

令和元年6月15日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K15238

研究課題名(和文) 老化細胞クリアランス機構の解明による「古い」の分子基盤の構築

研究課題名(英文) Understanding of the mechanism for clearance of senescent cells

研究代表者

城村 由和 (Johmura, Yoshikazu)

東京大学・医科学研究所・助教

研究者番号：40616322

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：老化細胞では、マクロファージによる貪食に重要なホスファチジルセリンのフリッパーゼ遺伝子であるATP11Cの発現減少が認められた。しかし、ATP11C、および関連遺伝子ATP11A・Bの過剰発現・発現抑制でも、老化細胞におけるホスファチジルセリンの膜表面への露出には大きな影響を認められなかった。さらに、フリッパーゼの機能に必須であるカルシウムシグナルの阻害では老化細胞におけるホスファチジルセリンの膜表面への露出は抑制できなかった。これらの結果は老化細胞におけるホスファチジルセリンの膜表面への露出にはこれまでに報告とは全く異なるメカニズムが存在する可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞老化は、恒久的増殖停止を特徴とする細胞表現で、抗腫瘍機構として作用する。最近、早老症モデルマウスから老化細胞を人工的に除去すると、「古い」の進行が遅延することが報告され、細胞老化が個体老化の主な原因であることが示された。しかし、加齢に伴い老化細胞が蓄積する機構は不明である。本研究では、貪食シグナルとなるホスファチジルセリンが老化細胞の膜表面に露出する事を見出したが、未知のメカニズムにより制御されることが分かった。今後、その詳細なメカニズムを解明することで、老化細胞の貪食が個体老化や加齢性疾病発症に与える影響を明らかにできると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Accumulation of senescent cells has been proposed to be involved in various age-associated pathologies, but molecular basis underlying the accumulation has remained unknown. In the present study, we found that ATP11C, a flippase for phosphatidylserine, is down-regulated in senescent cells. However, overexpression and down-regulation of ATP11-related genes do not affect the expression of phosphatidylserine on senescent cell surface. Furthermore, inhibition of calcium signaling, an essential component for ATP11 flippase, also does not affect the expression of phosphatidylserine on senescent cell surface. These results strongly suggest that there is a unique mechanism for clearance of senescent cells.

研究分野：細胞分子生物学

キーワード：老化 細胞周期 脂質 がん

4. 研究成果

(A). 老化細胞特異的に発現が減少するフリッパーゼの同定

定量PCRの結果、フリッパーゼ遺伝子ファミリーの中で、ATP11Cが特異的に老化細胞で発現減少することが分かった。そこで、市販の複数の抗ATP11C抗体を用いてウエスタンブロット法により解析したが、特異的なシグナルを検出することができなかった。そこで、バキュロウイルスシステムによりリコンビナントATP11Cタンパク質を精製し、抗体の作製を行った。しかし、作製した抗体も特異的なシグナルを検出することができなかった。

(B). 老化細胞特異的に局在が変化するフリッパーゼの同定

(A)の検討結果より、老化細胞で発現低下が認められたATP11Cに関して、EGFP-ATP11C過剰発現したヒト線維芽細胞を用いて、共焦点顕微鏡による蛍光観察を行った。その結果、正常細胞・老化細胞ともに主に膜表面に局在することが分かった。この結果は、ATP11Cは主にRNAレベルでの発現制御を受けていることを示唆している。また、抗ATP11C抗体を用いて免疫染色法を行ったが、特異的なシグナルは認められなかった。

(C). ATP11関連遺伝子の発現抑制・過剰発現が老化細胞におけるホスファチジルセリンの露出に及ぼす影響の解析

老化細胞で発現減少が認められたホスファチジルセリンのフリッパーゼ遺伝子であるATP11Cに加えて、同様の機能を有することが知られているATP11A・Bに関して、過剰発現・発現抑制による検討を行った。その結果、どの遺伝子の過剰発現・発現抑制でも、老化細胞におけるホスファチジルセリンの膜表面への露出には大きな影響を認められなかった。さらに、フリッパーゼの機能にはカルシウムシグナル重要であることが知られているが、カルシウムシグナルの阻害では老化細胞におけるホスファチジルセリンの膜表面への露出は抑制できなかった。これらの結果は老化細胞におけるホスファチジルセリンの膜表面への露出にはこれまでに報告とは全く異なるメカニズムが存在する可能性が考えられた。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 12 件)

