

新規細胞老化促進マウスを用いた細胞老化の抗腫瘍化における役割の解明

名古屋市立大学大学院

医学研究科 助教 城村 由和

近年、細胞老化が最も重要ながん防御メカニズムであると認識されており、早期細胞老化を誘導することによって、がんを治療するという方法が模索されている。しかし、実際の生体内において細胞老化の促進が抗腫瘍化に有効であるか否かについてははっきりとした結論に至っていない。申請者はこれまでに正常ヒト線維芽細胞を用いて細胞老化誘導機構について解析を行った結果、細胞老化誘導には細胞周期 G2 期におけるがん抑制遺伝子 p53 の活性化による分裂回避が必要かつ十分であることを見出した。さらに、DNA 損傷応答制御因子 Claspin の非分解型変異体の過剰発現による G2 期チェックポイント延長が細胞老化を促進できることを明らかにし、非分解型 Claspin 発現マウスの樹立に成功している。本研究では、この樹立した非分解型 Claspin 発現マウスを用いて、G2 期チェックポイント延長による細胞老化の促進が細胞がん化や大腸腫瘍化学発がんに対する防御機構として働きうるかを検討することによって細胞老化の抗腫瘍化における役割の解明を試みた。

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) 非分解型 Claspin を介した細胞老化の促進が活性化型 Ras 変異によって誘導される細胞がん化に与える影響の解析
- 2) 非分解型 Claspin 発現マウスを用いたアゾキシメタン、およびデキストラン硫酸ナトリウム誘発大腸発癌修飾効果の解析

- 1) これまでに、作製した非分解型 Claspin 発現マウス由来の胎児繊維芽細胞を樹立・解析した結果、通常の細胞増殖には大きな影響が認められない一方、低レベルの DNA 損傷によ

って野生型の細胞と比較して細胞老化の誘導が促進されることを明らかにしている。また、Tet-on システムを利用することによって、正常線維芽細胞における低発現量の活性化型 Ras は高発現させた時に認められる細胞老化を誘導せず、足場非依存的な増殖などの細胞がん化の特徴を誘導することも見出している。そこで、このシステムを非分解型 Claspin 発現マウス、および野生型マウス由来胎児線維芽細胞に導入して、足場非依存的な増殖能について解析した。その結果、野生型由来の細胞では、足場非依存的な細胞増殖能の獲得が認められる一方、非分解型 Claspin 発現マウス由来の細胞では、細胞老化の顕著な誘導が認められ、足場非依存的な細胞増殖能が著しく低下していた。さらに、この時の Chk1 の活性化状態などをウエスタンブロット法により解析したところ、野生型由来の細胞と比較して、非分解型 Claspin 発現マウス由来の細胞では、Chk1 を介した G2 期チェックポイントの活性化の延長が認められることが分かった。この結果より、G2 期チェックポイント延長が細胞老化を促進することによって、細胞がん化を抑制することが示唆された。

2) 生体内における細胞老化の抗腫瘍化における役割を解明するために、非分解型 Claspin 発現マウスおよび野生型マウスに対して大腸腫瘍誘発物質であるアゾキシメタンとデキストラン硫酸ナトリウムを処理することにより、大腸化学発癌を誘発した。処理したマウスについて病理解析を行い、大腸腫瘍の発生率、腫瘍数、および腫瘍径を検討した。その結果、大腸腫瘍の発生率は両マウス群では差がなかった一方、野生型マウスに比較して、非分解型 Claspin 発現マウスにおいて、腫瘍数や形成された腫瘍の総面積が顕著に減少することが分かった。しかし、形成された腫瘍の平均腫瘍径は大きな差が認められなかった。形成された腫瘍組織では、p21 や p16 などの細胞老化の鍵分子の発現が認められないことから、老化形質を回避することで、腫瘍が形成されたことが示唆された。これらの検討結果により、G2 期チェックポイント延長による老化細胞の誘導は、大腸化学発癌モデルにおい

て、がんの発生を抑制できるものの、いったん形成されたがんの進行には大きな影響を与えないことが明らかになった。

以上、昨年度の研究により、G2期チェックポイント延長による細胞老化誘導促進は、細胞・個体レベルともに、抗腫瘍化として働くことが明らかとなった。今後、G2期チェックポイント延長を誘導するような化合物の開発が、細胞老化誘導の促進に着目した新たながん治療戦略の一つとしてなりうることが期待される。