモログではあるが、上記のように異なった時期に異なった局在を示すことから、独立して分裂期の進行に寄与していると考えられている<sup>5)</sup>。Aurora-A は G2 期から M 期への移行、中心体の成熟、中心体分離、中期における染色体の赤道面への整列などを制御し<sup>3,6,7)</sup>、Aurora-B は分裂中期における紡錘糸と動原体の付着の是正による染色体の赤道面への整列、さらに細胞質分裂の遂行に必要であることが報告されている<sup>8,9)</sup>。分裂期の進行という観点から大雑把な見方をすれば、Aurora-A の活性は G2 後期から M 期中期までのイベントに重要であり、Aurora-B は M 期中盤から M 期終了までのイベントに重要であると考えられる。しかし近年、Aurora-B は特異的にその活性を阻害すると分裂期染色体の脱凝縮が起こることから、染色体の形成や凝縮維持に不可欠な役割を持っていると考えられており、その役割を分裂期後半だけに限定することはできないことを申し添える。

## 2. Aurora-A の分裂期における生理的機能

### 1) 中心体成熟・微小管形成

中心体は一對の中心小体 (centriole) およびそれを取り巻く無構造な高電子密度領域である中心小体外周物質 (pericentriolar material, 以下 PCM と略す) から構成される細胞内小器官であり、微小管の形成という重要な機能を有することから微小管形成中心 microtubule organizing center (MTOC) と呼ばれる。中心体は DNA と同様に、S 期に複製され、分裂開始と共に分離し始める。分裂期に入ると、中心体はそのサイズが増大し、MTOC としての機能が亢進する。この過程を中心体成熟 (centrosome maturation) という。中心体の主たる構成要素である  $\gamma$  チューブリンを用いた観察では、中心体は分裂期に入ると 10 倍以上にもその領域が拡大することが判明し、中心体成熟の本態は「PCM へのタンパク質のリクルートによるその領域の拡大」であると考えられている。PCM に  $\gamma$  チューブリン等の構造タンパク質のほか、多数のキナーゼやモータータンパク質などが集積することが知られている。この中心

体成熟というイベントがスピンドル形成にきわめて重要な役割を果たしていることがわかっている。

Aurora-A はこの中心体成熟に不可欠であることが種々の生物で示されている。線虫では Aurora-A のホモログである AIR-1 の発現を RNAi により抑制すると、中心体の増大が起こらずに、 $\gamma$  チューブリンの量が本来の約 40% にまで減少した<sup>10)</sup>。この Aurora-A RNAi 細胞では、他の中心体タンパク質として知られる CeGrip や微小管安定化因子の ZYG-9 (微小管重合機能に重要な XMAP215 ファミリー) の中心体への集積も阻害されているため MTOC としての機能が低下し、中心体から発生する微小管の短縮が観察された。このことから、Aurora-A は中心体タンパク質が中心体へ集合してその機能を発揮するために必須であると考えられる。ヒト培養細胞においても Aurora-A をノックダウンすると、線虫細胞と同様に、中心体の成熟が抑制される<sup>3)</sup>(図 3A)。

Aurora-A による中心体成熟の分子メカニズムとしては、PCM 構築タンパク質である TACC (transforming acidic coiled-coil) と XMAP215 との相互作用があげられる。分裂期の微小管は伸張と脱重合を繰り返すことによってダイナミックに変化するが、これは微小管安定化因子である XMAP215 と微小管不安定化因子である MCAK (あるいは XKCM1 と呼ばれる因子) の二つの動態制御因子の活性が時空間的に調節されることによって行われる。最近、安定化因子である XMAP215 が TACC ファミリーの一員である TACC3 と結合し活性化されることが明らかにされた<sup>11)</sup>。TACC は進化的に保存されたタンパク質ファミリーであり、XMAP215 ファミリーとの相互作用もショウジョウバエからアフリカツメガエル、ヒトまで保存されている。TACC3 と複合体を形成した XMAP215 は、XMAP215 単独の場合と比べ微小管に対する結合能と MCAK に対する拮抗作用がより高いことがわかった。さらにアフリカツメガエル卵抽出液を用いたアッセイ系において、TACC3 は M 期特異的かつ中心体特異的な微小管形成の活性化に必要であり、この M 期中心体における活性化には Aurora-A によるリン酸化が必要であることが明らかになった<sup>11)</sup>。したがって、XMAP215 は TACC3 と複合体を形成し Aurora-A の働きによって、M 期特異的に中心体において活性化されていると考えられる。Aurora-A と TACC との相互作用はヒトのみならずショウジョウバエや線虫でも見出されており、Aurora-A による中心体成熟誘導の普遍的な機序であると考えられる。一方、微小管不安定化因子である MCAK は Aurora-B によってリン酸化を受けることによりその活性が抑制されることが示されており、時空間的に Aurora-B と相互作用している局面では、微小管は安定化の方向に傾いていると考えられる<sup>12)</sup>。安定化因子 XMAP215 と不安定化因子 MCAK の拮抗作用のバランス、そし

てそれら制御因子のリン酸化と脱リン酸化のバランスによって分裂期微小管のダイナミックな性質が形成されていると考えることができる。

さらに最近の研究で、微小管重合に重要とされる中心体タンパク質の Centrosomin と Aurora-A との関連が明らかにされた。Centrosomin の N 端は  $\gamma$  チューブリンと直接会合し微小管重合活性を有しているが、C 端側では Aurora-A と結合し、相互依存的に中心体へ局在することが示された<sup>13)</sup>。加えて、ヒト Polo like kinase-1 (Plk1) の中心体成熟への関与も報告されているが<sup>14)</sup>、Aurora-A のノックダウン細胞では Plk1 の中心体への集積量が減少することから、Aurora-A は Plk1 を介しても中心体成熟を制御している可能性があると予想している。

