

細胞老化誘導による抗腫瘍化機構の解明

名古屋市立大学大学院

医学研究科 助教 城村 由和

申請者は、細胞老化誘導の分子機構を解明するために、レンチウイルスベクターを用いて、ヒト正常線維芽細胞に Fucci システムを導入した。この樹立した細胞を用いて、細胞老化の引き金になっている老化初期過程における細胞周期の動的変化を観測するために、ライブセルイメージングを行った。その結果、DNA 損傷や酸化ストレス、さらにはがん遺伝子 Ras によって誘導された細胞老化初期過程において、多くのヒト正常線維芽細胞は DNA 複製を完了した後、G2 期にて停止することがわかった。驚くべきことに、一時的な G2 期における停止の後、これらの細胞は、通常行われるべき細胞分裂を行うことなく G1 期に進行する、いわゆる分裂回避を生じて、4 倍体細胞となり、不可逆的な細胞周期の停止を引き起こすことを見出した。さらに、RNAi 法とレンチウイルスベクターを利用して、主要ながん抑制遺伝子として知られる p53 の発現抑制細胞を樹立して、同様の検討を行った結果、分裂回避は起こらず、通常の細胞同様、細胞分裂を行い、細胞老化の誘導も起こらなかった。これらの検討結果は、様々な老化誘導刺激によって活性化された p53 が分裂回避を誘導することによって、細胞老化を正に制御する可能性を示唆したものである。

昨年度の研究において以下に示す 2 点について検討を行った。

- 1) がん抑制遺伝子 p53 による分裂回避および細胞老化の制御機構の解析
- 2) がん抑制遺伝子 Rb ファミリーが分裂回避および細胞老化に及ぼす影響の解析

1) これまでの検討により、p53 が細胞老化初期における分裂回避を制御することを明らかにしている。そこで、p53 の主要な転写産物である p21 に着目して、さらなる解析を進めた。p21 の発現を抑制したヒト正常線維芽細胞を樹立して、Fucci システムによるライブ

セルイメージング解析を行った。その結果、p53 発現抑制細胞のときと同様に、細胞老化誘導初期におこる分裂回避は起こらなかった。しかしながら、p21 発現抑制細胞では、細胞分裂期に移行するものの、細胞質分裂がうまく完了できずに、結果として、2核の4倍体細胞となり、細胞老化を引き起こすことが分かった。また、p21 は細胞周期の主要な制御因子 CDKs (cyclin-dependent kinases)の阻害因子であることから、細胞分裂期への移行に重要である CDK1 および CDK2 の特異的な阻害剤の長期投与によって、分裂回避および細胞老化が誘導されるかを検討した。その結果、両阻害剤の処理は、分裂回避および細胞老化を誘導できないことが明らかになった。以上の検討結果より、p53 による分裂回避および細胞老化の誘導には、その主要な標的因子である p21 に加えて、未知の p53 標的因子が関与することが示唆された。

2) p53 と共に主要ながん抑制遺伝子として、Rb、p107、p130 から構成される Rb ファミリーが知られている。申請者は、個々の Rb ファミリー遺伝子および3 遺伝子すべての発現を抑制したヒト正常線維芽細胞を樹立して、Rb ファミリーが分裂回避および細胞老化に及ぼす影響を解析した。その結果、Rb、p107、p130 単独の発現抑制細胞では、コントロール細胞と同様に、分裂回避および細胞老化が誘導されることが分かった。興味深いことに、これら3 遺伝子すべての発現を抑制した細胞では、分裂回避は誘導されるものの、再び DNA 複製を行うことによって、多倍体細胞になり、結果として、細胞老化ではなく、細胞死が誘導されることを見出した。この結果は、Rb ファミリーが協調して、細胞老化の維持に関与することを示唆したものである。

以上、昨年度の研究により、主要ながん遺伝子として知られている p53 および Rb ファミリーは、それぞれ分裂回避による細胞老化の誘導、その後の細胞老化形質の維持を制御することによって、抗腫瘍化に関与することが明らかとなった。

実績報告書