

令和元年6月12日現在

機関番号：72602

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04700

研究課題名(和文) 良性腫瘍から悪性腫瘍へと老化細胞が形質転換するメカニズムの解明

研究課題名(英文) Elucidation of transformation mechanism from benign tumor to cancer

研究代表者

高橋 暁子 (Takahashi, Akiko)

公益財団法人がん研究会・がん研究所 細胞老化プロジェクト・プロジェクトリーダー

研究者番号：60380052

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,000,000円

研究成果の概要(和文)：細胞老化はさまざまな発がんストレスによって誘導される不可逆的な増殖停止状態であり、生体内でがんの抑制機構として働く一方で、老化した細胞は炎症性蛋白質を分泌し発がんに関与していることが知られている。私たちは、老化細胞では正常な細胞には発現していないnon-coding RNAが発現し染色体不安定性を誘導することや、細胞老化特異的なnon-coding RNAが染色体構造を変化させることでがんの悪性化に関与していることを見出した。本研究から、良性腫瘍から悪性腫瘍へと老化細胞が形質転換するメカニズムの一つとして細胞老化特異的なエピゲノムの変化や染色体の構造的異常が関与している可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって、老化した細胞では染色体のヘテロクロマチン領域のH3K9me3のレベルが低下し若い細胞では発現していないnon-coding RNAが産生されており、このnon-coding RNAは正常な細胞に染色体分配の異常を引き起こし腫瘍形成能を獲得させることを明らかにした。つまり、加齢に伴って体内に蓄積した老化細胞で高発現するnon-coding RNAが、染色体不安定性を誘導し腫瘍細胞へと形質転換をおこさせる可能性が示唆された。今後は細胞老化特異的なnon-coding RNAを標的とした新しい診断法や治療法の開発が期待される。

研究成果の概要(英文)：Cellular senescence is the state of essentially irreversible cell cycle arrest that can be induced by a variety of potentially oncogenic stimuli and is therefore considered to act as an important tumor suppression mechanism in vivo. On the other hand, cellular senescence also causes secretion of various inflammatory factors, which seems to contribute age-associated diseases. We have investigated that epigenetic de-regulation of genomic DNA induces the aberrant expression of non-coding RNA in senescent cells. Surprisingly, ectopic expression of non-coding RNA provokes chromosomal instability, which resulted in tumorigenesis in mice. It is therefore possible that the overexpression of non-coding RNA in old mice may eventually promotes tumorigenesis, especially in case of accidental re-initiation of cell proliferation in senescent cells. These results indicate that senescence-associated epigenetic dysregulation may contribute to transformation from benign tumor to cancer.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：細胞老化 エピジェネティクス non-coding RNA 染色体不安定性

1. 研究開始当初の背景

正常な体細胞が発がんの危険性のあるストレスを受けると、アポトーシス(細胞死)または細胞老化(不可逆的増殖停止)が誘導され、ストレスを受けた細胞の増殖が停止する。近年、ヒトやマウスのがん病変部や良性腫瘍部には細胞老化を起こした細胞(老化細胞)が存在することが示され、細胞老化が生体内で悪性腫瘍の発生を抑制していることが明らかになってきた。しかし、アポトーシスとは異なり細胞老化をおこしても細胞がすぐに死滅するわけではないので、老化細胞は細胞増殖を停止したまま長期間体内に存在していることが予測され、発がん促進作用もある可能性が考えられる。そのメカニズムの一つとして、老化細胞が炎症や発がんを促進する様々な炎症性蛋白質を分泌する SASP (Senescence-associated secretory phenotype) と呼ばれる現象を起こしていることが指摘されているが、私たちは SASP 以外にも老化細胞自身の染色体不安定性が誘導されることで良性腫瘍から悪性腫瘍へと形質転換する可能性があるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

細胞老化は生体にとって重要ながん抑制機構であることが知られているが、近年加齢に伴い体内に蓄積した老化細胞が悪性腫瘍へと形質転換する危険性が注目されている。私たちは老化細胞においては、通常はヘテロクロマチン化によって強固に抑制されている non-coding RNA の発現が誘導されることで染色体不安定性を誘発し発がんに寄与する可能性を検討することを目的として研究をおこなった。

