

令和 3 年 4 月 4 日現在

機関番号：14401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K23754

研究課題名（和文）核膜ストレスとその応答因子の分子メカニズム解明

研究課題名（英文）Elucidation of the molecular mechanism of nuclear envelope stress and stress response factors.

研究代表者

小川 紗也香（Ogawa, Sayaka）

大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・特任研究員（常勤）

研究者番号：20848452

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究ではマウスの初代培養細胞を用いて、抗がん剤の添加や放射線照射といった損傷を細胞に与えることで核膜ストレスを含むストレスを細胞へ負荷し、その時の細胞内でのストレス応答分子の発現量変化とストレス応答因子発現量の変化が引き金となる細胞内応答について解析した。細胞がストレスを受けた際に発現量が増加するストレス応答因子の発現を抑えると、細胞のがん化が促進し、細胞老化が抑制されることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞は薬剤や紫外線など様々な刺激により細胞傷害を受け、それにより生じる細胞ストレスに応答することで恒常性を維持している。この恒常性を維持する機能を失うことで、蓄積された異常物質の凝集が疾患に関与するという報告もされている。したがって、細胞がストレスを受けた時に細胞内で重要となるストレス応答因子とその応答因子の作用メカニズム、またストレス応答因子により制御される因子を解析することは、細胞ストレス関連疾患の発症機構の解明や治療戦略の確立に大きく貢献できることが期待できる。さらに細胞のストレスが誘発するがん化と老化に関する解析を行うことにより、ストレス応答因子のさらなる重要性を提示できると考えた。

研究成果の概要（英文）：We treated mouse primary astrocyte with anti-cancer agent and irradiation to apply cell stress including nuclear membrane stress. In this study, we analyzed the expression level change of the stress response factor and cell response that induced by changes of the stress response factor. Our results indicated that suppression of the stress response factor enhanced neoplastic cell transformation and inhibit cell senescence.

研究分野：分子生物学

キーワード：ストレス応答 細胞損傷応答 炎症性サイトカイン SASP

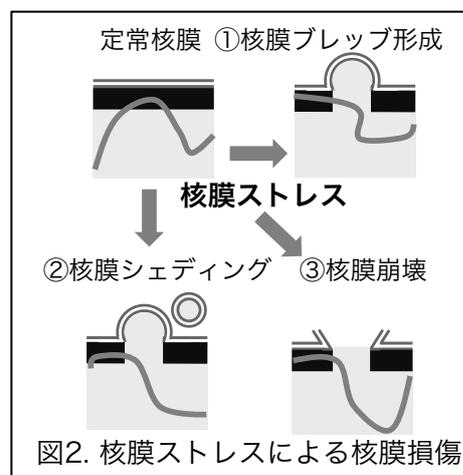
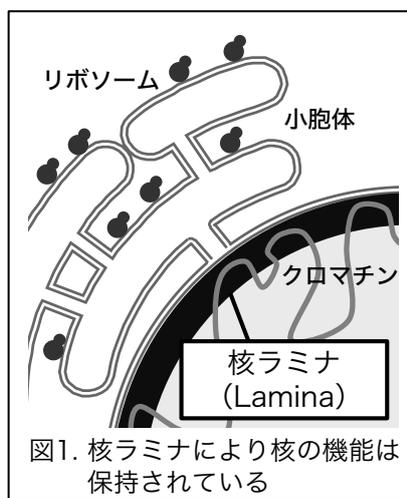
様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

種々の細胞ストレスによって生じる核膜構成成分の品質劣化や変性は「核膜ストレス」と定義され、核の構造損傷が原因とされる多様な疾患との関連性が注目されるようになってきた。しかし、核膜ストレスを感知するセンサー分子やその伝達機構については全くわかっていない。

