細胞老化の発がん促進作用に関する研究

所属機関　公益財団法人がん研究会 がん研究所
研究者名：原　英二

≪研究の概要≫

Hayflick による細胞老化の発見以降 50 年もの間、細胞老化は発がんの危険性がある異常細胞の増殖を停止させることでがん化を抑制している重要ながん抑制機構であると考えられてきた。しかし、最近の研究により、細胞老化には当初考えられていたがん抑制機構としての作用だけでなく、時間が経つと、発がんの原因となる染色体不安定性を起したり、発癌を促進する作用がある炎症性サイトカインなどの分泌性蛋白質を発現する Senescence secretome（副作用）があることが明らかになってきた。つまり、加齢と伴に体内に老化細胞が蓄積すると、次第に細胞老化の副作用が現れて発がんが促進されてしまう危険性があり、このことが加齢と伴にがんの発症率が上昇する一因になっているのではないかと考えられる。このため、細胞老化の副作用の実態を明らかにし、その分子メカニズムを解明することは、今後益々増加が予想される加齢性発がんの効果的な診断法、治療法や予防法の開発に必須であると考えられる。そこで本研究では、細胞老化に伴って染色体不安定性が起こる分子メカニズムの解明と、為害性がある分泌性蛋白質の発現が促進される機構の解明を目指して研究を行い、以下の研究結果を得た。

(1) 細胞老化を誘導する DNA 損傷シグナルは、活性酸素種 (ROS) の産生を増加させて染色体分配機構に異常を起こすために染色体不安定性が生じることを見出した。また、ROS レベルの増加はユビキチンリガーゼである APC/C^{Cdh1} 複合体を活性化することで DNA メチル化酵素である DNMT1 のタンパク分解を起こすことを明らかにした。 DNA のメチル化は染色体の安定性にも必要であるため DNMT1 の発現低下は染色体の不安定性を引き起こし、DNA 損傷シグナルが更に亢進することで、ROS レベルが高い状態で維持されることを見出した。

(2) 細胞老化を誘導する DNA 損傷シグナルは APC/C^{Cdh1} を活性化することで、ヒストンメチル化酵素である G9a 及び GLP をユビキチン依存的に分解することを見出した。G9a 及び GLP の分解はユークロマチンの遺伝子発現抑制を司る H3K9me2 の低下を引き起こすために IL6 や IL8 を含む多くの Senescence secretome 因子の転写制御領域のクロマチン構造が変化し、それら因子の発現が誘導されることを明らかにした。

(3) 細胞老化誘導因子である $p16^{INK4a}$ の発現をマウスの生体内でイメージングすることで、生体内で細胞老化が起こるダイナミクスを明らかにした。更に、加齢と伴に生体内に蓄積した老化細胞を特定して解析した結果、それらの細胞では細胞老化の副作用である Senescence secretome が起こっていることを見出した。