## 2) 中心体分離

核膜崩壊後、両極に分離した中心体は紡錘体極を形成して染色体の分配を制御し、細胞質分裂と共に娘細胞に一つずつ分配される。中心体 (正確には PCM) に局在する Aurora-A は、この中心体分離、つまり正しい双極性紡錘体形成に寄与していると考えられている。ショウジョウバエの Aurora-A 変異体では中心体分離の失敗に起因すると思われる単極性紡錘体が認められた<sup>1)</sup>。線虫において Aurora-A の発現を RNAi によって抑制し胎生細胞の細胞分裂を詳細に調べたところ、Aurora-A の発現が抑えられた細胞でも、卵核胞の崩壊 (体細胞の核膜崩壊に相当) 以前の中心体分離は起こった。しかし、卵核胞崩壊後には中心体の分離した状態が維持できず、双極性紡錘体形成が破綻した<sup>10)</sup>。これらの結果は、中心体の分離過程には、少なくとも核膜崩壊の前後で異なる制御機構が存在し、Aurora-A は後半の過程に関わっていることを示唆している。中心体の分離にはモータータンパク質の関与が予想されるが、キネシン様モーターである Eg5 と Aurora-A の関連が報告されている。アフリカツメガエルの培養細胞では、中心体未分離の G2 期細胞で Aurora-A が Eg5 と中心体で共局在し、Eg5 と結合してリン酸化することが生化学的に示されている<sup>15)</sup>。複製した二つの中心体の間に Eg5 の集積が見られ、Aurora-A および Eg5 のいずれの抑制でも中心体の分離が阻害されたことから Aurora-A による Eg5 のリン酸化が中心体分離の引き金となるのではないかと考えられているが、アフリカツメガエル以外ではこの関係はまだ証明されていない。

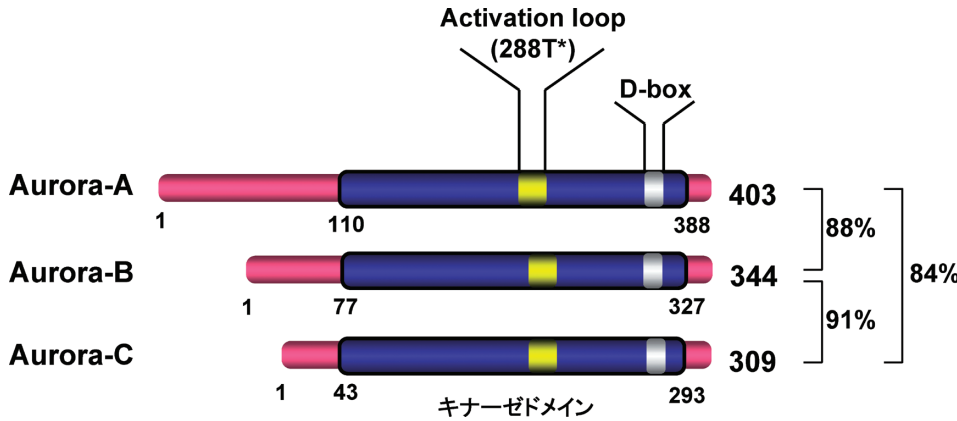
ヒト培養細胞において RNAi や抗体の細胞内注入によって Aurora-A の機能を阻害したところ、分裂期に二つあるいは多数の紡錘極は形成されるものの、それらの紡錘極への中心小体の均等分配に支障が見られた。これらの細胞を中心小体の構成タンパク質であるセントリン 3 抗体で染色すると、一つの紡錘体極に 2 対の中心小体が存在し、対極

には中心小体を持たない細胞が出現した (図 3B 左)<sup>6)</sup>。また細胞種によっては中心体がほとんど分離せず、染色体が単極の紡錘体を取り囲む形になって分裂期に停止する像が見られた (図 3B 右)。ショウジョウバエの Aurora-A の変異体においても中心小体の分離異常は観察されており、生物種を超えて Aurora-A が中心小体の分離過程に関与している可能性が示唆される。

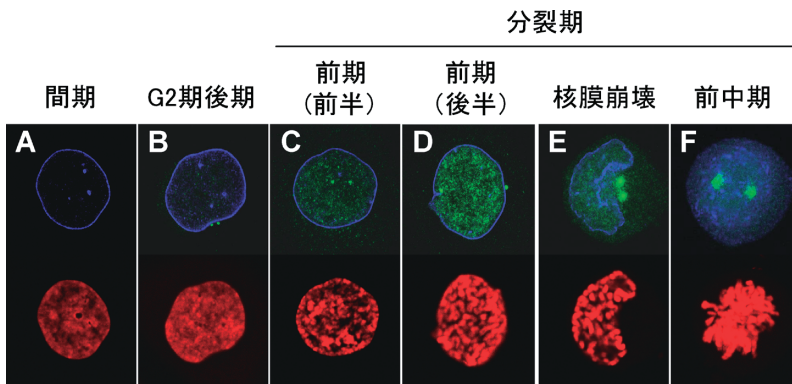
## 3) 分裂期進入

細胞周期を同調した HeLa 細胞に RNAi を行い Aurora-A の発現を抑えると、M 期サイクリン依存性キナーゼ (Cyclin B1-Cdk1) の活性化が起こらずに、G2 期から分裂期への進入が強く抑制される<sup>3)</sup>。この分裂期への進入阻止は、G2 期細胞に対する Aurora-A 特異的抗体の注入実験でも観察できるので<sup>6)</sup>、分裂期開始シグナルへの Aurora-A の直接的関与が示唆される。逆に、G2 後期の中心体に検出される活性化型 Aurora-A は、CyclinB1-Cdk1 を阻害しても弱いながらも認められるので、初期の Aurora-A の活性化は CyclinB-Cdk1 の活性化のタイミングよりも早い時期に、CyclinB-Cdk1 非依存性に起こりうると考えられる。

