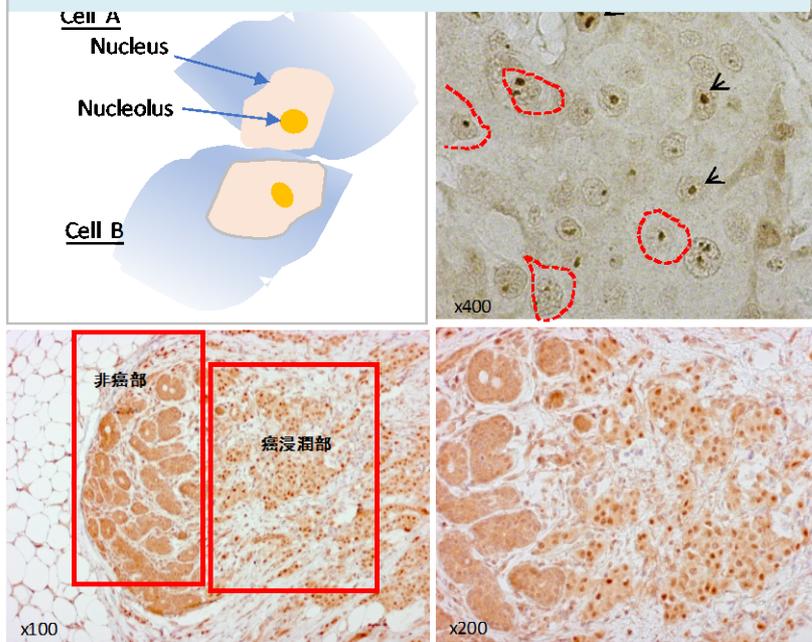


# 癌予後マーカーの開発と高感度化へ資する独自抗体について

福島県立医科大学・医学部・生体物質研究部門  
准教授 本間 美和子

Fukushima Medical University School of Medicine  
Department of Biomolecular Sciences  
Associate Professor **Miwako Kato Homma, Ph.D.**

Detection of nuclear protein kinase CK2 $\alpha$  by immunohistochemical analysis of invasive ductal carcinomas of breast



癌摘出術直後から再発予防へ資する最適治療の選択へ貢献できる  
(今は再発するまで治療を待つ, 効果判定はCT画像診断に頼る)

### 本手法の手順と結果

- 浸潤性乳癌摘出FFPE試料(n=112)を対象に抗CK2抗体IHC染色を実施 病変部を5段階(I~V)で染色評価した後統計解析を実施
- 再発例(n=12)は核染色陽性(+) (III, IV,V)のみへ分類された核小体陽性(IV-V)群の無再発生存期間(RFS)短縮およびStagellならびにtriple-negative症例で顕著であった
- 複数の臨床病理学的指標間でのCox Multivariate解析結果によりCK2核小体染色陽性は無再発生存期間について唯一の独立変数かつ最も優位性の高い予後マーカー(P=0.017)であり, なおかつ高いハザード比(Hazard R = 5.26)を示した
- Luminal type IDC乳癌(n=60)においても同様の結果を得た
- CK2染色評価を臨床病理学情報に加えることで, 摘出術直後に再発予測を評価し, 再発予防へ資する適切な治療戦略を検討できる
- CK2, casein kinase 2, は増殖関連キナーゼ. 海外ではその阻害薬(CX-4945)による各種癌を対象とする臨床試験が進行中

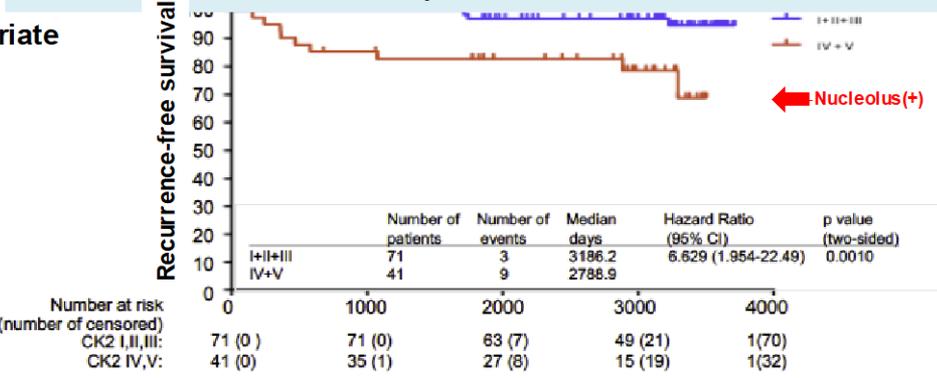
Nucleolar CK2 $\alpha$  status as a precise, new, independent prognostic factor

Cox proportional hazards regression / Multivariate

Factor	Wald	HR	95%-CI	P-value
CK2 Nucleolus (+)	5.711	5.264	1.348-20.553	0.017
Tumor size, >2.0cm	0.639	1.837	0.414-8.152	0.424
p Stage III	0.205	1.356	0.363-5.069	0.651
Nodal lymph, positive	3.616	8.191	0.938-71.56	0.057

Cancer Science (2021) by Homma, M.K. et al.  
Lancet Oncology (2022 Abstract) by Homma, M.K. et al.

Nucleolar CK2 $\alpha$  staining is associated with poor outcomes of IDC patients



Biological Significance of Protein Kinase CK2 in Human Cancer

✓ 様々な癌種類においてCK2発現量増加が報告

Increased in the ratio of nuclear to cytosolic content of CK2 $\alpha$ , comparing with those in normal tissue in **head and neck carcinomas, lymphomas**

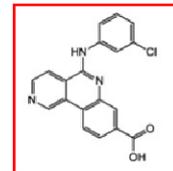
✓ CK2阻害薬による臨床治験

A candidate for targeted therapy, with CK2 inhibitors in ongoing clinical trials

- **CX-4945**: small molecule ATP-competitive inhibitor targeting its active site
- **CIGB-300**: cyclic peptide that prevents phosphorylation of the E7 of HPV16
- Both exhibit antitumor efficacy
- In combination with cisplatin or gemcitabine, either CX-4945 or CIGB promote synergistic induction of apoptosis