今後は、G9a/GLP の分解機構の詳細をさらに明らかにすることで細胞老化の副作用を抑える方法の開発につなげて行きたい。

原　英二　　公益財団法人 がん研究会　　研究総括及び発がん関連遺伝子の
がん研究所がん生物部・部長　　生体内発現ダイナミクスの解析

大谷直子　　公益財団法人 がん研究会　　発がん関連遺伝子の発現と加齢
がん研究所がん生物部・主任研究員　　との関係解明

高橋暁子　　公益財団法人 がん研究会　　発がん関連遺伝子の機能解析
がん研究所がん生物部・研究員

研究報告

I　研究目的

哺乳動物の正常細胞は複数の細胞周期チェックポイントで常に異常の有無を確認しながら細胞分裂を繰り返している。もし細胞に修復不可能な DNA 損傷など発がんの危険性がある異常が生じた場合には、アポトーシスを起こして細胞が死滅するか、細胞老化を起こして異常細胞の増殖が不可逆的に停止することが知られている（図-1)。このため、アポトーシスと細胞老化は重要ながん抑制機構として働いているのではないかと考えられ、アポトーシスや細胞老化の誘導をがん治療に応用する試みも盛んに検討されている。しかし、アポトーシスとは異なり、細胞老化を起こしても細胞が直ぐに死滅するわけではないため、細胞老化を起こした細胞（老化細胞）は増殖を停止したまま生体内に長期間生存し続ける可能性が指摘されてきた。最近、我々は発光シグナルを利用することで老化細胞をマウスの体内でリアルタイムに観察することに成功しており、加齢に伴う発癌頻度の上昇と一致して体内に老化細胞が蓄積してくることを見出している（Yamakoshi *et al.,* ***J. Cell Biol.,*** 2009)。このため、体内に蓄積した老化細胞に何らかの遺伝子異常が起こることで、増殖を再開し、がん細胞に形質転換するのではないかと考えることが出来る。興味深いことに、我々は最近、細胞老化を起こすと染色体の分配機構に異常が生じ、発がん原因の１つである染色体不安定性 (Chromosomal Instability: CIN) を伴う多核・多倍体の細胞が出現しやすくなることを見出している（図-1） (Takahashi *et al.,* ***Nature Cell Biology,*** 2006)。また、複数のグループの研究により老化細胞は単に増殖を停止しておとなしくしているだけでなく、炎症性サイトカインやケモカイン、細胞外マトリックス分解酵素など、発がん促進作用のある様々なタンパク質を分泌する Senescence secretome と呼ばれる現象を引き起こすことも明らかになってきている（図-1） (Rodier & Campisi, *J. Cell Biol.,* 2011)。このため、安易に細胞老化を誘導することは発がんを促進してしまう結果につながる危険性があるのではないかと心配される。

このような理由から、細胞老化の副作用である発がん促進作用に注目し、その分子メカニズムを解明することは、発がんメカニズムの解明のみならず、今後益々増加が予想される加齢性発がんの効果的な診断法、治療法、更には予防法の開発につながる可能性があると考えられる。そこで本研究では、これまで殆ど注目されてこなかった細胞老化の副作用（発がん促進作用）の分子基盤を明らかにすることを目的とした。

II　研究計画及び材料と方法

（１）細胞培養

ヒト正常線維芽細胞 TIG-3, IMR-90, Hs68 及び条件的不死化細胞株 SVts8 細胞は 10% fetal bovine serum を含む DMEM 培地にて 5%CO2, 3%O2（生体内の酸素濃度に近い低酸素状態）条件下で継代培養した。遺伝子導入及び shRNA の発現はレトロウイルスベクターを用いて行い、siRNA oligo の導入は Lipofectamine RNAiMAX (Life Technology 社)を用いて行った。

（２）p16-イメージング・マウスの作成及びインビボイメージング

完全なヒト *p16*^{INK4a} 遺伝子構造を持つ染色体断片(BAC クローン)に Counter selection BAC modification kit (Gene Bridge 社)を用いてホタルの発光酵素であるルシフェラーゼ遺伝子の cDNA をヒト p16^{INK4a} と融合蛋白を発現するように挿入した。作成した組み換え染色体断片を ICR マウスの受精卵にマイクロインジェクションし、組み換え染色体断片を１コピー持つトランスジェニック(Tg)マウスを作製した。p16^{INK4a} とルシフェラーゼの融合蛋白を発現することを確認後、マウスに麻酔をかけ、75mg/kg の D-luciferin を腹腔内に注射後、PIXIS-1024B CCD camera (Princeton Instruments 社)を用いて発光シグナルを測定した。得られたシグナルは Image-Pro Plus (Media Cybernetics 社)ソフトにより解析した。

