

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K07672

研究課題名(和文)新規がん遺伝子Zfp57による発がんの分子基盤の解析

研究課題名(英文)Analysis of the molecular basis of carcinogenesis by novel oncogene Zfp57

研究代表者

小出 寛(KOIDE, HIROSHI)

順天堂大学・大学院医学研究科・特任教授

研究者番号：70260536

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)：Zfp57が大腸がんの転移にも関与していることを見いだした。さらにZfp57の下流遺伝子としてPeg3を見いだした。Peg3のES細胞の足場非依存性増殖への関与を調べた結果、Peg3はES細胞の足場非依存性増殖を抑制する活性を持つことを見出した。次にPeg3の下流遺伝子の探索を行ったところ、Pclafを見いだした。PclafをES細胞において過剰発現するとES細胞の足場非依存性増殖が促進された。これらの結果から、Zfp57が足場非依存性増殖を促進するPclafの発現をPeg3の抑制を介して促進することによって、ES細胞の足場非依存性増殖を促進していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がんの治療における大きな問題として再発と転移がある。再発や転移は、抗がん剤や外科的手術でがん組織に存在する大半の細胞を取り除いても、がん組織内に残存した「がん幹細胞」が再び自己複製を行って増殖してしまうことが原因である。そのため、がん幹細胞の自己複製維持に関与している遺伝子を同定して自己複製を抑制する方法を見出せば、がん幹細胞による再発や転移を抑制できるはずである。本研究では、ES細胞を用いてそのような遺伝子を探索し、Zfp57やその下流遺伝子を見出した。これらの分子の活性を制御することができれば、がん幹細胞の自己複製を抑制できる可能性が期待される。

研究成果の概要(英文)：For the involvement of Zfp57 in metastasis, we found that Zfp57 promotes colorectal cancer metastasis. For molecular mechanism, we first identified Peg3 as a downstream gene of Zfp57, and showed that Peg3 inhibits anchorage-independent growth of ES cells. Furthermore, we searched for downstream genes of Peg3 and found Pclaf as a downstream gene of Peg3. Overexpression of Pclaf promoted anchorage-independent growth of ES cells. These results suggest that Zfp57 promotes anchorage-independent growth of ES cells by promoting the expression of Pclaf through repression of Peg3.

研究分野：がん、幹細胞

キーワード：がん遺伝子 ES細胞 足場非依存性増殖 Zfp57 Peg3

1. 研究開始当初の背景

日本における死亡原因第1位のがんの治療における大きな問題として「再発」と「転移」がある。再発や転移は、抗がん剤や外科的手術でがん組織に存在する大半の細胞を取り除いても、がん組織内に残存した「がん幹細胞」が再び自己複製を行い、足場非依存的に増殖してしまうことが原因である。そのため、がん幹細胞の自己複製維持に関与している遺伝子を同定して自己複製を抑制する方法を見出せば、がん幹細胞による再発や転移を抑制できるという研究アプローチが考えられる。

我々はがん幹細胞と良く似た性質を示すES細胞ががん幹細胞の自己複製維持遺伝子の単離に適している材料であると考えている(図1)。実際にES細胞に発現している遺伝子の中から新規のがん遺伝子の単離を試みた結果、Zfp57 (Zinc finger protein 57) の同定に成功した(Tada et al. 2015)。加えて、がん細胞株の腫瘍形成の促進、膵がんなど多くのヒトがん組織における過剰発現、正常細胞をがん化するというZfp57の特性も明らかにした。さらにZfp57ががん細胞のみならず、ES細胞の足場非依存性増殖も促進することを見出した。Zfp57はインプリンティングなどで重要な役割を果たす転写因子であり、他の研究グループによって膠芽腫におけるZfp57の発現量と悪性度が相関していることも報告されていた。