GRKKRRQRRRPPQ  $\beta$ -ala CWMSPRHLGTC

CIGB-300



CX-4945

✓ CK2阻害薬による生理機能の検証

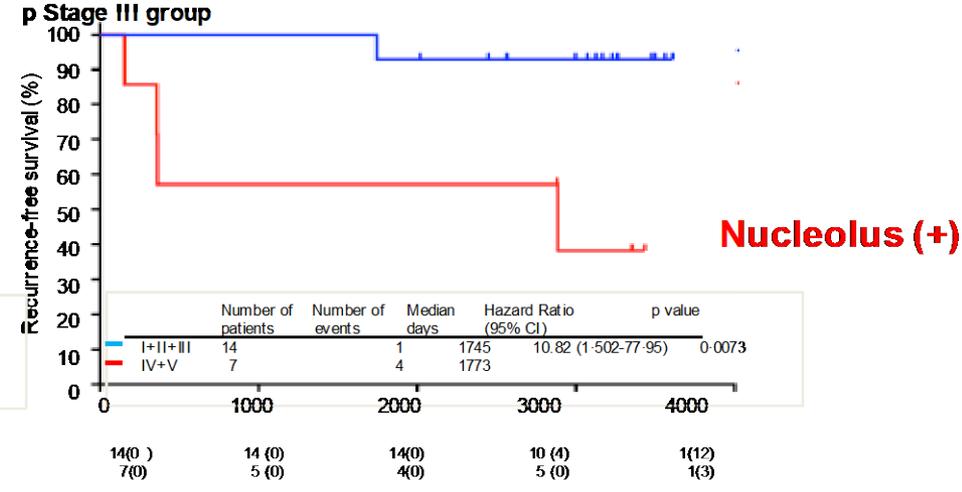
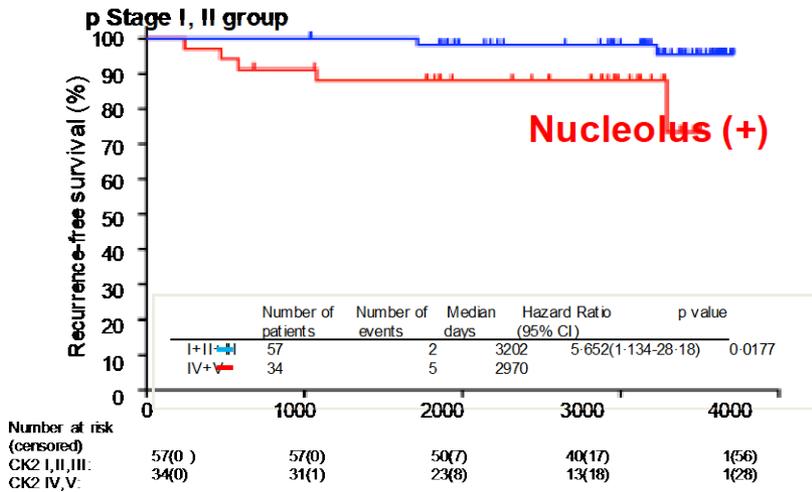
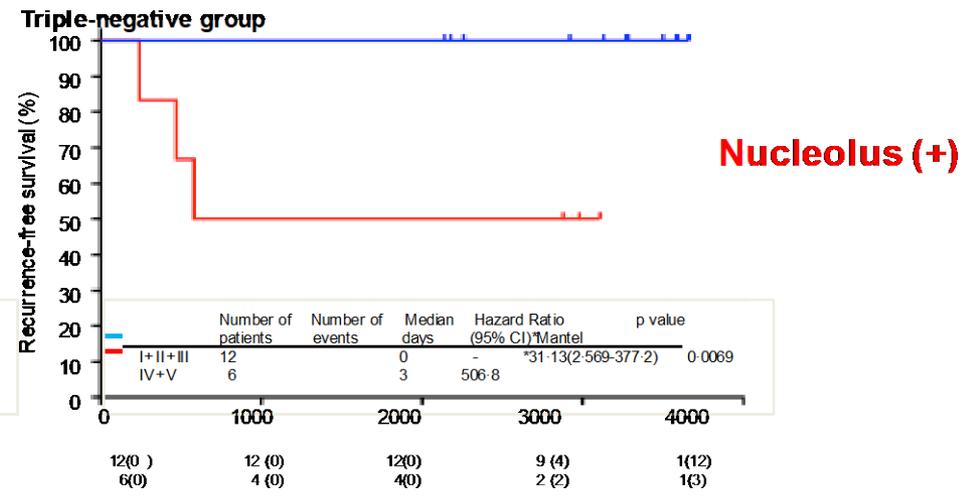
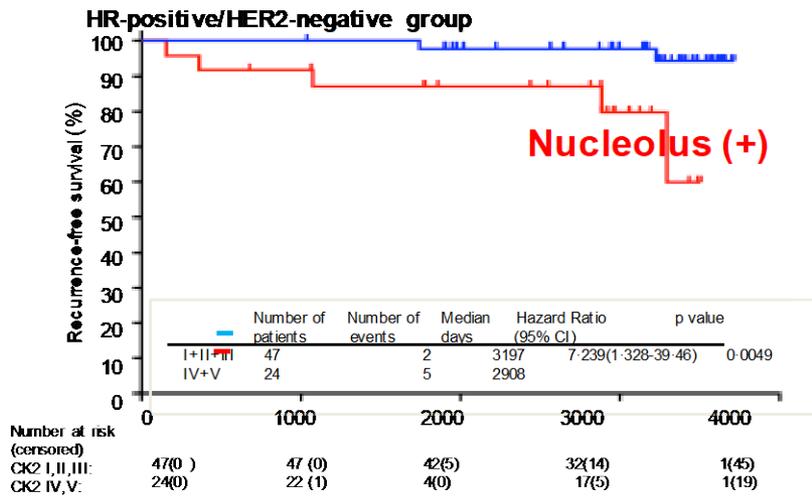
Potential of CK2 inhibitors to interfere:

- **caspase action**
- **enhance the susceptibility of cancer cells to DNA damage**

