

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23616001

研究課題名(和文) 癌ではなぜメチル化と脱メチル化が同時におこるのか？

研究課題名(英文) Why methylation and demethylation occur simultaneously in cancers

研究代表者

畑田 出穂 (Hatada, Izuho)

群馬大学・生体調節研究所・教授

研究者番号：50212147

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：DNAメチル化は遺伝子の修飾の1つであり、遺伝子の配列を変えることなく遺伝子のスイッチとして働く。DNAメチル化は癌で癌抑制遺伝子を不活性化することにより癌の原因となっているが、今回我々はDNAメチル化酵素のDNMT3Bががん細胞では特別なフォームを形成することにより、癌化の一因になっていることを発見した。

研究成果の概要(英文)：DNA methylation is one of the modification of genes, which work as a gene switch. It inactivates tumor suppressor and cause cancer. We found specific isoform of DNMT3B DNA methyltransferase, which could cause cancer.

研究分野：時限

科研費の分科・細目：エピジェネティクス

キーワード：メチル化

### 1. 研究開始当初の背景

申請者らはこれまでに癌におけるエピゲノムの重要性(Hatada et al. Nature Genetics 1996, 14:171-173)に視点をおき、網羅的なアプローチ (Hatada et al. PNAS 1991,88:9523-9527; Hatada et al. Oncogene 2006,25:3059-3064)を用いて研究してきた。エピゲノムのうち DNA メチル化の変化はそのかなめをなしており、特定の癌抑制遺伝子の CpG アイランド領域に起こるメチル化は癌化の機構と関連して注目を集めている(図1)。一方、癌のゲノム全体としては脱メチル化が起こることが知られている。これは主に繰り返し配列に起こるものであり、特にセントロメア領域の脱メチル化などによりゲノムの不安定化を招き loss of heterozygosity (LOH)を起こす原因となっていることが知られている。このように癌では一見矛盾するメチル化、脱メチル化という両方向の変化が同時に起こっているわけであるが、これがどのような機構により制御されているかに関してほとんどわかっていない。

一方、ゲノム全体の脱メチル化に関しては肝臓がんで DNMT3B のアイソフォームの1つの DNMT3B 4 の発現の上昇が関係しているのではないかという報告がある(図2)。DNMT3B 4 はメチル化をおこなう活性部位を完全に欠失しており、この発現が上昇すると活性のある DNMT3B に対してドミナントネガティブに働きセントロメア領域の脱メチル化をしているのではないかわれている。しかしながらのアイソフォームは同時に癌抑制遺伝子に対しても脱メチル化に働くと想定され、なぜ、癌抑制遺伝子のメチル化とセントロメア領域の脱メチル化が同時に起こるかを説明できない。最近我々は DNA メチル化酵素 DNMT3B の新規のアイソフォームである DNMT3BD5 をみいだした。このアイソフォームはセントロメア結合蛋白である CEMP-C と結合するドメインに存在するエクソン5が欠失している。しかしながら活性ドメインは保持しており精製した蛋白質でメチル化活性があること確認している。また新規アイソフォーム DNMT3BD5 は様々な癌細胞やメチル化異常が起こる体外培養胚などで発現上昇していることがわかった。そこで我々はこの新規アイソフォームで癌における癌抑制遺伝子のメチル化とセントロメア領域の脱メチル化という相反する現象を説明できるのではないかと考えている(図3)。

### 2. 研究の目的

本研究は最近我々がみいだした癌特異的な DNA メチル化酵素の新規アイソフォーム DNMT3BD5 により、癌において観察される「癌抑制遺伝子のメチル化、セントロメア領域の脱メチル化という両方向の変化」を説明できることを証明するとともに、癌化への関与を検討する。そのために計画している研究

項目は以下の3つである。

DNMT3BD5 の癌における癌抑制遺伝子のメチル化への関与の解明

DNMT3BD5 の癌におけるセントロメア領域脱メチル化への関与の解明

DNMT3BD5 の癌細胞表現型への関与の解明

### 3. 研究の方法

セントロメア蛋白結合部位を欠く、メチル化酵素新規アイソフォーム DNMT3BD5 が癌で発現上昇して DNMT3B の大部分を占めると、癌抑制遺伝子はメチル化、一方逆にセントロメアでは脱メチル化を引き起こすことを証明する。さらには DNMT3BD5 癌の表現型、形成に関与するかどうかを細胞レベル、個体レベルで検証する。

計画している具体的研究項目は DNMT3BD5 の癌における癌抑制遺伝子等へのメチル化への関与の解明、DNMT3BD5 の癌におけるセントロメア領域脱メチル化への関与の解明、DNMT3BD5 の癌細胞表現型への関与の解明、DNMT3BD5 の個体レベルでの癌形成への関与の解明である。

### 4. 研究成果

予想に反し DNMT3BD5 を強発現してもセントロメア領域のメチル化に大きな影響がなかった。したがってセントロメア領域の脱メチル化をおこなうというよりは、癌抑制遺伝子のメチル化を促進することのみに関与している可能性が高い。セントロメア領域の脱メチル化には TET など他の遺伝子の関与が示唆される。

### 5. 主な発表論文等

(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 2 件)

Horii T, Suetake I, Yanagisawa E, Morita S, Kimura M, Nagao Y, Imai H, Tajima S, Hatada I.