（３）蛋白質の解析

タンパク質の発現レベルは以下の抗体を用いて Western blotting 法により解析した。
Apc11 (abcam, ab57158), ATM (SIGMA, A1106), ATR (MABI, 123-3), β-actin (SIGMA, A5316), Cdh1 (Thermo Scientific, MS-1116), DNMT1 (Santa Cruz, sc-20701), DNMT1 (BD Transduction Laboratories, 612618), DNMT1 (New England BioLabs, M0231S), Flag (Sigma, F1804). GFP (Clontech, 632460), Histone H3 (Cell Signaling Technology, 9715), H3K9me1 (Millipore, 07-450), H3K9me2 (MABI, 304-32363), H3K9me2 (abcam, ab1220), human G9a (Cell Signaling Technology, 3306), human G9a (Upstate, 07-551), human G9a(MBL, D141-3), human GLP (MBL, D220-3), human p16 (Calbiochem, NA29), c-Myc (9E10), Cyclin A (Santa Cruz, sc-596), Cyclin B (Santa Cruz, sc-752), phosphor- MEK1/2(Ser217/221) (Cell Signaling Technology, 9121), human phospho-Histone H2A.X (Ser139) (Millipore, 05-636), mouse G9a (PPMX, PP-A8620A-00), mouse G9a (Millipore, 07-551), mouse GLP (PPMX, PP-B0422-00), mouse phospho-Histone H2A.X (Ser139) (Cell Signaling Technology, 9718), phospho-Chk1 (Ser345) (Cell Signaling Technology, 2348), phospho-Chk2(Thr68) (Cell Signaling Technology, 2661), phospho-Rb(Ser807/811) (Cell Signaling Technology, 9308), PLK1 (Cell Signaling Technology, 4513), Ras (Calbiochem, OP41), RB (Santa Cruz, sc-102), Riz1 (abcam, ab 3790), SETDB1 (Cell Signaling Technology, 2196). Vinculin (SIGMA, V9131).

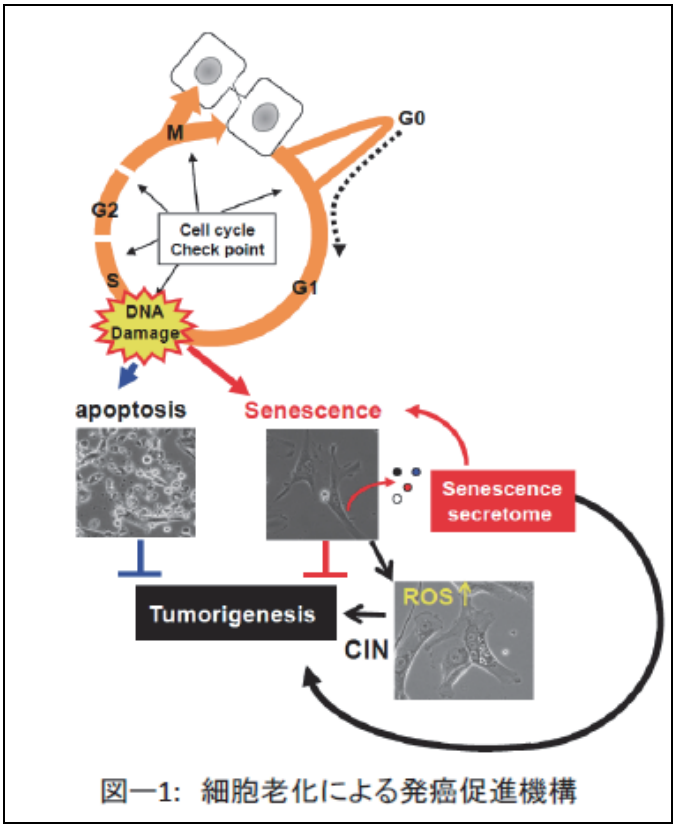
（４）クロマチン免疫沈降　(ChIP-assay)

ChIP assay は 全て EZ-ChIP (Millipore 社).を用いて行った。用いた抗体は以下のとおりである。 anti-H3K9me2 (Cell Signaling Technology, 9753), anti-G9a (Sigma, G6919), anti-GLP (MBL, D220-3) and rabbit IgG (Cell Signaling Technology, 2729). 回収した DNA は以下のプライマーを用いて real-time quantitative PCR 法により定量した。*human IL-6*, 5'-AATGTGGGATTTTCCCATGA-3' (forward) and 5'-GCTCCTGGAGGGGAGATAGA-3' (reverse); *human IL-8*, 5'-GGTTTGCCCTGAGGGGATG-3' (forward) and 5'-ACAGAGCTGCAGAAATCAGGAAGGCT-3' (reverse) (Acosta et al., 2008); human *cyclin A2*, 5'-TCGCCACGCTGGGCAGTG-3' (forward) and 5'-CTCGCTCACCCAGCTCGA-3' (reverse); human $p16^{INK4a}$, 5'-ACCCCGATTCAATTTGGCAG-3' (forward) and 5'-AAAAAGAAATCCGCCCCCG-3' (reverse) 。