Nucleolar CK2 $\alpha$  staining is associated with poor outcomes

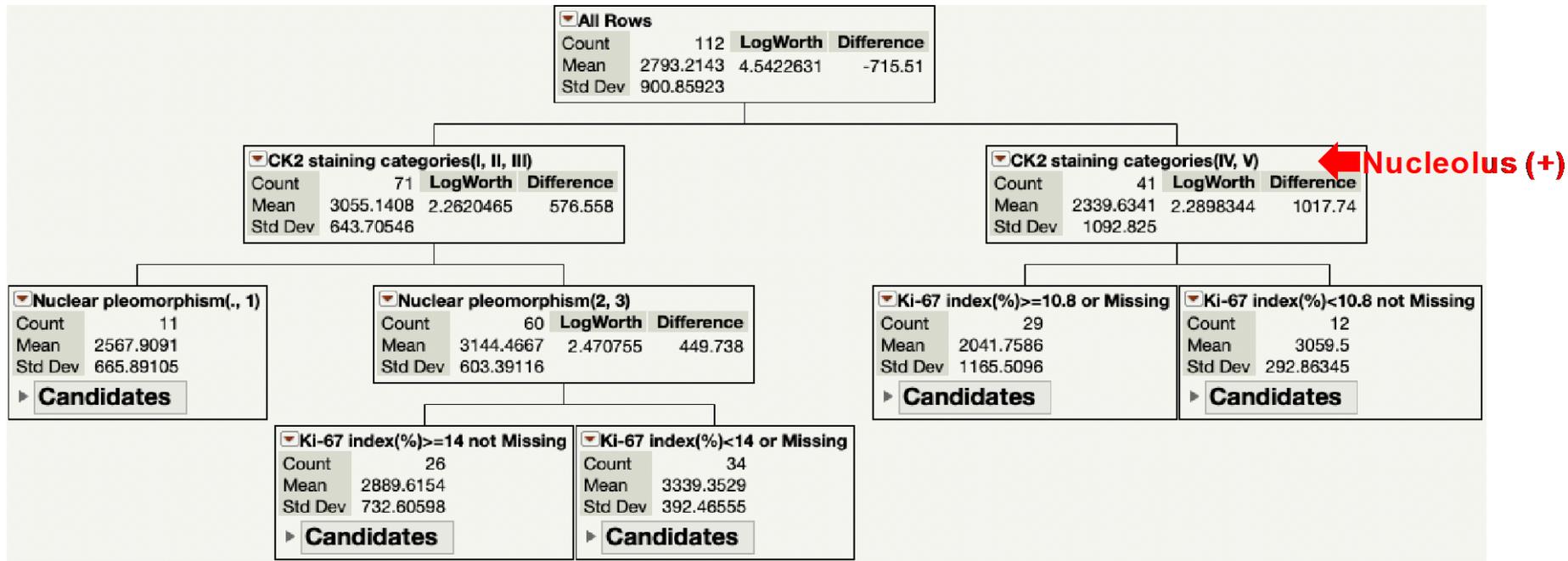
乳癌 各サブタイプ症例ごとの染色評価が示す予後指標としての有効性

市販品CK2抗体による検証を第1コホート 集団(星総合病院試料)により実施



Nucleolar CK2 evaluation as a primary tool for predicting clinical outcomes

臨床病理学的 複数の変数間で本手法は上位の独立変数として予後予測評価へ資することが示された



各変数寄与率における本手法の優位性

Term	Number of Splits	SS	Portion
CK2 staining categories	1	13306124.8	0.4724
Ki-67 index(%)	2	11771668.2	0.4179
Nuclear pleomorphism	1	3090088.75	0.1097
Tumor size	0	0	0.0000
pStage	0	0	0.0000
Subtype	0	0	0.0000
Tubular formation	0	0	0.0000
Histological grade	0	0	0.0000
Nodal metastatic status	0	0	0.0000
Age	0	0	0.0000

独立変数としての高いHazard Ratio

Factor	Wald	HR	95%-CI	P-value
CK2 Nucleolar (+)	5.711	5.264	1.348-20.553	0.017
Tumor size, >2.0cm	3.616	1.837	0.414-8.152	0.424
p Stage III	0.639	1.356	0.363-5.069	0.651
Nodal lymph, positive	0.205	8.191	0.938-71.56	0.057

**Nucleolar CK2 $\alpha$  status can predict future cancer recurrence in early stage patients**  
**CK2 核小体染色評価による 予後予測指標は乳癌早期ステージにおいても抽出可能**

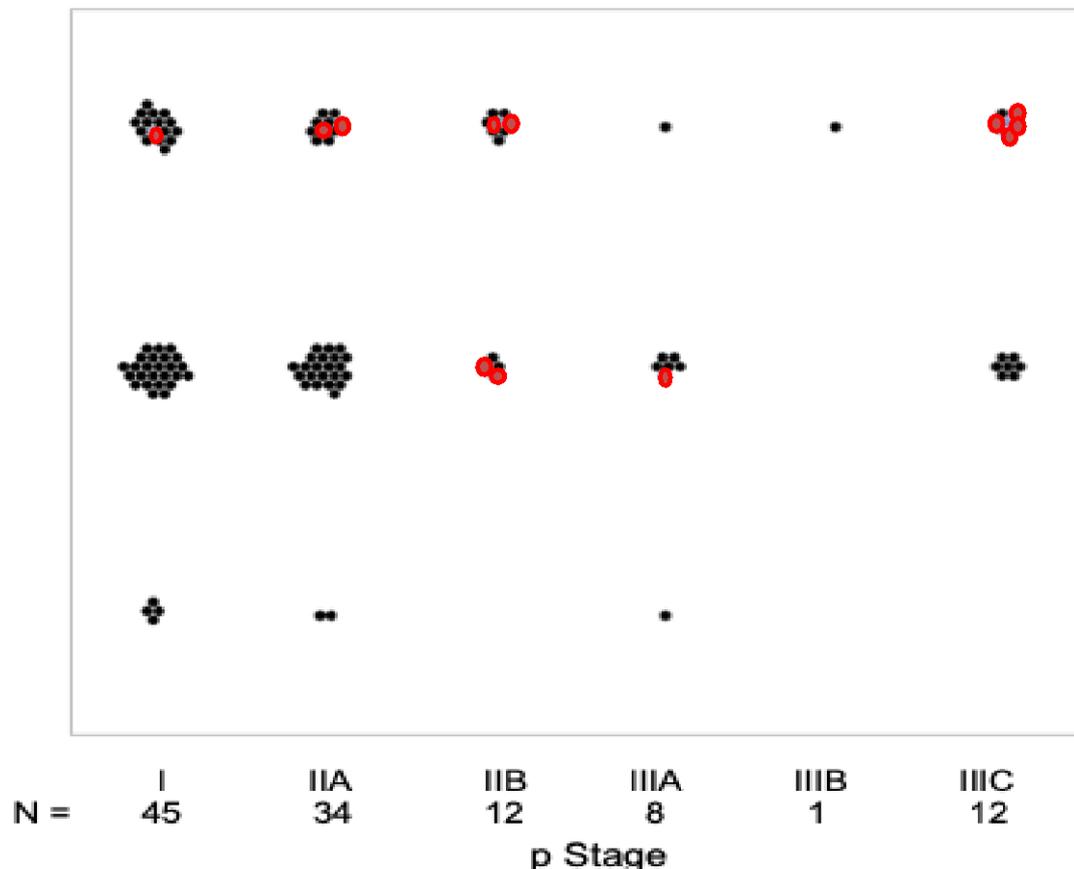
IDC, n = 112

● Recurrence (N = 12)

CK2 nucleolus positive

感度 75% (N = 9/12)  
 特異度 71% (N = 71/100)