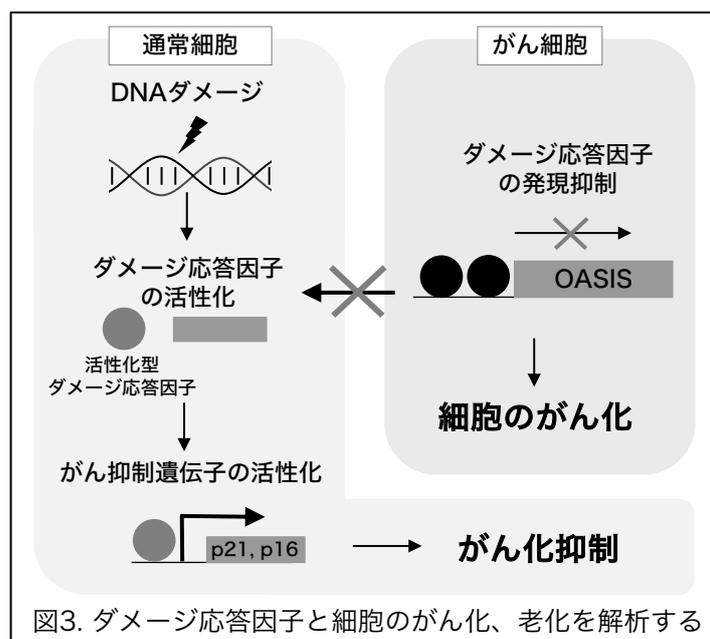
細胞小器官の一つである核は核を覆う核膜により、核としての機能と構造が維持されている。核膜は脂質二重膜により形成されており、核膜の直下には核ラミナという中間系フィラメントにより構成されている (図 1)。

細胞は抗がん剤などの薬物や放射線などの様々な細胞刺激により細胞構成成分に損傷を受けストレスが負荷されることで、細胞の核膜構造に核膜ブレップ形成や核膜の崩壊といったように核膜の構成成分である核ラミナに異常が生じることが知られている (図 2)。特に核膜へのストレスである「核膜ストレス」は、そのストレスを感知するセンサー分子とその時の応答機構については明らかとなっていない。核膜ストレスにより引き起こされる異常タンパク質の凝集は老症ハッチンソン・ギルフォード症の発症の引き金となることが知られている。



2. 研究の目的

細胞が核膜ストレスを受けた際に発現が誘導されるストレス応答因子の応答機構とそれに伴うがん化、細胞老化への関わりを明らかにすることを目的とした。これまでの研究より、細胞に核膜ストレスを負荷した時、核膜構造にストレス応答転写因子の一つである OASIS の集積が見られている。このため、核膜ストレス負荷時に OASIS の発現量が増加していると考えその発現量を解析することとした。また、この OASIS の発現量の変化に伴い、細胞のがん化や



それに付随する細胞老化に関わるタンパク質である細胞老化関連因子 (SASP) の発現も同時に解析することで、細胞ストレス応答と細胞のがん化・老化への影響を明らかにすることを目指した (図 3)。

