

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2020～2021

課題番号：20K21545

研究課題名(和文)染色体融合可視化システムで挑む上皮性腫瘍の高頻度発生メカニズムの解明

研究課題名(英文)The fate of a single sister chromatid fusion during epithelial-to-mesenchymal transition

研究代表者

林 眞理 (Hayashi, Makoto)

京都大学・医学研究科・客員准教授

研究者番号：90761099

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究計画では、なぜヒト上皮細胞が他の細胞種と比較してがん化しやすいのかという「問い」に、独自に開発した「染色体融合可視化システム」で挑戦した。その結果、単一の姉妹染色分体融合が引き起こす細胞運命が、同じ遺伝的背景を持つ上皮細胞と間葉細胞間で異なり、間葉細胞では細胞死が多く引き起こされることが分かった。このことが、上皮細胞ががん化しやすいことの分子メカニズムの一端である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、細胞のがん化過程の理解、特にがん細胞の由来となる細胞種に、生物種によって偏りがあるメカニズムの理解を目指した基礎研究である。細胞のがん化には、遺伝情報を司る染色体の融合が関与するため、染色体融合に対する応答が、各種の細胞間で異なっているのではないかと仮説を立て、この検証を目指した。本研究成果を端緒として、細胞がん化の理解が進むことにより、がんの予防や早期発見、新たな治療法の確立などに繋がる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：In this research project, we asked why human epithelial cells are more prone to cancer than other cell types. To address this question, we utilized our originally developed chromosome fusion visualization (FuVis) system. We found that the cell fate induced by a single sister chromatid fusion differs between epithelial cells and mesenchymal cells with the same genetic background, and that cell death is induced more frequently in mesenchymal cells. This may be one of the molecular mechanisms underlying the susceptibility of epithelial cells to cancer.

研究分野：分子細胞生物学

キーワード：上皮間葉転換 染色体融合 がん

1. 研究開始当初の背景

我々の体は非常に多種の細胞から構築されているが、80%以上のがん細胞は上皮細胞由来である。また上皮細胞由来のがん細胞は、転移する際に、間葉細胞へと変化(EMT: Epithelial-to-Mesenchymal Transition)することが知られており、各細胞種と、細胞のがん化、がんの悪性化には密接な関係が存在する。しかしながら、なぜ上皮細胞が他の細胞種と比較してがん化しやすいのか、そのメカニズムは未だに明らかでない。教科書などで散見する仮説では、上皮細胞が変異源に曝されやすいことや、分裂回数が多く複製エラーが蓄積しやすいことなどを原因としている。しかし、マウスで自然発生するがん細胞は、ヒトとは逆にほとんどが間葉細胞由来であり、これらのモデルだけではうまく説明できない。この科学的「問い」に、独自に開発した萌芽期の新たなアプローチ「染色体融合可視化システム」で挑戦し、細胞のがん化頻度に関する新たな仮説の立証を目指した。

2. 研究の目的

異なる細胞種間、特に遺伝的背景が同一の上皮細胞と間葉細胞において、染色体融合が、細胞に与える影響を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

FuVis-XpSIS システムでは、特殊な人工配列を X 染色体短腕のテロメア近傍に挿入することで、姉妹染色分体融合(XpSISter chromatid fusion)と、YFP の発現を同時に引き起こし、1つの姉妹染色分体融合を持つ細胞を可視化できる(図1)。我々はこれまでに、DNA 改変が比較的容易ながん細胞 HCT116 を用いて FuVis-XpSIS の構築に成功した(引用1)。この系は、これまで不可能であった、特定の姉妹染色分体融合を持った細胞の生細胞観察を