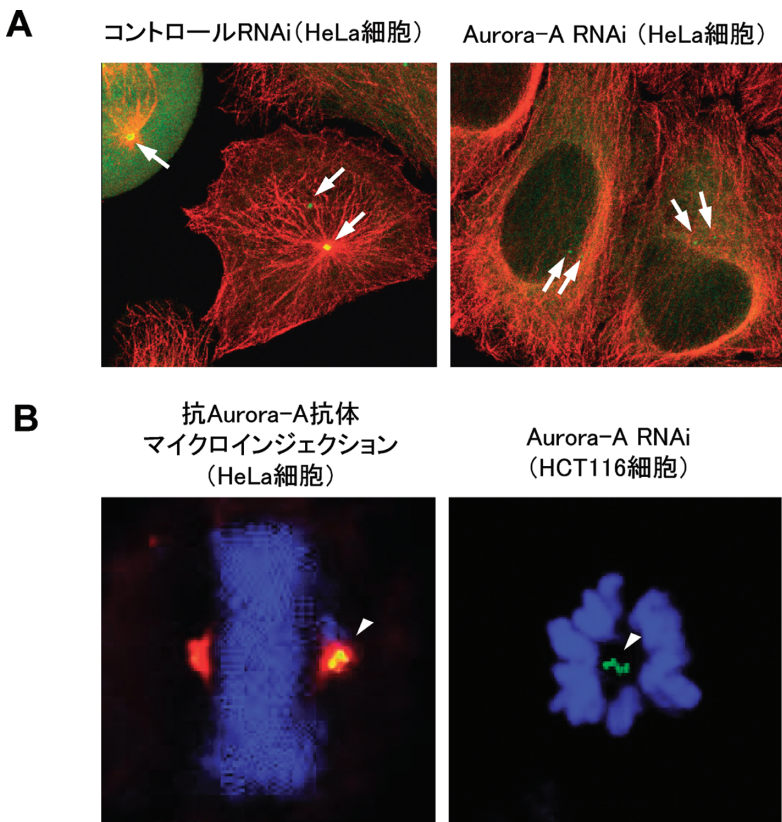
分裂期進行のマスターキナーゼである Cdk1 は、Cyclin B1 と複合体を形成し、かつ ATP 結合部位である Thr14/Tyr15 の抑制的リン酸化が解除されることによって活性を持つようになる。また、CyclinB1-Cdk1 の活性化時には Cyclin B1 のリン酸化も同時に起こり、このリン酸化は Cyclin B1-Cdk1 の核内移行および酵素の活性化のための必須の修飾であることが明らかになってきた<sup>16)</sup>。また Cyclin B1-Cdk1 は分裂前期後半の細胞核において顕著な活性化が観察されるよりも前の段階で、既に中心体においてその活性化が始まることが明らかとなり<sup>17)</sup>、この中心体における Cyclin B1-Cdk1 の活性化に Aurora-A が重要であることがわかった<sup>3)</sup>。Aurora-A の発現を阻害すると、中心体において Cdk1 の活性化が起こらないことによってその後の酵素活性の増幅が起こらず、そのために分裂期への進入が阻害されたのではないかと考察できる。Aurora-A が中心体において、しかも G2 期の最後の時期に Cyclin B1-Cdk1 を活性化する分子機構についてはいくつかの可能性が考えられる。最も単純なモデルとしては、Aurora-A の Cyclin B1-Cdk1 の直接活性化、あるいは Cdk1 の Thr14/Tyr15 の抑制的リン酸化の解除機構への寄与が考えられる。Thr14/Tyr15 の脱リン酸化を行い Cdk1 を活性化させるホスファターゼである Cdc25B を Aurora-A が中心体においてリン酸化し活性化させるという報告<sup>18)</sup>は、後者のモデルを支持するものである。また、Aurora-A による中心体の成熟が、間接的に Cdk1 の活性化を誘導するというモデルも可能性が高い。中心体は成熟することによって、様々なタンパク質を動員して分子間の効率のよい相互活性化を可能とする細



**図1 ヒトAuroraキナーゼの構造**  
 三つの Aurora キナーゼホモログの酵素活性部 (キナーゼドメイン) は極めて相溶性が高い。N 端側の構造は異なり、この部分で様々なタンパク質と特異的な結合を行う。Aurora-A では活性ループ (activation loop) 内の 288 番目のスレオニンが自己リン酸化することによってキナーゼとしての活性を持つ。C 端側に存在する D-box 配列は anaphase promoting complex (APC) によるユビキチン化の標的となる配列であり、この配列があることで分裂期後期にユビキチン化して分解が行われる。



**図2 Aurora-A の分裂期における発現と局在**  
 Aurora-A は Thr288 がリン酸化されると活性化型となるので、Thr288 がリン酸化したフォームを特異的に認識する抗体は活性化型の Aurora-A を検出できることになる。間期と分裂期の細胞をこの抗体で染色し (グリーン)、その局在を調べた。間期 (A) では活性化型の Aurora-A は検出できないが、G2 期後期 (B) より中心体にシグナルが現れ、分裂期に入る前にすでに中心体において活性化していることがわかる。その後分裂期前期には核内に現れ (C, D)、核膜崩壊後は分離した紡錘極及び紡錘体に局在する (E, F)。ラミン A を染色し (ブルー)、核膜を描出した。DNA は propidium iodide (PI) (レッド) で染色した。(Hirota et al. (2003)<sup>3)</sup>より改変)



**図3 Aurora-A の中心体成熟と中心体分離における役割**  
 (A) Aurora-A を siRNA によって抑制することにより中心体成熟が阻害され、細胞は G2 期に停止した (右)。HeLa 細胞を  $\gamma$  チューブリン (グリーン) と  $\alpha$  チューブリン (レッド) で染色した。中心体は矢印で示す部分に存在する。  
 (B) 左: G2 後期の HeLa 細胞に抗 Aurora-A 抗体をマイクロインジェクションしたとき中心小体が分離せず (中心小体の要素であるセントリン 3 をグリーンで染色) 一極のみに存在する (矢頭)。染色体 (DNA をブルーで染色) を挟んで反対側に  $\gamma$  チューブリン (レッド) が集合した紡錘極が形成されているが、この紡錘極には中心小体が存在しない。右: HCT116 大腸がん細胞では、siRNA によって Aurora-A の発現を抑制すると、一部は分裂期に入り、中心体の分離が起らないために単極の紡錘極を形成し (グリーン、矢頭)、染色体 (ブルー) がその周囲を囲む特有の分裂期像を呈する。



