

「生体恒常性維持・変容・破綻機構のネットワーク的理解に基づく
最適医療実現のための技術創出」

平成 24 年度採択研究代表者

H24 年度 実績報告

原 英二

(公財)がん研究会がん研究所がん生物部・部長

細胞老化が引き起こす恒常性破綻の病態解明とその制御

§1. 研究実施体制

(1)「原」グループ

① 研究代表者:原 英二 ((公財)がん研究会、部長)

② 研究項目

・老化細胞分泌因子の全容解明とその臨床応用への検討

(2)「石川」グループ

① 主たる共同研究者:石川 雄一 ((公財)がん研究会、部長)

② 研究項目

・老化細胞分泌因子の発癌との関係解明とその臨床応用への検討

(3)「田中」グループ

① 主たる共同研究者:田中 知明 (千葉大学、講師)

② 研究項目

・老化細胞分泌因子の代謝疾患との関係解明とその臨床応用への検討

(4)「近藤」グループ

① 主たる共同研究者:近藤 祥司 (京都大学、助教)

② 研究項目

・老化細胞分泌因子の老年病との関係解明とその臨床応用への検討

§ 2. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(3-1)に対応する)

研究のねらい:

加齢に伴い増加する老化細胞が分泌する有害な分泌因子(SASP 因子)の全容解明を通して、加齢性難治疾患の発症機構の解明と、その効果的な診断法、予防法、治療法の開発に有効な分子標的を同定することを目標にしている。目標達成に向けて本年度は以下の項目に関して研究を行った。

研究概要及び進捗状況:

SASP 因子の発現誘導機構の解明 (担当:原)

これまで我々は細胞老化の原因である修復不可能な DNA 損傷が起こると、APC/C^{Cdh1} が G9a/GLP をポリユビキチン化し、プロテアソーム依存的な蛋白質分解を誘導することでヒストン 3 リジン 9 (H3K9) のジメチル化レベルが低下して SASP 因子が発現することを明らかにしてきた (Takahashi *et al.*, Mol. Cell, 2012)。しかし、G9a/GLP の分解がどのようにして SASP 因子の発現を誘導するのかについては依然として不明なままである。そこで、本年度は SASP 因子の発現誘導に関わる新たな分子をスクリーニングするための細胞システムの構築と、細胞老化に伴い変化する APC/C^{Cdh1} 及び G9a/GLP の蛋白質修飾や結合蛋白質の変化を解析するためのシステムの構築を試み、以下の結果を得た。

(1)簡単に細胞老化を誘導できる細胞システムを構築するために、細胞老化誘導因子である

p16^{INK4a} または癌変異型 Ras とエストロゲン受容体との融合蛋白質を発現するヒト初代培養細胞 (ヒト胎児肺由来線維芽細胞) の樹立を試みた。その結果、これらの細胞に 4-ヒドロキシタモキシフェン(4-OHT) を投与することで活性酸素種(ROS)レベルの亢進、修復不可能な DNA 損傷及び不可逆的な細胞増殖停止など細胞老化の特徴が誘導されることが確認され、薬剤投与により迅速かつ効率的に細胞老化を誘導できるシステムの構築に成功したことが確認された。

(2)細胞老化の誘導に伴い変化する APC/C^{Cdh1} 及び G9a/GLP の蛋白質修飾や結合蛋白質を解析するために、(1)で作成した 4-OHT 投与により細胞老化を誘導出来る細胞に Flag-tag 付の Cdh1, G9a 又は GLP 蛋白質を安定的に発現させた細胞を樹立することに成功した。

(3)細胞老化に伴う SASP 遺伝子の発現誘導機構を解明するために SASP 遺伝子転写開始点近傍のエピジェネティックな変化を明らかにすることを旨とし、ヒストン修飾や DNA メチル化状態の変化を認識する複数の抗体を連続的に用いるクロマチン免疫沈降法の確立を試みた。本年度はクロマチン免疫沈降法に用いる抗体の組み合わせや濃度等、実験条件の最適化を行い、幾つかの抗体 (H3K4me3, H3K9me2, H3K9me3, H3K27me3 を認識する抗体) を連続的に用いたクロマチン免疫沈降法を行うための実験条件の確立に成功した。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

●論文詳細情報

1. Tatsuno, Ichiro; Terano, Takashi; Nakamura, Mitsugu; Suzuki, Kiminori; Kubota, Kazuko; Yamaguchi, Jyunichi; Yoshida, Tomohiko; Suzuki, Sawako; Tanaka, Tomaki; Shozu, Makio. Lifestyle and osteoporosis in middle-aged and elderly women: Chiba bone survey. *Endocr. J.* Advance Publication. (DOI: 10.1507/endocrj.EJ12-0368)

(3-2) 知財出願

- ① 平成 24 年度特許出願件数(国内 2 件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 2 件)