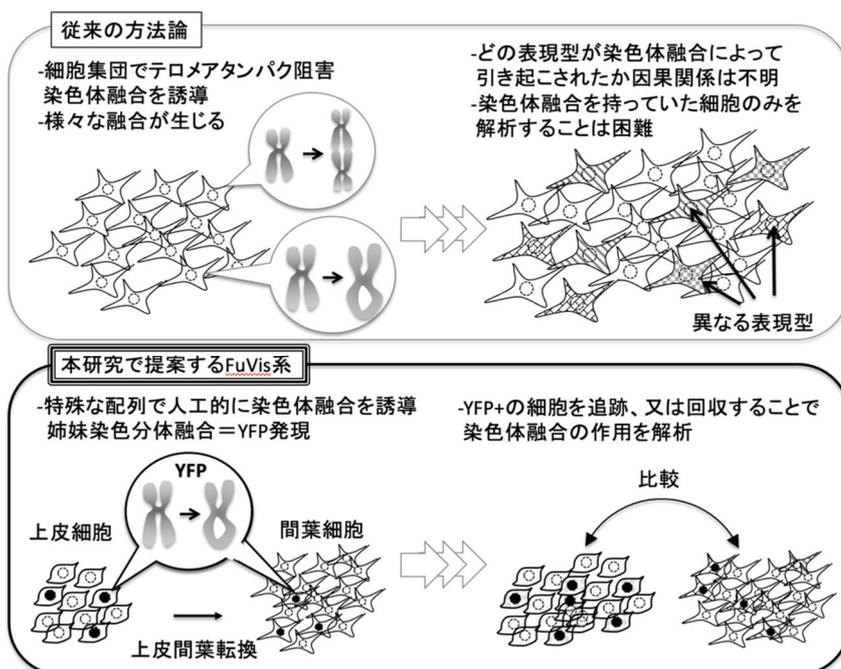


図1 これまでの研究手法とFuVisの比較

可能にするという画期的なシステムである。本 FuVis-XpSIS を用いて、上皮間葉転換前後の細胞における姉妹染色分体融合の運命を解析した。

4. 研究成果

初年度においては、当初の計画に従い、正常ヒト乳腺上皮細胞（HMEC）において、FuVisの構築に取り組んだ。最先端の遺伝子導入技術を応用し、単一の姉妹染色分体融合を蛍光タンパク質の発現として検出することを可能とする人工DNA配列を、X染色体短腕のサブテロメアに導入することを試みた。しかしながら、HMECの遺伝子組換え効率が著しく悪いせいか、期待される遺伝子導入細胞は得られなかった。そこで、計画を微調整し、すでにFuVisとして構築した上皮細胞由来のヒト結腸腺がんHCT116を応用した。HCT116細胞において、炎症性サイトカインであるIL-1 β やTNF- α によって上皮細胞から間葉細胞への変化（上皮間葉転換：EMT）を引き起こせるという報告が2019年になされた（引用2）。そこで、EMT下で活性化されるプロモーターの下流に赤色蛍光タンパク質を配置したレポーター遺伝子をHCT116FuVis細胞に導入した（図2A）。

この細胞では、IL-1 β 及びTNF- α による刺激で、赤色タンパク質が発現することを確認した（図2B, C）。このレポーターFuVis細胞を用いて、EMTを誘導する前後において、単一の姉妹染色分体融合が引き起こす細胞運命を解析した。その結果、EMT前後のHCT116細胞において、単一の姉妹染色分体融合に対する応答が異なることを発見した。重要なことに、EMT前後の細胞は同じ遺伝的背景の細胞に由来しているため、応答の変化は遺伝的な相違によるものではなく、姉妹染色分体融合への応答が細胞種によって変化したことを強く示唆している。この発見は、本研究計画において検証を目指した「染色体融合の運命が、細胞の種類によって異なる」という仮説を支持している。また、間葉細胞に転換した細胞の染色体融合への応答が細胞死であったことから、上皮細胞が他の細胞種と比較してがん化しやすいことと矛盾しない結果となっており、示唆に富んだ結果を得ることができた。

