

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：72602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07702

研究課題名(和文) MIT/TFEファミリー変異がんにおけるエンハンサーリプログラミングの意義

研究課題名(英文) The role of enhancer reprogramming in MIT/TFE family tumor

研究代表者

田中 美和 (TANAKA, Miwa)

公益財団法人がん研究会・がん研究所 がんエピゲノムプロジェクト・主任研究員

研究者番号：70345883

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)：胞巣状軟部肉腫(ASPS)は全症例で融合遺伝子(ASPL-TFE3: AT3)の形成があり、これが発症原因である。AT3とスーパーエンハンサー(SE)との特異的な相互作用、特にASPSの特徴である血管形成機構を明らかにすることで、発がんや血管新生の責任分子を標的とした治療法開発のシーズ獲得を目指した。具体的には、CRISPRエピゲノムスクリーニングにより、AT3が制御する発がんに必要なSEとその標的遺伝子を同定し、それらがASPSの発症や血管形成、転移においてどのような役割を担っているのかをマウスモデルとマイクロ流体デバイスを用いて解析を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胞巣状軟部肉腫(ASPS)の生体内での維持と転移には、腫瘍と血管の密接な相互作用が不可欠であるが、既存の抗がん剤の効果が乏しいことから、ASPSでの血管形成機構の解明が治療開発に最重要であると考えた。本研究課題の成果により治療標的を見出した。現在は創薬シーズの獲得に向けて研究を推進している。

研究成果の概要(英文)：Alveolar soft part sarcoma (ASPS) occurs mostly in young adults with frequent hematogenous metastasis even at the initial diagnosis. This goal is to clarify the specific interaction between ASPL-TFE3 (AT3) and super-enhancer (SE), especially the angiogenesis mechanism that is characteristic of ASPS, and to develop therapeutics targeting molecules responsible for carcinogenesis and angiogenesis.

We identified SEs essential for AT3-controlled tumorigenesis and their target genes by CRISPR epigenome screening. Moreover, we used our mouse models and microfluidic devices to determine their role in the development and angiogenesis of ASPS.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：骨軟部腫瘍 融合遺伝子 スーパーエンハンサー 血管新生 MIT/TFEファミリー マウスモデル マイクロデバイス ASPL-TFE3

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、研究者個人に帰属します。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

MIT/TFE ファミリー(TFE3、TFEB、TFEC、MITF)は bHLH 型転写因子であり、ファミリー分子の変異や過剰発現は胞巣状軟部肉腫(ASPS)や腎細胞がん、悪性黒色腫の引き金となる。ASPS では、ほぼ全症例で ASPL-TFE3(AT3)融合遺伝子が認められ、これがドミナントドライバーとして機能すると考えられている。ASPS は主に AYA 世代に発生する高転移性のがんである。ASPS の生体内での維持と転移には、腫瘍と血管の密接な相互作用が不可欠であるが、既存の抗がん剤の効果が乏しいことから、ASPS での血管形成機構の解明が治療開発に最重要であると考え、研究を開始した。

### 2. 研究の目的

本研究課題の目的は、MIT/TFE ファミリー変異がん(胞巣状軟部肉腫(ASPS)、腎細胞がん(RCC)、悪性黒色腫)を対象疾患とし、先進的エピゲノムランドスケープ解析を行うことにより、ファミリー分子の変異によって生じるエンハンサーリプログラミングと発がん機構を明らかにすることである。

### 3. 研究の方法

ASPS は全症例で融合遺伝子(ASPL-TFE3: AT3)の形成があり、これが発症原因である。これまでの我々の研究から、ASPS の血管新生はペリサイトを裏打ちしており、一般的ながんの血管新生とは異なること、AT3 の発現を抑制すると造腫瘍能を完全に失うこと、AT3 の発現が血管関連遺伝子を制御するスーパーエンハンサー(SE)の形成に深く関わる結果を得ている。このことから、血管形成を規定する SE の同定とその標的遺伝子の発現抑制が治療開発に繋がると考えている。

