

令和 3 年 10 月 19 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K14575

研究課題名(和文) イヌ血管肉腫未分化細胞のエピジェネティックな分化制御機構の解明

研究課題名(英文) Unveiling the epigenetic mechanism of cellular differentiation in undifferentiated canine hemangiosarcoma cells

研究代表者

青島 圭佑 (Aoshima, Keisuke)

北海道大学・獣医学研究院・助教

研究者番号：90745069

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではまず始めにイヌ血管肉腫培養細胞株および臨床症例において、ヒストン脱メチル化酵素KDM2Bが高発現していることを発見した。In vitro においてKDM2Bをノックダウンすると、細胞増殖が停止し、アポトーシスが誘導されることがわかった。また、免疫不全マウスに血管肉腫細胞を移植し、ある程度腫瘍が大きくなってからKDM2Bをノックダウンしたところ、腫瘍が退縮した。このことから KDM2B は in vitro, in vivo のどちらでも腫瘍細胞の増殖・生存に必須であることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によりKDM2Bがイヌ血管肉腫の増殖・生存に必須であることが明らかとなった。イヌの血管肉腫は高頻度に発生する悪性腫瘍であるにも関わらず、現段階で有効な治療法がない。今回、免疫不全マウスを用いた実験で、KDM2Bノックダウンは血管肉腫を退縮させることが明らかとなった。このことは、KDM2Bが血管肉腫に対する有効な治療標的であることを示唆するものであり、血管肉腫の新たな治療法を開発する上での基礎となる研究成果である。今後はKDM2Bの役割を更に詳細に研究し、治療法開発に向けた知見を集める予定である。

研究成果の概要(英文)：We found that histone demethylase KDM2B highly expressed in canine hemangiosarcoma cell lines and clinical samples. KDM2B knockdown halted cell growth and induced apoptosis in vitro. Furthermore, KDM2B knockdown in the tumors inoculated in immunodeficient mice let the tumors started shrinking. Based on these results, we confirmed that KDM2B is responsible for tumor cell growth and survival.

研究分野：獣医病理学

キーワード：血管肉腫 エピジェネティクス ヒストン脱メチル化

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

血管肉腫は血管内皮細胞を由来とする悪性腫瘍である。様々な動物で発生するが、特にイヌでの発生頻度が高く、肝臓、脾臓、心臓の右心房に好発する。治療には外科手術か抗がん剤療法が選択されるが、患者の予後は極めて悪い。効果的な治療法開発のために、血管肉腫の病態の分子レベルでの理解が必要とされている。エピジェネティクスとは DNA やヒストンの修飾によって、遺伝子発現を制御する機構を指す。核内では DNA は核タンパク質であるヒストンに巻き付いた状態で存在している。エピジェネティクスは DNA とヒストンを制御することで、遺伝子発現を大規模に変化させ、細胞の増殖や分化に深く関与している。エピジェネティクスは様々な細胞の腫瘍化にも関係しており、いくつかのエピジェネティクス因子はがん遺伝子としても報告されている。しかし、血管肉腫におけるエピジェネティクス研究は未だ行われておらず、その役割は不明である。

2. 研究の目的

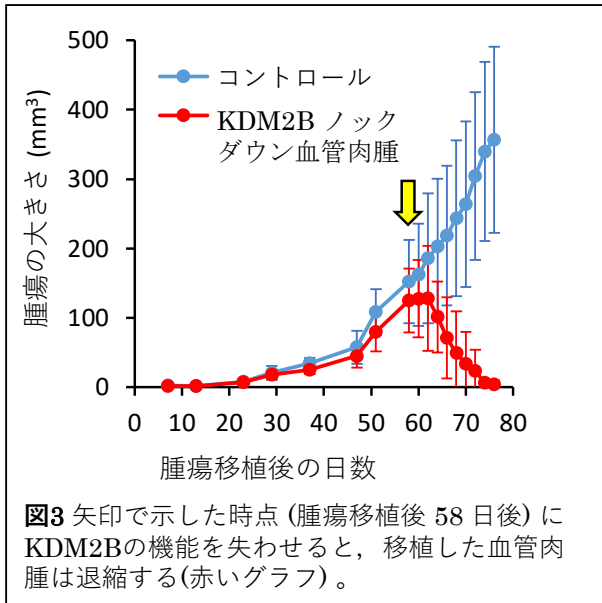
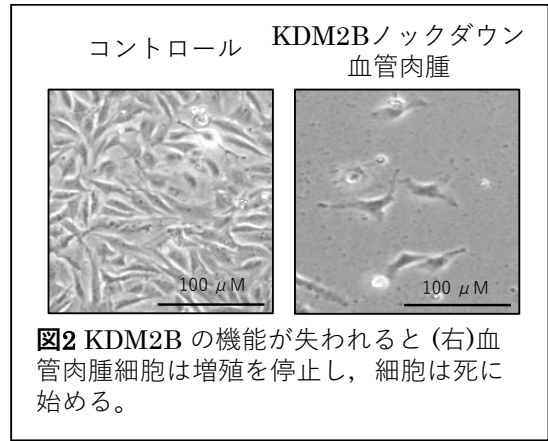
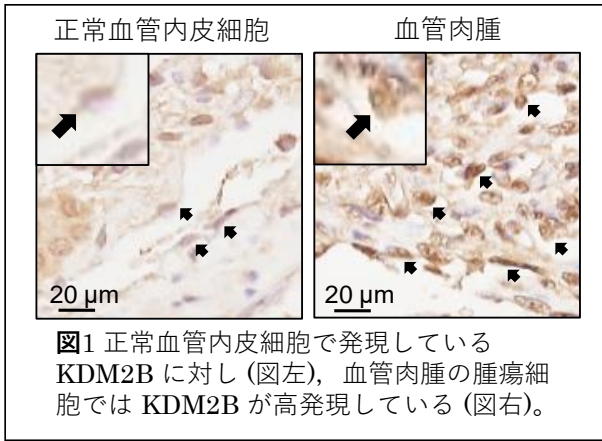
本研究では血管肉腫におけるエピジェネティクスの役割を明らかにすることを目指した。具体的にはヒストンメチル化に注目し、血管肉腫未分化細胞の増殖・生存に必須のエピジェネティクス因子を見つけることを目的とした。