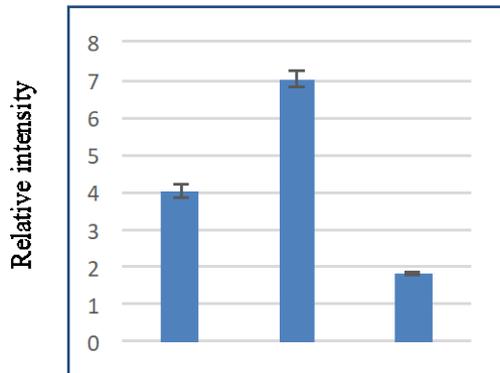
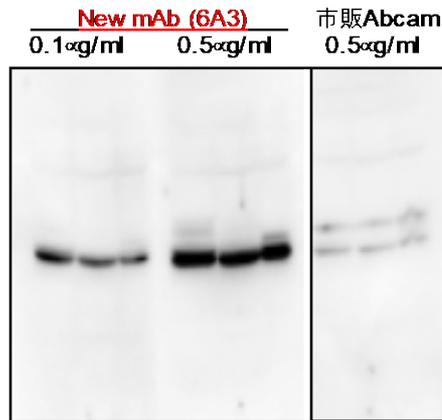
CK2 nucleolus negative



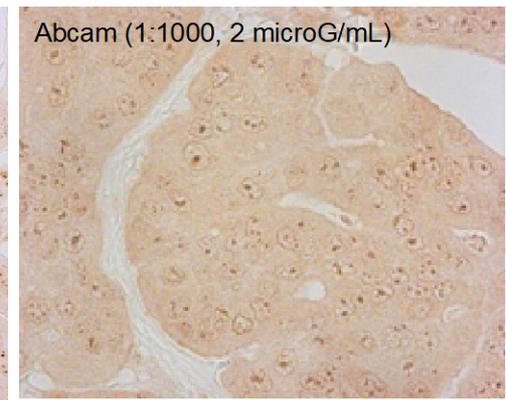
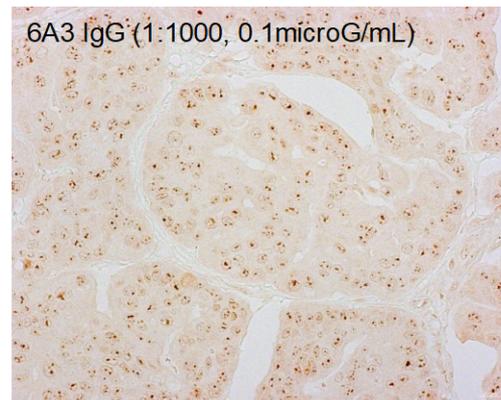
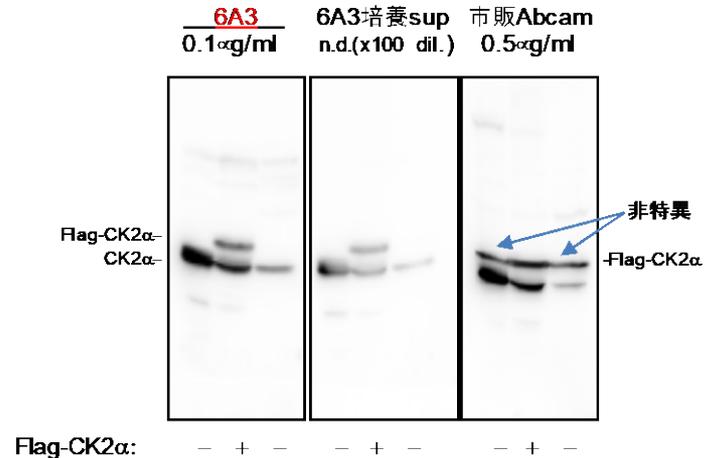
**Nucleolar CK2 $\alpha$  status can predict future cancer recurrence in early stage patients**  
**CK2 核小体染色評価による 予後予測指標は早期ステージにおいても抽出可能**

2009年に診断された乳癌の10年生存率のデータ(国立がんセンター・がんの統計2023の中の院内がん登録データ閲覧抜粋)から読み取られるように、I期であれば亡くなる方は1.1%ですがこの1.1%を抽出できる指標が現時点では無いため再発するまで待たなければなりません。本研究の結果から、予後の悪いtriple negative症例ではCK2陰性群の再発は0%で、陽性群との間に大きなRFSの差異が認められ、比較的再発率の低い乳癌Luminal型の症例においてもCK2は再発予測指標となることが示されました。Luminal型では今のところ臨床病期ステージ以外に予後予測因子として強い相関を示すものは知られていません。CK2はその有力な候補としての新規性があると考えています。

ウェスタンブロット 法による検証  
細胞内在性CK2 $\alpha$ の検出



ウェスタンブロット 法による検証  
Flag-tag付CK2 $\alpha$ 発現細胞

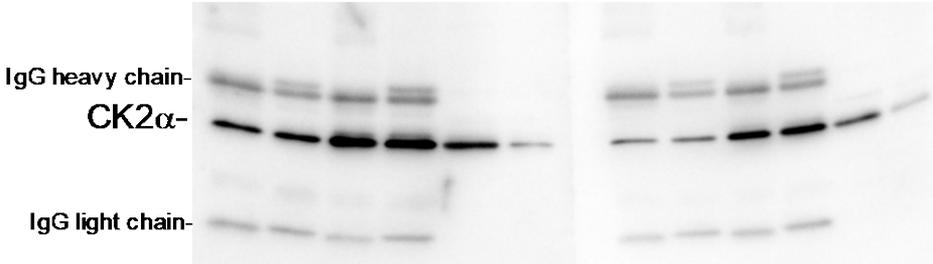


新規抗体(6A3)は多数種類タンパク質を含有する細胞可溶化物を対象とするウェスタンブロット法でまたFFPEブロック組織化学染色においてもCK2 $\alpha$ に対する特異性(specificity)と感度ならびに親和性(affinity)が共に市販抗体より優れている

ウェスタンブロット法による検証  
3/April/2021

免疫沈降物に対するウェスタンブロット

免疫沈降IgG (1mg)		免沈無lysate		免疫沈降IgG (1mg)		免沈無lysate	
Ac 6A3	Ac 6A3	-	-	Ac 6A3	Ac 6A3	-	-
細胞質	核	核	細胞質	細胞質	核	核	細胞質

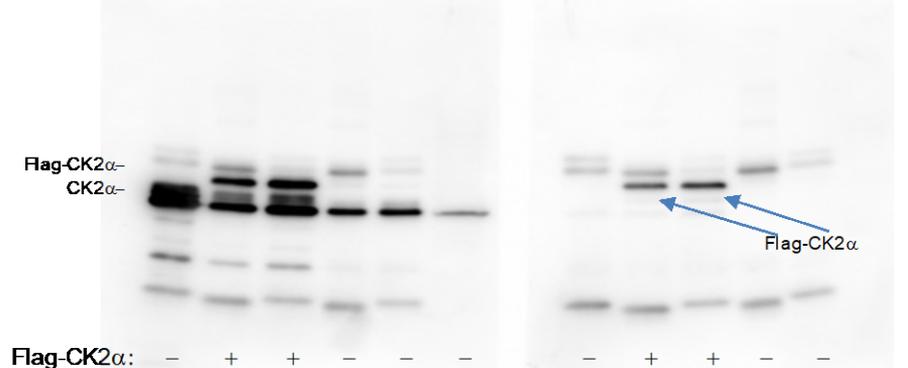


Blot w/ New mAb (1:25) Abcam (1:500)

