

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07675

研究課題名（和文）がんと概日リズムの関連から同定した新規がん制御機構の解析

研究課題名（英文）Analysis of cancer control mechanisms 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） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：がんの新しい分子標的薬を開発するために、がんと概日リズムという新たな関連を題材とすることにより、これまでに無い視点からのがん制御機構の同定を目指している。本研究では、これまでに同定してきた概日リズムと主要ながん抑制遺伝子RBとの新たな関連を基盤として用い、RB依存的な腫瘍形成にヘムが関わる可能性を同定した。また、RBによる新規がん制御機構の可能性を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がんの新しい分子標的薬を開発するために、がんと概日リズムという新たな関連を題材とすることにより、これまでに無い視点からのがん制御機構の同定を目指している。本研究では、これまでに同定してきた概日リズムとがん抑制遺伝子RBとの新たな関連を基盤として用い、RBによる新規がん制御機構の可能性を同定した。この結果を詳細に検討していくことで、がんの新しい分子標的に繋がることが期待できる。

研究成果の概要（英文）：We aim to develop new molecular-targeted drugs for cancer. Our approach is to understand cancer regulatory mechanisms from an unprecedented perspective by focusing on the novel association between cancer and circadian rhythms. In this study, we identified a potential novel cancer control mechanism by RB, using the new association between circadian rhythms and the tumor suppressor gene RB that we have previously identified as a basis. We think that detailed investigation of these results is expected to lead to new molecular targets for cancer.

研究分野：がん

キーワード：がん 概日リズム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

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。報告者らは、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、がんと概日リズムの分子的なクロストークを解明することで、今までとは異なる新

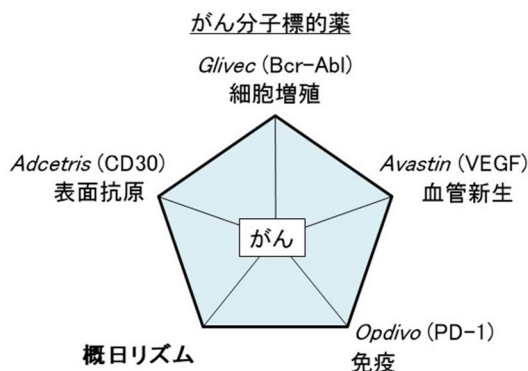


図1. 本研究の着想。概日リズムとがんの関連に着目し、新規薬剤のデザインに繋げる。本申請では、概日リズムとがん抑制遺伝子との関連より明らかになったRBとヘムのクロストークが、どの程度RBIによるがん抑制経路(細胞周期、代謝等)に関わるかを明らかにする。

たながん制御経路を見出し、新規薬剤標的の同定に繋げることを目指している(図1)。

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。そこで報告者らは、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いう仮説を立て、検証した。その結果、これまでにがん抑制遺伝子 p53 と PML が概日リズムの制御因子であることを明らかにしてきた(三木ら、EMBO J 2012、Nat Commun 2013、J. Circadian Rhythm 2013、Sci. Rep.2016)。これらの結果は、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。ここで、PML に関して以下のような重要な2つの知見がある。

- (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。

上記2つの知見から、報告者らは、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たて、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、がん抑制遺伝子 Rb の概日リズム制御機構の解析を行った。最近報告者らは、RB タンパク質が PER2 へのヘム結合を制御することにより概日リズム制御に関与しているという新たな知見を得た(論文投稿中)。そこで本申請研究では、RB によるヘム制御機構がほかの RB 標的タンパク質の制御もヘムを介して行っている可能性を検討した。

2. 研究の目的

本研究では、概日リズムの制御因子としてのヘムに着目した。これまでの報告で、ヘムタンパク質の補欠分子族であるヘムは概日リズム遺伝子 PER2 や REV-ERBs のリガンドとなりその活性を制御することが報告されている。最近報告者らは、がん抑制遺伝子 Rb の欠損マウスでは PER2 のヘム結合が過剰となり、概日リズムが異常となることを見出した。この結果は、Rb が標的とヘムの結合を変化させることで標的の機能を制御することを示唆している。そこで報告者らは、Rb によるヘム制御が、これまで報告されている Rb による細胞周期や細胞分化、代謝といった標的制御機構にどれほど寄与しているかを、網羅的遺伝子発現解析法(CAGE 法)を用いて検討した。その結果、Rb 経路の約3割がヘムを介して制御されている可能性を示唆するデータを得た。そこで本研究では、CAGE 法により得られた網羅的結果を詳細に解析し、Rb によるヘムを介した標的制御経路を同定し、がんの創薬につなげることを目的とし、研究を推進している。

3. 研究の方法

上述した CAGE 解析の結果は、がんでよく見られるような Rb 欠損による表現型の一部がヘム制御異常を介して生じている可能性を示唆しており、新規標的経路を探索するための良い系であると考えられる。現在までに表現型の解析として、細胞の解糖系経路がヘムと RB により制御を受けている可能性を検討してきた。しかし、培養細胞を用いた系では、明らかなヘムと RB の関わりを示す結果は得られなかった。そこで報告者らはマウスを用いた実験系を用いて RB とヘムが関連する系の樹立を行った。まず、肝臓特異的 Albumin-Cre マウスと Rb flox マウスを交配させ、Albumin-Cre;Rbflox マウスを得た。これらのマウスにヘム経路の阻害剤である Cobalt protoporphyrin IX(CoPP)を腹腔内投与した。その後24時間後に肝臓の carcinogen として広く使用されている Diethylnitrosamine(DEN)を腹腔内投与し、DEN 投与後24時間後に肝臓を回収した。肝臓から mRNA を回収し、qPCR により遺伝子発現を CoPP と RB の有無で比較したところ、RB 欠損による遺伝子変化が CoPP によりレスキューされている遺伝子群を得ることができた。

4. 研究成果

現在までに、マウスを用いた in vivo の系により、RB 依存的にがんが形成される条件において、RB とヘム経路との関連を見出した。また、RB 依存的にヘム結合が変化する新たな標的候補を得た。この結果は、新規のがん制御機構の解明につながると期待する。

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 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Noda Kazuo, Kitagawa Kaori, Miki Takao, Horiguchi Masahito, Akama Tomoya O., Taniguchi Takako, Taniguchi Hisaaki, Takahashi Kazuaki, Ogra Yasumitsu, Mecham Robert P., Terajima Masahiko, Yamauchi Mitsuo, Nakamura Tomoyuki	4. 巻 6
2. 論文標題 A matricellular protein fibulin-4 is essential for the activation of lysyl oxidase	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eabc1404 ~ 1404
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.abc1404	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 該当する

1. 著者名 Li Huiping, Miki Takao, Almeida Glicia Maria de, Hanashima Carina, Matsuzaki Tomoko, Kuo Calvin J., Watanabe Naoki, Noda Makoto	4. 巻 19
2. 論文標題 RECK in Neural Precursor Cells Plays a Critical Role in Mouse Forebrain Angiogenesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 559 ~ 571
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2019.08.009	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 該当する

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 三木貴雄、高橋智聡、野田亮
2. 発表標題 Involvement of retinoblastoma protein in circadian clock regulation
3. 学会等名 日本癌学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

ホームページ

<http://www.kmu.ac.jp/faculty/medical/category2/unit6.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	中邨 智之 (NAKAMURA Tomoyuki)		
研究協力者	野田 亮 (NODA Makoto)		
研究協力者	高橋 智聡 (TAKAHASHI Chiaki)		

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