III 研究成果

（１）細胞老化に伴う ROS 産生機構の解析

我々はこれまでの研究により、細胞老化を起こすと、活性酸素種 (ROS) レベルが著しく上昇することが染色体分配機構に異常が生じる原因の１つであることを見出してきた（図－1)。そこで先ず、老化細胞で ROS レベルの上昇を引き起こす分子メカニズムを解明するために、shRNA ライブラリィーを用いて老化細胞で ROS 産生に関与する候補遺伝子を同定するシステムを構築し、スクリーニングを試みた。



図—1: 細胞老化による発癌促進機構

温度感受性変異型の SV40 large T 抗原 (*ts*LT)を発現させることにより条件的に不死化したヒトの線維芽細胞株 (SVts8) に、レトロウイルスベクターを用いて作成された shRNA ライブラリーを感染させた後、非許容温度で培養し、*ts*LT を失活させても ROS レベルが上昇せず、細胞老化を起こさない細胞クローンを数クローン得た。更に解析を続けた結果、それらの細胞クローンはミトコンドリアの電子伝達系に関与している一群の遺伝子に対する shRNA を発現していることを見出した。また、ミトコンドリアの電子伝達系に関与する酵素群に対するケミカルインヒビターを SVts8 細胞に投与すると、*ts*LT を失活させても ROS レベルが上昇せず、細胞老化も起こさなくなることが分かった。これらの結果により細胞老化に伴い、ミトコンドリアの電子伝達系の制御機構に異常が生じることが老化細胞における ROS レベルの著しい亢進を引き起していることが強く示唆された(投稿準備中)。

次に、細胞老化の誘導は RB-E2F 経路により制御されていることが知られているので、RB-E2F 経路と ROS 産生との関係について検討を試みた。老化細胞では転写因子である E2F の転写活性が低下していることが知られている。そこで、E2F 標的遺伝子の中に ROS（特にミトコンドリアで産生される ROS）の発生を抑える働きがある遺伝子が存在していないかどうか DNA-microarray を用いて調べてみた。その結果、E2F 標的遺伝子として知られる Lamin B1 の発現レベルが老化細胞において顕著に低下しており、増殖中のヒト正常線維芽細胞において Lamin B1 の発現をノックダウンするだけで ROS レベルが上昇することを見出した。また逆にヒト正常線維芽細胞において Lamin B1 を過剰発現すると、ROS レベルが低下し、細胞老化の誘導も起こりにくくなることを見出した。Lamin B1 の発現低下は SOD2 などの ROS レベルの低下を起こす遺伝子の発現レベルの低下を引き起こすことで ROS レベルが亢進し、染色体分配の遂行を担う酵素群の発現低下が起こるために染色体が多倍体化すると考えられる (投稿準備中)。今後は、E2F による Lamin B1 の発現抑制機構並びに Lamin B1 と SOD2 との関係をさらに明らかにすることで細胞老化における染色体不安定性を特異的に阻害する方法の開発につなげることを目指したい。

