

令和 6 年 4 月 18 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19283

研究課題名（和文）老化にともなう染色体不安定性への酸化ストレスの影響の解明

研究課題名（英文）Role of oxidative stress in chromosomal instability with age

研究代表者

田中 耕三（Tanaka, Kozo）

東北大学・加齢医学研究所・教授

研究者番号：00304452

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：我々は、老齢マウスの皮膚線維芽細胞が染色体不安定性を示し、酸化ストレスがその一因であることを見出した。そこで本研究では、老化にともなう染色体不安定性に対する酸化ストレスの影響を明らかにすることを目指した。その結果、この酸化ストレスが、ミトコンドリア機能の低下にともなうROSの増加に起因すること、酸化ストレスにより複製ストレスが引き起こされることを見出した。また複製ストレスの軽減が染色体不安定性の改善につながることで、微小管の過度の安定化が染色体不安定性の原因であることも判明し、老齢マウスの細胞において酸化ストレスが染色体不安定性をひきおこす一連の過程が明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

酸化ストレスと老化の関連はフリーラジカル説として提唱されていたが、本研究はこの古くからある仮説を、老化にともなう染色体不安定性と結びつけた点に意義がある。また老齢マウスから線維芽細胞を単離し、低酸素条件下のライブセルイメージングにより染色体分配を観察する手法も独自性が高い。本研究は、染色体不安定性を老化の指標の1つとして確立し、抗酸化力を高めることによりこれを改善する方策の開発につながる可能性がある。染色体不安定性から生じる染色体異数性や微小核は、遺伝子発現の異常や炎症性サイトカインの分泌などを通じてがんなど様々な病態につながる可能性があり、本研究がそれらの理解や制御に資することが期待される。

研究成果の概要（英文）：We have found that skin fibroblasts from old mice exhibit chromosomal instability, which is partly due to oxidative stress. In the present study, we aimed to clarify the effect of oxidative stress on age-related chromosomal instability. We found that oxidative stress is caused by an increase in ROS production associated with mitochondrial functional decline and that oxidative stress induces replication stress. It was also found that reducing replication stress ameliorates chromosomal instability and that excessive microtubule stabilization is the cause of chromosomal instability. Overall, we clarified the sequence of events by which oxidative stress induces chromosomal instability in old mouse cells.

研究分野：細胞生物学

キーワード：癌 細胞・組織 染色体

1. 研究開始当初の背景

我々は、老齢マウス (24ヶ月齢~) から単離した皮膚線維芽細胞で、多くのがんで認められる染色体不安定性 (染色体分配異常が高頻度で見られる状態) が見られるかを検討し、微小核や lagging chromosome などの染色体不安定性の指標の出現頻度が、若齢マウス (~2ヶ月齢) と比較して増加していることを見出した (図1)。線維芽細胞の初代培養は組織中の環境に近い 3%酸素下で行うが、大気中の 20%酸素下で細胞分裂を観察したところ、3%酸素下よりも染色体分配異常の増加が見られた。そこで、染色体不安定性に対する酸化ストレスの影響を考え、細胞内の活性酸素種 (ROS) を検出したところ、老齢マウスの細胞で酸素濃度の上昇の影響がより顕著だっただけでなく、3%酸素下でも ROS の増加が見られた (図2)。抗酸化剤 (NAC) を加えて微小核の出現頻度を観察したところ、20%酸素下で減少しただけでなく、老齢マウスでは 3%酸素下でも減少が見られたことから、老齢マウスの細胞では酸化ストレスが増加しており、これが染色体不安定性に関与していることが示唆された。

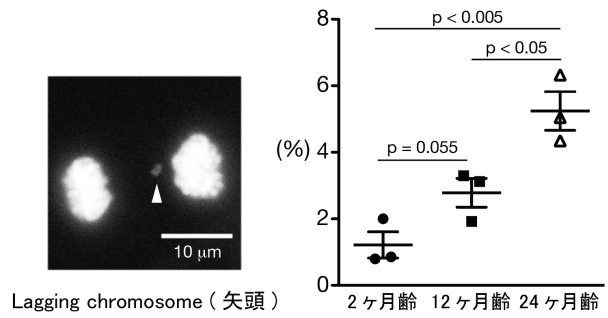


図1 老齢マウス細胞での lagging chromosome の増加

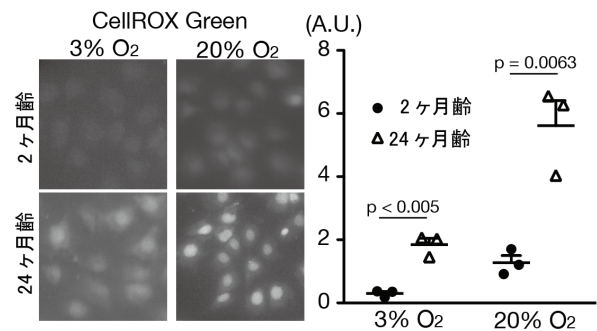


図2 加齢および酸素濃度による ROS の増加

2. 研究の目的

本研究では、老化にともなう酸化ストレスの増加の原因、およびこれによる染色体不安定性の発生機構を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 老化にともなう酸化ストレスの増加の原因の解明

