164 低用量ストレス応答に注目した老化の理解

京都大学 学術研究センター　　石川　冬木

【目的】ヒトの老化は、臨床的に認識することは難しくとも、20 歳台以降始まっていることが知られている。これは、再生産年齢以降は個体を維持するロバストネスが徐々に低下して、老化表現型を示すものと解釈されている。この数十年におよぶ過程は、個体が受けるさまざまなストレスの蓄積の結果、生体のホメオスターシスが撹乱され、徐々に生命維持を難しくするものであるが、その分子レベルの理解は進んでいない。現実社会におけるヒトは、季節の移り変わり、ライフスタイルの変化などによって常に環境変動に曝されているが、致死的なストレスを受けることは稀である。長期間のストレス曝露による老化を理解するためには、この非致死性の弱いストレスに対する生体反応を知る必要があるが、これまでほとんどのストレス反応研究は致死性ストレスを用いて実施されており、非致死性ストレス応答の理解はほとんど進んでいない。そこで本研究では、弱いストレス応答を分子レベルで理解することを目的とした。

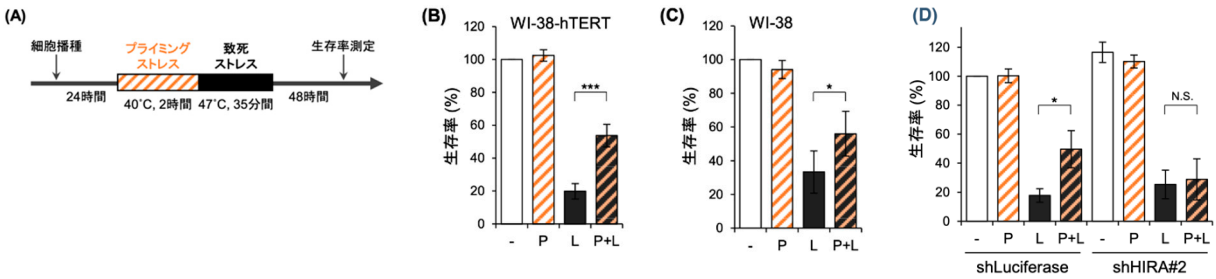
【方法】非致死性ストレスを研究するにあたり、獲得耐性の実験系を利用した。獲得耐性とは、弱いストレスに引き続いて致死性ストレスを与えた場合、致死性ストレス単独投与時と比較してストレス抵抗性（生存率の増加）を示す現象である。これまで、我々は分裂酵母を用いた順遺伝学的手法によって、ヒストン H3.3 のシャペロン因子である HIRA が熱ストレスなどの獲得耐性に必要であることを見出してきた。HIRA は真核生物に広く保存されていることから、本研究では、ヒト細胞において獲得耐性に HIRA が必要であるかを明らかにすることを目的とした。

【結果】テロメレース不死化ヒト正常線維芽細胞である WI-38-hTERT を用いて図 A に示すプロトコールで 40°C、2 時間の前処理（プライミングストレス：P）を与えた後に 40°C、35 分間の致死ストレス（L）を与えると図 B に示すようにプライミングありの場合（P＋L）では、プライミングなしの場合（L：いきなり致死ストレスを与える）に比べて生存率が有意に増加した。同じ現象は、不死化されていない初代ヒト正常線維芽細胞 WI-38 でも観察された（図 C)。一方、shRNA により HIRA 因子をノックダウンされた WI-38-hTERT では、獲得耐性は消失した（図 D)。以上のことから、ヒト細胞においても獲得耐性に HIRA が必要であると結論した。HIRA は、ヒストン H3.3 が遺伝子領域クロマチンに挿入されることを介して、ゲノム内のさまざまな遺伝子を活性化することが知られている。そこで、プライミングストレス前後における HIRA 結合領域をクロマチン免疫法によって解析すると、プライミングによりゲノム内で約 12000 箇所の新規 HIRA 結合領域が同定され、オントロジー解析によって、それらには、低酸素反応、変性蛋白質反応など、ストレス反応遺伝子領域が有意に濃縮されていることが明らかになった。非致死的ストレスによって HIRA を介して抗ストレス因子の転写が活性化されることが、獲得耐性の分子機構であることが明らかとなった。

【考察】獲得耐性が弱いストレス後の HIRA による H3.3 を介したストレス応答性遺伝子の誘導によることを初めて明らかにすることができた。今後、老化過程における HIRA 依存的獲得耐性能の変化を検討することが期待される。

【発表】

1）　Yoshikazu Nagagaki, Yuji Kozakura, Theventhiran Mahandaran, Yukiko Fumoto, Ryuichiro Nakato, Katsuhiko Shirahige, and Fuyuki Ishikawa. Histone H3.3 chaperone HIRA renders stress-responsive genes poised for prospective lethal stresses in acquired tolerance. Genes to Cells. 2024 Sep 29(9):722-734. Epub 2024 Jul 8. PMID: 38977420 DOI: 10.1111/gtc.13140



ヒト細胞の獲得耐性は HIRA に依存する