（２）ROS による染色体分配阻害機構の解析

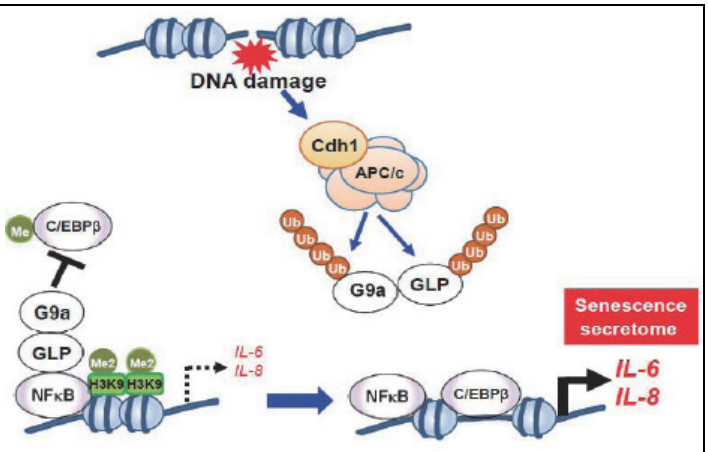
我々は以前から老化細胞では ROS により染色体分配制御に関わるタンパク質の幾つかがユビキチン依存的なタンパク分解を起こしていることを見出している (Takahashi *et al., Nature Cell Biol.,* 2006)。そこで、細胞老化に伴うそれら染色体分配制御に関わるタンパク質の分解制御機構を解明するためにそれらタンパク質に対するユビキチンリガーゼの同定を試みた。老化細胞で活性化されているユビキチンリガーゼに着目して探索を試みた結果、細胞周期チェックポイント因子の一つである APC/C^{Cdh1} 複合体が老化細胞で活性化されていることを見出した。Cdh1 は老化細胞で ROS により ATM-経路を介して CDK キナーゼの活性が低下することと、Cdc14B ホスファターゼが活性化することにより脱リン酸化され、APC/C と結合できるようになり活性型のユビキチンリガーゼとなることを見出した。更に我々は老化細胞では活性化された APC/C^{Cdh1} が、DNA メチル化酵素の一つである(DNMT1)の分解を促進することで、染色体の不安定性を引き起こすことも見出した (Yamakoshi *et al.* ***J. Cell Biol.,*** 2009; Takahashi *et al., **Mol. Cell,*** 2012)。これらの発見は細胞老化が起きるとなぜ染色体の分配に異常が生じるかについてその分子メカニズムの一端を明らかにしたものである。今後は、APC/C^{Cdh1} の活性調節を可能にする方法の探索を行うことで細胞老化に伴う染色体不安定性を抑制することを目指したい。

（３）老化細胞における Senescence secretome 誘導機構の解析

細胞老化の誘導には DNA Damage Response (DDR) が必須であり、更にエピジェネティックな遺伝子発現制御機構も重要であることが知られている。一方 Senescence secretome の誘導には DDR が必要であることが既に Campisi らのグループにより報告されていた(Rodier *et al., Nature Cell Biol.,* 2009)。このため、DDR によりエピジェネティックな遺伝子発現制御機構が変化することが Senescence secretome の誘導に関与しているのではないかと仮説を立てた。そこで、DDR とエピジェネティックな遺伝子発現制御機構をつなぐ pathway の探索を行った結果、DDR により細胞周期チェックポイント制御因子の１つである APC/C^{Cdh1}

が過度に活性化されることで、ヒストン H3 Lysine9 のジメチル化(H3K9me2)を行う酵素である G9a 及び GLP がポリユビキチン化されプロテアソーム依存的なタンパク分解を起こすことを見出した。G9a 及び GLP の分解はユークロマチンの遺伝子発現抑制を司る H3K9me2 の低下を引き起こすために IL6 や IL8 を含む多くの Senescence secretome 因子の転写制御領域のクロマチン構造が変化し、それら因子の発現が誘導されることを明らかにした。RNAi により増殖中のヒト正常線維芽細胞において G9a 及び GLP の発現をノックダウンすると、それだけで、IL6 や IL8 を含む多くの Senescence secretome 因子の発現が誘導され、逆に G9a 及び GLP を過剰発現させると、Senescence secretome 因子の発現誘導が起こらなくなることを見出した(Takahashi *et al.*, ***Mol. Cell,*** 2012)。以上の結果により老化細胞では DNA ダメージ

により APC/C^{Cdh1} が過度に活性化されることで、G9a/GLP がタンパク分解を起こし、エピジェネティックな遺伝子発現制御機構が変化して Senescence secretome 因子の発現が誘導されると考えられる（図-2)。今後は、G9a/GLP の分解機構の詳細をさらに明らかにすることで為害性のある Senescence secretome の誘導を特異的に阻害する方法の開発につなげることを目指して行きたい。