若齢マウスと老齢マウスより単離した皮膚線維芽細胞のミトコンドリア機能について、ミトコンドリアの膜電位の蛍光プローブである JC-10 により検討した。

(2) 酸化ストレスによる染色体不安定性の発生機構の解析

酸化ストレスが複製ストレスをひきおこすこと、複製ストレスが染色体不安定性をひきおこすことが知られている。そこで老齢マウスより単離した線維芽細胞において、複製ストレスが見られるかどうかを検討した。そして、これが酸化ストレスに起因するかどうかを調べた。

(3) 複製ストレスと染色体不安定性の関連の解明

老齢マウスより単離した線維芽細胞において、複製ストレスの軽減が染色体不安定性の改善につながるかを調べた。この目的のために細胞に nucleoside を加え、53BP1 nuclear body の頻度や微小核の頻度を検討した。また複製ストレスがどのように染色体不安定性を引き起こすかについて、染色体不安定性の原因として知られている紡錘体チェックポイントの異常や微小管の過度の安定化などが見られるかどうかを検討した。

(4) 染色体不安定性による異数性の発生の検討

老齢マウスより単離した線維芽細胞において、染色体不安定性が異数性 (染色体数の異常) を引き起こすかどうかを chromosome spread を行なって染色体数を数えることによって検討した。また chromosome break などの染色体の構造の異常が見られるかについても明らかにした。

4. 研究成果

(1) 老化にともなう酸化ストレスの増加の原因の解明

若齢マウスと老齢マウスより単離した皮膚線維芽細胞のミトコンドリア機能について、ミトコンドリアの膜電位の蛍光プローブである JC-10 により検討したところ、老齢マウス由来の細胞で

はミトコンドリアの膜電位が低下しており (図3)、ミトコンドリア機能の低下がROSの増加を引き起こしている可能性が示唆された。

(2) 酸化ストレスによる染色体不安定性の発生機構の解析

老齢マウスより単離した細胞では、複製ストレスの指標である間期核における53BP1 nuclear bodyや、染色体分配時のultrafine bridgeが認められたことから、複製ストレスが生じている可能性が示唆された (図4)。そこで、酸化ストレスと複製ストレスの関連を調べるために、抗酸化剤であるNACを加えたところ、老齢マウスより単離した細胞において53BP1 nuclear bodyとultrafine bridgeを有する細胞が減少することがわかった (図5)。このことより、老齢マウスより単離した細胞では、酸化ストレスにより複製ストレスが引き起こされている可能性が示唆された。

(3) 複製ストレスと染色体不安定性の関連の解明

老齢マウスより単離した線維芽細胞において、複製ストレスの軽減が染色体不安定性の改善につながるかを、細胞にnucleosideを加え、53BP1 nuclear bodyの頻度や微小核の頻度を検討することで調べた。その結果、53BP1 nuclear body、微小核の頻度共に減少したことから、複製ストレスの軽減が染色体不安定性の改善につながることをわかった (図6)。また複製ストレスがどのように染色体不安定性を引き起こすかについて、染色体不安定性の原因として知られている微小管の過度の安定化が見られるかを検討した。その結果、老齢マウスの細胞では、低温処理でも残存する安定した微小管が増加しており、微小管の過度の安定化が染色体不安定性の原因であることが示唆された (図7)。

(4) 染色体不安定性による異数性の発生の検討
老齢マウスより単離した線維芽細胞において、染色体不安定性が異数性 (染色体数の異常) を引き起こすかどうかをchromosome spreadを行なって染色体数を数えることによって検討した。その結果、老齢マウスの細胞では、異数性を示す細胞が増加していることがわかった (図8)。またchromosome breakなどの染色体の構造の異常が見られるかについても検討し、老齢マウスの細胞では染色体の構造の異常を示す細胞が増加していることが判明した。

