



Title	Study of Cellular Senescence and its Relation to Stress Fiber Alteration in Human Fibroblasts
Author(s)	Chantachotikul, Pirawan
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/96126">https://hdl.handle.net/11094/96126</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## Abstract of Thesis

Name ( CHANTACHOTIKUL Pirawan )	
Title	Study of Cellular Senescence and its Relation to Stress Fiber Alteration in Human Fibroblasts (ヒト線維芽細胞における細胞老化とストレスファイバー変化に関する研究)
Abstract of Thesis	
<p>Senescent cells undergo an increase in size compared to young cells, promoting age-related diseases. Currently, the molecular mechanism behind the maintenance of such huge cell architecture undergoing senescence remains poorly understood. Here we focus on reorganization of actin stress fibers induced upon replicative senescence of human fibroblasts, typically used as a senescent cell model. Our group previously revealed that stress fibers of human fibroblasts are comprised of 135 proteins, and 63 of them are upregulated with replicative senescence. We identified that AP2A1 (alpha 1 adaptin subunit of the adaptor protein 2) is upregulated in senescent human fibroblasts along stress fibers, which are enlarged following the increase in cell size. We revealed that knockdown and overexpression of AP2A1 in senescent and young cells suppresses and advances key senescence-associated phenotypes, respectively, suggesting that AP2A1 may be used as a senescence marker. We also found that AP2A1 is colocalized with integrin <math>\beta</math>1, and both of them move linearly along stress fibers. Together with our further observations that focal adhesions are enlarged upon senescence to strengthen the anchorage to the substrate, these findings suggest that cells maintain their large size by supplying integrin <math>\beta</math>1 to focal adhesions via AP2A1-mediated translocation along stress fibers. This mechanism may work efficiently in senescent cells, rather than using a random diffusion-limited process, given the enlarged cell size and resulting increase in travel time and distance for vesicle transportation. Additionally, we carried out a detailed literature search for the functions of the other upregulated proteins that have not been described in the context of senescent stress fibers before. Hereafter, we briefly describe key significant pathways and provide some specific descriptions of the protein connections. We demonstrate that replicative senescent fibroblasts exhibited changes in a variety of cellular processes. Taken together, our findings demonstrate that the multiple phenotypic alterations in senescence depend on different protein expressions, which lead to an imbalance among functional proteins.</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　　名　　(　　CHANTACHOTIKUL Pirawan　　)		
	（職）	
論文審査担当者		
主　　査	教　　授	出　　口　　真　　次
副　　査	教　　授	和　　田　　成　　生
副　　査	教　　授	馬　　越　　大
副　　査	教　　授	木　　岡　　紀　　幸　　(京都大学)

## 論文審査の結果の要旨

本論文では、非筋型のミオシン・アクチントンパク質から構成される細胞内骨格構造の一つストレスファイバー(stress fibers、以下SFsと略記)と細胞老化の関係について解析を行った。SFsは本研究で対象とした線維芽細胞を始め多くの細胞内で発現しており、恒常性など多様な機能に関わっている。しかしながら、その複合体を構成するタンパク質成分には不明な点が多く、SFsの関わる研究の多くは現象の観察に留まり、分子レベルでの解明が十分に進んでいない。本研究では、過去に実施された単離SFsのプロテオミクス分析において同定された全タンパク質の機能解析を実施し、その中でとりわけAP2A1分子が細胞老化に重要な役割を果たすことを明らかにした。具体的には、継代培養を繰り返すことにより誘導することのできる細胞複製老化の結果、SFsの構成成分が変動し、AP2A1分子の発現量が有意に増加することを実証した。AP2A1分子の過剰細胞内発現および発現抑制を人為的に行い、SFsを構成するタンパク質である非筋型ミオシンや $\alpha$ アクチニンの発現量が変化し、さらにSFsの大きさと数量を含め細胞形態が誘導されることを明らかにした。また、AP2A1分子の増加は様々な分子マーカーで検出される細胞の老化状態を促進することも確認した。その分子メカニズムを調べるために超解像顕微鏡観察および蛍光ライブセルイメージングを実施し、AP2A1分子がSFsの長さ方向に沿って移動されること、およびAP2A1分子がインテグリン $\beta$ 1分子の輸送に関わっていることを示した。インテグリン $\beta$ 1は焦点接着斑を構成し細胞外基質との結合を担う分子である。また、細胞老化とともに焦点接着斑が増大すること、細胞体積の増加とともに接着強度が強くなることを併せて確認した。これらの観察・測定結果に基づき、細胞老化に伴い細胞のサイズが増大し、その物理的構造を力学的に支えるためにAP2A1分子がSFsに沿って焦点接着斑までインテグリン $\beta$ 1分子を輸送するという分子・物理モデルを提唱するに至った。このように、SFsが関与する細胞老化メカニズムの分子レベルでの理解に向けて、本研究は重要な基礎的知見を与えた。以上より、本論文は博士（理学）の学位論文として価値のあるものと認められる。