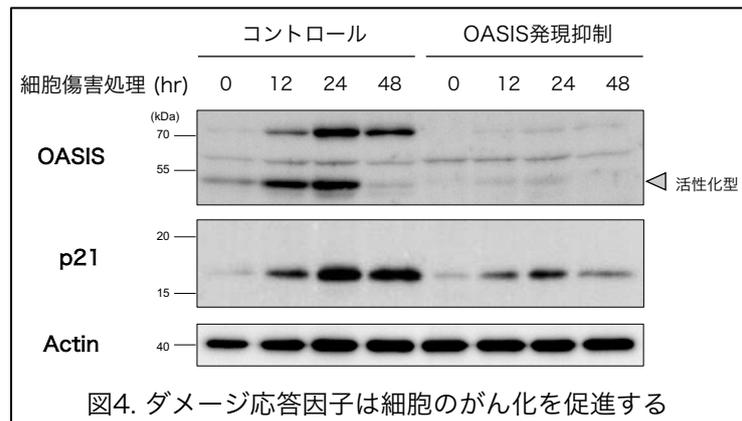
3. 研究の方法

(1) RNA 干渉法を用いて、マウス的大脑より初代培養したアストロサイトのストレス応答因子 OASIS を発現抑制した。OASIS の発現を抑制したアストロサイトと OASIS を発現するコントロールのアストロサイトそれぞれに、抗がん剤であるドキシソルビシンを添加することで細胞へ傷害を与え、ストレスを負荷した。この時のストレス応答因子である OASIS の発現量を PCR 法により RNA レベルで解析し、さらにウエスタンブロットによりタンパク質の発現量を解析した。また、この時の細胞のがん化に関与する転写因子である p21 と p53 の発現量をウエスタンブロットを用いて解析した。さらに、OASIS の発現を欠損した OASIS ノックアウトマウスを用いて同様の解析も行った。

(2) ストレス応答因子 OASIS と細胞老化の関わりを明らかにするため、OASIS の発現を抑制したアストロサイトもしくは OASIS を欠損したマウス的大脑から単離した OASIS 欠損アストロサイトと OASIS を発現するコントロールのアストロサイトを用いて解析を行った。細胞老化の評価には細胞老化が生じている細胞が青色に染色される SA-β gal 染色法を用いて解析を行った。この時同時に、SASP の中からいくつか代表的な遺伝子を選択し、その遺伝子の発現量を PCR 法により解析した。

4. 研究成果

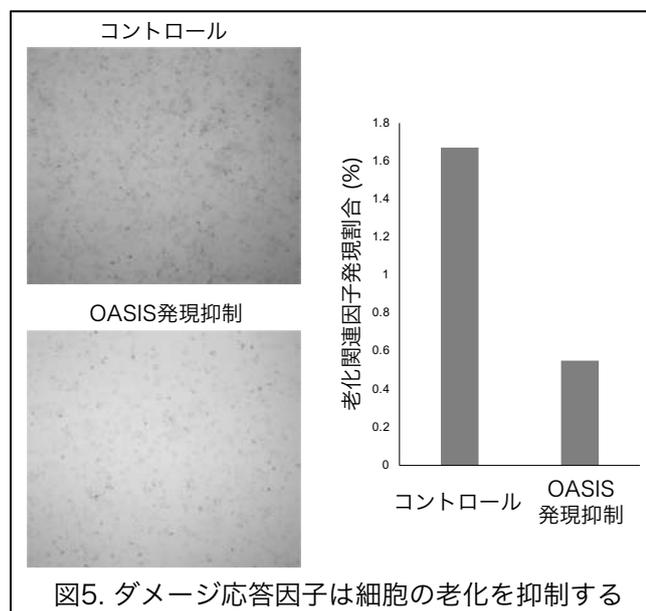
(1) RNA 干渉法により OASIS の発現量を抑制したアストロサイト細胞では、OASIS を発現するコントロール細胞と比較して活性化型 OASIS のタンパク質発現量は低下し、OASIS タンパク質の発現量が低下したアストロサイトではがん抑制遺伝子である p21 のタンパク質量の発現も



低下していた (図 4)。また、p21 の上流因子である p53 遺伝子の発現も抑制されている傾向があった。この結果より、ダメージにより発現量が増加し活性化した OASIS は p21 の発現を促進することで、がん化を抑制することが示唆された。

(2) OASIS の発現を抑制したアストロサイト細胞では、SA-β gal 染色により染色された細胞の割合がコントロール細胞と比較して減少していた (図 5)。また、SASP の中にも OASIS の発現量の増加に伴って発現量が低下しているものがあった。この結果から、OASIS がダメージに反応して細胞の老化を促進することが示唆された。

本研究の結果より、細胞はストレスを受けるとストレス応答因子の発現が上昇し、その影響により細胞のがん化が抑制されるとともに、細胞の老化が促進されることが示唆された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------