

学 位 論 文 要 約

CDK inhibitors, p21^{Cip1} and p27^{Kip1}, participate in cell cycle exit of mammalian cardiomyocytes

(CDK阻害因子p21^{Cip1}とp27^{Kip1}は哺乳類心筋細胞の細胞周期離脱に関与する)

(著者：田根将志、池西愛子、岡山仁美、岩本典子、中山敬一、竹内隆)

平成26年 Biochemical and Biophysical Research Communications 443巻
1105頁～1109頁

マウスの心筋細胞は胎生期に活発に増殖し、生後14日までにそのほとんどがG1期から細胞周期を離脱する。しかし、この細胞周期離脱がどのようにして引き起こされているのかは不明であった。以前の報告で、生後心臓において、cyclin E-CDKおよびcyclin A-CDK活性の阻害がこれらの発現量の低下より先に引き起こされることを示した。本研究では、これら複合体の阻害因子であるCip/Kipファミリー蛋白質 (p21^{Cip1}、p27^{Kip1}、p57^{Kip2})の生後の心筋細胞における細胞周期離脱への関与を検証した。

方 法

実験には野生型、p21^{Cip1}ノックアウト (KO) およびp27^{Kip1}KOマウス心臓を用いた。

Cip/Kipファミリー蛋白質の発現およびcyclin-CDK複合体への結合は免疫沈降およびウエスタンブロッティングによって検出した。生後マウス心筋細胞のDNA含量の測定には、生後14日のマウス心臓から解離した心筋細胞を用いた。これらの細胞をDAPI染色し、核あたりの蛍光輝度を計測した。また、サンプリング2時間前に1匹あたり10 mg/ml EdU 50 μ lを腹腔投与し、細胞周期進行の頻度も計測した。

結 果

生後5日の心臓において、p21^{Cip1}とp27^{Kip1}の発現上昇が確認された。このことは、CDK活性が阻害される時期と一致する。また、これらはcyclin A、cyclin EやCDK2と結合していた。次に、p21^{Cip1}およびp27^{Kip1}の生後心筋細胞における細胞周期への影響をKOマウスを用いて検証した。その結果、いずれのKOマウスの心筋細胞においても、G1期における細胞周期離脱が明らかに阻害された細胞集団が認められた。まず、G1期の細胞集団が減少することが野生型との比較から明らかとなった。このことは、p21^{Cip1}KOやp27^{Kip1}KO心筋細胞でEdU陽性細胞が増加していたことと相関する。また、2核心筋細胞ではG2期の集団が増加し、単核心筋

細胞ではG2期の細胞だけでなくendoreplicationによってゲノムが倍化した細胞も増加していた。以上の結果は、これらのK0マウス心筋細胞において一部の細胞集団がG1期で細胞周期離脱せず、G2期まで細胞周期を進行させた、もしくは多倍化したことを示している。

考 察

生後心筋細胞ではp21^{Cip1}やp27^{Kip1}が細胞周期離脱に関与することが明らかとなった。しかし、p21^{Cip1}とp27^{Kip1}は互いに機能が重複していることが知られている。そのためp21^{Cip1}/p27^{Kip1}ダブルK0マウスの心筋細胞がそれぞれのK0マウスより細胞周期進行を促進させるかどうか検討の余地がある。また、細胞周期の進行がみられた2核細胞はG2期で、単核細胞はG2期および倍数化した後、再度、細胞周期を停止させた。このことは、p21^{Cip1}やp27^{Kip1}に依存しないM期進行阻害機構の存在を示唆する。

結 論

Cip/Kipファミリー蛋白質のp21^{Cip1}およびp27^{Kip1}が生後心筋細胞の細胞周期離脱に重要な役割を果たすことが明らかとなった。