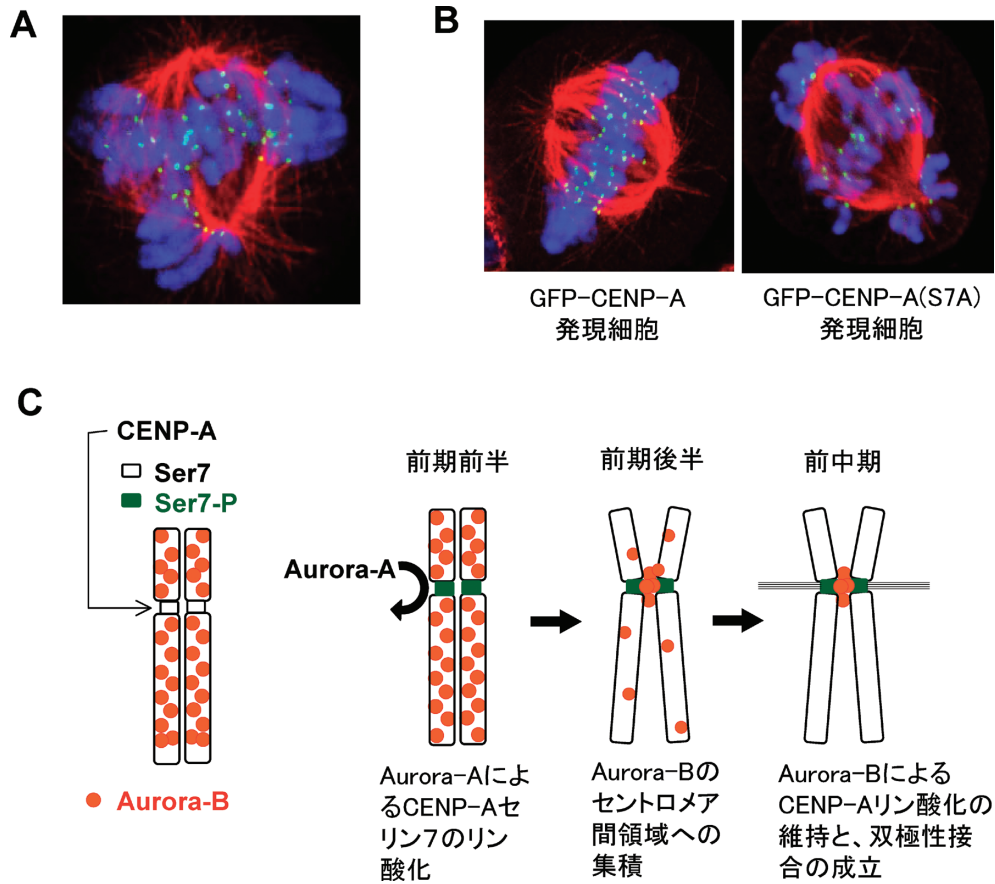


図4 Aurora キナーゼによる動原体タンパク質 CENP-A のリン酸化とその意義  
 (A) Aurora-A を siRNA で抑制すると多くの細胞は G2 期で停止するが、一部の細胞は分裂期に進行し、分裂中期において染色体の赤道面への整列が損なわれる。HeLa 細胞.  $\alpha$ チューブリン (レッド), DNA (ブルー), 動原体 (クレスト抗体にて染色, グリーン).  
 (B) CENP-A の Aurora-A によるリン酸化部位である Ser7 をアラニンに置き換えた変異体を導入した HeLa 細胞では染色体の分裂中期における赤道面への整列が損なわれる (右).  $\alpha$ チューブリン (レッド), DNA (ブルー), GFP-CENP-A (グリーン).  
 (C) 二つの Aurora キナーゼによる CENP-A リン酸化機構. 分裂期前期において核内で活性を持った Aurora-A は動原体に存在する CENP-A の Ser7 をリン酸化すると、そのリン酸化部に Aurora-B が集積し、CENP-A のリン酸化を維持する役割を果たす。

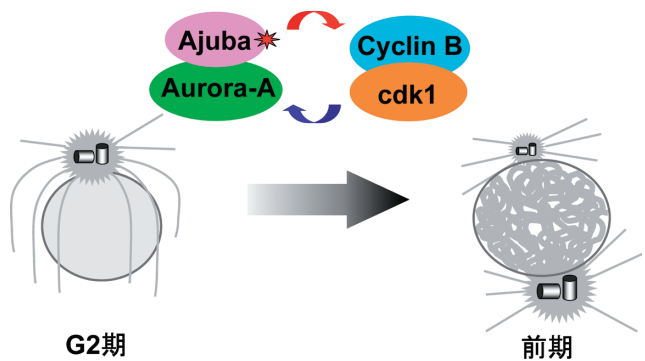


図5 Aurora-A の Ajuba による活性化と G2 期から M 期への移行機構

G2 期後半に Ajuba と Aurora-A が中心体において会合し、Aurora-A による Ajuba のリン酸化が生じると考えられる。リン酸化した Ajuba は Aurora-A と高い親和性を示し、結合によって Aurora-A を更に活性化する。活性化した Aurora-A/Ajuba 複合体は Cyclin B1/Cdk1 の中心体における活性化を促進し、二つのキナーゼ複合体が互いに相互活性化を行うことによって G2 期から M 期への移行が行われる<sup>3)</sup>。

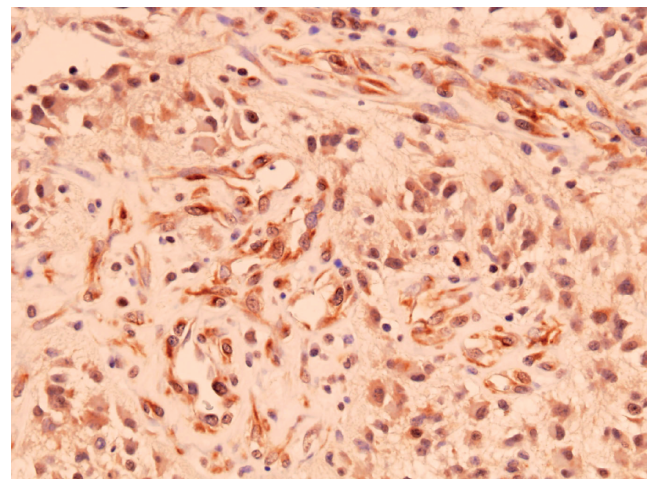


図6 悪性脳腫瘍組織における Aurora-A の過剰発現  
 正常細胞では分裂期の細胞にのみ Aurora-A の発現が見られるが、悪性腫瘍では細胞周期の時期に関係なく、Aurora-A の過剰発現が見られる症例が多い。Aurora-A 抗体による免疫組織染色。