そこで、AT3 とエンハンサーとの特異的な相互作用、特に ASPS の特徴である血管形成機構を明らかにすることで、発がんや血管新生の責任分子を標的とした治療法開発のシーズ獲得を目指した。具体的には、CRISPR エピゲノムスクリーニングにより、AT3 が制御する発がんに必要な SE とその標的遺伝子を同定し、それらが ASPS の発症や血管形成、転移においてどのような役割を担っているのかをマウスモデルとマイクロ流体デバイスを用いて解析を行った。

### 4. 研究成果

1. CRISPR-dCas9 スクリーニングにより血管形成を規定する SE 及び標的遺伝子を同定  
原因融合遺伝子 ASPL-TFE3 (AT3)を欠如した ASPS 細胞では、約 500 のスーパーエンハンサー(SE)が消失または縮小する。そこで、AT3 の有無により変化する SE に対して sgRNA ライブラリーを設計し、CRISPR/dCas9-KRAB を用いてエピゲノムスクリーニングを行い、血管形成に必要な SE を *in vivo* の腫瘍形成を指標として SE を同定し、その標的遺伝子 7 つを抽出した。

2. モデルマウスとマイクロ流体デバイスで発がんや血管形成の責任遺伝子を評価

1で抽出した発がんに必要な SE の標的遺伝子について、我々が開発したマウスモデルで検証を進めた。遺伝子ノックアウトした ASPS 細胞をマウスに移植して腫瘍形成、血管新生、転移能を評価した。さらに、同定した SE とその標的遺伝子は、腫瘍形成や血管新生の鍵となる分泌蛋白質の輸送に関わっていることが示唆された。

並行して、SE 標的遺伝子の生物学的機能と血管新生能をマイクロ流体デバイスを用いた 3次元培養

系で評価を進め、遺伝子ロックアウトした ASPS 細胞の血管形成能を定量的に評価するとともに、阻害剤のスクリーニングに対応するハイスループット化に向けたデバイスの改良は今後の課題である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 8件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Tanaka Miwa, Chuaychob Surachada, Homme Mizuki, Yamazaki Yukari, Lyu Ruyin, Yamashita Kyoko, Ae Keisuke, Matsumoto Seiichi, Maruyama Reo, Qu Wei, Miyagi Yohei, Yokokawa Ryuji, Nakamura Takuro	4. 巻 1
2. 論文標題 ASPSR1-TFE3 orchestrates the angiogenic program of alveolar soft part sarcoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Research Square	6. 最初と最後の頁 1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21203/rs.3.rs-1144566/v1	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 Kameda Yoshikazu, Chuaychob Surachada, Tanaka Miwa, Liu Yang, Okada Ryu, Fujimoto Kazuya, Nakamura Takuro, Yokokawa Ryuji	4. 巻 22
2. 論文標題 Three-dimensional tissue model in direct contact with an on-chip vascular bed enabled by removable membranes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Lab on a Chip	6. 最初と最後の頁 641 ~ 651
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d1lc00751c	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 -

1. 著者名 Yoshino Seiko, Tanaka Miwa, Sunami Yoshitaka, Takahara Tomoko, Yamazaki Yukari, Homme Mizuki, Niibori-Nambu Akiko, Osato Motomi, Minami Takashi, Ishihara Keiichi, Nakamura Takuro	4. 巻 36
2. 論文標題 Trib1 promotes the development of acute myeloid leukemia in a Ts1Cje mouse model of Down syndrome	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Leukemia	6. 最初と最後の頁 558 ~ 561
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41375-021-01384-1	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 -

1. 著者名 Tanaka Miwa, Nakamura Takuro	4. 巻 71
2. 論文標題 Modeling fusion gene associated sarcoma: Advantages for understanding sarcoma biology and pathology	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pathology International	6. 最初と最後の頁 643 ~ 654
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pin.13142	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 -

1. 著者名 Miwa Tanaka, Mizuki Homme, Yukari Yamazaki, Keisuke Ae, Seiichi Matsumoto, Subbaya Subramanian, Takuro Nakamura	4. 巻 12(2)
2. 論文標題 Cooperation between SS18-SSX1 and miR-214 in Synovial Sarcoma Development and Progression	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 324
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers12020324	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