免疫沈降法による検証  
09/April/2021

Flag-tag付CK2α発現細胞

Flag-CK2α:	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-
IPw/:	New	Ac	New	Ac	New	lysate	New	Ac	New	Ac	New	lysate



Blot w/ New mAb (0.1 μg/ml) Flag (Sigma, #F1805 1:500= 2 μg/ml)

- 同量のIgG (4 μg/ml)によるウェスタンブロット 検出では新規抗体の感度が優れる (左図)
- Flag-tag付CK2αに対する免疫沈降効率は新規抗体が優れる(右図)
- ELISA法, Western blot法, 免疫沈降法, 組織化学染色法, 等の用途へ資する高親和性、高特異性抗体である

Summary of Evidence From Immunohistochemical Evaluation

乳癌FFPE-IHC解析結果から見出された新規予後予測指標としての有用性

- 1.初発癌摘出術時試料を用い、市販ならびに独自の抗CK2 $\alpha$ モノクローナル抗体による組織化学的手法により、癌組織核小体へのCK2分子集積判定が将来の再発マーカーとなる本手法は新規性がある。
- 2.本手法による再発予測は、従来重んじられてきた、腫瘍サイズ、周辺リンパ節転移数、病理学的悪性度よりも確度に優れている。浸潤性乳管癌、ルミナルタイプに絞った乳癌コホート、さらに肺腺癌コホートにおいて、様々な臨床病理学的指標の中で、**CK2分子集積判定は無再発生存期間に対する唯一の独立変数であることを示した。**
- 3.特異性の高い独自モノクローナル抗体を用いて、第2コホート乳癌ルミナルタイプ、第3コホート固形癌について検証し浸潤性乳管癌と同様の結果を得ている。抗体は物質特許としてPCT出願を終え国内移行手続きを予定している。
4. 乳癌トリプルネガティブタイプでは、核小体染色陰性群は再発症例がゼロであった。
5. 癌摘出後、患者さんは将来いつの時点かわからない再発への不安を抱え続けているが、本手法は手術後のp Stage分類において**初期p Stage群の中からも将来の再発症例を見出す事ができる。**2009年に診断された乳癌の10年生存率のデータ(国立がんセンター・がんの統計2023の中の院内がん登録データ閲覧抜粋)から読み取られるように、I期であれば亡くなる方は1.1%ですがこの1.1%を抽出できる指標が現時点では無いため再発するまで待たなければならない現状がある。

What we plan to develop: IHC staining Kit for Prognosis  
IHC解析結果を踏まえた新規体外診断薬開発

- ✓ 開発品の名称           CK2細胞内局在把握による癌の予後予測技術  
                                  “IHC Staining Kit for CK2”（モノクローナル抗体、解析プロトコールを提供）
- ✓ 薬事申請上の分類: 体外診断薬
- ✓ 適応症           :           乳癌、その他固形癌
- ✓ 製品の特徴:           癌予後不良と関連する細胞内(核小体内)局在を判定
- ✓ 製品コンセプト:       1) 癌試料を用い染色評価により再発等の予後予測を可能とする。  
                                  2) 再発まで待たずに予後を見据えた迅速な最適治療選択へ資する。  
                                  3) 機関を問わず実施可能な標準的IHCキットを提供する。  
                                  4) FFPE保管試料へ遡る解析も可能となる。

1) Goal and its plan for research and development

- ✓ 最適かつ早期治療のために精度高い予後予測指標を開発し提供する
- ✓ 外科手術摘出直後の癌切片を用いて、癌部で細胞核内CK2集積像が認められるかどうかを判定するための体外診断薬“IHC Staining Kit for CK2”開発を進める。
- ✓ 癌再発症例では、外科手術摘出直後の癌切片で細胞核内CK2集積像が認められたことから、その集積を阻止する仕組みを明らかにするアイデアがある。抗癌剤創薬候補分子を創出するための出発点となる解析を進行中である。

