

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K15048

研究課題名（和文）細胞老化を抑制する分子機構の解明 -代謝によるエピゲノム制御-

研究課題名（英文）Elucidation of the molecular mechanism that suppresses senescence -Epigenomic regulation by metabolism-

研究代表者

井形 朋香（IGATA, TOMOKA）

熊本大学・大学院生命科学研究部（医）・医学教育部研究員

研究者番号：20755607

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：個体の老化(aging)には、細胞の老化(cellular senescence)が深く関与することが近年の老化研究により示唆されている。個体における細胞老化はがん抑制として機能する一方で、老化細胞の蓄積は臓器や組織に慢性炎症を引き起こし、加齢性疾患を誘発する。そのため老化研究において、細胞老化を抑制する分子機構の解明は重要な課題となっている。本研究では、転写因子ZHX3による細胞老化抑制の分子機構を明らかにすることを目的とした。次世代シーケンス解析やノックアウトマウスの解析により、転写因子ZHX3が細胞老化に重要な役割を持つことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢化社会において加齢性疾患への対応は大きな課題である。細胞老化におけるエネルギー代謝変化は、特に2型糖尿病など代謝異常を伴う加齢性疾患と密接に関連することが予想される。老化に関わる新たな因子の発見とその分子機構の解明は、分子を標的とした新薬の開発につながる可能性があり、本研究は、国民の健康寿命の延伸と高齢者の医療費や介護負担の軽減に貢献できると期待する。

研究成果の概要（英文）：Recent aging studies have suggested that cellular senescence is deeply involved in individual aging. While cellular senescence in individuals functions as a cancer suppressor, the accumulation of senescent cells causes chronic inflammation in organs and tissues, leading to age-related diseases. Therefore, elucidation of the molecular mechanism that suppresses senescence has become an important issue in aging research. The purpose of this study was to clarify the molecular mechanism of inhibition of cellular senescence by a transcription factor ZHX3. Next-generation sequence analysis and knockout mouse analysis revealed that the transcription factor ZHX3 plays an important role in cellular senescence.

研究分野：細胞老化

キーワード：細胞老化 転写因子

1. 研究開始当初の背景

細胞老化とは、様々なストレス(テロメアの短縮、発がんシグナルの活性化、酸化ストレスなど)により細胞に修復不可能な DNA 損傷が生じた際に、p53-p21 経路や p16-RB (Retinoblastoma)経路の活性化を経て細胞分裂を不可逆的に停止する状態である。アポトーシスとは異なり、細胞老化では老化した細胞が長期間生存し続ける。加齢に伴い個体の体内に蓄積した老化細胞は炎症性サイトカインなどの細胞老化関連分泌現象(SASP: Senescence-associated secretory phenotype)を示し、臓器や組織の機能低下や障害を誘発することにより、個体に多様な加齢性疾患をもたらす(Young et al. 2009)。また老化細胞の選択的な除去により個体老化を抑制できることも明らかになった(Baker et al. 2011)。このように近年の老化研究によって細胞老化の抑制が個体老化の防止に重要であることが示唆されていた。

老化細胞は分裂を停止しているため、細胞のエネルギー源である ATP の消費が低下すると考えられてきた。また老化細胞ではミトコンドリアの機能障害が起こる(Passos et al. 2007)ことから、ATP の産生が低下すると考えられてきた。しかし最近、当研究室や他のグループは、老化細胞においてミトコンドリアにおける脂肪酸の酸化や酸化的リン酸化、細胞質での解糖系が亢進し、エネルギー産生はむしろ増加することを明らかにした(Quijano et al. 2012, Takebayashi, Igata et al. 2015)。がん細胞における解糖系の亢進はワールブルグ効果としてよく知られており(Warburg et al. 1956)、活発な細胞増殖に伴う急速なエネルギー需要の増加に対応する役割があると考えられている。一方、細胞増殖を停止している老化細胞において、エネルギー代謝が変化する意義は未解明であった。

2. 研究の目的

転写因子が細胞老化を抑制する分子機構を解明し、細胞老化とエネルギー代謝との関連性における転写因子の機能を見出すことを目的とした。さらに、個体老化における、転写因子による細胞老化抑制機構の重要性を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

培養細胞を用いて、siRNA library を用いて網羅的なスクリーニングを行い、細胞老化を抑制する転写因子を探索した。さらに、正常細胞における転写因子のノックダウンを行い、細胞老化への影響を調査した。細胞老化関連 ガラクトシダーゼの活性、細胞周期阻害因子(p16, p21)や炎症性サイトカイン(IL-6: Interleukin-6, IL-8: Interleukin-8)の発現上昇を測定した。

転写因子の機能解析を行うため、免疫沈降及び液体クロマトグラフ質量分析(LC-MS/MS: liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry)により核内で転写因子と相互作用する因子を網羅的に探索した。さらに相互作用因子のノックダウンを行い、p21, IL-8 の発現上昇を指標として細胞老化を示す因子を選抜した。また抗体を用いたクロマチン免疫沈降及び高速シーケンサーにより大規模塩基配列解析を行った。さらに、転写因子のノックアウトマウスの解析を行った。

