

自己評価報告書

平成 23 年 4 月 25 日現在

機関番号：82401
研究種目：基盤研究(S)
研究期間：2008～2012
課題番号：20229005
研究課題名(和文) High throughput sequencerによる癌のエピゲノーム解析
研究課題名(英文) Analysis of Methylome of Cancer by high throughput sequencer
研究代表者
西川 伸一 (NISHIKAWA SHINICHI)
独立行政法人理化学研究所・幹細胞研究グループ・グループディレクター
研究者番号：60127115

研究分野：医歯化学

科研費の分科・細目：基礎医学・病態医科

キーワード：MDS、メチローム、ゲノムワイド、メチル化阻害剤

1. 研究計画の概要

基礎・臨床が協力して骨髄異形成症候群(MDS)および悪性黒色腫のメチル化DNA部位を全ゲノムレベル(メチローム)で解析し、MDS発症過程でメチル化によりサイレンシングされ、また治療により脱メチル化される遺伝子をリストし、治療の困難なMDSの発症過程を明らかにする。現在、ヒトMDS細胞株を用いたモデル治療実験の解析が終わり、選択的に脱メチル化される120種類の遺伝子のリストを作成したところである。今後、脱メチル化剤が著効を示した患者さんのMDS細胞を対象を広げてメチローム解析を行い、MDS発症にかかわる分子を明らかにする。

2. 研究の進捗状況

モデルとして利用したヒトMDS細胞株をAZ, DCなど脱メチル化剤で処理すると、約120遺伝子が両剤共通の処理によりメチル化が外れ、その結果として、遺伝子発現が上昇した。このような挙動を示す遺伝子の中に、MDSの発症にかかわる遺伝子が存在すると考えられる。次に、薬剤処理にも関わらずメチル化パターンに全く変化がない遺伝子群が存在する。これらは、生殖細胞で未発現されるNanog, Octなどの遺伝子、インプリンティング遺伝子などが含まれる。即ち、これらの遺伝子は脱メチル化剤でメチル基が失われてもすぐにde novoのメチル化により元に戻される遺伝子と考えている。これら以外に、メチル基が外れるものの転写が上昇しない遺伝子、或いは転写は上昇するが、メチル化されたままの遺伝子も多く存在する。なぜこのような遺伝子群が存在するのかについては、ここで示した解析が

high density CpG islandに限られているためと考えられる。この問題に何らかの回答を得るためには、全ゲノムタイリングアレーを用いた解析が必要で、現在分析を進めている。

脱メチル化され、発現も上昇する遺伝子の代表30についてリストすると、TNF, JUN, CXCR4, IMAGE:3838859, CLC.CCL4, TyroBP, APOC2, HLA-DPA, HLA-DRA, HLA-DPB, MTAP44, TRPM4, SERPINA1, IL1B, S100P, SGK, BTG2, CRIP1, UCHL1, IFI6, エンcc13, LGALS3エンb, IFIT2, IFITM1, AF1q, IL8, IFIT1, KLHDC7B, MX1となった。

3. 現在までの達成度

③やや遅れている

モデル細胞についての研究は順調であり、シークエンスベースでの解析からアレーベースのCHARM法に変更した以外は予想以上の結果を得ている。しかし、患者さん由来白血病細胞を用いた研究は大きく遅れている。

この研究を計画した時は、特に高齢者の治療が困難であったMDS以外にも脱メチル化剤が効く可能性が示唆された時で、MDS治療薬としてアザシチジン、デシタピンが諸外国では治験が終わり、効果の最終解析が進みつつある時であった。この期待を受けて、我が国でもアザシチジンは日本新薬、デシタピンはヤンセンファーマ、エーザイが認可に向け動いていた。両剤を比べたとき、DNA脱メチル化という点では

デシタピンの方が特異性が高いことから、この研究をデシタピンの治験に合わせて進めることにし、第一相試験で安全性が確認された時点で、エーザイより薬剤の提供を受け医師主導の臨床研究として進めるよう計画を立てた。第一相試験で期待通り安全性が確認されたものの、諸外国での第三相試験の解析結果からデシタピンの効果がないと判定され、臨床材料を用いた研究の再検討を余儀なくされた。幸い、アザシチジンは効果があると判定され、本年4月よりMD S 保険適応の薬剤として利用可能になった。これを受けて、症例数の多い長崎大学宮崎内科と共同研究を行うことで必要な患者さんのリクルートを行い、この遅れを取り戻す予定にしている。

