

研究題目 加齢性疾患を引き起こす老化細胞特異的な 3D ゲノム構造形成機構の解明

研究組織

研究代表者：野間 健一（北海道大学 遺伝子病制御研究所）

研究分担者：太田 信哉（北海道大学 遺伝子病制御研究所）

研究分担者：谷澤 英樹（北海道大学 遺伝子病制御研究所）

【1】研究の概要

[1-1]本研究の目的・概要

細胞老化は、テロメア短小化、DNA 損傷、がん遺伝子(発がん性 Ras 等)の過剰発現や、がん化学療法などによる様々な細胞ストレスによって引き起こされる非常に安定した細胞周期停止状態として定義される。この細胞老化現象は、細胞の異常な増殖を防ぐことを通じて、極めて重要ながん抑制メカニズムとして機能している。従って、細胞老化に主要な役割を担う p53 や Rb などコードする遺伝子の多くは、がん抑制遺伝子として認識されている。いったん細胞老化が誘導されると、p53 標的遺伝子や老化関連分泌表現型 (Senescence-Associated Secretory Phenotype; SASP) 因子をコードする遺伝子 (SASP 遺伝子) などのゲノム上に分布する多くの遺伝子の転写が活性化される。これらの細胞老化に関与する遺伝子を、ここでは総称して老化遺伝子と呼ぶ。老化細胞では、ゲノムに広く分布する老化遺伝子の活性化に加えて、ゲノム上に散在するヘテロクマチン領域の凝集やセントロメア近傍のサテライト DNA 領域の膨張など、ゲノムの 3 次元構造(3D ゲノム構造)の再編成が起こることが知られている。しかし現時点では、老化細胞に形成される 3D ゲノム構造の詳細やその形成機構、および老化細胞に特異的なゲノム構造と老化遺伝子活性化の関連性は、殆ど解明されていない。

申請者は、2007 年の独立以来、独自のゲノミクス法や、他のグループが開発した手法を改良した手法を用いて 3D ゲノム構造を解析してきた (Tanizawa et al. *Nucleic Acids Res* 2010; Kim et al. *Nature Genetics* 2016; Tanizawa et al. *Nature Struct & Mol Biol* 2017)。その 15 年以上にわたる研究を通して、大小サイズの異なるさまざまなクロマチンドメイン構造体が多重構造を形成しており、染色体動態、転写制御、DNA 修復などの生命現象に関与していることを明らか

にしてきた (Tanaka et al. *Molecular Cell* 2012; Iwasaki et al. *Molecular Cell* 2015)。加えて最近では、分裂期の染色体凝縮に必須であるコンデンシンによる 3D ゲノム構造の形成と遺伝子の転写制御に焦点を当てて研究を進めており、本研究では、その分子機構の解明に取り組んだ。

[1-2]研究の方法・経過

前年度までに、同調した癌遺伝子誘発性細胞老化 (Oncogene Induced Senescence, OIS) を誘導可能な胎児肺由来の細胞株 (IMR-90) を作成した。この細胞を用い、OIS 誘導前後の細胞核を精製し、核内に含まれるタンパク質を網羅的に定量した。その際、安定同位体を用いる Stable Isotope Labeling using Amino acids in Cell culture (SILAC) 技術を用いた核内タンパク質変化の定量的解析法と、断片化ペプチドを強陽イオン交換固相 (SCX) と HPLC を組み合わせて分離し、質量分析を行うことで 2746 種類のタンパク質の変化を解析できる手法を確立した。

本年はこれらの手法を用いて、OIS とは異なる複製老化 (Replicative Senescence, RS) における核内のタンパク質変化を定量的に決定し、OIS と RS におけるゲノム構造への影響の共通点と相違点を検証した。加えて、OIS と RS の細胞から RNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いた 3'-mRNA-seq 解析により、遺伝子発現の網羅的な定量解析を行なった。これにより、転写量と核内のタンパク質量の相関について検証することが可能となった。

【2】研究成果

[2-1]本共同研究で明らかになった研究成果

SILAC 技術を用いることで、若齢細胞と RS 細胞、あるいは若齢細胞と OIS 細胞の核内タンパク質組成変化を定量的に測定することができた。顕著な変化をするタンパク質について、統計学的な解析を行うことで、ヒストンバリエントの macro H2.A に代表される OIS と RS のどちらに

においても核内で増加するタンパク質群を特定することができた(図1)。一方で、コアヒストンを含む一部のタンパク質群は、OISとRSで異なる変化を示した(図1)。これらの観察結果は、OISとRSに共通した核内構造を形成するメカニズムと、それぞれの細胞老化タイプに特有なメカニズムが存在することを示唆している。これらの違いは、各老化過程が示す表現型や後述する遺伝子発現の違いを反映しているものと考えられる。

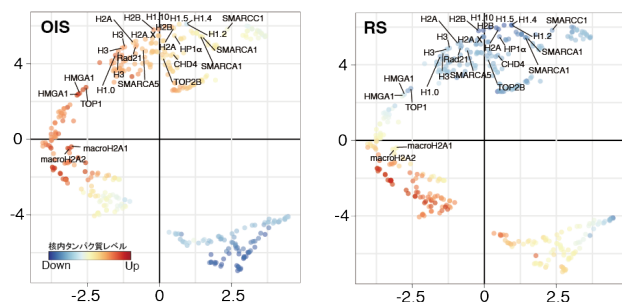


図1. OISとRSに伴う核内におけるタンパク質の組成変化 OISあるいはRSにおいて有意に変化するタンパク質について、UMAPアルゴリズムを用いたクラスター解析を行なった。