3. 研究の方法

イヌ正常血管内皮細胞株とイヌ血管肉腫培養細胞株 7 株を用いて、既知のヒストンメチル化・脱メチル化酵素の遺伝子発現レベルを調べた。そのうち、イヌ血管肉腫培養細胞株で高発現が認められた遺伝子について、shRNA を用いてノックダウンを行った。また、臨床症例を用いた発現解析も行い、実際の症例でも候補遺伝子の高発現が認められるかどうかを調べた。さらに、免疫不全マウスを用いて腫瘍移植実験も行い、*in vivo* でも候補遺伝子が血管肉腫の増殖・生存に必須であるかどうかを調べた。

4. 研究成果

イヌ正常血管内皮細胞株とイヌ血管肉腫培養細胞株において、既知のヒストンメチル化酵素と脱メチル化酵素の遺伝子発現を調べたところ、ヒストン脱メチル化酵素 KDM2B が高発現していることがわかった (図 1)。KDM2B は臨床症例においても発現亢進が認められた。また、血管肉腫細胞において KDM2B をノックダウンすると、細胞の増殖が停止し、アポトーシスが誘導された (図 2)。この現象は *in vivo* でも認められた (図 3)。すなわち、免疫不全マウスに移植した血管肉腫細胞中で KDM2B のノックダウンを行うと、腫瘍は退縮し、一部の腫瘍は完全に消失した。今後は KDM2B が血管肉腫の分化能に関わっているかどうか、新規の治療標的となりうるかどうかを検討する。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Morita Atsuya, Aoshima Keisuke, Gulay Kevin Christian Montecillo, Onishi Shinichi, Shibata Yuki, Yasui Hironobu, Kobayashi Atsushi, Kimura Takashi	4. 巻 127
2. 論文標題 High drug efflux pump capacity and low DNA damage response induce doxorubicin resistance in canine hemangiosarcoma cell lines	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Research in Veterinary Science	6. 最初と最後の頁 1~10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.rvsc.2019.09.011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Aoshima Keisuke, Fukui Yuki, Gulay Kevin Christian Montecillo, Erdemsurakh Ochbayar, Morita Atsuya, Kobayashi Atsushi, Kimura Takashi	4. 巻 14
2. 論文標題 Notch2 signal is required for the maintenance of canine hemangiosarcoma cancer stem cell-like cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 BMC Veterinary Research	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12917-018-1624-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Gulay, K.C.M., Aoshima, K., Kobayashi, A., and Kimura, T.
2. 発表標題 The Role of Histone Lysine Demethylase 2B (KDM2B) in Endothelial Carcinogenesis
3. 学会等名 The 7th Sapporo Summer Symposium for One Health (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Gulay, K.C.M., Aoshima, K., Kobayashi, A., and Kimura, T.
2. 発表標題 Analysis of the KDM2B-mediated Regulation of the Growth, Development, and Maintenance of Canine Hemangiosarcoma.
3. 学会等名 The 6th SaSSOH seminar for One Health. Sapporo, Japan, 2018. (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Gulay, K.C.M., Aoshima, K., Kobayashi, A., and Kimura, T.
2. 発表標題 Analysis of the KDM2B-mediated Regulation of the Growth, Development, and Maintenance of Canine Hemangiosarcoma
3. 学会等名 第41回 日本分子生物学会, 横浜
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------