The Dnmt3b Splice Variant is Specifically Expressed in In Vitro-manipulated Blastocysts and Their Derivative ES Cells. J Reprod Dev. 57:579-585, 2011

Horii T, Tamura D, Morita S, Kimura M, , Hatada I

Generation of an ICF Syndrome Model by Efficient Genome Editing of Human Induced Pluripotent Stem Cells Using the CRISPR System.

Int J Mol Sci,14: 19774-19781, 2013

[学会発表](計 件)

[図書](計 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称：  
 発明者：  
 権利者：  
 種類：  
 番号：  
 出願年月日：  
 国内外の別：

取得状況（計 件）

名称：  
 発明者：  
 権利者：  
 種類：  
 番号：  
 取得年月日：  
 国内外の別：

〔その他〕  
 ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者 ( )

畑田出穂  
 研究者番号：50212147

(2) 研究分担者 ( )

堀居拓郎  
 研究者番号：00361387

(3) 連携研究者 ( )

落谷孝広  
 研究者番号：60192530

図1 癌におけるDNAメチル化の変化

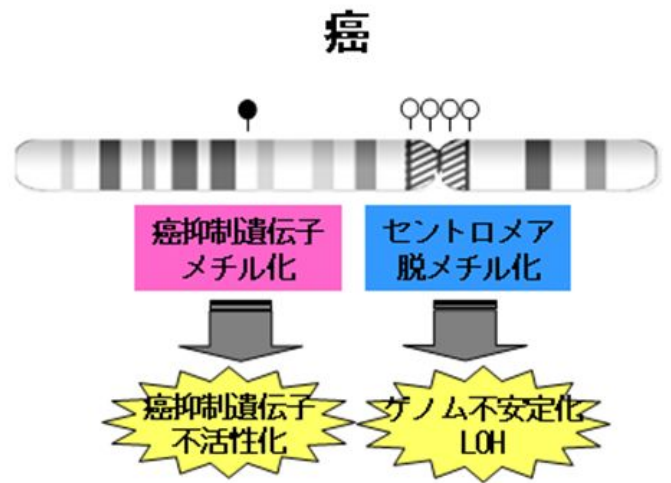
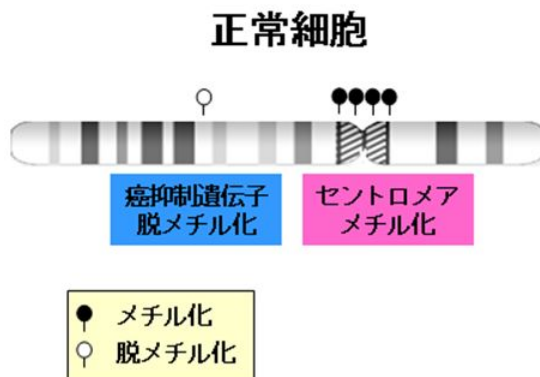


図2 DNMT3Bのアイソフォーム

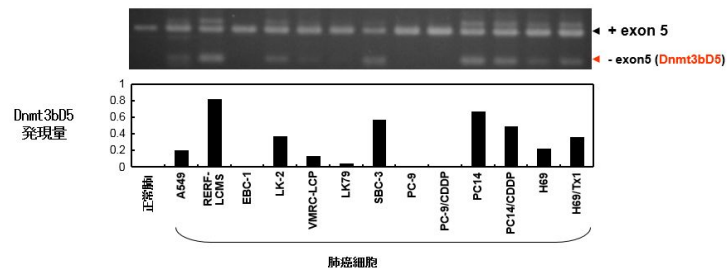
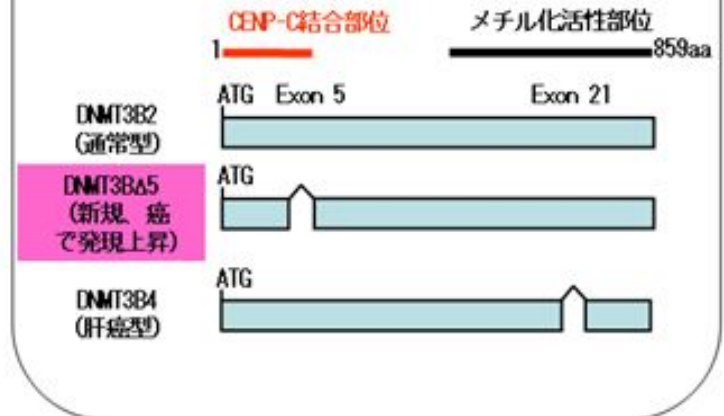


図3 研究で明らかにすること

