

課題番号	LS105
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成 24 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	再生医療・癌治療への細胞老化の分子機構の利用－ エピジェネティクスからのアプローチ
研究機関・ 部局・職名	名古屋市立大学・大学院医学研究科・講師
氏名	島田 緑

1. 当該年度の研究目的

生命の遺伝情報を担うゲノム DNA は正確に複製され娘細胞に分配されなければならない。しかしながらゲノム DNA は活性酸素などの内的要因や紫外線等の外的要因によって常に損傷を受けている。DNA 損傷に応答してチェックポイント、DNA 修復、アポトーシスおよび早期細胞老化が協調して働くことがゲノム安定性維持に必須である。これらの防御機構の破綻は発癌や様々な遺伝子疾患に大きく寄与しており、エピジェネティック制御と深く関連している。これまで申請者は癌抑制因子 Chk1 によるヒストン H3-スレオニン 11 (H3-T11)のリン酸化が DNA 損傷応答に重要であることを報告した。また H3-T11 のリン酸化の制御は Chk1 のクロマチンからの解離だけではなく脱リン酸化酵素 PP1 が関与しており、DNA 損傷に伴って PP1 が活性化される分子機構を明らかにした。そこでさらに H3-T11 のリン酸化をゲノム全体として統合的に理解することに加えて、未同定のヒストンのリン酸化に研究範囲を広げ、ヒストンのリン酸化を中心としたゲノム普遍的制御ネットワーク機構の全体像を明らかにすることを目的に研究を行う。前年度までの成果に基づいて新たに同定したヒストン修飾についてリン酸化抗体を作製し、in vivo における生理的意義を検討する。

2. 研究の実施状況

1, Chk1 標的ヒストンの生理的意義について
DNA 損傷応答の中核を担う p53 は細胞の生死選択に大きく関与しているが、p53 以外にもヒストンのリン酸化による生死選択が存在することが最近明らかになってきている。DNA 損傷応答において最もよく研究されているヒストン修飾は H2AX の S139 のリン酸化であり、近年、H2AX-Y142 のリン酸化がアポトーシスの誘導に重要であることが報告され、ヒストンの中でも特に H2AX のリン酸化は注目を浴びている。Chk1 の標的リン酸化ヒストンを網羅的に解析した結果、H3 以外にもリンカーヒストン、コアヒストン、ヒストンバリエントが Chk1 によりリン酸化されることが分かった。作製した特異的リン酸化抗体を用いて、Chk1 の標的となるリン酸化は(1)ヘテロクロマチン領域とは排他的に存在し、DNA 損傷後減少すること、(2)分裂期においてダイナミックに局在が変化し、前期から中期にかけてセントロメアに強く局在し、後期に消失すること、が分かった。Chk1 によるヒストンの新規リン酸化は DNA 損傷応答および細胞分裂に関与している可能性が高く、既知の H2AX S139, Y142 に加えて細胞の癌化・増殖と関連していると考えられる。この研究を進展させ、これまでほとんど

様式19 別紙1

理解されていない DNA 損傷時の生死選択の機構解明に貢献したい。

2, ヒストン H3K9 メチル化と結合する MPP8 の細胞周期依存的な局在制御の分子機構について
M phase phosphoprotein 8 (MPP8) は、ヘテロクロマチン形成に重要であり、メチル化H3K9と結合するクロモドメイン及びタンパク質相互作用に重要なアンキリンリピートドメインを持つタンパク質として同定された。MPP8は分裂間期ではヘテロクロマチン領域に局在しており、DNAメチル化とメチル化H3K9の相互作用を制御する機能を持っていると考えられている。しかしながらこのMPP8の機能が細胞周期を通してどのように制御されているかは全く分かっていない。MPP8の細胞周期依存的な局在制御を調べたところ、分裂期でダイナミックに変化し、分裂早期にクロマチンから離脱することが明らかになった。またMPP8は分裂期にCdk1によりリン酸化され、Cdk1を阻害するとMPP8のクロマチンからの離脱は強く阻害された。重要なことにCdk1によるリン酸化部位の変異型MPP8の局在を調べたところ、分裂早期においてもMPP8がクロマチン上から離脱しないことが分かった。これらのことから、ヘテロクロマチン形成に重要なMPP8はCdk 1によるリン酸化によって分裂早期においてクロマチンから分離することが明らかとなった。本成果より分裂期におけるMPP8の局在変化がヘテロクロマチン形成や姉妹染色体分離に重要であると示唆された。

