

## ヒト半数体細胞の増殖が制限される新たな原理を発見

～ゲノムコピー数に応じた小胞体ストレス抵抗性の変化が鍵～

### ポイント

- ・ヒト正常二倍体細胞に比べ、半数体細胞は著しい小胞体ストレスへの脆弱性を示すことを発見。
- ・半数体状態では細胞の不良タンパク質解消能が低く、細胞死促進シグナルが誘発されやすくなる。
- ・不良タンパク質の解消能を補填すると、半数体細胞のゲノム不安定性が改善することを発見。

### 概要

北海道大学大学院先端生命科学研究院の石原すみれ助教、上原亮太准教授及びハンガリーのセンメルヴェイス大学のエヴァ＝マーギッタ准教授らの研究グループは、ヒト培養細胞を用いてゲノムを1コピーしかもたない「半数体」状態が著しい不安定性を示す一要因を分子レベルで特定しました。

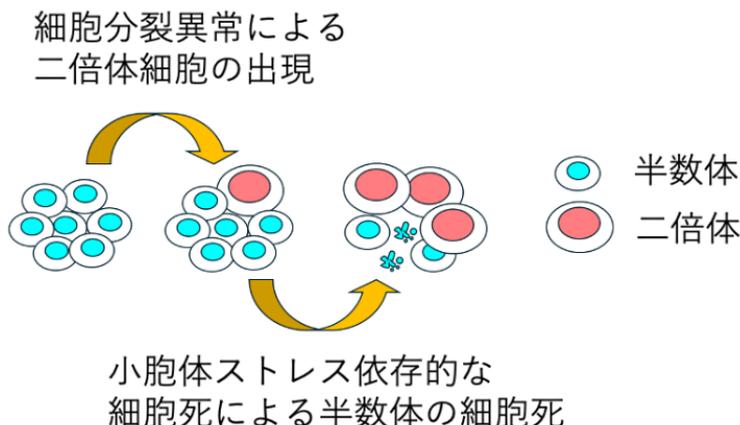
多くの脊椎動物の体細胞は、2コピーのゲノムをもつ「二倍体」状態で安定な分裂増殖を行う一方、半数体状態では著しい増殖障害を伴って二倍体状態に戻ってしまうことが知られています。なぜ一揃いの完全なゲノムをもつにも関わらず、半数体がこのような不安定性を示すのかは不明でした。

本研究では、ヒト半数体細胞株とそこから樹立した同一なゲノム情報を持つ二倍体株とを用いて、半数体のゲノム不安定性が生じる要因を共培養解析・比較生化学解析等によって調べました。その結果、半数体細胞は二倍体細胞よりも小胞体ストレス<sup>\*1</sup>に対して脆弱であり、同等レベルの小胞体ストレスに対してより強い細胞死誘導シグナルが引き起こされ、死に至ることが明らかになりました。

さらに、比較イメージング解析により、半数体細胞株では不良タンパク質<sup>\*2</sup>の解消能力が低いため小胞体ストレス状態に陥りやすいことを突き止めました。加えて、分子シャペロンの投与により不良タンパク質の解消能力を補填すると半数体のゲノム不安定性が改善されることを確認しました。

本研究成果は、脊椎動物細胞が半数体で安定増殖できない根本的原因を説明するとともに、安定な半数体細胞を用いた遺伝子工学資源開発を促す知見を提供することが期待されます。

なお、本研究成果は、2024年10月19日（土）公開の Journal of Biological Chemistry 誌にオンライン掲載されました。



半数体細胞株は増殖過程で二倍体化してしまう。細胞分裂異常による半数体細胞集団の中に二倍体細胞が出現する（当研究グループの先行研究）。本研究では、小胞体ストレス依存的な細胞死が半数体で亢進することで半数体の増殖能が減衰し、細胞集団の二倍体化が進むことを発見した。

## 【背景】

多くの脊椎動物体細胞は、2セットのゲノムコピーをもつ二倍体状態で安定増殖し、個体形成を行います。一方、受精を経ない単為発生や特定のタイプのがん形成においては、ゲノムを1セットしかもたない半数体（一倍体）の細胞が生じます。しかし、半数体細胞は著しい増殖障害を示し、速やかに二倍体状態に戻ってしまいます。半数体は二倍体と比べゲノム改変などを効率良く行えるため、遺伝子工学分野で有用な研究資源ですが、脊椎動物の半数体不安定性は、半数体細胞の利用性を制限する問題にもなっています。半数体がこのような増殖障害を示す原理は明らかではありませんでした。