胞内環境を提供し、こうした分子の集合が Cdk1 の活性化を誘導するという考え方である。

ところで Aurora-A の阻害による分裂期進入停止は、哺乳類以外の生物種においては現在までのところ報告されていない。これは、他の種では分裂期進入における Aurora-A の必要性がないことを表しているのかもしれないが、低形質な表現型を示す変異体や RNAi による遺伝子発現の抑制が不完全であるものを解析していることによって生じている可能性もある。現実には哺乳類細胞でも RNAi が不完全で、Aurora-A が若干量残存した細胞では、分裂期に進入してから様々な形質の異常を示すことがわかっており、Aurora-A は微量でも活性があれば G2 から M 期への移行をすすめることができるのではないかと考えられている。興味深いことに、分裂酵母において分離された Aurora/Ark1 変異体では分裂期進入が著しく損なわれており<sup>19)</sup>、今後の詳細な検討に期待したい。

#### 4) 分裂中期における染色体整列

Aurora-A の発現が抑えられた分裂期の細胞では、Aurora-B を抑制した時と同様に、中期赤道面への染色体の整列に異常を生じ、片方の紡錘極側に取り残された染色体が多く観察される (図 4A)。このことは、Aurora-A も染色体の分配過程に寄与している可能性を示唆している。我々は、Aurora-A の結合タンパク質の一つとして、セントロメア領域特異的なヌクレオソームコアの構成タンパク質である CENP-A を同定し、この結合が分裂中期における染色体の赤道面への整列に重要な役割を果たしていることを見出した<sup>7)</sup>。CENP-A は様々な動原体タンパク質のセントロメア領域への動員に重要な役割を持つことが知られている。Aurora-A は CENP-A と結合し、その N 端部分にある Ser7 をリン酸化することがわかった。そこで同部位の非リン酸化変異体 (セリンをアラニンに置き換えた変異体) を導入すると、高率に動原体と微小管との接続が失敗し、多くの染色体は片方の紡錘極に偏在するという表現形を示し、Ser7 のリン酸化は動原体の機能のうえで重要な修飾であることがわかった (図 4B)。興味深いことに、CENP-A Ser7 のリン酸化は、まずは前期で Aurora-A によって触媒され、次いで前期の終盤以降は Aurora-B によってそのリン酸化が維持されるという、Aurora-A から Aurora-B への連携によって成立していることを見出した (図 4C)。これらの観察は、前期にみられる活性化型 Aurora-A の核内集積 (図 2D) の意義を示すものであり、実際に動原体が稼働する前中期に先立って、Aurora-A が染色体の分配のための準備に当たっていると捉えることができよう。

#### 5) 分裂後期における Aurora-A の不活化

分裂中期で発現量、活性ともに最も高くなった Aurora-

A は後期への移行を境に不活化され始める。不活化のメカニズムとして最もよく知られているのは anaphase promoting complex (APC) の活性化によるユビキチン-プロテアソーム系を介したタンパク質分解である。Aurora-A の C 末端側にある D-box (APC 複合体が結合するモチーフ) 領域の変異体や N 末端側 51 番目のセリンをアスパラギン酸に置き換えたリン酸化模倣変異体は分解が遅れ、貯留することがわかっている<sup>20)</sup>。

Aurora-A は分裂期を終了するためには分解・不活化される必要がある。過剰発現すると細胞質分裂が阻害されて 4 倍体細胞が作られることが知られている<sup>21,22)</sup> (後述)。そのメカニズムとしては、①細胞質分裂を遂行するために必要な分子が Aurora-A によってリン酸化を受けているとその働きが抑制されるため、②分裂後期に高い活性の Aurora-A が残っていると Cdk1 活性が十分に低下しないために分裂期を脱出することができない、などの可能性を考えることができる。Aurora-A は活性化しその後不活化することで分裂期での役割を全うすることができるのである。

### 3. Aurora-A の活性化機構

Aurora-A は複数の結合分子によって活性化されることが報告されている。TPX2 と呼ばれる紡錘体に存在する分子の結合による活性化機構が最も詳細に解析されている<sup>23)</sup>。TPX2 は紡錘体においてキネシン様モーター Klp2 と結合する分子である。Aurora-A はその触媒部位で TPX2 の N 端と結合し、その結合によって構造が変化することにより activation loop の自己リン酸化が起こり、自己活性化が誘導される。また、TPX2 による Aurora-A の活性化は微小管の存在下で増強されることがわかっており、Aurora-A の紡錘体形成作用に関与すると予想されている。

別の活性化機構として、我々は Ajuba タンパク質の関与を見出した。Ajuba は卵母細胞の減数分裂を促進させる作用がある分子として最初同定されたが、上皮細胞では細胞-細胞接着部の膜直下に存在し、細胞質と細胞膜とを行き来できる多機能性タンパク質として認識されている。Ajuba は C 末端側に三つの LIM ドメインを有し、ここで Aurora-A の非触媒部位と結合し、TPX2 と同様に Aurora-A の自己リン酸化による自己活性化を促進する<sup>3)</sup> (図 5)。Ajuba と Aurora-A との結合は G2 期後期に中心体で生じており、この活性化は中心体の分離・成熟を制御していると考えられている。Ajuba を発現抑制すると Aurora-A を発現抑制した場合と同様に中心体の成熟が阻害され、Cyclin B1-Cdk1 複合体の酵素活性も抑制されて細胞は G2 期で静止するが、それに対して TPX2 を発現抑制すると、分裂期へは進入するものの正常な紡錘体形成が阻害された。このことから Aurora-A は時空間的に結合分子を替えることにより、

合理的に活性化されていることがわかる。

Aurora-A の最も初期の活性化は Cyclin B-Cdk1 非依存性に起こることを上で述べたが、分裂期に見られるような Aurora-A の強い活性化には逆に Cyclin B1-Cdk1 の活性が不可欠である。つまり、Aurora-A は Cyclin B-Cdk1 の活性化に必要であると同時に、Cyclin B-Cdk1 の活性化は Aurora-A の強い活性化に必要であり、相互活性化のメカニズムによって G2 期から M 期への移行が調節されていると考えられる。

#### 4. Aurora-B の生理機能

Aurora-B は染色体の形成、分配そして細胞質分裂に重要な役割を果たしていることが最近の研究によって明らかにされてきている。Aurora-A とは明らかに機能を異にし、個々のイベントに対する Aurora-B の役割とその分子機構を理解することは極めて重要であるが、本稿ではスペースが限られていること、また著者の研究室では Aurora-A を主体とした解析を行っていることから、Aurora-B の機能についてはアウトラインを述べるにとどめ、詳細については他の専門家の総説に譲りたい。