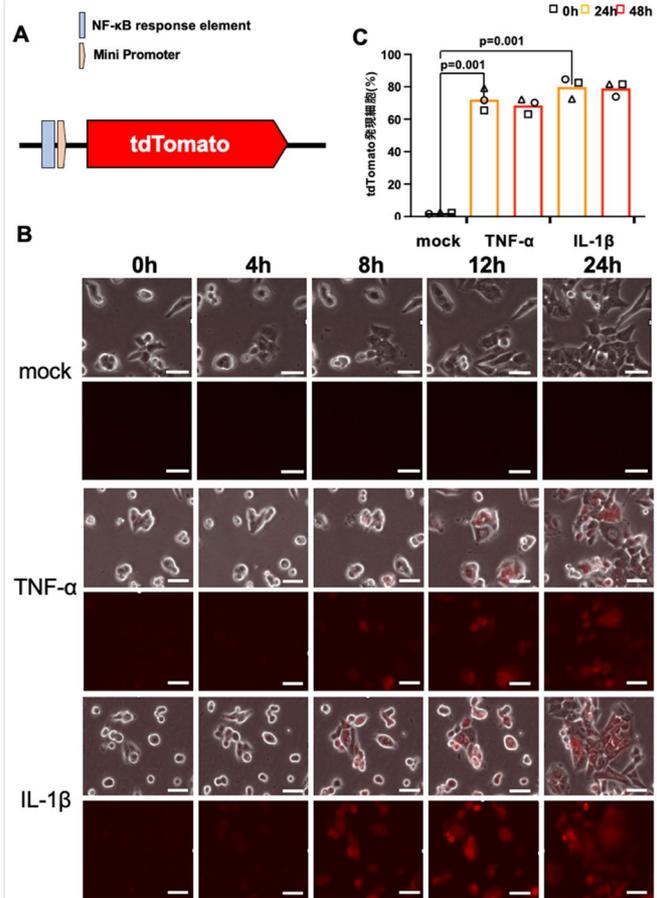


図2 EMT 応答レポーター細胞の作成

このように単一の姉妹染色分体融合の運命を厳密に解析できる細胞系は我々独自のものであり、上皮間葉転換の前後において、単一の姉妹染色分体融合の運命を解析した前例は国内外において皆無である。間葉細胞において、姉妹染色分体融合後に起きる細胞死は、有糸分裂後に生じていることが分かったため、今後は細胞死がどのような分子経路によって引き起こされているのかの解析へと研究を展開することができる。

1. Kagaya K, Noma-Takayasu N, Yamamoto I, Tashiro S, Ishikawa F & Hayashi MT (2020) Chromosome instability induced by a single defined sister chromatid fusion. *Life Science Alliance* 3: e202000911-15

2. Ieda T, Tazawa H, Okabayashi H, Yano S, Shigeyasu K, Kuroda S, Ohara T, Noma K, Kishimoto H, Nishizaki M, *et al* (2019) Visualization of epithelial-mesenchymal transition in an inflammatory microenvironment-colorectal cancer network. *Scientific reports* 9: 1-11

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 1件）

| | |
|---|-----------------|
| 1. 著者名 Kagaya Katsushi, Noma-Takayasu Naoto, Yamamoto Io, Tashiro Sanki, Ishikawa Fuyuki, Hayashi Makoto T | 4. 巻 3 |
| 2. 論文標題 Chromosome instability induced by a single defined sister chromatid fusion | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Life Science Alliance | 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） 10.26508/lisa.202000911 | 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2件（うち招待講演 2件/うち国際学会 0件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 林真理, 加賀谷勝史 |
| 2. 発表標題 染色体融合可視化システムによる単一姉妹染色分体融合の運命解析 |
| 3. 学会等名 日本人類遺伝学回第65回大会（招待講演） |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 林真理, 加賀谷勝史 |
| 2. 発表標題 染色体融合可視化システムによる単一姉妹染色分体融合の運命解析 |
| 3. 学会等名 日本遺伝学会第93回大会（招待講演） |
| 4. 発表年 2021年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

研究室ホームページ

<https://www.mthayashilab.com/>

https://www.med.kyoto-u.ac.jp/organization-staff/research/doctoral_course/r-192/

<https://www.ifom.eu/en/cancer-research/researchers/makoto-hayashi.php>

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|