

平成 26 年 5 月 22 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2011～2013

課題番号：23240124

研究課題名(和文) DNA損傷応答シグナルによる早期細胞老化誘導機構の解明

研究課題名(英文) Mechanism of premature senescence induction through DNA damage responses

研究代表者

中西 真 (NAKANISHI, Makoto)

名古屋市立大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：40217774

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 38,000,000円、(間接経費) 11,400,000円

研究成果の概要(和文)：我々は細胞老化過程についてFucciシステムを用いたタイムラプスイメージングで解析を行った。その結果、老化過程では、G2期の細胞が細胞分裂期を回避してG1期に移行することが分かった。この分裂期回避にはp53が必須の役割を果たしていること、またG2期の細胞に一過性にp53を活性化させるだけで細胞老化が誘導されることが分かった。さらに、p53は早期のAPC/CCdh1の活性化と、pRb/p107/p130による転写抑制を介して、様々な分裂期制御因子タンパク質の量を著減させることで分裂期回避を誘導していることが分かった。

研究成果の概要(英文)：Senescence is a state of permanent growth arrest and is a pivotal part of the anti-tumorigenic barrier in vivo. Although the tumor suppressor activities of p53 and pRb family proteins are essential for the induction of senescence, molecular mechanisms by which these proteins induce senescence are still not clear. Using time-lapse live-cell imaging, we demonstrate here that normal human diploid fibroblasts (HDFs) exposed to various senescence-inducing stimuli undergo a mitosis skip before entry into permanent cell cycle arrest. This mitosis skip is mediated by both p53-dependent premature activation of APC/CCdh1 and pRb family protein-dependent transcriptional suppression of mitotic regulators. Importantly, mitotic skipping is necessary and sufficient for senescence induction. Our findings provide decisive evidence for the molecular basis underlying the induction and maintenance of cellular senescence.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：腫瘍学・発がん

キーワード：癌 ゲノム シグナル伝達 発現抑制 老化

様式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

細胞老化は様々なゲノムストレスにより誘導され、恒久的細胞増殖停止を特徴とする細胞応答で、個体内において腫瘍防御機構として機能していると考えられている。細胞老化誘導には代表的なガン抑制遺伝子である p53 や pRb が重要な役割を果たしていることは分かっているが、これら因子を含めて如何なる分子機構により細胞老化が誘導されるかについてほとんど分かっていない。

2. 研究の目的

我々は老化細胞が如何なる機構で、どの時期に細胞周期を逸脱し、恒久的に細胞周期を停止するのか解析を行った。

3. 研究の方法

細胞老化過程について Fucci システムを用いたタイムラプスイメージングで解析を行った。

4. 研究成果

電離放射線、ガン遺伝子活性化、活性酸素および分裂寿命により誘導される老化過程では、G2 期の細胞が細胞分裂期を回避して G1 期に移行することが分かった。すなわち、老化細胞は 4 倍体 G1 期細胞であることが分かった。この分裂期回避には p53 が必須の役割を果たしていること、また G2 期の細胞に一過性に p53 を活性化させるだけで細胞老化が誘導されることが分かった。さらに、p53 は p21 の発現誘導による早期の APC/CCdh1 の活性化と、pRb/p107/p130 による転写抑制促進することで、サイクリン B1 を始めとする様々な分裂期制御因子タンパク質の発現を強く抑制するにより分裂期回避を誘導していることが分かった。個体内における老化細胞として母斑細胞について解析したところ、母斑細胞はサイクリン B1 陰性でありながら、表皮細胞あるいは血管内皮細胞に比較してほぼ二倍の DNA 含量を持っていることが分かった (図 1)。

