

【随 筆】

老化研究事起こし--- 老化クロマチンに動的变化が？

三井 洋司
徳島文理大学

はじめに

大きな誤解がありそうです。老化と言えは個体のレベルでも、臓器の機能障害が多くて、人のお役に立ちそうもなく、時には老害を晒す邪魔者扱いをされていないでしょうか？でも全体を見て、優れた判断をする老賢人も居ますね。

その老害イメージは、老化細胞にも有りそうです。外觀的には、平たく広がって動きも鈍く、子孫細胞をつくれません。生体高分子にも傷害がたまり、遺伝子の発現も低くて働きが鈍くなり、その存在は臓器、器官の機能を阻害して邪魔者になっているかも知れません。

でも本当にそうなのでしょうか？老化生物の発生の由来から始めて、老化細胞のお役の立ち方まで、一緒に考えて見ましょう。老化クロマチン迄、たどり着けるでしょうか。

第8話 老化細胞に存在意義は？

進化の過程で生物に寿命が生じたのは、およそ、真核生物で有性生殖をするようになった頃だと述べました。ここで生物の寿命とは、同一遺伝子構成の細胞からなる個体が絶える事と、先に定義しましたね。だから、原核生物の細菌では多くの子孫細胞を造りますが、正確なDNA複製をすれば、同一遺伝子構成のクローンが続くわけで、細菌に寿命は無いと言えます。

真核生物になっても、単細胞生物のゾウリムシは無性的な分裂と有性の接合との両方で増えます。また、多細胞生物のヒドラも、無性的な出芽に加えて、配偶子を使った有性生殖も行います。つまり寿命をリセットする機構を獲得したのです。自然界では環境の悪化が起こりますから、遺伝子の組み換えで、それに対処する仕組みを作ったようです。そのつど新しいクローン個体の誕生です。遺伝子プールとしては、確実にすべてが次世代に受け継がれますから、問題は生じません。

むしろ問題はもう一方の古いクローン個体です。細胞の寿命から言えば、テロメラーゼや、ALT機構の獲得、進化によって、DNAのend replication問題はせっかく解決したのに関わらず、体細胞ではどうしてTERTの発現を抑制してしまい、分裂寿命に至るのでしょうか。老化細胞、即ち、老化生物出現の謎です。

個体レベルからすれば、生殖の意味で役目を果たし終えた老化生物に、余分なエネルギーを割けないと言う事でしょうか。

こうした老化細胞は死を待つだけの細胞なのでしょうか。いいえ、最近では過形成や良性腫瘍の組織内に、老化細胞が出現して来る事や、がん遺伝子を人為的に発現させると細胞は急速に老化が誘導されるところから、細

胞の老化、すなわち、不可逆的な分裂停止は、細胞のがん化を予め防ぐ為のバリアと考えられるようになりました。其れとは別に、老化細胞は分裂能力は衰えたけれどサイトカイン等の増殖や細胞遊走を刺激する因子を分泌する能力を高めた結果、傷の修復に役立っていると考えられる人もいます。

老化細胞で発現亢進するp53タンパクは、分裂を停止する働きを持ちますが、一方でプログラム細胞死を誘導する働きもあります。なのに、老化細胞は長期に生存を続けます。個体はそれを生かし続ける理由が在るのでしょうか。

老化細胞は、全体を考えてwiseな生き方を選んでいるのかも知れません。

事起こし⑦です。

そうなるとぜひとも老化細胞を特異的に除去してその結果をみたいですね。

例えば、p16とp53を同時に発現する細胞を老化細胞に見立てて、それら遺伝子プロモーターの下流にそれぞれが合体すれば、毒素(分解の早い)となる因子の遺伝子をつなぎ、老化細胞で生産させるようにtransgenic mouseを造ってみましょう。何が起こりますか、楽しみです。

第9話 リンカー Histone H1を失う老化細胞

老化細胞は、平たく大きく広がった細胞です。分裂寿命の尽きて来た頃ですから、DNA複製や増殖に関わる多数の遺伝子群や、細胞骨格、運動に関わるタンパクの遺伝子群も働いていないと思われます。そこで、一般的に遺伝子の転写が不活発になっており、クロマチンもheterochromatin化していると想像されます。