1. Nishimura K (equally contributed), **Johmura Y** (equally contributed), Deguchi K, Jiang Z, Uchida KSK, Suzuki N, Shimada M, Chiba Y, Hirota T, Yoshimura SH, Kono K, Nakanishi M, Cdk1-mediated DIAPH1 phosphorylation maintains metaphase cortical tension and inactivates the spindle assembly checkpoint at anaphase, *Nature commun.*, 2019, doi: 10.1038/s41467-019-08957-w、査読あり
2. **Johmura Y**, Maeda I, Suzuki N, Wu W, Goda A, Morita M, Yamaguchi K, Yamamoto M, Nagasawa S, Kojima Y, Tsugawa K, Inoue N, Miyoshi Y, Osako T, Akiyama F, Maruyama R, Inoue JI, Furukawa Y, Ohta T, Nakanishi M. Fbxo22-mediated KDM4B degradation determines selective estrogen receptor modulator activity in breast cancer. *Journal of Clinical Investigation*, 2018, 128, 5603-19, doi: 10.1172/JCI1121679、査読あり
3. **Johmura Y**, and Nakanishi M. Multiple facets of p53 in senescence induction and maintenance, *Cancer Science*, 2016, 107, 1550-1555, doi: 10.1111/cas.13060、査読あり
4. **Johmura Y**, Sun J, Kitagawa K, Nakanishi K, Kuno T, Naiki-Ito A, Sawada Y, Miyamoto Y, Okabe A, Aburatani H, Li S, Miyoshi I, Takahashi S, Kitagawa M, and Nakanishi M. SCF^{Fbxo22}-KDM4A targets methylated p53 for degradation and regulates senescence, *Nature commun.*, 2016, doi: 10.1038/ncomms12059、査読あり
5. **Johmura Y**, Yamashita E, Shimada M, Nakanishi, K., and Nakanishi M. Defective DNA repair increases susceptibility to senescence through extension of Chk1-mediated G2 checkpoint activation, *Scientific reports*, 2016, doi: 10.1038/srep31194、査読あり
6. Shimada M, Goshima T, Matsuo H, **Johmura Y**, Murata K, Tanaka H, Ikawa M, Nakanishi K, and Nakanishi M. Essential role of auto-activation circuitry on Aurora B-mediated H2AX-pS121 in mitosis, *Nature commun.*, 2016, 査読あり, doi: 10.1038/ncomms12059.

[学会発表](計 4 件)

〔図書〕(計 4 件)

1. **城村由和**、大森徳貴、中西真. 細胞老化維持機構と創薬、**実験医学**、2019年7月号
2. **城村由和**、中西真. DNA 損傷応答と細胞老化、個体老化. **アンチ・エイジング医学**、14(5). 664-671.2018
3. **城村由和**、中西真. 予想外な p53 の細胞老化における機能、**実験医学**、2017年9月号
4. **Johmura Y** and Nakanishi M. Molecular insights into the regulation of apoptosis and cellular senescence, and the implications in cancer. **DNA replication, Recombination and Repair: Molecular Mechanisms and Pathology** (2016).

〔産業財産権〕

出願状況(計 2 件)

名称：個体から老化細胞を除去する方法、および老化細胞の調製方法

発明者：中西真/城村由和

権利者：国立大学法人東京大学

種類：特願

番号：2018-210300

出願年：2018年

国内外の別：国内

名称：がんの予後判定方法

発明者：中西真/城村由和/太田智彦

権利者：国立大学法人東京大学

種類：特願

番号：2018-177864

出願年：2018年

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/cancer-cell-biology/hp2018/01index.html>

6. 研究組織

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。