## 【研究手法】

研究グループは、ヒト半数体 HAP1 細胞（以下、半数体）と、それから樹立した同一のゲノム情報を持つ二倍体 HAP1 細胞株（以下、二倍体）を材料に用いて、半数体で特異的に増殖不安定性が生じる要因を調べました。細胞の成長・増殖時のタンパク質産生において必須の役割を果たす「小胞体」の機能を阻害する薬剤を投与した状態で、半数体と二倍体をフローサイトメトリー<sup>\*3</sup>や生化学解析に供し、小胞体ストレスに対する細胞応答性を比較・分析しました。さらに、細胞内で小胞体ストレスを要因となる不良タンパク質の蓄積量をイメージング解析により比較することで、半数体において小胞体ストレス応答が異なる要因を探りました。

## 【研究成果】

本研究により、半数体では小胞体ストレス下において二倍体よりも顕著に細胞死が亢進されることを発見しました（図1）。具体的には、小胞体ストレス下において、フローサイトメトリーによる細胞死数の定量、及び生化学実験による細胞死マーカーの定量を行ったところ、半数体は二倍体に比べて著しい細胞死を起こし、二倍体に置き換わられていくことが分かりました。半数体で細胞死が亢進する要因を調べるため、小胞体ストレスによって活性化される UPR<sup>\*4</sup>シグナルを調べたところ、半数体と二倍体で同等のストレス応答が引き起こされていました。一方で、UPRシグナルを受けて細胞死を引き起こす因子は半数体でより高いレベルに活性化されていることが分かりました。さらに、小胞体ストレスの要因となる不良タンパク質の蓄積量を比較イメージング解析によって調べたところ、半数体で不良タンパク質量が有意に多いことを見出しました（図2）。化学シャペロンの投与により不良タンパク質の解消能力を人為的に補填したところ、半数体での細胞死シグナルの亢進が抑制され、二倍体への置き換わりも緩和されました。これらの結果から、不良タンパク質の解消能力の低迷からくる小胞体ストレス依存的な細胞死が、半数体の増殖不安定性の要因の一端であることが分かりました。

## 【今後への期待】

半数体の増殖不安定性は、「なぜ脊椎動物の体細胞は二倍体状態でしか安定に存在できないのか？」という生物学上の根本的な疑問に一つのヒントをもたらすと考えます。今後、ゲノムコピー数の違いによって小胞体機能がどう変化するのかをオルガネラ構造レベルで調べていくことで、半数体の増殖を制限する原理をさらに明らかにしていきます。また、今回の研究で、半数体で特に増加する不良タンパク質の人為的な抑制が、半数体の安定性向上に役立つことが分かりました。この成果をもとに、今後、半数体でタンパク質の品質管理が問題を抱える原因を分子・細胞レベルで調べていく予定です。これによって、半数体の増殖不安定性を克服する具体的な遺伝子操作方法が明らかになり、安定半数体細胞の作製が可能になると期待されます。これを通して、遺伝子工学分野で有用性の高い細胞資源の提供を目指します。

## 【謝辞】

本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業・研究スタート支援（JP23K19360）（代表者：石原すみれ）、国際共同研究加速基金（B）（JP22KK0110）（分担者：石原すみれ）、特別研究員奨励費（JP19J12210）、研究スタート支援（JP21K20737）（以上、代表者：矢口 完）、国際共同研究加速基金（B）（JP19KK0181）新学術領域研究「シンギュラリティ生物学」（公募研究）（JP19H05413）、基盤研究（B）（JP19H03219、JP24K02017）、挑戦的研究（萌芽）（JP21K19244、JP24K21956）、国際共同研究加速基金（海外連携研究）（JP24KK0139）、二国間交流事業（ハンガリー科学アカデミー）（JPJSBP120193801）、第一三共生命科学振興財団研究助成、高松宮妃癌研究基金研究助成金、蓬庵社特別研究助成、テルモ生命科学振興財団研究開発助成、北海道 B 型肝炎訴訟オレンジ基金研究助成金、喫煙科学財団研究助成事業、秋山記念生命科学振興財団（以上、代表者：上原亮太）などの支援により実施しました。フローサイトメトリー及び顕微鏡は北海道大学オープンファシリティセンターの共用機器を利用し、支援いただきました。

## 論文情報

論文名	Fragility of ER homeostatic regulation underlies haploid instability in human somatic cells (小胞体恒常性制御の脆弱性がヒト体細胞の半数体不安定性の根底にある)
著者名	石原すみれ <sup>1,2</sup> 、矢口 完 <sup>1,2</sup> 、三浦瀬那 <sup>1</sup> 、野村亮斗 <sup>1</sup> 、王 綺皎 <sup>1</sup> 、吉澤晃弥 <sup>1</sup> 、佐藤季実乃 <sup>1</sup> 、楊 光 <sup>1</sup> 、クリスティーナ=ヴェゼリ <sup>3</sup> 、ガポール=バンヘギ <sup>3</sup> 、エヴァ=マーギッタイ <sup>3</sup> 、上原亮太 <sup>1,2</sup> （ <sup>1</sup> 北海道大学大学院生命科学院、 <sup>2</sup> 北海道大学大学院先端生命科学研究院、 <sup>3</sup> ハンガリーセンメルヴェイス大学）
雑誌名	Journal of Biological Chemistry（生化学の専門誌）
DOI	10.1016/j.jbc.2024.107909
公表日	2024年10月19日（土）（オンライン公開）