もう30年も前ですが、私達は核タンパク質を抽出後、二次元電気泳動で分離する事によって、老化で変動するタンパクを同定した事が有ります。その中で、ヒストン各分子種の割合が、微妙に違う事に気付きました。事の重要性を鑑みて、アミノ酸のCまたはHを放射性物質で標識したリジンを使って、細胞のヒストン分画への取り込みを解析したのです。その結果、ヌクレオソームのコアヒストンにあたるH2A、H2B、H3、H4は一定の比率で存在するのに対して、リンカーDNA部分に結合する筈のヒストンH1が老化細胞で喪失する事が発見されました。ECR(Mitsui et al 1980)に、その詳細を報告したところです。しかし、当時のクロマチン科学では、histoneの外れる事は、転写活性が高まるだろうとの認識にあって、深い考察は出来ませんでした。

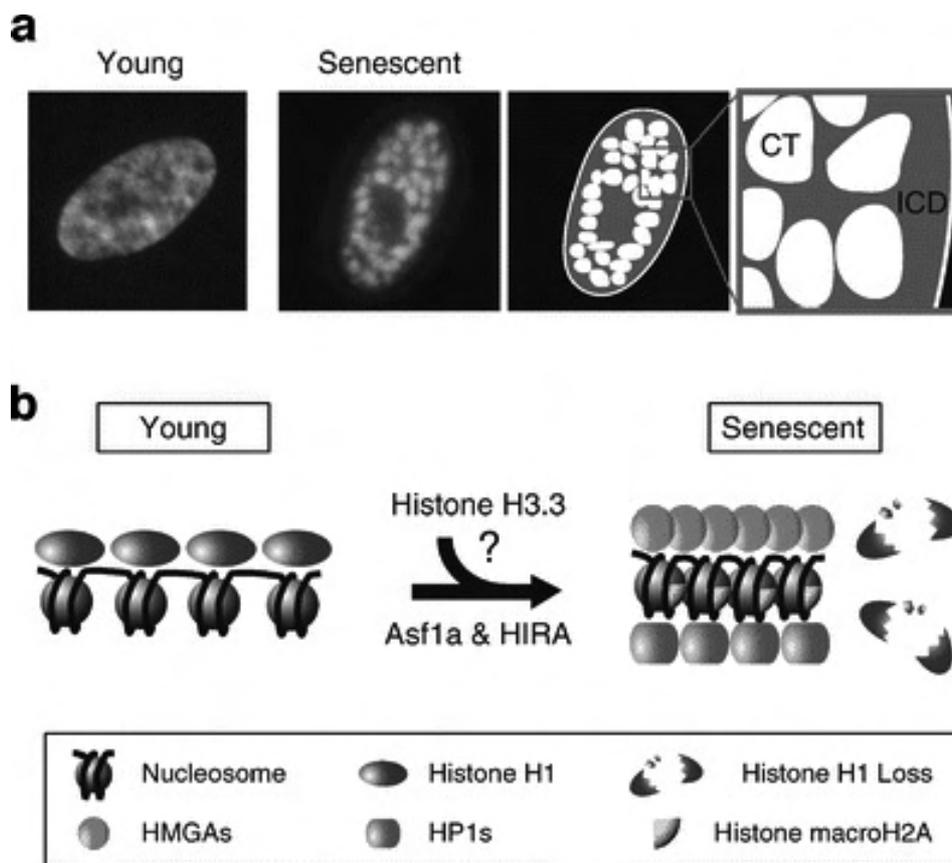


図 老化細胞におけるリンカー histone H1の喪失とSAHFの形成

- a DAPI染色によるSAHFを示す。Focus一つが各chromosomeにあたる。
 b 若い細胞のnucleosomeをつなぐリンカー DNAに結合していたhistone H1は、老化細胞で喪失し、代わりにHMGAが結合する。生じたSAHFにhistone variantsのmacroH2AやH3.3が入り込む。Heterochromatin proteinのHP 1 sも入る。AsF1aやHIRAは、SAHFに組み込まれないが、その形成を助ける。Chromosoma 116, 431-440, 2007(R Funayama, F Ishikawa)より

ところが25年以上経った2006年、石川冬木教授のグループが、ヒストンH1の喪失と言う事実を、違う視点から再発見してくれたのです。それはクロマチンの凝縮、heterochromatinization との関係です。老化細胞で、histone H1が失われて、代わりに競合するHMGAという非ヒストンタンパクが、リンカー DNAに結合してしまって、nucleosomeが折り畳まれ、ヘテロクロマチン化が起こるといことです。但し、これだけでは有りません。

第10話 老化細胞のSAHFで、役者は踊る

それより3年前の2003年、米国のM.Naritaらは老化関連ヘテロクロマチン斑 (senescence-associated heterochromatin foci: SAHF) を初めて報告しました。DAPI染色すると、DNAが凝縮している部分、即ちヘテロクロマチン領域は、濃く染まります。老化細胞の核をDAPI染色すると、上図aの左2番目にあるように、focusが30-50個も見られます。不活化X染色体の染まり方にそっくりのようです。個々のfocusは、それぞれ1個のchromosomeを示すと分かってきました。SAHFには、数種のhistone variantsだけでなく転写抑制に働くheterochromatin protein 1 (HP1) が入り込みます。そして、老化細胞では、Rbの低リン酸化が起こりますから、