##### 1) 染色体の形成

染色体の凝縮に関与するコンデンシンと呼ばれるタンパク質の機能に Aurora-B 活性が関与していることが見出された。コンデンシンは I および II が存在し、コンデンシン II が核内に分布し、前期における染色体の凝縮を誘導するのに対して、染色体の物理的な性質を与えるコンデンシン I は、間期には細胞質にあって核膜が崩壊するまで染色体にアクセスできない。幾つかの生物種において、これらコンデンシン（特にコンデンシン I）の分裂期における染色体への取り込みに Aurora-B 活性が必要であることが示されている<sup>24-27</sup>。

染色体の形成にコンデンシンなど構成因子の代謝が第一に重要であることは明らかであるが、クロマチンのタンパク質である「ヒストン」のリン酸化修飾が、第二の方法として重要であると考えられている。Aurora-B はそのヒストンのリン酸化を触媒する酵素でもある。クロマチンが巻きつくコアヒストンは 4 種類、計八量体から構成され、それぞれの N 末端はコア部より外側に突出し「テイル」と呼ばれ、この部分は様々な化学修飾を受けることによってクロマチンの機能に多様性を与える。中でもヒストン H3 のテイルは分裂期にリン酸化を受けることが知られ、Ser10 および Ser28 のリン酸化は Aurora-B によって行われることが知られている。これらの部位のリン酸化は、クロマチンが凝縮している前期から後期までの間、染色体全般に満遍なく観察されるが、哺乳類細胞の染色体の凝縮にどれほど貢献しているかは不明である。ヘテロクロマチンにおい

ては、ヒストン H3 の Lys9 のトリ (tri-) メチル化 (H3K9me3) が特徴的な修飾であり、この修飾部には HP1 (heterochromatin protein 1) が特異的に結合し、さらに HP1 には Suv3-9 メチル化転移酵素が動員されて、クロマチンのヘテロ化を促進・維持していると考えられている。しかし、分裂期には HP1 はほとんどクロマチンから解離し、それが分裂期における染色体の凝縮を進めるための準備として行われる変化であると考えられている。最近、H3K9me3 のすぐ横にある Ser10 が Aurora-B によってリン酸化を受けると、HP1 との親和性が著明に低下し、クロマチンより HP1 が解離することが見出された<sup>28, 29</sup>。

##### 2) 染色体分配

後生生物細胞において、Aurora-B を発現抑制すると、分裂中期において染色体が赤道面へ整列することができなくなる<sup>30</sup>。そして、紡錘体によってうまく引っ張られずに取り残された染色体や分離できなかった染色体が多数出現する。最近の研究より、Aurora-B は分裂中期に適切な微小管と動原体の連結（つまり両紡錘極から伸展してきた微小管が姉妹染色体の動原体を各々捉える連結）が生じるまで不適切な微小管と動原体の連結（一つの動原体が微小管によって両紡錘極と結合するタイプのメロテリック結合、および二つの動原体が同じ紡錘極と結合するシンテリック結合）を解除することにより、染色体を分裂中期に赤道面へ整列させることに寄与していることが明らかとなった<sup>8</sup>。つまり Aurora-B の活性を抑制するとメロテリック結合やシンテリック結合でも紡錘体チェックポイントが解除されてしまうため、染色体を不均等に分配する異常分裂が生じることになる。

##### 3) 細胞質分裂

Aurora-B は分裂期終期において、ミッドボディーで INCENP, Survivin と結合してそれぞれのリン酸化を制御し複合体を形成し、細胞質分裂の遂行に関与すると考えられている。そのため、哺乳類培養細胞においてキナーゼ不活性型 Aurora-B を過剰発現させたり、Aurora-B と結合できない INCENP を過剰発現させたりすると、細胞質分裂に異常が生じ、多核細胞が出現する<sup>31, 32</sup>。これは Aurora-A を過剰発現したときと類似しており、これら A と B の二つのホモログが細胞質分裂のステップにおいては逆の働きを持つことが分かる。

#### 5. Aurora キナーゼとがん

乳がん、大腸がん、卵巣がん、脳腫瘍（図 6）など多くのヒトのがんで Aurora-A および Aurora-B の過剰発現が報告されている<sup>33-35</sup>。これらの過剰発現は多くの場合、転写の増加やタンパク質の安定化などに起因すると考えられる

が、*Aurora-A* 遺伝子はヒトのがんで増幅の見られる染色体 20q13.31 領域に存在し、遺伝子増幅が発現を上昇させる一要因となっている。さらに *Aurora-A* はマウスの不死化線維芽細胞にトランスフェクションすることにより形質転換を誘導できることが報告されており、がん遺伝子として位置づけられている<sup>36,37)</sup>。

*Aurora*, *Plk1*, *Bub1*, *Mps1* などの分裂期キナーゼががんにおいて過剰発現している頻度は高く<sup>38,39)</sup>、それらの過剰発現が分裂異常を引き起こし結果的に倍数体や異数体を産生することががん形成の原因となるという説明が多くの場合なされている。しかし、これらの分裂期キナーゼの過剰発現で生じる分裂異常だけで、がんが生じるか否かについてはまだ結論は出ていない。私達が作成した *Aurora-A* 過剰発現マウスモデルは、部分的にこの疑問に答えている。*Aurora-A* を Cre-loxP 誘導発現システムを用いて乳腺細胞特異的に過剰発現したマウスでは、15 カ月以上の観察において悪性腫瘍形成に至るマウスは得られなかった<sup>22)</sup>。しかし、乳腺細胞を詳細に観察したところ、*Aurora-A* の過剰発現は染色体の分離までのステップには目立った障害を引き起こさないが、細胞質分裂に異常をもたらし、結果的に二つの核を持つ 4 倍体細胞を作り、それらの細胞は 2, 3 日でアポトーシスに至ることを見出した。これらの二核細胞ではがん抑制タンパク質 p53 の発現が上昇し、p53 依存性に細胞死が誘導されることがわかった。つまり、*Aurora-A* の過剰発現で生じる分裂異常は p53 依存性の分裂後 G1 チェックポイント (postmitotic G1 checkpoint) によって監視されることにより、がん化が防止されていると考えることができる。私達は *Aurora-A* トランスジェニックマウスと p53 不活化マウスを交配することにより、分裂障害によって生じた多核細胞のアポトーシスが有意に抑制されること、さらに 10 カ月の観察において乳腺に腫瘍性変化を呈するマウスが多数出現することを見出している。しかし、これらの腫瘍は悪性像を呈しておらず、悪性化には更に他の分子変化が必要であることが示唆された。*Aurora-A* トランスジェニックマウスを用いた解析は、分裂期の異常だけでは腫瘍化に十分でないことを示すものであり、p53 や Rb 経路の不全などによる G1 チェックポイントの異常や細胞死・細胞老化の異常が加わることによって細胞の多核化、中心体数の増加、異数体の出現などが連続的に誘導され、腫瘍化が進行するものと考察することができる<sup>5)</sup>。