## お問い合わせ先

北海道大学大学院先端生命科学研究院 准教授 上原亮太（うえはらりょうた）

T E L 011-706-9238 F A X 011-706-9238 メール ruehara@sci.hokudai.ac.jp

U R L [https://altair.sci.hokudai.ac.jp/uehara\\_lab/](https://altair.sci.hokudai.ac.jp/uehara_lab/)

## 配信元

北海道大学社会共創部広報課（〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目）

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

【参考図】

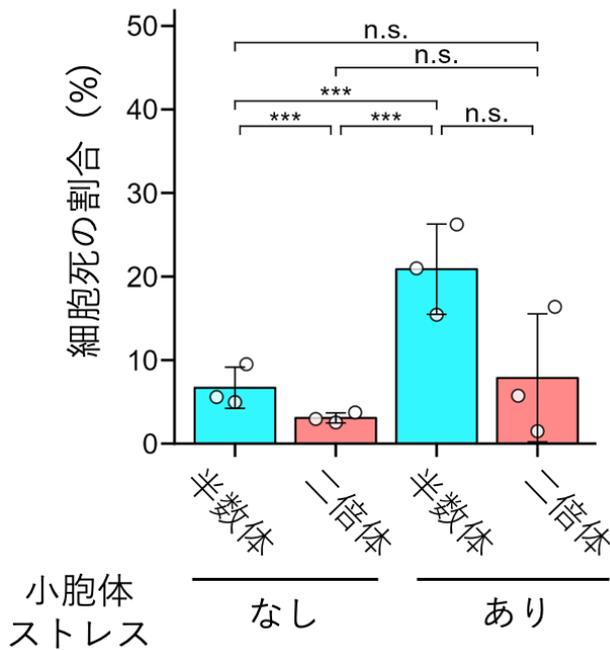


図1. 小胞体ストレスの有無による細胞死割合の比較。\*\*\*は統計的有意差があること、n.s.は統計的有意差がないことを示す。

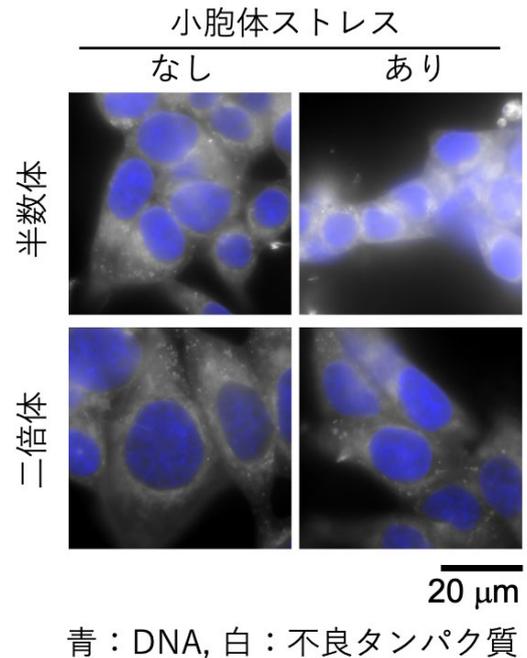


図2. 小胞体ストレスの有無による細胞内不良タンパク質の染色像。

【用語解説】

- \*1 小胞体ストレス … 細胞内小器官である小胞体内に構造異常を持つタンパク質（不良タンパク質）や適切な修飾がされないタンパク質が蓄積している状態のこと。
- \*2 不良タンパク質 … 構造異常を持つタンパク質。凝集体を形成しやすく、細胞毒性の要因となる。
- \*3 フローサイトメトリー … 単離した細胞サンプルを一つ一つ水流中で整列させて、分析光を照射し、サンプル由来の散乱光や蛍光の測定情報から細胞のサイズ、形状、DNA 保有量、細胞死などを計測する手法。
- \*4 UPR … Unfolded Protein Response の略。小胞体ストレスが生じた際に、それをセンサータンパク質によって検知し、タンパク質産生の抑制や不良タンパク質の再フォールディング補助・分解などを促進することでストレスを緩和・解消する細胞内シグナル伝達経路のこと。小規模の小胞体ストレスに対しては、上記の作用を通してストレス状態を解決して細胞の生存を助ける一方、解決できない規模の小胞体ストレスに際しては、細胞死シグナルを活性化させて当該の細胞を除去する役割を果たす。今回の研究で、二倍体が生存できる程度のレベルの小胞体ストレスに対して、半数体では細胞死シグナルが活性化されることを見出した。