1. 著者名 Yasuyo Teramura, Miwa Tanaka, Yukari Yamazaki, Kyoko Yamashita, Yutaka Takazawa, Keisuke Ae, Seiichi Matsumoto, Takayuki Nakayama, Takao Kaneko, Yoshiro Musha, Takuro Nakamura	4. 巻 12(9)
2. 論文標題 Identification of Novel Fusion Genes in Bone and Soft Tissue Sarcoma and Their Implication in the Generation of a Mouse Model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 2345
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers12092345	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 -

1. 著者名 Miwa Tanaka, Takuro Nakamura	4. 巻 2226
2. 論文標題 Genetically Engineered Mouse Model in Ewing Sarcoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Methods Mol Biol	6. 最初と最後の頁 183-189
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-1020-6_14	査読の有無 無
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

1. 著者名 田中美和、中村卓郎	4. 巻 92(6)
2. 論文標題 ミニレビュー：融合遺伝子特異的な骨軟部肉腫の誘導	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 827-832
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 Tanaka M, Homme M, Yamazaki Y, Ae K, Matsumoto S, Subramanian S, Nakamura T	4. 巻 12(2)
2. 論文標題 Cooperation between SS18-SSX1 and miR-214 in Synovial Sarcoma Development and Progression.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 324
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers12020324	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

1. 著者名 Tanaka M and Nakamura T	4. 巻 -
2. 論文標題 Genetically Engineered mouse model in Ewing sarcoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pathol Int.Methods in Molecular Biology	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) なし	査読の有無 無
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 Teramura Y, Yamazaki Y, Tanaka M, Sugiura Y, Takazawa Y, Takeuchi K, Nakayama T, Kaneko T, Musha Y, Funauchi Y, Ae K, Matsumoto S, Nakamura T	4. 巻 69(12)
2. 論文標題 Case of mesenchymal tumor with the PPP6R3-USP6 fusion, possible nodular fasciitis with malignant transformation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pathol Int.	6. 最初と最後の頁 706-709
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pin.12851	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 Supakul S, Yao K, Ochi H, Shimada T, Hashimoto K, Sunamura S, Mabuchi Y, Tanaka M, Akazawa C, Nakamura T, Okawa A, Takeda S, Sato S	4. 巻 20(5)
2. 論文標題 Pericytes as a Source of Osteogenic Cells in Bone Fracture Healing	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 1079
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20051079	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8件（うち招待講演 6件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田中美和, 中村卓郎
2. 発表標題 骨軟部腫瘍の特性を規定するスーパーエンハンサー
3. 学会等名 第110回日本病理学会総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中美和, 中村卓郎
2. 発表標題 肉腫の血管形成における融合遺伝子とスーパーエンハンサーの相互作用
3. 学会等名 先端モデル動物支援2021年度若手支援技術講習会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中美和, 寺村易予, 本目みずき, 中村卓郎
2. 発表標題 間葉性軟骨肉腫の発症におけるHEY1-NC0A2をコアとした転写プログラムの重要性
3. 学会等名 2021年度 先端モデル動物支援プラットフォーム成果発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中美和, 本目みずき, 寺村易予, 清水六花, 松本良江, 山崎ゆかり, 中村卓郎
2. 発表標題 胞巣状軟部肉腫と腎細胞がんにおけるASPL-TFE3の意義
3. 学会等名 第109回日本病理学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中美和、中村卓郎
2. 発表標題 がんの血管形成を制御するエピゲノムの特性
3. 学会等名 がん予防学術大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中美和、中村卓郎
2. 発表標題 骨・軟部腫瘍の発症と腫瘍の特性を規定する融合遺伝子の役割
3. 学会等名 第35回日本整形外科学会基礎学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中美和、中村卓郎
2. 発表標題 Modeling sarcoma to clarify enhancer reprogramming in disease progression
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中美和、中村卓郎
2. 発表標題 モデル化が明らかにする小児・AYA世代の骨軟部肉腫の病態と治療応用
3. 学会等名 第62回小児血液・がん学会（招待講演）
4. 発表年 2020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
---------	---------