## 6. *Aurora* キナーゼ阻害剤の抗がん剤としての将来性

既に述べたように、正常細胞においては *Aurora-A* および *Aurora-B* は細胞分裂期に特異的に発現し、細胞分裂の進行に重要な役割を果たしている。しかし、これらのキナーゼは細胞分裂を滞りなく終了するためには活性が低下

する必要がある、細胞周期に依存せずに過剰発現することは細胞周期停止や細胞死・細胞老化をもたらすことになる。つまり、*Aurora* キナーゼが細胞周期のフェーズに関係なく過剰発現している腫瘍細胞では、これら細胞周期停止や細胞死・細胞老化の機構が損なわれていると考えられ、細胞はこうしたバランスの崩れの中で、逆に *Aurora* キナーゼ依存的に生存している可能性が考えられる。また *Aurora* キナーゼは正常細胞では間期にはほとんどその発現や活性が見られないことから、腫瘍においてだけリン酸化を与える基質が存在する可能性があり、それらのリン酸化が腫瘍形成、更には腫瘍の性質を維持する機構として働いていることも十分に考えられる。現実には腫瘍細胞における *Aurora* キナーゼを阻害剤や RNAi で抑制する実験を行うと、正常細胞に比べて増殖抑制や細胞死が顕著に誘導されることから、ある種の細胞は *Aurora* キナーゼ依存性(あるいは嗜癖性: addiction) に維持されていることが示唆され、がんに対する分子標的薬剤として *Aurora* キナーゼの阻害剤が有望視されている。これまで *Aurora* キナーゼの阻害剤としてヘスペラジン (Hesperadin)<sup>8)</sup>、ZM447439<sup>40)</sup>、VX680<sup>41)</sup> が報告されている。ヘスペラジン、ZM447439 は主に *Aurora-B* に対して、VX680 は酵素学的には *Aurora-A*, *Aurora-B* の双方に作用することが報告されているが、3 者ともにその細胞に対する効果は *Aurora-B* に対する RNA 干渉を行ったときの反応に酷似しており、細胞周期の停止と細胞死の誘導が観察されている。VX680 はメルク社とヴェルテック社の共同開発による阻害剤であり、本年より固形がん患者を対象とした phase I 臨床試験がすでに開始されており、またアストラジェネカ社開発による AZD1152 と呼ばれる別の *Aurora* キナーゼ阻害剤の臨床試験も本年から開始される見込みである。

*Aurora* キナーゼ阻害剤のがん細胞に対する効果は、すでに細胞やモデル動物を用いた実験から有望であることが示されているが、正常細胞に対する作用については今後更にデータを蓄積すべきであると考えられる。既に述べたように、特に *Aurora-B* は染色体凝縮など染色体そのものの構造安定性に関わる機能を持つことから、その活性抑制は染色体凝縮を解除し DNA に損傷を誘発する可能性もあり、通常の DNA 損傷性抗がん剤と同様の副作用を正常細胞にもたらすことが考えられる。分子標的薬剤といえども、決して正常細胞に対して作用が緩やかであるという保障はなく、慎重な検討が行われるべきであろう。

## 謝辞

執筆にあたり最新の情報をご提供くださった広田亨先生(癌研究会癌研究所実験病理部)、篠山隆司先生(神戸大学脳神経外科講座)、木下和久先生(京都大学大学院生命科学研究所)に深謝申し上げます。