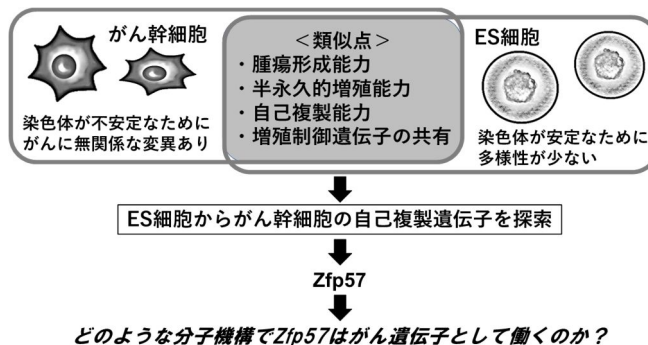


図1 本研究の概念図

2. 研究の目的

我々が見出した新規のがん遺伝子Zfp57と癌の関係をさらに詳細に解析した。まず、「再発」を引き起こす腫瘍形成の促進に働いているZfp57が「転移」にも関与しているかどうかを調べることを第一の目的とした。さらに第二の目的として、Zfp57による細胞がん化の分子機構の解明を試みた。Zfp57が転写因子であることから、まずZfp57の下流分子群を同定し、それらの機能解析を行うことによって、Zfp57がどのような下流分子の発現を調節して足場非依存的な増殖による腫瘍形成を促進するのかを明らかにすることを目的とした。そのために、本研究ではES細胞の足場非依存性増殖能を指標として用いて、解析を行った。

3. 研究の方法

(1) 癌転移におけるZfp57の関与

転移への関与に関しては、マウスの転移モデルを用いるin vivoの実験を用いて調べるとともに、ヒト臨床検体を組織染色することによって転移とZfp57の発現の相関を調べた。

(2) Zfp57による細胞がん化の分子機構の解析

細胞がん化の分子機構の解析に関しては、マイクロアレイ法、リアルタイムPCR法を用いてZfp57やその下流分子であるPeg3の下流分子を探索した。同定した下流分子については、その遺伝子をクローニングした後にES細胞において過剰発現させたり、ノックダウン法で発現抑制を行うことによって、ES細胞の足場非依存性増殖への関与を調べた。

4. 研究成果

(1) 癌転移におけるZfp57の関与

臨床検体を用いた大腸がんの原発巣、および転移巣におけるZfp57の発現解析や、マウスを用いた大腸がん細胞株の転移実験から、Zfp57が大腸がんの転移にも関与していることを明らかにした(図2)(Shoji et al. 2019)。

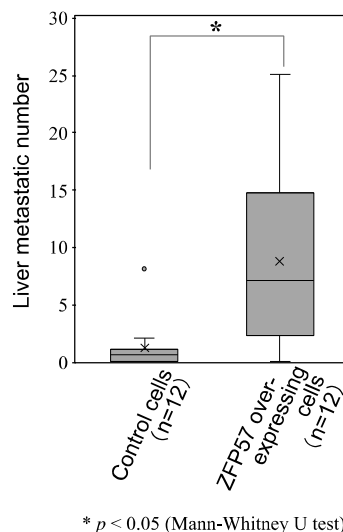


図2 Zfp57の過剰発現によって大腸がん細胞のモデルマウスにおける転移が促進される

(2) Zfp57による細胞癌化の分子機構の解析

まず Zfp57 がインプリンティングに関与しているという報告を元にインプリンティング遺伝子の中から Zfp57 の下流遺伝子を探索した結果、インプリンティング遺伝子 Peg3 (Paternally-expressed gene 3) を下流遺伝子として見いだした。Peg3 の ES 細胞の足場非依存性増殖への関与を調べた結果、この分子を過剰発現すると ES 細胞の足場非依存性増殖は抑制され(図3)、逆に発現を抑制すると ES 細胞の足場非依存性増殖が促進されることを見出した。このことから、Peg3 は ES 細胞の足場非依存性増殖を抑制する活性を持つことが示唆された。そのため、Zfp57 による ES 細胞の足場非依存性増殖の促進機構の1つとして、Peg3 の発現抑制があることが明らかとなった。

