

令和元年6月1日現在

機関番号：34417

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K17831

研究課題名(和文) がんと概日リズムの関連に着目した新規薬剤標的の探索

研究課題名(英文) Identification of new drug targets related to cancer and circadian rhythm

研究代表者

三木 貴雄 (MIKI, Takao)

関西医科大学・医学部・講師

研究者番号：30452345

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：がんと概日リズムという新たな関連を題材とすることで、これまでに無いがん制御機構の同定を目指している。概日リズムに着目した理由として、(1)近年の大規模疫学研究でシフトワーク従事者(看護師、パイロット等)は、がん罹患率が有意に上昇することが報告されたこと(2)正常な概日リズムが保てないPeriod2欠損マウスは癌になりやすいことから、がんと概日リズムの密接な関連は示唆されている。しかしその分子機構は不明な点が多く、未同定のがん制御機構が存在する可能性が高い。本研究では、がん抑制遺伝子と概日リズム遺伝子とのクロストークの機構を解明することにより、がん抑制遺伝子の新たな標的制御機構を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がん抑制遺伝子産物Rbは、転写因子E2Fと結合してその作用を抑制することが知られている。しかし申請者は、Rbと概日リズムの関連から、Rbの全く新しい標的分子制御機構を見出した。この知見に基づく本研究は学術的に独自性が高いだけでなく、Rbによる新規の細胞周期、分化、代謝制御機構解明への道を切り開く可能性があり、非常に発展性が高いと考えられる。また、Rbの新規制御経路を標的とした薬剤は、がん及びリズム障害を伴う病気の適用が期待できる。

研究成果の概要(英文)：Recent progress of molecularly targeted therapy suggests that finding of new connection between cancer and other pathway is beneficial to design new medicine. Epidemiological and clinical studies suggest that circadian clock disruption and the cancer progression are related. International Agency for Research on Cancer (IACR) classified shift work with circadian disruption as a group 2 human carcinogen. However, the molecular mechanism of how the circadian clock is disrupted in cancer and the consequence of circadian clock disruption in cancer are still unclear. Recently, our group has reported that mutation in p53 or PML in mice show deregulated circadian clock gene Period2 expression and disruption of the circadian rhythm, suggesting the close interplay between pathways for circadian clock and tumor suppression. We have identified previously unappreciated role of tumor suppressor in the mammalian circadian clock mechanism and cancer progression.

研究分野：分子腫瘍学

キーワード：がん抑制遺伝子 概日リズム RB PER2

1. 研究開始当初の背景

がんの分子標的治療薬は、がん細胞の異常増殖能、血管新生や腫瘍免疫等、がんと相互作用する様々な経路を標的とする。また、その有用性が Gleevec を始めとして示され、新規作用機構を持つ分子標的薬の開発は非常に重要である。申請者は、がんに関わる新規経路の同定を行うことが新規薬剤のデザインに繋がると考え、1日24時間のリズム(概日リズム)とがんの関連に着目した。現在までに概日リズムと、がんに関連する以下のような報告がある。

- (1) マウスの概日リズムの形成に必須の遺伝子である *Period2(Per2)* を欠損したマウスは、がんになりやすい (Fu ら、CELL 2002)
- (2) 概日リズムは細胞周期と同期し得る (松尾ら、Science 2003)。
- (3) 正常細胞では、概日リズムと細胞周期は同期するが、癌細胞では、概日リズムの異常及び細胞周期の亢進により、概日リズムと細胞周期は同期しない (Gery ら Blood 2005、Yeom ら PNAS 2010)。

これらの報告は、がんと概日リズムには、緊密な関連性があることを示唆しているが、その分子機構は未だ不明である。そこで我々は、がん抑制遺伝子の変異、失欠により細胞はがん化し、概日リズムに異常が見られることから、がん抑制遺伝子が直接概日リズムを制御する機構があるのではないかとこの仮説を立て、検証している (図1)。