2) Task of this proposal to success

- ✓ 染色プロトコールの確立
- ✓ 自動機器染色による染色手法標準化の確立
- ✓ 核内集積と関連する創薬ターゲットについては 別途共同開発を進めたい。

3) Division of roles

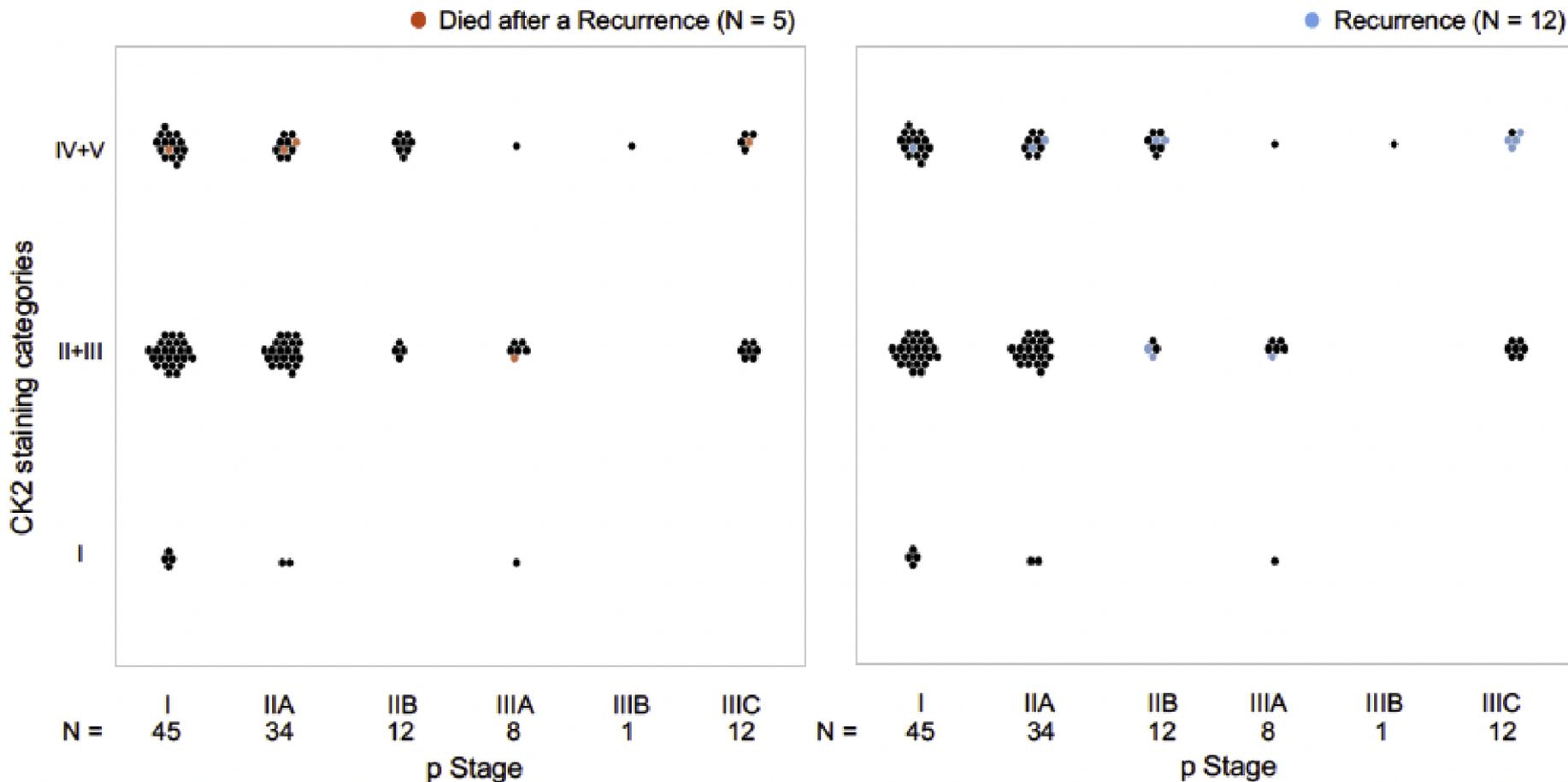
Role of Proposer

- ✓ 研究試薬、体外診断薬キットへ資するモノクローナル抗体の提供
- ✓ IHCによる染色評価プロトコールの提供

Role of this business partner(s)

- ✓ 染色手法標準化の検証、自動染色機器適合性の検証、染色プロトコールの確立、商品化開発、市場調査、商標登録
- ✓ 商品要素の調達と品質管理

乳癌 CK2 核小体染色評価による 予後予測指標有効性: Nucleolar CK2 $\alpha$  status can predict future cancer recurrence in early stage patients



- ✓ 本商品実用化により 再発予測をふまえた適切かつ早期治療方針決定へ資する。
- ✓ 再発予測手法が確立できれば、現行癌治療へ「癌再発予防」の視点を付与できる

現在、再発を診断出来る高確度の方法は無い。再発するまで待つ現状には克服すべき課題がある

- ✓ 乳癌の腫瘍マーカー(CEA, CA15-3)は再発した乳癌の50~69%でそれぞれ上昇が見られ治療が効いたかどうかを知りたい場合に良い指標となることがある。しかし、乳がん手術後の再発の有無をチェックすることや、乳がん検診として早期発見には役に立たない。

患者さんのための乳がん診療ガイドラインHP

- ✓ ER陽性・HER2陰性乳癌において Ki67は予後予測に有用であるが薬物療法の治療効果予測には有用であるとはいえないため Ki67の結果単独で治療方針を決定すべきではない。また Ki67の評価方法はいまだ標準化されていない。

日本乳癌学会 乳癌治療ガイドラインステートメント <http://jbcs.gr.jp/guideline/2018/index/byouri/fq1/>

- ✓ 腫瘍マーカーの感度、特異度は比較的良好な値であり再発の診断や転移の追尾に有用であることが示されてきているが 乳癌術後のサーベイランスとしての血清腫瘍マーカー測定による生存率、QOLの改善を示す結果はいまだ得られていない。

日本乳癌学会 乳癌治療ガイドラインHP: <http://jbcs.gr.jp/guideline/2018/index/kenshingazo/fq9/>

- ✓ 遺伝子パネル検査OncomineDXは独自のアルゴリズムで再発予測を数値で示すが、ルミナールタイプ等の予後良好と予想される癌の治療薬剤選択に主治医が迷う時等に限定的に利用される現状がある。費用も高額である。

- ✓ 最終的な再発判定、あるいは再発後治療効果判定はCTなどの画像診断に頼るのが現状。

Key word to this proposal

- ✓ 癌再発
- ✓ 乳癌、肺腺癌、固形癌
- ✓ 核小体、CK2

A new and precise method for supporting cancer prognosis

✓ 本商品実用化により 再発予測をふまえた適切かつ早期治療方針決定へ資する。  
**We propose that histochemical evaluation of nucleolar CK2 $\alpha$ -positive staining may be a new and robust prognostic indicator for patients who need further treatment.**

✓ 再発予測手法が確立できれば、現行癌治療へ「癌再発予防」の視点を付与できる。  
**This proposal enables more precise evaluation for patients outcomes, including future recurrence in 5-10 years, immediately after a removal of cancer specimens. This is a highly inventive method for determining an appropriate treatment, more aggressive or mild, promptly after surgery.**



### 1) Patent and its status

Japanese Patent Application: No.2019-234099 (25 Dec 2019) 新規出願その1

乳癌のバイオマーカー(手法)

Applicant: Fukushima Medical University and Hoshi General Hospital

Inventor: Miwako Kato Homma, Tadashi Nomizu, Yoshimi Homma, Yuko Hashimoto, Yuichiro Kiko

International Patent Application: No.PCT/JP2020/048650 (25 Dec 2020)

癌のバイオマーカー(国際)

Applicant: Fukushima Medical University and Hoshi General Hospital

Inventor: Miwako Kato Homma, Tadashi Nomizu, Yoshimi Homma, Yuko Hashimoto, Yuichiro Kiko

International Patent Application: No.PH-8660-PCT-US, No.PH-8660-PCT-EP (23 Jun, 05 July 2022)

癌のバイオマーカー(USA,EU)

Applicant: Miwako Kato Homma, Yoshimi Homma, Yuko Hashimoto, and Hoshi General Hospital

Inventor: Miwako Kato Homma, Tadashi Nomizu, Yoshimi Homma, Yuko Hashimoto, Yuichiro Kiko

国際調査機関の見解書		国際出願番号
		PCT/JP2020/048650
第V欄	新規性、進歩性及び産業上の利用可能性についてのPCT規則43の2.1(a)(1)に基づく異議並びにその異議を覆うける文献及び説明	
1. 見解		
新規性 (N)	請求項 1-11	有
	請求項	無
進歩性 (IS)	請求項 1-11	有
	請求項	無
産業上の利用可能性 (IA)	請求項 1-11	有
	請求項	無

Japanese Patent Application: No.2022-55606 (30 Mar 2022) 新規出願その2

モノクローナル抗体(物質)

Applicant: Fukushima Medical University

Inventor: Miwako Kato Homma

International Patent Application: No.PCT/JP2023/013069 (30 Mar 2023)