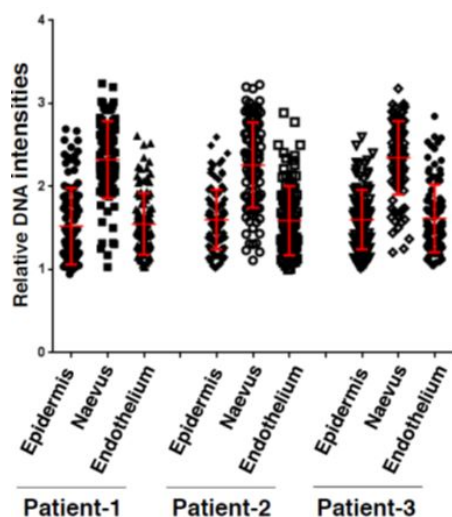


図 1 母斑細胞性母斑組織を DAPI で染色し細胞内の DNA 含量を定量化した。定量化に際して、ヒストン H3 で染色することで標準化した。

すなわち個体内においても老化細胞は 4 倍体 G1 期細胞で、p53 および pRb による細胞分裂期回避が老化誘導に必須の役割を果たしていることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 18 件)

Johmura Y, Shimada M, Misaki T, Naiki-Ito A, Miyoshi H, Motoyama N, Ohtani N, Hara E, Nakamura M, Morita A, Takahashi S, Nakanishi M. Necessary and sufficient role for a mitosis skip in senescence induction. Mol. Cell in press 査読有 2014

Goshima T1, Shimada M, Sharif J, Matsuo H, Misaki T, Johmura Y, Murata K, Koseki H, Nakanishi M. Mammalian-specific H2A variant, H2ABbd, is Involved in Apoptotic Induction via Activation of NF- κ B Signaling Pathway. J Biol Chem. 査読有 2014 doi: 10.1074/jbc.M113.541664.

Nishiyama A, Yamaguchi L, Sharif J, Johmura Y, Kawamura T, Nakanishi K, Shimamura S, Arita K, Kodama T, Ishikawa F, Koseki H, Nakanishi M. Uhrf1-dependent H3K23 ubiquitylation couples maintenance DNA methylation and replication. Nature. 502(7470):249-53. 査読有 2013 doi: 10.1038/nature12488.

Hamajima N, Johmura Y, Suzuki S, Nakanishi M, Saitoh S. Increased protein stability of CDKN1C causes a gain-of-function phenotype in patients with IMAGe syndrome. PLoS One. 8(9):e75137 査読有 2013 doi: 10.1371/journal.pone.0075137

Aoki Y, Sakogawa K, Hihara J, Emi M, Hamai Y, Kono K, Shi L, Sun J, Kitao H, Ikura T, Niida H, Nakanishi M, Okada M, Tashiro S. Involvement of ribonucleotide reductase-M1 in 5-fluorouracil-induced DNA damage in esophageal cancer cell lines. Int J Oncol. 42(6) 査読有 2013 doi: 10.3892/ijo.2013.1899

Nishigaki M, Kawada Y, Misaki T, Murata K, Goshima T, Hirokawa T, Yamada C, Shimada M, Nakanishi M. Mitotic phosphorylation of MPP8 by cyclin-dependent kinases regulates chromatin dissociation. Biochem Biophys Res Commun. 432(4) 654-9 査読有 2013 doi: 10.1016/j.bbrc.2013.02.027.

Shimada M, Nakanishi M. Response to DNA damage: why do we need to focus on protein phosphatases? *Front Oncol*.3.8 査読有 2013 doi: 10.3389/fonc.2013.00008

Liu N, Matsumoto M, Kitagawa K, Kotake Y, Suzuki S, Shirasawa S, Nakayama KI, Nakanishi M, Niida H, Kitagawa M. Chk1 phosphorylates the tumour suppressor Mig-6, regulating the activation of EGF signalling. *EMBO J*. 31(10) 2365-77 査読有 2012 doi: 10.1038/emboj.2012.88.

Sato S, Takahashi S, Asamoto M, Nakanishi M, Wakita T, Ogura Y, Yatabe Y, Shirai T. Histone H1 expression in human prostate cancer tissues and cell lines. *Pathol Int*. 62(2) 84-92 査読有 2012 doi: 10.1111/j.1440-1827.2011.02755.x.