## 文 献

- 1) Glover, D.M., Leibowitz, M.H., McLean, D.A., & Parry, H. (1995) *Cell*, **81**, 95–105.
- 2) Marumoto, T., Hirota, T., Morisaki, T., Kunitoku, N., Zhang, D., Ichikawa, Y., Sasayama, T., Kuninaka, S., Mimori, T., Tamaki, N., Kimura, M., Okano, Y., & Saya, H. (2002) *Genes Cells*, **7**, 1173–1182.
- 3) Hirota, T., Kunitoku, N., Sasayama, T., Marumoto, T., Zhang, D., Nitta, M., Hatakeyama, K., & Saya, H. (2003) *Cell*, **114**, 585–598.
- 4) Adams, R.R., Carmena, M., & Earnshaw, W.C. (2001) *Trends Cell Biol.*, **11**, 49–54.
- 5) Marumoto, T., Zhang, D., & Saya, H. (2005) *Nat. Rev. Cancer*, **5**, 42–50.
- 6) Marumoto, T., Honda, S., Hara, T., Nitta, M., Hirota, T., Kohmura, E., & Saya, H. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 51786–51795.
- 7) Kunitoku, N., Sasayama, T., Marumoto, T., Zhang, D., Honda, S., Kobayashi, O., Hatakeyama, K., Ushio, Y., Saya, H., & Hirota, T. (2003) *Dev. Cell*, **5**, 853–864.
- 8) Hauf, S., Cole, R.W., LaTerra, S., Zimmer, C., Schnapp, G., Walter, R., Heckel, A., van Meel, J., Rieder, C.L., & Peters, J. M. (2003) *J. Cell Biol.*, **161**, 281–294.
- 9) Yasui, Y., Urano, T., Kawajiri, A., Nagata, K.I., Tatsuka, M., Saya, H., Furukawa, K., Takahashi, T., Izawa, I., & Inagaki, J. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 12997–13003.
- 10) Hannak, E., Kirkham, M., Hyman, A.A., & Oegema, K. (2001) *J. Cell Biol.*, **155**, 1109–1116.
- 11) Kinoshita, K., Noetzel, T.L., Pelletier, L., Mechtler, K., Drechsel, D.N., Schwager, A., Lee, M., Raff, J.W., & Hyman, A.A. (2005) *J. Cell Biol.*, **170**, 1047–1055.
- 12) Sampath, S.C., Ohi, R., Leismann, O., Salic, A., Pozniakovski, A., & Funabiki, H. (2004) *Cell*, **118**, 187–202.
- 13) Terada, Y., Uetake, Y., & Kuriyama, R. (2003) *J. Cell Biol.*, **162**, 757–763.
- 14) Lane, H.A. & Nigg, E.A. (1996) *J. Cell Biol.*, **135**, 1701–1713.
- 15) Giet, R., Uzbekov, R., Cubizolles, F., Le Guellec, K., & Prigent, C. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 15005–15013.
- 16) Peter, M., Le Peuch, C., Labbe, J.C., Meyer, A.N., Donoghue, D.J., & Doree, M. (2002) *EMBO Rep.*, **3**, 551–556.
- 17) Jackman, M., Lindon, C., Nigg, E.A., & Pines, J. (2003) *Nat. Cell Biol.*, **5**, 143–148.
- 18) Dutertre, S., Cazales, M., Quaranta, M., Froment, C., Trabut, V., Dozier, C., Mirey, G., Bouche, J.P., Theis-Febvre, N., Schmitt, E., Monsarrat, B., Prigent, C., & Ducommun, B. (2004) *J. Cell Sci.*, **117**, 2523–2531.
- 19) Petersen, J., Paris, J., Willer, M., Philippe, M., & Hagan, I.M. (2001) *J. Cell Sci.*, **114**, 4371–4384.
- 20) Crane, R., Kloepfer, A., & Ruderman, J.V. (2004) *J. Cell Sci.*, **117**, 5975–5983.
- 21) Meraldi, P., Honda, R., & Nigg, E.A. (2002) *EMBO J.*, **21**, 483–492.
- 22) Zhang, D., Hirota, T., Marumoto, T., Shimizu, M., Kunitoku, N., Sasayama, T., Arima, Y., Feng, L., Suzuki, M., Takeya, M., & Saya, H. (2004) *Oncogene*, **23**, 8720–8730.
- 23) Katayama, H., Sasai, K., Kawai, H., Yuan, Z.M., Bondaruk, J., Suzuki, F., Fujii, S., Arlinghaus, R.B., Czerniak, B.A., & Sen, S. (2004) *Nat. Genet.*, **36**, 55–62.
- 24) Giet, R. & Glover, D.M. (2001) *J. Cell Biol.*, **152**, 669–682.
- 25) Hagstrom, K.A., Holmes, V.F., Cozzarelli, N.R., & Meyer, B.J. (2002) *Genes Dev.*, **16**, 729–742.
- 26) Kaitna, S., Pasierbek, P., Jantsch, M., Loidl, J., & Glotzer, M. (2002) *Curr. Biol.*, **12**, 798–812.
- 27) Lavoie, B.D., Hogan, E., & Koshland, D. (2004) *Genes Dev.*, **18**, 76–87.
- 28) Hirota, T., Lipp, J.J., Toh, B.H., & Peters, J.M. (2005) *Nature*, **438**, 1176–1180.
- 29) Fischle, W., Tseng, B.S., Dormann, H.L., Ueberheide, B.M., Garcia, B.A., Shabanowitz, J., Hunt, D.F., Funabiki, H., & Alil, C.D. (2005) *Nature*, **438**, 1116–1122.
- 30) Zeitlin, S.G., Shelby, R.D., & Sullivan, K.F. (2001) *J. Cell Biol.*, **155**, 1147–1157.
- 31) Terada, Y., Tatsuka, M., Suzuki, F., Yasuda, Y., Fujita, S., & Otsu, M. (1998) *EMBO J.*, **17**, 667–676.
- 32) Adams, R.R., Wheatley, S.P., Gouldsworthy, A.M., Kandels-Lewis, S.E., Carmena, M., Smythe, C., Gerloff, D.L., & Earnshaw, W.C. (2000) *Curr. Biol.*, **10**, 1075–1078.
- 33) Tanaka, T., Kimura, M., Matsunaga, K., Fukada, D., Mori, H., & Okano, Y. (1999) *Cancer Res.*, **59**, 2041–2044.
- 34) Tatsuka, M., Katayama, H., Ota, T., Tanaka, T., Odashima, S., Suzuki, F., & Terada, Y. (1998) *Cancer Res.*, **58**, 4811–4816.
- 35) Gritsko, T.M., Coppola, D., Paciga, J.E., Yang, L., Sun, M., Shelley, S.A., Fiorica, J.V., Nicosia, S.V., & Cheng, J.Q. (2003) *Clin. Cancer Res.*, **9**, 1420–1426.
- 36) Bischoff, J.R., Anderson, L., Zhu, Y., Mossie, K., Ng, L., Souza, B., Schryver, B., Flanagan, P., Clairvoyant, F., Ginther, C., Chan, C.S., Novotny, M., Slamon, D.J., & Plowman, G.D. (1998) *EMBO J.*, **17**, 3052–3065.
- 37) Zhou, H., Kuang, J., Zhong, L., Kuo, W.L., Gray, J.W., Sahin, A., Brinkley, B.R., & Sen, S. (1998) *Nat. Genet.*, **20**, 189–193.
- 38) Takai, N., Hamanaka, R., Yoshimatsu, J., & Miyakawa, I. (2005) *Oncogene*, **24**, 287–291.
- 39) Yuan, B., Xu, Y., Woo, J.H., Wang, Y., Bae, Y.K., Yoon, D. S., Wersto, R.P., Tully, E., Wilsbach, K., & Gabrielson, E. (2006) *Clin. Cancer Res.*, **12**, 405–410.
- 40) Ditchfield, C., Johnson, V.L., Tighe, A., Ellston, R., Haworth, C., Johnson, T., Mortlock, A., Keen, N., & Taylor, S.S. (2003) *J. Cell Biol.*, **161**, 267–280.
- 41) Harrington, E.A., Bebbington, D., Moore, J., Rasmussen, R.K., Ajose-Adeogun, A.O., Nakayama, T., Graham, J.A., Demur, C., Hercend, T., Diu-Hercend, A., Su, M., Golec, J.M., & Miller, K.M. (2004) *Nat. Med.*, **10**, 262–267.