

平成 30 年 4 月 8 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04721

研究課題名(和文)細胞脱分化による発がん修飾作用の解明

研究課題名(英文)Role of dedifferentiation on cancer development

研究代表者

山田 泰広 (Yamada, Yasuhiro)

東京大学・医科学研究所・教授

研究者番号：70313872

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、生体内細胞初期化システムを用いて、生体内において積極的に脱分化を誘導することで、発がんにおける脱分化の意義について明らかとすることを目的とした。膵臓発がんモデルを用いて、発がんにおける脱分化の影響を病理組織学的解析により検討した。細胞脱分化により体細胞のエンハンサーが抑制され、変異型K-rasを発現する膵腺房細胞に異常増殖が誘導されることを示した。細胞脱分化に関わるエピゲノム制御が膵臓の多段階発がんの中心的な役割を果たしていることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The faithful shutdown of the somatic program occurs in the early stage of reprogramming. Here, we examined the effect of in vivo reprogramming on Kras-induced cancer development. We show that the transient expression of reprogramming factors in pancreatic acinar cells results in the transient repression of acinar cell enhancers. Notably, the transient expression of reprogramming factors in Kras mutant mice is sufficient to induce the rapid formation of pancreatic ductal adenocarcinoma. These results underscore a crucial role of dedifferentiation-associated epigenetic regulations in the initiation of pancreatic cancers.

研究分野：腫瘍病理学

キーワード：dedifferentiation cancer iPS cell reprogramming

### 1. 研究開始当初の背景

がん細胞では、正常由来細胞の特徴を失い、しばしば前駆細胞の性質を示すことが観察される。しかしながら、この「脱分化」が発がんの「原因」の一つなのか、単に「結果」なのかについては、明らかにされていない。我々は、生体内細胞初期化システムを用いて、生体内での細胞脱分化が小児芽腫に類似した発がんを誘導することを明らかにしている(Cell 2014)。しかし、小児がん以外にも細胞脱分化が発がん促進作用を持つのかは未だ不明である。

### 2. 研究の目的

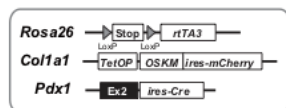
本研究では、細胞初期化技術を用いて、生体内において積極的に脱分化を誘導することで、発がんにおける脱分化の意義について明らかとすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

生体内で臓器特異的に細胞初期化因子 (Oct3/4、Sox2、Klf4、cMyc) を薬剤誘導可能なマウスの作製を行った。生体内で細胞初期化因子を腎臓及び膵臓特異的に誘導可能なマウスモデルを用いて、それぞれの臓器における生体内細胞初期化過程を病理組織学的に解析した。また、変異型 K-ras 遺伝子や変異型 p53 遺伝子を発現し、さらに細胞初期化因子を膵臓特異的に誘導可能な多能性幹細胞を用いてキメラマウスを作製した。この発がんモデルを用いて、膵臓発がんにおける脱分化の影響を病理病理解析により検討した。網羅的遺伝子発現解析、エピジェネティック修飾解析を組織学的解析と組み合わせ、発がんにおける脱分化の意義解明を目指した。

### 4. 研究成果

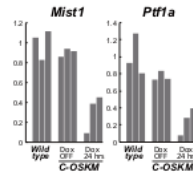
申請者は、生体内での細胞脱分化が小児芽腫に類似した発がんを誘導することを明らかにしている(Cell 2014)。しかしながら、このシステムでは、初期化因子が全身に誘導されるため、長期の初期化因子誘導が難しく、解析が特定の細胞種に限られるという問題点があった。まず臓器特異的に細胞初期化因子を誘導可能なシステムの構築を行った。腎臓及び膵臓特異的に細胞初期化因子の誘導が可能なシステムを作製した[図 1]。



[図 1] 膵臓特異的に細胞初期化因子を誘導可能なマウスモデルの作製

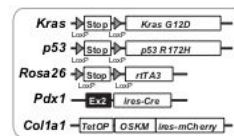
それぞれの臓器における生体内細胞初期化過程を病理組織学的に解析した。短期間の細胞初期化因子の誘導により、それぞれの体細胞に特徴的な遺伝子の発現が速やかに抑制されることを明らかにした[図 2]。一方で、

細胞初期化因子の停止により、体細胞に特徴的な遺伝子の発現が回復することを示した。



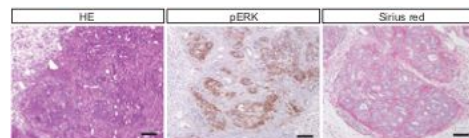
[図 2]細胞初期化因子の発現による体細胞特異的遺伝子の発現抑制

短期間の細胞初期化因子の誘導により、体細胞に一過性の脱分化が誘導できることが示唆された。次に、開発した細胞脱分化モデルを用いて発がんにおける一過性脱分化の影響を検討するために、変異型 K-ras 遺伝子および変異型 p53 遺伝子を発現誘導可能で、かつ山中 4 因子を膵臓特異的に誘導可能な多能性幹細胞[図 3]を用いてキメラマウスを作製し、膵臓発がんにおける脱分化の影響を病理組織学的解析により検討した。