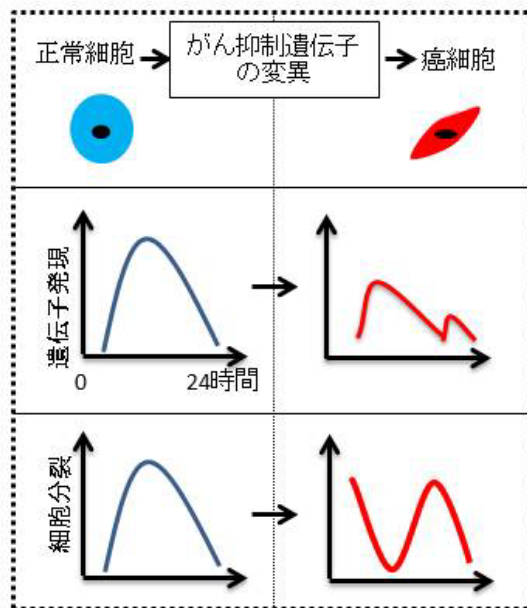


図1 がん抑制遺伝子の変異と概日リズムの異常。正常細胞では24時間リズムの遺伝子発現、細胞分裂が見られるが、癌細胞ではリズムが崩れている。

申請者らは、これまでにがん抑制遺伝子 p53 が概日リズムの制御因子であることを以下の様に明らかにした (三木ら、Nat Commun 2013)。

- (1) p53 は、概日リズム形成に必須の転写因子である BMAL1/CLOCK の、*Per2* プロモーター領域への結合を競合的に阻害する。
  - (2) p53 欠損マウスは、*Per2* の発現が活性化され、概日リズムの異常が観察された。
- また、がん抑制遺伝子 Promyelocytic leukemia (PML) についても以下のような報告をしている (三木ら、EMBO J 2012、J. Circadian Rhythm 2013、Sci. Rep. 2016)。
- (1) PML は、PER2 の核内移行を制御し、BMAL1/CLOCK の転写活性を促進する。
  - (2) Pml 欠損マウスの解析では、概日リズムの異常が認められた。

上記の結果は、以下の2点で重要である。

- (1) がん抑制経路と概日リズム制御経路の直接のクロストークの存在を示した。
- (2) PML による標的制御機構に、標的蛋白質の核内への移行が重要であることを初めて示し、新規薬剤標的につながる可能性を示した。

上記の結果は、他のがん抑制遺伝子による概日リズム制御機構を解明することで、今までとは違う視点からのがん制御機構と概日リズム制御機構が明らかになる可能性を強く示唆している。

## 2. 研究の目的

我々は、PML や p53 が概日リズムの制御因子であるならば、それらと相互作用するがん抑制遺伝子も概日リズムの制御因子となり得るのではないかという仮説を以下の2点をもとに立案した。(1) PML は p53 等を PML nuclear body と呼ばれる微小環境に標的蛋白質を集積させ、その活性を制御する。(2) PML と結合する遺伝子の中には、SIRT1、CBP、HP1 のように、これまでに概日リズムの制御因子として報告されたものが多数存在する。

そこで我々は、PML や p53 と相互作用する代表的ながん抑制遺伝子である Retinoblastoma protein (Rb) に着目し、本研究では、がん抑制遺伝子 Rb の概日リズム制御機構の解析を行うことを目的とした。Rb は、p53 と並び、最もがんで変異が見られるがん抑制遺伝子で、細胞周期や、DNA 損傷応答に重要な遺伝子である。しかし、Rb と概日リズムの直接の関連を示唆する研究は未だ報告されていない。本研究では、がん抑制遺伝子 Rb が、概日リズムを直接制御し、がんの制御を行うという新たな経路が存在する可能性の検討を行った。

## 3. 研究の方法

本研究課題では、がん抑制遺伝子 Rb による概日リズムの制御機構をマウス生体レベルで明らかにし、その重要性を解析する。現在までに、Rb が概日リズムのコア遺伝子をヘム結合依存的に制御するという知見を得ている。これらの知見を確かなものとするために、以下の2項目について研究を実施した。

(1) In vivo での Rb によるヘム制御の検証

(2) Rb によるヘム制御が細胞周期や分化等の Rb 依存性の現象に影響を与える可能性を検証

## 4. 研究成果

ヘムは O<sub>2</sub>、CO、NO 等とも結合し、レドックスセンサーとして知られており、代謝経路を制御する因子として重要である。また、概日リズムとヘム経路は相互制御機構が存在する (Kaasik ら Nature 2004)。しかし、未だどの因子がヘムのヘムタンパク質への結合を制御しているかは同定されていない。そこで、Rb によるヘム制御機構の重要性の検討を行った。その結果、Rb によるヘム制御機構が概日リズムの制御に非常に重要であるとの結果を得た。

この結果は、Rb によるヘム制御経路を標的として、がん及びリズム障害を伴う疾患への新規薬剤となる可能性を示唆しており、非常に重要である。

## 5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 3 件)

- ① 三木貴雄、高橋智聡、野田亮 Involvement of retinoblastoma protein in circadian clock regulation 日本癌学会 2018 年
- ② 三木貴雄、高橋智聡、野田亮 Direct links between tumor suppressor and the circadian clock 日本癌学会 2017 年
- ③ 三木貴雄、榛葉繁紀、高橋智聡、野田亮 がん抑制遺伝子 Rb による概日リズムの制御 日本時間生物学会 2017 年

[図書] 該当なし

〔産業財産権〕

○出願状況 該当なし

○取得状況 該当なし

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.kmu.ac.jp/faculty/medical/category2/unit6.html>

## 6. 研究組織

(1) 研究分担者 該当なし

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：野田 亮、

ローマ字氏名：Noda, Makoto

研究協力者氏名：高橋 智聡

ローマ字氏名：Takahashi, Chiaki

研究協力者氏名：榛葉 繁紀

ローマ字氏名：Shimba, Shigeki.

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。