Delhase M, Kim SY, Lee H, Naiki-Ito A, Chen Y, Ahn ER, Murata K, Kim SJ, Lautsch N, Kobayashi KS, Shirai T, Karin M, Nakanishi M. TANK-binding kinase 1 (TBK1) controls cell survival through PAI-2/serpinB2 and transglutaminase 2. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 109(4) E177-86 査読有 2012 doi:10.1073/pnas.1119296109.

Ogawa K, Murasaki T, Sugiura S, Nakanishi M, Shirai T. Organ differences in the impact of p27(kip1) deficiency on carcinogenesis induced by N-methyl-N-nitrosourea. *J Appl Toxicol*.33(6):471-9 査読有 2011 doi: 10.1002/jat.1770.

Sugiyama M, Tanaka Y, Wakita T, Nakanishi M, Mizokami M. Genetic variation of the IL-28B promoter affecting gene expression. *PLoS One* 6(10):e26620 査読有 2011 doi: 10.1371/journal.pone.0026620

Nakanishi M. Cell cycle. *Rinsho Ketsueki*. 52(10):1660-8 査読有 2011

Sugiyama M, Inui A, Shin-I T, Komatsu H, Mukaide M, Masaki N, Murata K, Ito K, Nakanishi M, Fujisawa T, Mizokami M. Easy-to-use phylogenetic analysis system for hepatitis B virus infection. *Hepatol Res*. 41(10):936-945 査読有 2011 doi: 10.1111/j.1872-034X.2011.00859.x.

Harada N, Watanabe Y, Yoshimura Y, Sakumoto H, Makishima F, Tsuchiya M, Nakanishi K, Nakanishi M, Aoki Y. Identification of a checkpoint modulator with synthetic lethality to p53 mutants. *Anticancer Drugs*. 22 986-94 査読有 2011 doi: 10.1097/CAD.0b013e328349dd43.

Matsuyama M, Goto H, Kasahara K, Kawakami Y, Nakanishi M, Kiyono T, Goshima N, Inagaki M. Nuclear Chk1 prevents premature mitotic entry. *J Cell*

Sci. 124 2113-9 査読有 2011 doi: 10.1242/jcs.086488.

Mizutani E, Suzumori N, Ozaki Y, Oseto K, Yamada-Namikawa C, Nakanishi M, Sugiura-Ogasawara M. SYCP3 mutation may not be associated with recurrent miscarriage caused by aneuploidy. *Hum Reprod*. 26(5):1259-66 査読有 2011 doi: 10.1093/humrep/der035.

Sugiyama M, Tanaka Y, Nakanishi M, Mizokami M. Novel findings for the development of drug therapy for various liver diseases: Genetic variation in IL-28B is associated with response to the therapy for chronic hepatitis C. *J Pharmacol Sci*.115(3):263-9 査読有 2011

〔学会発表〕（計7件）

2013年10月17日
The 10th Nikko International Symposium
2013 Translational Epigenomics
栃木県自治医科大学
中西 真

2013年11月20日～23日
第3回日仏がんワークショップ
Ubiquitylation/deubiquitylation
circuit of histone H3 at K23 couples
maintenance DNA methylation with DNA
フランチールズ
中西 真

2012年4月26日～28日
Hallym-NCGG-ExtendedSymposium
Role of DNA damage responses in induction
of premature senescence. Anyang市(韓国)
中西 真

2012年9月18日～21日第71回日本癌学
会学術総会
Maintaining the integrity of genomic
information by cell cycle checkpoints.
札幌市 中西 真

2012年11月25日～28日3Rシンポジウ
ム Role of DNA damage responses in
induction of premature senescence.
鳴門市 淡路島 中西 真

2012年11月29日～30日日仏がん学会
Novel histone modifications couple
maintenance DNA methylation with DNA
replication.鳴門市淡路島 中西 真

2011年10月3日～5日
第70回日本癌学会総会 Molecular
mechanisms of dNTPs supply
at DNA damage sites in mammals. 名古屋
国際会議場 中西 真

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕
出願状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中西 真 (NAKANISHI, Makoto)
名古屋市立大学・大学院医学研究科・
教授
研究者番号：40217774