4. 今後の研究の推進方策

(1) 患者さんの資料については、できれば2-4人の解析を行いたいと考えている。方法については、モデル細胞で行ったのと同じで、MD S 細胞をFACSなどで純化し、DNA, RNAを調整する。

(2) あとはこれまでと全く同じようにメチロームと発現遺伝子のアレーによる解析を行う。

(3) モデル実験で、アザシチジンにより選択的に脱メチル化され、発現も上昇する遺伝子について、アレーを作成し、MD S 診断に役立つかどうか調べる。

(4) MD S 発症にかかわると考えられる遺伝子が見つかった場合は、血液幹細胞に導入し腫瘍誘導性を検討する。

以上の実験を粛々と進める予定である。では、MD S 発症に関わり治療の標的分子をどれだけ明らかにできるかについては、現在予想することは困難だと思っている。即ち、ゲノムワイドな解析をなぜ白血病が出来るのかという実験血液学でバックアップするには、更に長期にわたる研究が必要である。実際、白血病化に関わるとして明らかにされた遺伝子の多くが、10年以上たった後も研究され続けている。ただ、我々のミッションとして、臨床ではなかなか利用できないゲノムワイドな研究手法を用いた研究を、一般臨床へと橋渡しすることであるから、候補遺伝子の診断アレーなど、最終的に臨床に使いやすい形に成果を転換することが重要であると考えている。

5. 代表的な研究成果(各5件ほど)

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計5件) ただ、この課題についての論文はまだまとまっていない。

1. Egawa G, Osawa M, Uemura A, Miyachi Y,

Nishikawa S. Transient expression of ephrin b2 in perinatal skin is required for maintenance of keratinocyte homeostasis. *J Invest Dermatol* 129: 2386-95 2009. 査読:有

2. Eilken HM, Nishikawa S, Schroeder T. Continuous single-cell imaging of blood generation from haemogenic endothelium. *Nature* 457: 896-900 2009. 査読:有

3. Kinoshita M, Era T, Jakt LM, Nishikawa S. The novel protein kinase Vlk is essential for stromal function of mesenchymal cells. *Development* 136: 2069-79 2009. 査読:有

4. Freter R, Osawa M, Nishikawa S. Adult stem cells exhibit global suppression of RNA polymeraseII serine-2 phosphorylation. *Stem Cells* 28: 1571-80 2010. 査読:有

5. Kamiya D, Banno S, Sasai N, Ohgushi M, Inomata H, Watanabe K, Kawada M, Yakura R, Kiyonari H, Nakao K, Jakt LM, Nishikawa S, Sasai Y. Intrinsic transition of embryonic stem-cell differentiation into neural progenitors. *Nature* 470: 503-9 2010. 査読:有

[学会発表] 国外からの招待講演のみ (計5件)

1. Shinichi Nishikawa, Constructing hematopoietic stem cells, Embo Conference, Advances in Stem Cell Research: Stem Cells meet Systems and Synthetic Biology, Cambridge, 2009. 6. 17,

2. Shinichi Nishikawa, CSH Laboratory meeting: Control and Regulation of Stem Cells, 2009. 9. 22-26, New York

3. Shinichi Nishikawa, The pathway of hematopoietic stem cell development explained, Annual Congress of the European Society of Gene and Cell Therapy (ESGCT), Hannover, 2009. 11. 21,

4. Shinichi Nishikawa, Development of hematopoietic stem cells in vitro and in vivo, Keystone Symposium, 2010. 2. 18, Keystone

5. Shinichi Nishikawa, Development of hematopoietic stem cell explained, Nobel Symposium, 2010. 4. 14, Stockholm,

[図書] (計1件)

シンシアフォックス著:西川伸一監訳, 一灯社, 幹細胞 WARS, 2009年, 662 ページ

[その他]

2011年度国際色素細胞学会 Myron Gordon 賞 ZA Malek, R. Halaban と共同受賞