図－2：Senescence secretome誘導機構

（４）細胞老化の生体内ダイナミクスの解析

細胞老化の副作用の実態を解明するには細胞老化が生体内の何処で、何時、どの程度起こっているのかを明らかにすることが必要である。そこで先ず、細胞老化の主要な誘導因子である p16^{INK4a} の発現をマウスの生体内でリアルタイムに可視化できる p16-イメージングマウスを作製し、そのマウスを用いて細胞老化の生体内ダイナミクスの解明を試みた。その結果、加齢の過程で肺、腸、脾臓など様々な臓器で p16^{INK4a} の著しい発現上昇が認められた。また、*H-ras* 遺伝子を活性化する発がん物質をマウスの皮膚に塗布することで良性腫瘍であるパピローマが形成される過程でも p16^{INK4a} の発現レベルが著しく上昇することを見出した（Yamakoshi *et al.*, ***J. Cell Biol.,*** 2009)。これら p16^{INK4a} の発現上昇が認められた組織においては DNA ダメージや RB 蛋白の脱リン酸化及び ROS レベルの著しい増加が認められると同時に、染色体の多倍体化や IL-6 を含む多くの Senescence secretome 因子の発現上昇など細胞老化の副作用も認められた。これらの結果は生体内でも細胞老化ががん抑制機構として働いているだけでなく、発がんを促進する危険性を持っていることを示唆している。今後はヒトの臨床サンプルを用いた解析を行うことでヒトの発がんにも今回我々が見出した細胞老化の発がん促進作用が関与しているかどうか検討し、がんの新たな診断マーカーや治療のための分子標的の同定につなげることを目指して行きたい。

IV　考察

先進国においては、この 50~60 年の間に平均寿命が著しく延長してきた。中でも日本の平均寿命の延長は目覚ましく、1950 年には男女ともに 60 歳前後だった平均寿命が、今や女性は 86 歳、男性も 80 歳に迫る勢いで延び続けている 。このような寿命の延長は食糧事情や衛生状態、更には社会保障制度等が改善された成果であり、戦後の日本が成し遂げた世界に誇るべき成果の一つと言える。しかし、皮肉なことに平均寿命の延長と伴に、以前は罹患率が高くなかった疾患、例えば、がん、認知症、糖尿病と言ったいわゆる成人病の罹患率が著しく高くなってきており、新たな社会問題になってきている。特にがんにおいては肉体的・精神的に苦痛を伴うだけでなく高額な医療費が掛り、経済的にもその社会的損失は大きい。せっかく寿命が延びても、このような病気に罹って苦しんではあまり意味がない。このため、特に今後ますます高齢化社会が進む日本においては、歳を取ってもこのような成人病に罹らないようにすることが重要と考えられる。そのためには、先ず、歳を取ると何故成人病（特にがん）に罹り易くなるのかを解明することが必要である。がんに関してはこれまで漠然と歳を取ると遺伝子異常を起こした細胞が体内に蓄積してくるからがんに罹り易くなるのではないかと考えられてきた。しかし寿命が著しく延長した現代社会においては体内に老化細胞が蓄積した状態で生存し続けるために、細胞老化が本来の役割である生体恒常性の維持（がん抑制機構）ではなく、その副作用とも言うべきと発がん促進作用を及ぼし生体の恒常性を破綻させている可能性が明らかになってきた。本研究では、この点に着目し、細胞老化が持つ為害性の分子メカニズムの解明を試みた(図-1)。

老化細胞は ROS レベルの上昇により染色体分配機構に異常が生じ、そのために、発がんの原因となる CIN が起こると考えられるが、本研究により電子伝達系の異常と E2F 標的遺伝子である Lamin B1 の発現低下が ROS レベルが上昇する主な原因になっていることが明らかとなった。また、細胞老化に伴う Senescence secretome が ROS レベルの上昇など DNA damage を誘発する様々な異常により APC/C^{Cdh1} が過度に活性化されることでヒストン修飾酵素 (G9a/GLP) が分解されエピジェネティックな遺伝子発現抑制が解除されるために起こることが明らかとなった(図-2)。興味深いことに、細胞周期の G0 期や G1 期においても APC/C^{Cdh1} が活性化されていることが知られている。しかし、G0 期/G1 期では G9a/GLP の分解は起こっていない(Takahashi *et al.,* ***Mol. Cell,*** 2012)。このため、G9a/GLP の分解は単に APC/C^{Cdh1} が活性化されただけでは起こらず、細胞老化に伴い、G9a/GLP もしくは APC/C^{Cdh1} が特殊な修飾を受けることで初めて起こるようになるのではないかと予想される。今後この点を明らかにすることで、細胞老化を起こしてもその副作用である Senescence secretome を起こさせなくすることが可能になるかもしれない。今後、CIN や Senescence secretome など細胞老化の副作用の分子基盤の解明が進むことで新しいがんの診断法や治療法、更には予防法の開発を可能にする分子標的の同定につながることが期待される。