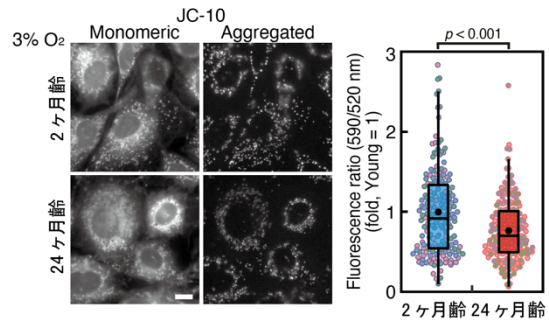


図3 加齢にともなうミトコンドリアの膜電位の低下

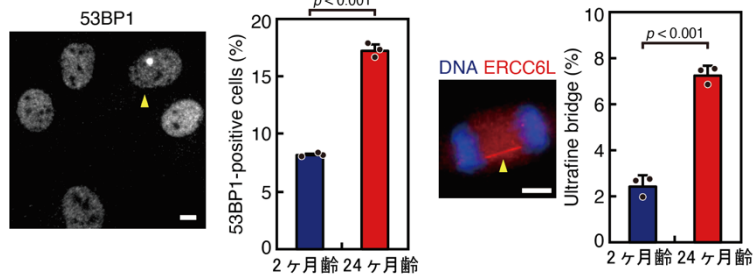


図4 加齢にともなう 53BP1 nuclear body と ultrafine bridge の増加

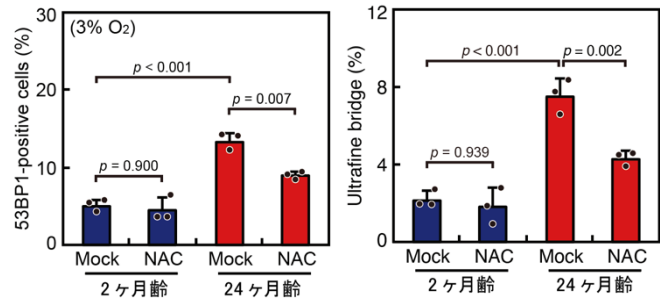


図5 抗酸化剤による 53BP1 nuclear body と ultrafine bridge の減少

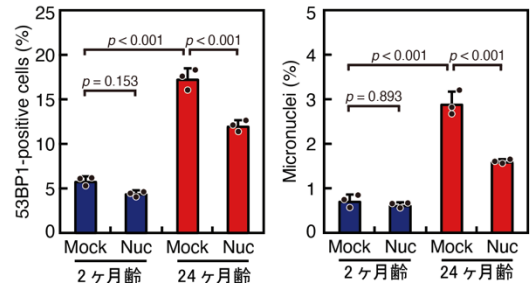


図6 Nucleoside による 53BP1 nuclear body と微小核の減少

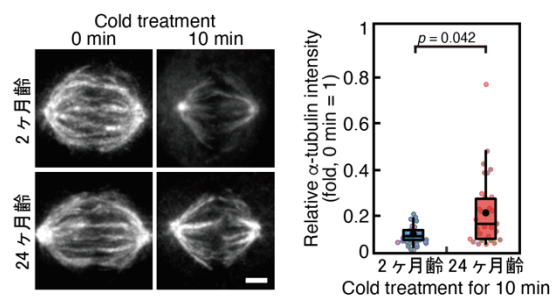


図7 加齢にともなう微小管の安定化

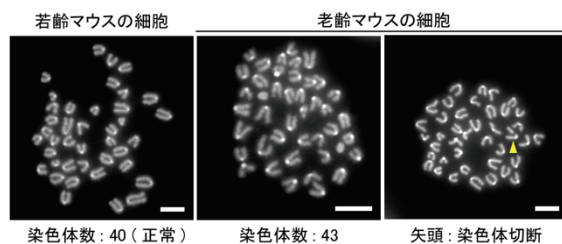


図8 加齢にともなう染色体の数と構造の異常

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Qian Jianghao, Zhou Xiangyu, Tanaka Kozo, Takahashi Akiko	4. 巻 131
2. 論文標題 Alteration in the chromatin landscape during the DNA damage response: Continuous rotation of the gear driving cellular senescence and aging	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 DNA Repair	6. 最初と最後の頁 103572 ~ 103572
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.dnarep.2023.103572	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 Chen Guan, Li Zhenhua, Iemura Kenji, Tanaka Kozo	4. 巻 136
2. 論文標題 Oxidative stress induces chromosomal instability through replication stress in fibroblasts from aged mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Cell Science	6. 最初と最後の頁 1 ~ 15
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1242/jcs.260688	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 Iemura Kenji, Anzawa Hayato, Funayama Ryo, Iwakami Runa, Nakayama Keiko, Kinoshita Kengo, Tanaka Kozo	4. 巻 113
2. 論文標題 High levels of chromosomal instability facilitate the tumor growth and sphere formation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2727 ~ 2737
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.15457	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 家村 顕自、田中 耕三	4. 巻 94
2. 論文標題 染色体分配における染色体オシレーションの役割	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 433 ~ 437
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.14952/SEIKAGAKU.2022.940433	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計26件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 7件）