Applicant: Fukushima Medical University

Inventor: Miwako Kato Homma

2) Key papers

1. Homma, M.K., Nakato R, Niida A, Bando M, Fujiki K, Yokota N, Yamamoto S, Shibata T, Takagi M, Yamaki J, Kozuka-Hata H, Oyama M, Shirahige K, Homma Y. Cell cycle-dependent gene networks for cell proliferation activated by nuclear CK2 $\alpha$  complexes *Life Science Alliance* 7: e202302077 (2023) doi:10.26508/lsa.202302077
2. Homma, M.K., Hashimoto Y, Homma Y, Nomizu T. CK2 $\alpha$  as a prognostic factor in invasive ductal carcinomas of the breast: cancer recurrence prognosis by surgical sampling. *The Lancet Oncology* 23: S25 (Abstract) (2022) doi:10.1016/ s1470-2045(22)00424-7
3. Homma, M.K., Kiko Y, Hashimoto Y, Nagatsuka M, Katagata N, Masui S, Homma Y, Nomizu T. Intracellular localization of CK2 $\alpha$  as a prognostic factor in invasive breast carcinomas. *Cancer Science* 112 (2): 619-628 (2021) doi:10.1111/cas.14728
4. Watanabe G, Chiba N, Nomizu T, Furuta A, Sato K, Miyashita M, Tada H, Suzuki A, Ohuchi N, Ishida T. Increased centrosome number in BRCA-related breast cancer specimens determined by immunofluorescence analysis. *Cancer Science* 109(6):2027-2035 (2018).
5. Homma, M.K., Shibata T, Suzuki T, Ogura M, Kozuka-Hata Y, Oyama M and Homma Y. Role for protein kinase CK2 on cell proliferation: Assessing the components of the CK2 complex in the nucleus during the cell cycle progression. *Protein Kinase CK2 Cellular Function in Normal and Disease States, Advances in Biochemistry in Health and Disease, Vol 12, Eds. by Khalil Ahmed et al., Springer International Publishing Switzerland. P.197-226 (2015).*
6. Homma, M.K, Wada I, Suzuki T, Yamaki J, Krebs EG, and Homma Y. CK2 phosphorylation of eukaryotic translation initiation factor 5 potentiates cell cycle progression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102(43): 15688-15693 (2005).
7. Homma, M.K, Li D, Edwin G. Krebs EG, and Homma Y. Association and regulation of casein kinase 2 activity by adenomatous polyposis coli protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99(9): 5959-5964 (2002).
8. Lu SL, Kawabata M, Imamura T, Akiyama Y, Nomizu T, Miyazono K, Yuasa Y. HNPCC associated with germline mutation in the TGF- $\beta$  type II receptor gene. *Nature Genetics*, May;19(1):17-8 (1998).

## Intracellular localization of CK2 $\alpha$ as a prognostic factor in invasive breast carcinomas

Miwako Kato Homma<sup>1</sup>  | Yuichiro Kiko<sup>2</sup> | Yuko Hashimoto<sup>2</sup> | Miki Nagatsuka<sup>3</sup> | Naoto Katagata<sup>3</sup> | Seiichiro Masui<sup>4</sup> | Yoshimi Homma<sup>1</sup> | Tadashi Nomizu<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Biomolecular Sciences, Fukushima Medical University School of Medicine, Fukushima, Japan

<sup>2</sup>Department of Diagnostic Pathology, Fukushima Medical University School of Medicine, Fukushima, Japan

<sup>3</sup>Department of Surgery, Hoshi General Hospital, Fukushima, Japan

<sup>4</sup>Medical Research Center, Fukushima Medical University School of Medicine, Fukushima, Japan

### Correspondence

Miwako Kato Homma, Department of Biomolecular Sciences, Fukushima Medical University School of Medicine, 1-1 Hikariyagoka Fukushima 960-1295 Japan. Email: mkhomma@fmu.ac.jp

### Funding information

Japan Agency for Medical Research and Development, Grant/Award Number: 201m0203006/0004

### Abstract

Overexpression of the ubiquitous protein kinase, CK2 $\alpha$ , has been reported in various human cancers. Here, we demonstrate that nuclear and nucleolar CK2 $\alpha$  localization in invasive ductal carcinomas of the breast is a reliable predictor of poor prognosis. Cellular localization of CK2 $\alpha$  in nuclei and nucleoli was analyzed immunohistochemically using surgical tissue blocks from 112 patients, who had undergone surgery without neoadjuvant chemotherapy. Clinical data collection and median follow-up period were for more than 5 y. In total, 93.8% of patients demonstrated elevated CK2 $\alpha$  expression in nuclei and 36.6% of them displayed elevated expression predominantly in nucleoli. Clinicopathological malignancy was strongly correlated with elevated nuclear and nucleolar CK2 $\alpha$  expression. Recurrence-free survival was significantly worse ( $P = .0002$ ) in patients with positive nucleolar CK2 $\alpha$  staining. The 5-y survival rate decreased to a roughly 50% in nucleolar CK2 $\alpha$ -positive patients of triple-negative ( $P = .0069$ ) and p Stage 3 ( $P = .0073$ ) groups. In contrast, no patients relapsed or died in the triple-negative group who exhibited a lack of nucleolar CK2 $\alpha$  staining. Evaluation of nucleolar CK2 $\alpha$  staining showed a high secondary index with a hazard ratio of 6.629 ( $P = .001$ ), following lymph node metastasis with a hazard ratio of 14.30 ( $P = .0008$ ). Multivariate analysis demonstrated that nucleolar CK2 $\alpha$  is an independent factor for recurrence-free survival. Therefore, we propose that histochemical evaluation of nucleolar CK2 $\alpha$ -positive staining may be a new and robust prognostic indicator for patients who need further treatment. Functional consequences of nucleolar CK2 dysfunction may be a starting point to facilitate development of novel treatments for invasive breast carcinoma.

### KEYWORDS

breast cancer, invasive ductal carcinoma, nucleus, prognostic factor, protein kinase CK2

[www.thelancet.com/oncology](http://www.thelancet.com/oncology)

Funding : Japan Agency for Medical Research and Development (grant number 201m0203006j0004).

Copyright : 2022 Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

# CK2 $\alpha$ as a prognostic factor in invasive ductal carcinomas of the breast: cancer recurrence prognosis by surgical sampling



Miwako Kato Homma, Yuko Hashimoto, Yoshimi Homma, Tadashi Nomizu

## Abstract

**Background** Breast cancer is the most common cancer in Japanese and Asian women. Although the 5-year survival rate of these patients is relatively high, recurrences and fatalities do occur. The objective of this work was to develop a reliable prognostic indicator to guide therapeutic intervention without waiting for recurrence or metastasis.