3. 研究の方法

老化細胞で高発現する non-coding RNA によって、正常な細胞から腫瘍細胞へと形質転換をおこす分子メカニズムを明らかにするために、下記のような実験を行った。まずヒトとマウスの正常な培養細胞を用いて、老化細胞において non-coding RNA が特異的に高発現するメカニズムを、クロマチン修飾状態の変化から解析するとともに、non-coding RNA の結合蛋白を同定しその機能を明らかにすることで、染色体不安定性が誘導される分子メカニズムの解明を目指した。さらに、non-coding RNA と発がんの関係性を明らかにするためにマウスモデルを用いた実験を行った。

4. 研究成果

(1) 細胞老化特異的な non-coding RNA の解析

ヒト正常線維芽細胞 (TIG-3, RPE, IMR90) とマウス線維芽細胞 (MEF) を用いて活性化型 Ras による Oncogene-induced senescence や X 線照射による Stress-induced senescence を誘導する前後で染色体のエピジェネティックな修飾状態の解析を行ったところ、若い細胞ではヘテロクロマチン化しているゲノム領域の Histone3 Lysine9 のトリメチル化レベルが顕著に低下し、この領域から non-coding RNA が産生されていることを見出し、Senescence-associated non-coding RNA (SA-ncRNA) という名称をつけた。

(2) SA-ncRNA の機能解析

SA-ncRNA は正常な線維芽細胞や上皮細胞ではほとんど発現しておらず、細胞老化が誘導された細胞や肝がん、大腸がん、膵がんなど多くのがん細胞株で高発現していたことから、がんとの関りが示唆された。そこで、その機能を明らかにするために、ヒト正常線維芽細胞とマウス線維芽細胞に SA-ncRNA を過剰発現したところ、中心体が複数観察される染色体分配の異常や染色体ブリッジが高頻度におこることを見出した。さらにこれらの細胞は細胞培養皿上でコロニーを形成したところから、足場非依存的増殖能を獲得していることが明らかとなった。そこで、染色体数の解析を行ったところ、SA-ncRNA を発現している細胞の染色体では異数性が観察された。これらの結果から、SA-ncRNA は正常な細胞に染色体不安定性を誘導することが示された。

(3) 生体における SA-ncRNA の機能解析

SA-ncRNA と発がんの関係性を明らかにするために(2)の実験で得られた細胞をヌードマウスに移植したところ、正常な MEF 細胞では腫瘍を形成しないが、non-coding RNA を過剰発現した細胞株では 100%腫瘍を形成することが明らかとなった。つまり、老化細胞で高発現する non-coding RNA が染色体不安定性を誘導し腫瘍細胞へと形質転換をおこさせる可能性が示唆された。さらに現在は、ヌードマウスで腫瘍を形成した細胞を用いてマイクロアレイ解析を行い、SA-ncRNA による遺伝子発現変化と発がんの関りを解析している。

(4) SA-ncRNA が腫瘍を形成するメカニズムの解析

SA-ncRNA が染色体不安定性を誘導し腫瘍形成に働く分子メカニズムを明らかにするた

めに、SA-ncRNA に結合する蛋白質を RNA-IP により抽出し LC-MS 解析から複数の候補蛋白質を同定した。そして、これらの候補蛋白質の機能解析を行ったところ、その中に染色体構造の維持に関わる重要な因子が存在していることを見出し、SA-ncRNA と結合することも再確認した。さらに、SA-ncRNA はその因子と結合することで染色体の維持機能を阻害し、染色体構造を変化させることで染色体不安定性を引き起こす分子メカニズムが明らかとなった。

このように本研究から、老化細胞ではエピゲノムの変化により染色体不安定性を引き起こす SA-ncRNA を高発現することで、染色体の数の異常や構造的異常、また足場非依存的増殖能などがんの悪性化の形質を獲得してしまうことが示唆された。これらの結果は加齢に伴って体内に蓄積した老化細胞や良性腫瘍部・前がん病変部に存在する老化細胞が悪性腫瘍へと形質転換することで加齢に伴うがんの罹患率の上昇の原因となっている可能性が考えられる。現在は本研究による一連の成果をまとめ、論文投稿の準備をしている。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計4件)

Takahashi, A., Loo, T.M., Okada, R., Kamachi, F., Watanabe, Y., Wakita, M., Watanabe, S., Kawamoto, S., Miyata, K., Barber, G.N., Ohtani, N. and Hara, E.
Downregulation of cytoplasmic DNases is implicated in cytoplasmic DNA accumulation and SASP in senescent cells.