4. 研究成果

siRNA library を用いた網羅的なスクリーニングにより、細胞老化を抑制する転写因子 ZHX3 (Zinc finger and homeobox protein 3) を同定することに成功した。正常細胞において転写因子 ZHX3 のノックダウンを行った結果、細胞老化関連 ガラクトシダーゼの活性の増加、細胞周期阻害因子(p16, p21)や炎症性サイトカイン(IL-6, IL-8)の発現上昇を認めたことから、転写因子 ZHX3 は細胞老化の抑制に機能する因子であることが示唆された。

免疫沈降及び液体クロマトグラフ質量分析(LC-MS/MS)により核内で転写因子 ZHX3 と相互作用する因子を網羅的に探索した結果、28 個の候補因子が得られた。これらの候補因子の中から、免疫沈降及びウエスタンブロット法により、mRNA スプライシングに關与する SRSF1 (Serine and arginine rich splicing factor 1)や、mRNA の品質管理機構 NMD に關与する EJC 複合体の因子 EIF4A3 (Eukaryotic initiation factor 4A-III)など複数の RNA プロセッシング関連因子と、ヒストンにアセチル CoA を供給することによるエピジェネティックな役割をもつ代謝酵素 ATP citrate lyase (ACLY)を ZHX3 の相互作用因子として同定した。正常細胞でこれらの相互作用因子をノックダウンすると ZHX3 のノックダウンと同様に細胞老化を誘導することから、これらの相互作用因子は ZHX3 と同様に、細胞老化の抑制に機能することが示唆された。これらの相互作用因子と細胞老化との関連はこれまでに全く報告がなく、非常に新規性のある結果であった。

一方、転写因子 ZHX3 に対する抗体を用いたクロマチン免疫沈降及び高速シーケンサーにより大規模塩基配列解析を行った結果、転写因子 ZHX3 が、細胞老化の進行に重要な p16 遺伝子のプロモーター領域や、細胞内のエネルギー代謝を担うリボソーム RNA 遺伝子のプロモーター領域に直接結合することを明らかにした。

p16 遺伝子とリボソーム RNA 遺伝子の両方を制御する転写因子 ZHX3 は、細胞老化と細胞内の代謝変化の両方の制御を担うと考えられるため、今後さらなる研究により、細胞老化における細胞内の代謝変化の必然性やその意義、制御メカニズムの解明につながることを期待する。また、標的遺伝子のプロモーター領域に結合して遺伝子発現制御を行う典型的な転写因子である ZHX3 が、エピジェネティック因子(ACLY)や RNA プロセッシング関連因子(SRSF1, EIF4A3)と相互作用するという本研究の結果は、これまでの転写因子の概念を超えて、転写因子 ZHX3 が、エピジェネティック制御、プロモーター制御、RNA プロセッシング制御という一連の質的及び量的な遺伝子発現制御に多段階的に機能する新規の転写制御因子であることを示唆する興味深い結果であった。今後その詳細が解明されることを期待する。

Zhx3 の全身性ノックアウトマウスを用いた解析では、骨格筋と精巣で p16 の発現上昇を認めたことから、個体の組織においても Zhx3 は細胞老化に關与することが示唆された。また、雄マウスにおいて不妊性及び寿命の短縮を認めたことから、Zhx3 が組織や個体の老化に關与する可能性が示唆された。

本研究により、ZHX3 が細胞老化及び個体老化の抑制に機能する重要な因子であることを明らかにした。これらの研究結果を論文にまとめ、国際雑誌に報告した(Igata et al. 2022)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Tanaka Hiroshi, Igata Tomoka, Etoh Kan, Koga Tomoaki, Takebayashi Shin ichiro, Nakao Mitsuyoshi	4. 巻 19
2. 論文標題 The NSD2/WHSC1/MMSET methyltransferase prevents cellular senescence associated epigenomic remodeling	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Aging Cell	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ace1.13173	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Igata Tomoka, Tanaka Hiroshi, Etoh Kan, Hong Seonghyeon, Tani Naoki, Koga Tomoaki, Nakao Mitsuyoshi	4. 巻 17
2. 論文標題 Loss of the transcription repressor ZHX3 induces senescence-associated gene expression and mitochondrial-nucleolar activation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0262488	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 ○井形朋香、古賀友紹、田中宏、竹林慎一郎、衛藤貫、日野信次朗、中尾光善
2. 発表標題 細胞老化を防御するエピゲノム因子の同定と機能解析
3. 学会等名 Research PlaNet 2019 基礎医学研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 ○井形朋香、古賀友紹、田中宏、竹林慎一郎、衛藤貫、日野信次朗、中尾光善
2. 発表標題 細胞老化を防御するエピゲノム因子の同定と機能解析
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 ○井形朋香、古賀友紹、田中宏、衛藤貴、中尾光善
2. 発表標題 細胞老化を防御するエピゲノム因子の同定と機能解析
3. 学会等名 2019年度 健康長寿代謝制御研究センター ボーダレスカンファレンス
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中宏、井形朋香、古賀友紹、竹林慎一郎、中尾光善 .
2. 発表標題 細胞老化に関わるヒストン修飾因子の探索と機能解析
3. 学会等名 第12回日本エピジェネティクス研究会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 阿南浩太郎、田中宏、井形朋香、荒木裕貴、日野信次朗、中尾光善 .
2. 発表標題 エピゲノム因子によるミトコンドリア機能と細胞制御
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会（ワークショップ：筋ミトコンドリア研究の新展開）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------