

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）

共同研究者：小迫 英尊（徳島大学先端酵素学研究所）

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。

本研究では、独自に開発してきたクロマチンプロテオミクスで、細胞老化に伴い核内で特異的に変化するタンパク質を明らかにした。これらのタンパク質は、核内のゲノム構造を老化細胞特異的過剰発現に適した状態へと再編させるのに必要な候補タンパク質である。したがって、実際に細胞老化に伴う SASP 遺伝子の過剰発現のメカニズムを担うタンパク質をこの中から特定し、そのメカニズムを解明することが

可能となり、解明した細胞老化に伴うクロマチンの変化のメカニズムから加齢性疾患の発症機序の一端を明らかにすることが期待される。

[1-2]研究の方法・経過

これまでに、複製老化(Replicative Senescence, RS)に進行した胎児肺由来細胞 (IMR-90)から、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網羅的に細胞老化に伴うクロマチン変化を解析できる手法を確立した。さらに、同調した癌遺伝子誘発性細胞老化(Oncogene Induced Senescence, OIS)を誘導可能な細胞を作成し、この細胞を用い、OIS 誘導前後の細胞核を精製し、同様の手法を用いて、RS とは異なる老化細胞核のタンパク質変化を定量的に決定し、RS と OIS 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、RS と OIS 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、遺伝子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。

さらに、本年度はチタニアを利用したリン酸化ペプチド濃縮(HAMMOC 法)を組み合わせることで、細胞老化に伴う核内タンパク質のリン酸化修飾の変化を定量的に解析した。

【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 技術を用いて、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した。さらに、これらの細胞から全 RNA を単離し、3'-mRNA-seq

を実施することで、細胞老化に伴う全遺伝子の発現変化を網羅的に解析した。

その結果、多くの遺伝子では、細胞老化に伴う核内タンパク質量の変化が遺伝子発現量の変化と相関していた。一方で、一部の遺伝子においては、発現量に変化がないにもかかわらず、対応するタンパク質の核内蓄積量が増加する群が存在することが明らかとなった(図)。このタンパク質群は、細胞老化に伴い特異的に核内へ輸送・保持されている可能性が高い。さらに、この群には、細胞老化に伴うゲノム構造の再編に関与することが知られているタンパク質が含まれており、それらの核内蓄積がゲノムの再編成や遺伝子発現変化に寄与している可能性が示唆された。

また、上記のタンパク質群は、細胞老化に伴い選択的に核内へ輸送・蓄積される可能性があり、その過程には翻訳後修飾に関与していると考えられる。そこで、上記の定量的プロテオミクス法にリン酸化ペプチド濃縮法 (HAMMOC) を組み合わせ、細胞老化に伴う核内タンパク質のリン酸化修飾の変化を定量的に解析した。本年度の解析では、上記のタンパク質群に特異的なリン酸化修飾は同定されなかったものの、それとは異なるタンパク質群において、細胞老化に伴い顕著にリン酸化されることが明らかとなった。

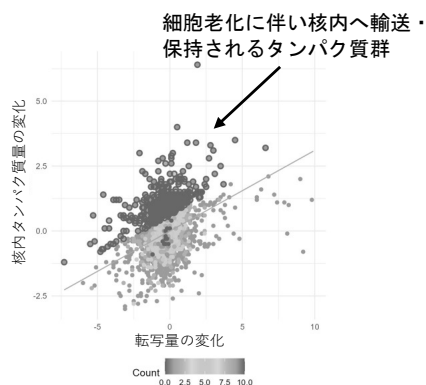


図 プロテオミクスとRNA-seq解析から、細胞老化に伴い特異的に核内蓄積量が増加するタンパク質群を見出した。

[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、国内外でも類を見ない独創的な取り組みである。また、3D ゲノムは生物学における比較的新しい研究領域であり、本分野の国内研究は国際的な展開と比較して発展の余地を残している。今後は、3D ゲノム研究とプロテオミクスを融合させた新たな研究領域を確立し、この次世代分野において先駆的な役割を果たすことで、我が国

の科学技術の発展に貢献することを目指す。

【3】 主な発表論文等

[3-1] 論文発表

- Wang X, Yik-Lok Chung C, Yoshioka A, Hashimoto S, Jimbo H, Tanizawa H, Ohta S, Fukumoto T, Noma KI. Chemo-Senolytic Therapeutic Potential against Angiosarcoma. **J Invest Dermatol.** 144(10):2285-2297. e13, 2024.
- Wang C, Tanizawa H, Hill C, Havas A, Zhang Q, Liao L, Hao X, Lei X, Wang L, Nie H, Qi Y, Tian B, Gardini A, Kossenkova AV, Goldman A, Berger SL, Noma KI, Adams PD, Zhang R. METTL3-mediated chromatin contacts promote stress granule phase separation through metabolic reprogramming during senescence. **Nature Communications.** 15(1):5410, 2024.
- Mumford CC, Tanizawa H, Wiles ET, McNaught KJ, Jamieson K, Tsukamoto K, Selker EU. The RPD3L deacetylation complex is required for facultative heterochromatin repression in *Neurospora crassa*. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 121(32):e2404770121, 2024.
- Ohta S, Ohzeki JI, Sato N, Tanizawa H, Yik-Lok Chung C, Noma KI, Masumoto H. Novel role of zinc-finger protein 518 in heterochromatin formation on α -satellite DNA, **Nucleic Acids Research.** 53(2): gkae1162, 2025.
- Dharmadhikari AV *et al.*, RNA methyltransferase SPOUT1/CENP-32 links mitotic spindle organization with the neurodevelopmental disorder SpADMISS. **Nature Communications.** 16(1):1703, 2025.

[3-2] 学会発表

- 太田 信哉、谷澤 英樹、王 雪冰、鍾 奕洛、小迫 英尊、野間 健一、細胞老化における核内タンパク質動態の解説、日本プロテオーム学会 2024 年大会・第 20 回日本臨床プロテオゲノミクス学会 合同大会、青森、2024 年 6 月
- 太田 信哉、谷澤 英樹、鍾 奕洛、小迫 英尊、野間 健一、細胞老化に伴う核内構造変化を制御するタンパク質を明らかにする、第 47 回 日本分子生物学会年会、福岡、2024 年 11 月。

[3-3] 成果資料等

なし

【4】 今後の課題等

今後の課題、その他等

本年決定した細胞老化に伴い能動的に核内へ蓄積されるタンパク質や、付加されるタンパク質のリン酸化修飾が、それぞれ細胞老化で担う機能について検証を進めていく必要がある。