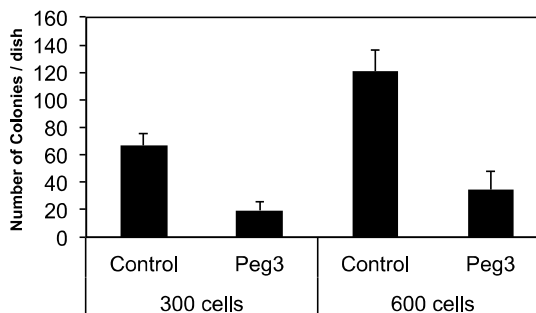


図3 Peg3の過剰発現によってES細胞の足場非依存性増殖が抑制される

Peg3 も転写因子であることから、Peg3 の下流遺伝子の探索をマイクロアレイ法を用いて行ったところ、Pclaf (PCNA clamp associated factor) を見いだした。ES 細胞において Peg3 を過剰発現すると Pclaf の発現が抑制され、逆に Peg3 の発現を抑制すると Pclaf の発現量は上昇した。このことから Peg3 は ES 細胞において Pclaf の発現を抑制していると思われる。Pclaf はいくつかのがんにおいてその増殖に関与していることが知られているが、Pclaf を ES 細胞において過剰発現すると ES 細胞の足場非依存性増殖が促進された。これらの結果から、Zfp57 が足場非依存性増殖を促進する Pclaf の発現を Peg3 の抑制を介して促進することによって、ES 細胞の足場非依存性増殖を促進している可能性が示唆された(図4)。

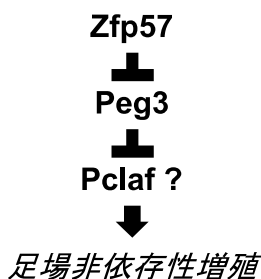


図4 Zfp57による足場非依存性増殖の促進機構(仮説)

< 引用文献 >

Tada, Y., Yamaguchi, Y., Kinjo, T., Song, X., Akagi, T., Takamura, H., Ohta, T., Yokota, T., and Koide, H. The stem cell transcription factor ZFP57 induces IGF2 expression to promote anchorage-independent growth in cancer cells. *Oncogene* 34, 752-760 (2015)

Shoji, Y., Takamura, H., Ninomiya, I., Fushida, S., Tada, Y., Yokota, T., Ohta, T., and Koide, H. The embryonic stem cell-specific transcription factor ZFP57 promotes liver metastasis of colorectal cancer. *J. Surg. Res.* 237, 22-29 (2019)

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Shoji Yasuhiro, Takamura Hiroyuki, Ninomiya Itasu, Fushida Sachio, Tada Yuhki, Yokota Takashi, Ohta Tetsuo, Koide Hiroshi	4. 巻 237
2. 論文標題 The Embryonic Stem Cell-Specific Transcription Factor ZFP57 Promotes Liver Metastasis of Colorectal Cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Surgical Research	6. 最初と最後の頁 22 ~ 29
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jss.2018.11.014	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 溝上優美、池上貴子、池田智美、服部浩一、Beate Heissig、小出 寛
2. 発表標題 ES細胞特異的遺伝子Zfp296による細胞のがん化
3. 学会等名 2021年度 日本生化学会 関東支部例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 溝上優美、池田智美、池上貴子、服部浩一、Beate Heissig、小出 寛
2. 発表標題 ES細胞に発現している転写因子Zfp296は細胞のがん化を引き起こす
3. 学会等名 第94回日本生化学大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

研究基盤センター 共同研究・研修室 ()
https://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/lab/kyodo_kenkyu_kensyu/k4.html

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
研究協力者	高村 博之 (Takamura Hiroyuki)	金沢医科大学 (33303)	
研究協力者	池田 智美 (Ikeda Tomomi)	順天堂大学 (32620)	
研究協力者	池上 貴子 (Ikegami Takako)	順天堂大学 (32620)	

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
---------	---------