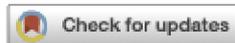
**Methods** We have previously shown that positive immunohistochemical staining of a protein kinase, CK2 $\alpha$  (CSNK2A1), in nucleoli of invasive ductal carcinoma cells is strongly associated with tumour recurrence and poor patient outcomes. For this study, we did an immunohistochemistry investigation of the location of CK2 $\alpha$  in the nuclei and nucleoli of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue block samples from patients with invasive ductal carcinoma who underwent surgery in 2008–14 but no neoadjuvant chemotherapy at Hoshi General Hospital, Fukushima, Japan. Furthermore, a new study with 59 patients with luminal type breast cancer was done. Patients were followed-up (clinicopathological information and outcomes) for more than 5 years. To characterise CK2 $\alpha$ -associated proteins systematically, nuclear and nucleolar extracts were prepared from MCF-7 cells and immunoprecipitated with anti-CK2 $\alpha$  antibodies followed by nano-flow liquid chromatography mass spectrometry analysis. We did a Kaplan-Meier analysis to evaluate whether nucleolar CK2 staining might be associated with poor recurrence-free survival. This retrospective study was approved by the Institutional Review Boards of Fukushima Medical University and Hoshi General Hospital.

**Findings** Samples from 112 patients were included. 105 (94%) of 112 patients with invasive ductal carcinoma had high CK2 $\alpha$  expression in nuclei, and 41 (37%) of 112 displayed it predominantly in nucleoli. Clinical and pathological

Published Online  
July 13, 2022

Department of Biomolecular Sciences (M.K Homma PhD, Y Homma PhD) and Department of Diagnostic Pathology (Y Hashimoto MD PhD), Fukushima Medical University School of Medicine, Fukushima, Japan; Department of Surgery, Hoshi General Hospital, Koriyama, Japan (T Nomizu MD PhD)

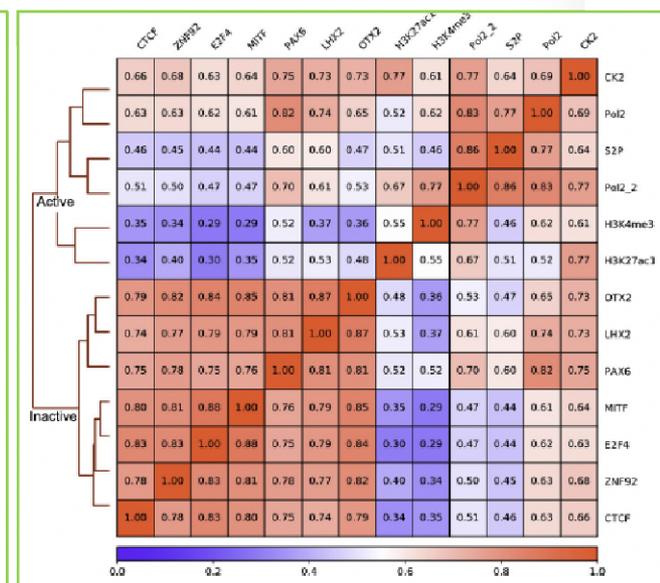
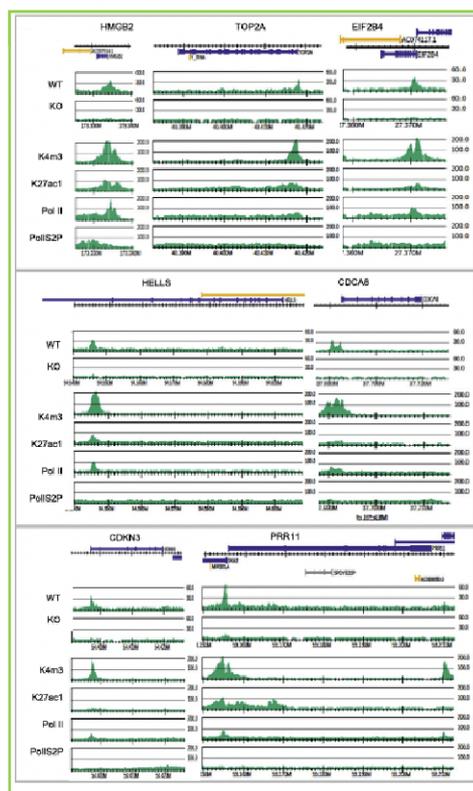
Correspondence to:  
Dr Miwako Kato Homma, Department of Biomolecular Sciences, Fukushima Medical University School of Medicine, Fukushima 960-1295, Japan  
[mkhomma@fmu.ac.jp](mailto:mkhomma@fmu.ac.jp)



# Cell cycle-dependent gene networks for cell proliferation activated by nuclear CK2 $\alpha$ complexes

Miwako Kato Homma<sup>1</sup> , Ryuichiro Nakato<sup>2</sup>, Atsushi Niida<sup>3</sup>, Masashige Bando<sup>4</sup>, Katsunori Fujiki<sup>4</sup>, Naoko Yokota<sup>2</sup>, So Yamamoto<sup>1</sup>, Takeshi Shibata<sup>5</sup>, Motoki Takagi<sup>6</sup> , Junko Yamaki<sup>1</sup>, Hiroko Kozuka-Hata<sup>7</sup> , Masaaki Oyama<sup>7</sup> , Katsuhiko Shirahige<sup>4,8,9</sup> , Yoshimi Homma<sup>1</sup>

Nuclear expression of protein kinase CK2 $\alpha$  is reportedly elevated in human carcinomas, but mechanisms underlying its variable localization in cells are poorly understood. This study demonstrates a functional connection between nuclear CK2 and gene expression in relation to cell proliferation. Growth stimulation of quiescent human normal fibroblasts and phospho-proteomic analysis identified a pool of CK2 $\alpha$  that is highly phosphorylated at serine 7. Phosphorylated CK2 $\alpha$  translocates into the nucleus, and this phosphorylation appears essential for nuclear localization and catalytic activity. Protein signatures associated with nuclear CK2 complexes reveal enrichment of apparently unique transcription factors and chromatin remodelers during progression through the G<sub>1</sub> phase of the cell cycle. Chromatin immunoprecipitation-sequencing profiling demonstrated recruitment of CK2 $\alpha$  to active gene loci, more abundantly in late G<sub>1</sub> phase than in early G<sub>1</sub>, notably at transcriptional start sites of core histone genes, growth stimulus-associated genes, and ribosomal RNAs. Our findings reveal that nuclear CK2 $\alpha$  complexes may be essential to facilitate progression of the cell cycle, by activating histone genes and triggering ribosomal biogenesis, specified in association with nuclear and nucleolar transcriptional regulators.



# お問い合わせ先

公立大学法人 福島県立医科大学  
医療研究推進課

Tel: 024-547-1791

Fax: 024-581-5163

e-mail: [liaison@fmu.ac.jp](mailto:liaison@fmu.ac.jp)