最後に、本研究の遂行にあたり多大なるご支援を賜りました公益財団法人車両競技公益資金記念財団に深く感謝申し上げます。

V　研究成果の発表

1. Yamakoshi, K., Takahashi, A., Hirota, F., Nakayama, R., Ishimaru, N., Kubo, Y., Mann, D.J., Ohmura, M., Hirao, A., Saya, H., Arase, S., Hayashi, Y., Nakao, K., Matsumoto, M., Ohtani, N. and **Hara, E.**
   Real-time in vivo imaging of $p16^{Ink4a}$ reveals cross-talk with p53.
   J. Cell Biol., 186: 393-407. (2009)

2. Inomata, K., Aoto, T., Binh, N.T., Okamoto, N., Tanimura, S., Wakayama, T., Iseki, S., **Hara, E.**, Masunaga, T., Shimizu, H. and Nishimura, E.K.
   Genotoxic stress abrogates renewal of melanocyte stem cells by triggering their differentiation.
   Cell, 137: 1088-1099. (2009)

3. Ohtani, N., Mann, D.J. and **Hara E.**
   Cellular senescence: its role in tumor suppression and aging.
   Cancer Sci., 100: 792-797. (2009)

4. Ohtani, N., Yamakoshi, K., Takahashi, A. and **Hara E.**
   Real-time *in vivo* imaging of $p16^{Ink4a}$ gene expression: a new approach to study senescence stress signaling in living animals
   Cell Div., 5:1. (2010)

5. Fernandez-Marcos, P.J., Pantoja, C., Gonzalez-Rodriguez, A., Martin, N., Flores, J.M., Valverde, A.M., **Hara, E.** and Serrano, M.
   Normal proliferation and tumorigenesis but impaired pancreatic function in mice lacking the cell cycle regulator sei1.
   PLoS One., 18: e8744. (2010)

6. Takeuchi, S., Takahashi, A., Motoi, N., Yoshimoto, S., Tajima, T., Yamakoshi, K., Hirao, A., Yanagi, S., Fukami, K., Ishikawa, Y., Sone, S., **Hara, E.**, and Ohtani, N.
   Intrinsic cooperation between $p16^{INK4a}$ and $p21^{Waf1/Cip1}$ in the onset of cellular senescence and tumor suppression *in vivo*.
   Cancer Res., 70: 9381-9390. (2010)

7. Kitajima,S., Miki, T., Takegami, Y., Kido, Y., Noda, M., **Hara, E.**, Shamma, A. and Takahashi,C.
   Reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs (RECK) interferes with epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling.
   Oncogene, 30: 737-750. (2011)

8. Fukuyo, Y., Takahashi, A., **Hara, E.**, Horikoshi, N., Pandita, T.K., and Nakajima, T.
E2FBP1 antagonizes the $p16^{INK4A}$-Rb tumor suppressor machinery for growth suppression and cellular senescence by regulating promyelocytic leukemia protein stability.
Int. J. Oral Sci., 3: 200-208. (2011)

9. Takahashi, A., Imai, Y., Yamakoshi, K., Kuninaka, S., Ohtani, N., Yoshimoto, S., Hori, S., Tachibana, M., Anderton, E., Takeuchi, T., Shinkai, Y., Peters, G., Saya, H. and **Hara E.**
DNA damage signaling triggers degradation of histone methyltransferases through APC/C^{Cdh1} in senescent cells.
Mol. Cell, 45: 123-131. (2012)

10. Yamamizu, K., Fujihara, M., Tachibana, M., Katayama, S., Takahashi, A., **Hara, E.**, Imai, H., Shinkai, Y., and Yamashita, J. K.
Protein kinase A determines timing of early differentiation through epigenetic regulation with G9a.
Cell Stem Cell, (2012) in press

11. Ohtani, N., Takahashi, A. Mann, D.J. and **Hara E.**
Cellular senescence: a double-edged sword in the fight against cancer
Exp. Dermatol., (2012) in press