[図 3]膵臓において変異型 K-ras 遺伝子および変異型 p53 遺伝子を発現し、さらに細胞初期化因子を膵臓特異的に誘導可能なシステム

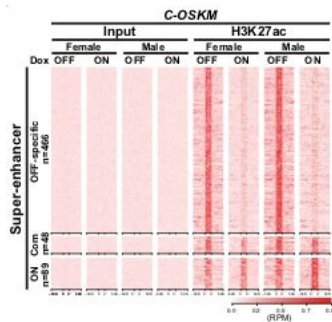
まず、膵腺房細胞において K-ras 遺伝子および変異型 p53 遺伝子発現のみでは、ERK の活性化や異常増殖の誘導には不十分であることを示した。次に変異型 K-ras 遺伝子や変異型 p53 遺伝子に加えて、薬剤依存的に山中 4 因子を生体内の膵臓で一時的に誘導し、一過性細胞脱分化の膵臓発がんへの影響を検討した。興味深いことに、K-ras 遺伝子および変異型 p53 遺伝子発現に加えて細胞初期化因子を短期間誘導することで、持続する ERK の活性化、膵腺房細胞の異常増殖が誘導できることが明らかにした[図 4]。



[図 4]細胞初期化因子の一過性発現による膵腺房細胞の増殖と ERK の活性化

さらにその過程には腺房細胞に特徴的なエンハンサーの抑制が重要な役割を果たしていることを示した[図 5]。

細胞脱分化に関わるエピゲノム制御が膵臓の多段階発がんの中心的な役割を果たしていることが明らかとなった。



[図 5]細胞初期化因子の発現誘導による体細胞エンハンサーの抑制

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 7件)

Yagi M, Kishigami S, Tanaka A, Semi K, Mizutani E, Wakayama S, Wakayama T, \*Yamamoto T, \*Yamada Y. Derivation of ground-state female ES cells maintaining gamete-derived DNA methylation. *Nature*. 2017 Aug 10;548(7666):224-227.

Hashimoto K, Yamada Y, Semi K, Yagi M, Tanaka A, Itakura F, Aoki H, Kunisada T, Woltjen K, Haga H, Sakai Y, Yamamoto T, \*Yamada Y. Cellular context-dependent consequences of Apc mutations on gene regulation and cellular behavior. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2017 Jan 24;114(4):758-763.

Taguchi J, \*Yamada Y. Unveiling the role of senescence-induced cellular plasticity. *Cell Stem Cell* 2017 Mar 2; 20(3):293-294.

Yagi M, Yamanaka S, \*Yamada Y. Epigenetic foundations of pluripotent stem cells that recapitulate in vivo pluripotency. *Laboratory Investigation*. 2017 97:1133-1141.

Taguchi J, \*Yamada Y. In vivo reprogramming for tissue regeneration and organismal rejuvenation. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2017 46:132-140.

Ito K, \*Yamada Y. Cellular reprogramming technology for dissecting cancer epigenome in vivo. *Epigenomics* 2017 in press.

Komura S, Semi K, Itakura F, Shibata H, Ohno T, Hotta A, Woltjen K, Yamamoto T, Akiyama H, \*Yamada Y. EWS-FLI1-induced osteosarcoma model unveiled a crucial role of impaired osteogenic differentiation on

osteosarcoma development. *Stem Cell Reports* 2016 6(4):592-606.

[学会発表](計 4件)

**Yasuhiro Yamada**, Dissecting cancer biology with reprogramming technology. IHEC 2017 Science Day 招待講演 国際学会 2017 Berlin Germany

**Yasuhiro Yamada**, Dissecting cancer biology with iPSC technology. CSBS Seminar Series 招待講演 2017 Singapore

**Yasuhiro Yamada**, Dissecting cancer biology with iPSC technology. The 41st Naito conference 招待講演 国際学会 2016 札幌

**Yasuhiro Yamada**, Dissecting cancer biology with iPSC cell technology. The 9th Guangzhou International Conference on Stem Cell and Regenerative Medicine 招待講演 国際学会 2016 Guangzhou China

[図書](計 0件)

[産業財産権]

出願状況(計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

山田 泰広 (YAMADA, Yasuhiro)  
東京大学・医科学研究所・教授  
研究者番号：70313872

### (2)研究分担者

( )

研究者番号：

(3)連携研究者

( )

研究者番号：

(4)研究協力者

( )