Nature Communications, 9, 1249 doi:10.1038/s41467-018-03555-8 (2018).

Furuya, S., Endo, K., **Takahashi, A.**, Miyazawa, K., Saito, M.
Snail suppresses cellular senescence and promotes fibroblast-led cancer cell invasion.

FEBS Open Bio, 7, 1586-1597 (2017).

Takasugi, M., Okada, R., **Takahashi, A.**, Chen, D., Watanabe, S., Hara, E.
Small extracellular vesicles secreted from senescent cells promote cancer cell proliferation through EphA2.

Nature Communications, 8, 15729 doi:10.1038/ncomms15728 (2017).

Takahashi, A., Okada, R., Nagao, K., Kawamata, Y., Hanyu, A., Yoshimoto, S., Takasugi, M., Watanabe, S., Kanemaki, M.T., Obuse, C. and Hara, E.

Exosomes maintain cellular homeostasis by excreting harmful DNA from cells.

Nature Communications, 8: 15287 doi: 10.1038/ncomms15287 (2017).

[学会発表](計10件)

Akiko Takahashi 第18回 American Association for Cancer Research AACR/JCA Joint Session: Exosomes in Diagnosis and Treatment of Cancer 「The biological function of exosomes secreted from senescent cells in the cancer microenvironment」 2019

Akiko Takahashi 第66回 Japanese Association for Dental Research Keynote Lecture 「The roles of cellular senescence in aging and cancer」 2018

Akiko Takahashi, Ryo Okada, Tze Mun Loo, Kenichi Miyata 第77回日本癌学会学術総会 シンポジウム 「Exosome from senescent cells promotes tumorigenesis」 2018

高橋暁子, 岡田 遼, 宮田憲一, 羅 智文 第91回日本生化学会総会シンポジウム 「老化細胞が分泌する SASP 因子の解析」 2018

Akiko Takahashi, Ryo Okada, Kazuhiro Hitomi, Tze Mun Loo, Kenichi Miyata 第5回日本細胞外小胞学会 JSEV シンポジウム 「Exosomes secreted from senescent cells act as one of SASP factors」 2018

高橋暁子 第18回日本抗加齢医学会総会 シンポジウム 免疫老化の最前線「細胞老化と自然免疫応答」 2018

高橋暁子 第12回日本エピジェネティクス研究会年会 講演 「細胞老化における SASP の分子メカニズム」 2018

高橋暁子 第40回生命科学系学会合同年次大会 ワークショップ 「生老病死」の分子生物学 「老化分泌因子の分子生物学」 2017

高橋暁子 第49回日本動脈硬化総会 学術集会 シンポジウム1ゲノム損傷と動脈硬化・老化関連疾患 「ゲノム損傷と細胞老化」 2017

高橋暁子, 今井良紀, 原 英二 第35回日本分子生物学会年会 シンポジウム 発生・老化・疾患をつかさどるクロマチンイベント 「細胞老化のクロマチンイベント」 2016

〔図書〕(計3件)

岡田 遼、高橋暁子 老化におけるエクソソーム **最新医学** 73: 1177-1183 (2018)
岡田 遼、高橋暁子 細胞老化とエクソソーム **和光純薬時報** 86 (2018)
宮田憲一、高橋暁子 細胞老化とがん化 **腫瘍内科** 21: 206-211 (2018)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ

<https://www.jfcr.or.jp/laboratory/department/senescence/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

なし

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：宮田 憲一

ローマ字氏名：(MIYATA, kenichi)

研究協力者氏名：岡田 遼

ローマ字氏名：(OKADA, ryo)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。