E2Fを結合して不活性化し、そのtarget遺伝子群の転写を出来なくして細胞増殖を止めるのですが、老化細胞のSAHFにおいて、このE2F target geneにHP1 γ が結合して安定的な転写抑制をおこし、非可逆的な分裂停止をもたらすと、Naritaらは主張しています。老化の不可逆性の説明です。

ヘテロクロマチン化は、動原体付近、核小体付近、そしてテロメア領域などの反復配列領域に生ずるだけでなく、不活性X染色体や特定の分化における転写の不活化でもおきます。老化の場合とちがいは有るのでしょうか。ヒストンの修飾については、アセチル化、リン酸化、ユビキチン化、そしてメチル化がおこなわれますが、老化では先ずヒストンの脱アセチル化に関わります。サチューインはそのinhibitorであることは、ご存知でしょう。メチル化については、ヒストンH3の9番目のリジンでメチル化(H3K9me2/3)の起こる事が重要です。

ここに、HP1が結合して転写を抑制するのです。しかしH3のメチル化といっても、4番目リジンのメチル化や、9番目リジンの最初のメチル化(H3K9me1)は、むしろ転写を上げるほうで、老化に関わりません。しかも、その近隣に有るH3の10番目セリンのリン酸化は先のHP1を追い出してしまうますが、これは細胞分裂期におけるchromosome凝縮で起こることです。ついでに云えば、

H3の27番目のリジンのメチル化は、転写抑制タンパクのpolycombであるPRC1を結合させますが、近隣の28番目セリンのリン酸化がおこれば、PRC1をはずして、転写をあげるといふのです。

一方で、ヒストンH1、H2、H3には、多数のvariantsが存在していて、遺伝子の活性化、修復、分化、転写抑制に関わります。その内、老化細胞のSAHFに含まれるのが、macroH2A及びH3.3として注目されています。

更には、こうした老化細胞SAHFの形成やその維持に関わるタンパクとして、histone chaperoneが重要です。特にHIRAやASF1aの造るcomplexが注目されています。それ自身はSAHF内には取り込まれないものの、ヒストンvariants、特にH3.3のfoldingとSAHFへの取り込みに関与するのです。

先に、テロメア領域はくり返し配列を持ち、ヘテロクロマチン化していると言いましたが、老化細胞においてそれは、短縮化あるいは構造異常にあるわけで、SAHFには取り込まれていないと言うのは、示唆的であります。

こうして述べたSAHFは、生体内でも老化細胞や前がん組織で確認出来ますが、完全な普遍性が有るか気になります。

ヒト細胞の分裂老化でも、WI38やIMR90とちがってBJ細胞ではその形成が弱い事、ヒトとマウスでその形成度が違う事等が指摘されています。

争起こし⑧です。

とは言え、SAHFを構成する重要なタンパク、例えばHMGAをknockdownすると、*in vitro*では、SAHFができ

ません。マウス個体では、どうなるでしょう。老化は？腫瘍形成は？是非やってみたいですね。

第11話 老賢人なのか

さて、こうしたクロマチンをつくるタンパクは、安定しているのでしょうか。

一般に、DNA複製をする増殖細胞では、複製時にクロマチン構造がほどけますから、元の構造に再構築される必要が有ります。そのヘテロクロマチン領域でも、S期の初めか終わりに、短時間で複製を行い、転写抑制のクロマチン構造を再現するのです。

では、分裂停止にいたった老化細胞では、クロマチンはDNAに固定されているのでしょうか。いいえ、そうではありません。DNAからmRNAに転写する折には、ほどけるでしょう。老化細胞は意外と代謝が盛んです。事実、いろいろな増殖因子、プロテアーゼ、炎症性サイトカインなどsecretomeをより多く分泌する事が知られています。更には、DNAへの傷害が多くなっていますから、repairのDNA合成も盛んな筈です。

かくして老化細胞でも、そのクロマチンの各タンパクは、大変に動的でありながら、物質的にも高次構造的にも、再現性よく再統合されていると考えられます。そうであるからには、老化細胞は単に死を待つ細胞でなく、がん抑制、傷修復、そして分化機能発揮だけでなく、さらにwiseな働きを果たしているかも知れません。そのことに、SAHFがどれほど貢献しているかも、知りたいですねー。