1. 発表者名 國安絹枝, 石川裕大, 田中耕三
2. 発表標題 分裂期における任意の染色体の動態観察システムの構築と解析
3. 学会等名 第74回日本細胞生物学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kenji Iemura, Kozo Tanaka
2. 発表標題 Survival strategies of cancer cells against chromosomal instability
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kozo Tanaka
2. 発表標題 Chromosomal instability in cancer and aging
3. 学会等名 Karolinska Institute-Tohoku University Meeting June 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kozo Tanaka
2. 発表標題 Mechanisms of tumorigenesis through defects in chromosome segregation
3. 学会等名 第50回日本毒性学会学術年会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 家村顕自, 田中耕三
2. 発表標題 がん細胞の液性因子を介した染色体不安定性誘導機構の解明
3. 学会等名 第75回日本細胞生物学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 田中耕三
2. 発表標題 加齢にともなう染色体不安定性の発生機構
3. 学会等名 第2回細胞分裂研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 家村顕自, 田中耕三
2. 発表標題 がん細胞液性因子を介した染色体不安定性の誘導機構
3. 学会等名 第2回細胞分裂研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 國安絹枝, 田中耕三
2. 発表標題 生細胞での任意の染色体動態観察システムの構築
3. 学会等名 第2回 細胞分裂研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kozo Tanaka
2. 発表標題 Chromosomal instability caused by reduced kinetochore phosphorylation in metaphase
3. 学会等名 Cell Dynamics and Chromosomal Stability Workshop (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kenji Iemura, Kozo Tanaka
2. 発表標題 Mechanisms of CIN induction via cancer extracellular factors
3. 学会等名 第82回日本癌学会学術総会 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 家村顕自, 田中耕三
2. 発表標題 異数性細胞の解析からみえてきた新しい染色体分配制御機構
3. 学会等名 第1回倍数性研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 陳冠, 李振華, 家村顕自, 田中耕三
2. 発表標題 マウスの線維芽細胞では酸化ストレスが複製ストレスを介して加齢に伴う染色体不安定性を誘発する
3. 学会等名 第96回日本生化学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 田中耕三
2. 発表標題 Overview, がん細胞における染色体分配制御機構の破綻
3. 学会等名 日本肉腫学会第8回年次集会（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 國安絹枝, 田中耕三
2. 発表標題 任意の染色体ラベリングを用いた分裂期での染色体観察システムの構築と解析
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 石川裕大
2. 発表標題 乳がん細胞におけるFibrous coronaの減弱とその染色体分配に与える影響
3. 学会等名 第41回染色体ワークショップ・第22回核ダイナミクス研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kozo Tanaka
2. 発表標題 Chromosomal instability caused by alterations in chromosome dynamics
3. 学会等名 Cell Dynamics And Chromosomal Stability Workshop (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 陳冠, 家村顕自, 田中耕三
2. 発表標題 加齢に伴って蓄積する酸化ストレスの染色体不安定性への影響の解明
3. 学会等名 第74回日本細胞生物学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田中耕三
2. 発表標題 がん細胞での染色体不安定性の原因としての染色体オシレーションの減弱
3. 学会等名 JSA open symposium 2022 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田中耕三
2. 発表標題 がんにおける染色体不安定性の原因とその影響
3. 学会等名 第327回がんセンターセミナー (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 家村顕自、田中耕三
2. 発表標題 細胞外液性因子を介した染色体不安定性の誘導機構
3. 学会等名 第1回 細胞分裂研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 家村顕自、田中耕三
2. 発表標題 Survival strategies of cancer cells against chromosomal instability
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田中耕三
2. 発表標題 Chromosomal instability induced by chromosome dynamics in cancer cells
3. 学会等名 The 17th International Symposium of the Institute Network for Biomedical Sciences (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 家村顕自、田中耕三
2. 発表標題 がん細胞液性因子は染色体不安定性を惹起する
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 陳冠, 家村顕自, 田中耕三
2. 発表標題 加齢に伴って蓄積する酸化ストレスがの染色体不安定性を誘発する
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤杏美, 家村顕白, 田中耕三
2. 発表標題 KIF18Aの紡錘体形成と染色体オシレーションに関する機能の関連
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 家村顕白, 田中耕三
2. 発表標題 異数性がん細胞液性因子による染色体不安定性の誘導機構
3. 学会等名 第40回染色体ワークショップ第21回核ダイナミクス研究会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

東北大学加齢医学研究所 http://www.idac.tohoku.ac.jp/site_ja/ 東北大学加齢医学研究所分子腫瘍学研究分野 http://www2.idac.tohoku.ac.jp/dep/molonc/index.html

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
---------	---------