3. 研究発表等

雑誌論文	(掲載済み一査読有り) 計 2 件
計 2 件	<p>1, Nishigaki M, Kawada Y, Misaki T, Murata K, Goshima T, Hirokawa T, Yamada C, Shimada M (corresponding author), Nakanishi M (corresponding author) Mitotic phosphorylation of MPP8 by cyclin-dependent kinases regulates chromatin dissociation. Biochem Biophys Res Commun., 2013, 432, 4: p654-659 http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006291X13002738</p> <p>2, Shimada M (corresponding author) and Nakanishi M(corresponding author) Response to DNA damage: why do we need to focus on protein phosphatases? Front Oncol., 2013, 3, 8: p1-14 http://www.frontiersin.org/Radiation_Oncology/10.3389/fonc.2013.00008/abstract</p>
	(掲載済み一査読無し) 計 0 件
	(未掲載) 計 0 件
会議発表	<p>専門家向け 計 2 件</p> <p>島田 緑 Chk1 による DNA 損傷応答機構 山口大学獣医学部 2012 年 12 月 10 日 山口大学共同獣医学部大学院特別セミナー</p> <p>村田和大、島田 緑、中西 真 プロテアソーム調節因子 Psmf1 は DNA 損傷応答を制御している</p>
計 3 件	

様式19 別紙1

	<p>福岡国際会議場、マリンメッセ福岡 2012年12月13日 分子生物学会年会</p> <p>一般向け 計1件 島田 緑 「不思議な遺伝子ワールドへようこそ！」～遺伝子の基礎から癌化、老化まで～ 名古屋市中区栄・ナディアパーク7階 7th Café 2012年10月19日 第70回サイエンスカフェ</p>
図書 計0件	
産業財産権 出願・取得状 況 計0件	<p>(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件</p>
Webページ (URL)	
国民との科 学・技術対話 の実施状況	<p>第70回 サイエンスカフェ 標題:「不思議な遺伝子ワールドへようこそ！」～遺伝子の基礎から癌化、老化まで～ 実施日:2012年10月19日 場所:名古屋市中区栄・ナディアパーク7階 7th Cafe 対象者:教育・保育・福祉関係者、医療関係者、行政自治体関係者、企業関係者等幅広い社会人及び一般市民(小中高の学生の聴講可) 参加者数:40名 内容:私達の体を構成する約60兆個の細胞はもとはたった1個の受精卵で、受精卵が分裂を繰り返し、皮膚細胞や筋肉細胞、神経細胞など、さまざまな種類の細胞へと分化し、複雑な体ができあがる。ノーベル賞受賞で注目を浴びているクローン作製の研究、iPS細胞の研究について話をした。また、正常な個体形成には細胞分裂の過程で遺伝情報を正確に保持することが重要であるため、その仕組みについて「遺伝子とは?」「DNAとは?」「染色体とは?」という基礎からDNAの損傷応答や細胞分裂における先端研究について話をした。</p>
新聞・一般雑 誌等掲載 計0件	
その他	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成24年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の累計)	③当該年度受領額	④(=①-②-③)未受領額	既返還額(前年度迄の累計)
直接経費	119,000,000	36,040,000	35,540,000	47,420,000	0
間接経費	35,700,000	10,812,000	10,662,000	14,226,000	0
合計	154,700,000	46,852,000	46,202,000	61,646,000	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執行額	②当該年度受領額	③当該年度受取利息等額 (未収利息を除く)	④(=①+②+③)当該年度合計収入	⑤当該年度執行額	⑥(=④-⑤)当該年度未執行額	当該年度返還額
直接経費	4,645,918	35,540,000	0	40,185,918	24,271,731	15,914,187	0
間接経費	5,954,436	10,662,000	0	16,616,436	3,405,792	13,210,644	0
合計	10,600,354	46,202,000	0	56,802,354	27,677,523	29,124,831	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	15,217,524	微量高速遠心機、実験試薬等
旅費	269,010	研究成果発表旅費
謝金・人件費等	6,347,239	実験補助
その他	2,437,958	データ解析、実験動物飼育費
直接経費計	24,271,731	
間接経費計	3,405,792	
合計	27,677,523	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関名
微量高速遠心機	トミー精工MX-307	1	1,218,000	1,218,000	2013/2/7	名古屋市立大学
				0		
				0		