上記の実施と同時に、OIS細胞とRS細胞から全RNAを単離し、3'-mRNA-seqで、それぞれの老化に伴う全遺伝子の発現変化を定量的に分析した。その結果、SASP遺伝子の発現上昇とともに、それぞれの老化細胞で特徴的な発現変化を掴むことができた。具体的には、この結果を統計学的に解析することで、複製老化に伴い増加する転写因子群とOISに伴い減少する転写因子など、細胞老化の表現型の違いに関わる可能性を示す特徴的な遺伝子発現変化を見出した(図2)。

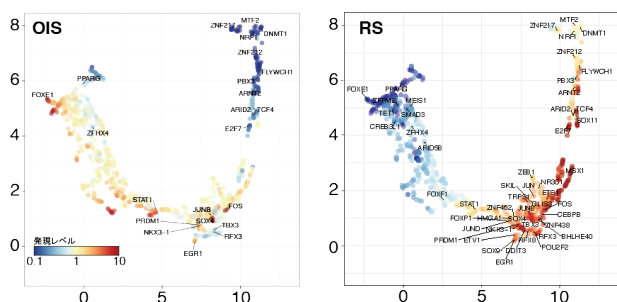


図2. OISとRSに伴う遺伝子発現変化 OISあるいはRSにおいて、その発現が有意に変化する遺伝子について、UMAPアルゴリズムを用いたクラスター解析を行なった。ここでは、転写因子のみ遺伝子名を示してある。

[2-2] 本共同研究による波及効果及び今後の発展性

本研究は、プロテオミクスとゲノミクスという二つの学術分野の融合を実現しており、国内外を問わず例を見ない独創的な取り組みである。

また、3Dゲノムは、生物学の比較的新しい研究分野であるが、国内のこの分野における研究は残念ながら国際的に遅れをとっているのが実状である。今後は、3Dゲノム分野とプロテオミクスを融合させた新しい研究分野を確立し、この次世代の研究分野において先駆的な役割を担い、我が国の科学技術の進展へ貢献を目指す。

【3】 主な発表論文等

[3-1] 論文発表

1. Xuebing Wang, Claire Yik-Lok Chung, Ai Yoshioka, Shinya Hashimoto, Haruki Jimbo, Hideki Tanizawa, Shinya Ohta, Takeshi Fukumoto, Ken-ichi Noma, 2023, Chemo-senolytic therapeutic potential against angiosarcoma. Journal of Investigative Dermatology. In Press, Available online 2 April 2024, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jid.2024.03.026>
2. Tang M, Pobegalov G, Tanizawa H, Chen ZA, Rappsilber J, Molodtsov M, Noma KI, Uhlmann F. Establishment of dsDNA-dsDNA interactions by the condensin complex. Mol Cell. 2023 Nov 2;83(21):3787-3800.e9. doi: [10.1016/j.molcel.2023.09.019](https://doi.org/10.1016/j.molcel.2023.09.019). Epub 2023 Oct 10. PubMed PMID: 37820734; PubMed Central PMCID: PMC10842940.
3. Wang X, Fukumoto T, Noma KI. Therapeutic strategies targeting cellular senescence for cancer and other diseases. J Biochem. 2024 Feb 15;. doi: [10.1093/jb/mvae015](https://doi.org/10.1093/jb/mvae015). [Epub ahead of print] PubMed PMID: 38366629.

[3-2] 学会発表

1. 太田 信哉、「細胞老化に伴うゲノム構造の再編成メカニズムをプロテオミクスで明らかにする」(口頭発表)、日本プロテオーム学会 2023年大会、2023年7月26日開催
2. 野間 健一、「分裂酵母とヒト老化細胞の3Dゲノム構造とその生物学的役割」(口頭発表)、北海道大学・生理学研究所ジョイントシンポジウム(リエゾンラボ炎症シンポジウム)、2023年9月5日開催
3. 谷澤 英樹、「Three-dimensional genomic organization in senescent cells」(口頭発表)、第18回生命医学研究所ネットワーク国際シンポジウム、2023年10月5日開催
4. 野間 健一、「3D Genome Organization in Fission Yeast」(口頭発表) Yeast and Life Sciences in Cold Spring Harbor Asia conference、2023年10月10日開催

5. 太田 信哉、「細胞老化に伴うトランスクリプトームと核内プロテオームの変化」(ポスター発表) 第9回北大・部局横断シンポジウム、2023年10月11日開催

[3-3]成果資料等

なし

【4】今後の課題等

本共同研究により、OIS と RS という異なるタイプの細胞老化に伴って変化する核内のタンパク質を同定した。次のステップとして、これらの核内のタンパク質変化と遺伝子の発現変化の相関を詳細に解析する。また、本年度決定したタンパク質の量的な変化だけでなく、翻訳後修飾といったタンパク質の質的な変化も追跡していくことを試みる。同時に、その変化が細胞老化の表現型にどのように関与するのかを検証していく。