

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590384

研究課題名(和文)クロマチン再構成因子ARID1A変異が、もたらす腫瘍発生の検討

研究課題名(英文)Insufficient function of ARID1A in tumor.

研究代表者

竹内 保 (Takeuchi, Tamotsu)

岐阜大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：50226990

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：クロマチン再構成因子ARID1Aの変異・機能異常が、もたらす腫瘍発生の分子メカニズムを検討することを目的とし、具体的にはARID1A変異により変化を受けるTMEM207分子発現トランスジェニックマウスに自然発症する皮膚癌を材料にARID1A変異で影響を受ける下流の遺伝子群を明らかにすることを目的とした。TMEM207を短縮型ITFプロモーター下に組み入れたコンストラクトを型通りC57BL/6マウス受精卵前核へDNAをマイクロインジェクションし計16系統のトランスジェニック系統を確立した。そのうち3系統の皮膚バルジ野でTMEM207を高発現する系統で、皮膚付属器腫瘍の自然発生を高率に認めた。

研究成果の概要(英文)：TMEM207 was first characterized as being an important molecule for the invasion activity of gastric signet-ring cell carcinoma cells and later shown to be associated with insufficient expression of ARID1A, a DNA-binding motif of chromatin remodeling complex, human SWI/SNF. In order to unravel the pathological properties of TMEM207, we generated several transgenic mouse lines, in which murine TMEM207 was ectopically expressed under a truncated (by 200 bp) proximal promoter of the murine intestinal trefoil factor (ITF) gene. Notably, a C57BL/6-Tg (ITF-TMEM207) mouse line exhibited a high incidence of spontaneous intradermal tumors with histopathological features that resembled those of various human cutaneous adnexal tumors. In addition, we also observed cutaneous adnexal tumors in three other C57BL/6-Tg (ITF-TMEM207) transgenic mouse lines.

研究分野：人体病理

キーワード：SWI/SNF chromatin ARID1A TMEM207 cutaneous adnexal tumor

1. 研究開始当初の背景

クロマチン再構成因子複合体は ATP 依存性にヌクレオソーム構造を変換し種々の転写因子が、DNA へ結合しやすくする、あるいは逆に結合しにくくすることで転写を制御し細胞周期に密接に関係している。

クロマチン再構成因子複合体は 10 種類程度の因子より構成されているが、我々は国内外に先駆けて DNA 結合モチーフ、ARID(AT-rich interacting domain)、をもつサブユニットである ARID1A(synonyms: p270, p250, BAF250am hOSA1, SMARCF1, B250)を同定し神経芽細胞腫瘍では C 末端のグルコシルコイド制御部位を失った変異 ARID1A が悪性表現形質・細胞周期促進作用を担っていることを報告し、またこの変異 ARID1A により ligand 依存性 Notch system 活性化が種々の悪性腫瘍(神経堤細胞由来の malignant melanoma など)で起っていることを報告してきた。

クロマチン再構成因子複合体欠失、発現抑制が、多くの高悪性度腫瘍発生・進行に関わることが、明らかにされている。しかし、その詳細な分子メカニズムは未解明である。2010 年末に神経堤由来腫瘍以外の悪性腫瘍で初めてとなる卵巣明細胞癌でのクロマチン再構成因子の ARID1A 変異が発見され、引き続いて胃癌、原発性肝臓癌、膀胱癌、大腸癌、肺癌などでの遺伝子変異が、報告されてきた。しかし、遺伝子変異が報告されているものの、異常な発現遺伝子産物が、どのように腫瘍発生に関係しているかについては未解明であり、その下流に存在する分子メカニズム、制御のためのターゲットとなりうる分子群は明らかになっていなかった。

2. 研究の目的

ARID1A ノックアウトマウスは胎生致死性であり、ARID1A の機能不全を反映するマウスおよび、その用いた表現形質解析のためには、ARID1A 変異により惹起される、エフェクター分子の高発現マウスが有用であると考へた。近年、我々は、ARID1A 変異、機能不全により発現が高まる胃印環細胞癌の浸潤に關する膜たんぱく質 TMEM207 を同定したので、この TMEM207 の高発現マウスを作製し、表現形質を検討した。

3. 研究の方法

マウス TMEM207 を基にヒト TMEM207 を腎臓 cDNA library よりクローニングし、短縮型 ITF プロモーター下に組み入れたコンストラクトを作製した。型通り C57BL/6 マウス受精卵前核へ DNA をマイクロインジェクションし計 16 系統のトランスジェニック系統を確立した。F2 以降のマウスで、homo, hetero マウスを樹立して、表現形質を検討し、自然発生腫瘍の病理組織学的な解析、TMEM207 の発現パターンの検討を免疫組織学的手法を用いて検討した。また、DNA コンストラクト挿入部位を確定するために gene walking を行った。

4. 研究成果

樹立した 16 系統のマウスのうち、3 系統で、皮膚付属器腫瘍の発生が高率にみられた。興味深いことにいずれの系統でも、皮膚バルジ野で TMEM207 の高発現がみられたが、表皮や汗腺などの付属器での TMEM207 の発現はみられなかった。もっとも高発現する系統で挿入部位を確定したところ染色体 2 番の有意な Exon、すなわちタンパク質をコードする遺伝子を破壊して挿入されているのではないことを確認した。これらの結果は皮膚付属器腫瘍でのクロマチン再構成因子複合体の関与を国内外で初めて示唆する結果と考へている。

これらのマウスで発生する皮膚付属器腫瘍は Brooke-Spiegler syndrome (BSS, OMIM #605041)と類似しており、そのモデルマウスになりうる可能性がある。

自然発生する皮膚付属器腫瘍は円柱腫、らせん腺腫に類似した像をみせる腫瘍が多かったが、腺様嚢胞癌類似の悪性腫瘍もみられた。

図 1 TMEM207 トランスジェニックマウスに自然発生した皮膚腫瘍。皮膚付属器腫瘍で、円柱腫、らせん腺腫に類似した組織像。

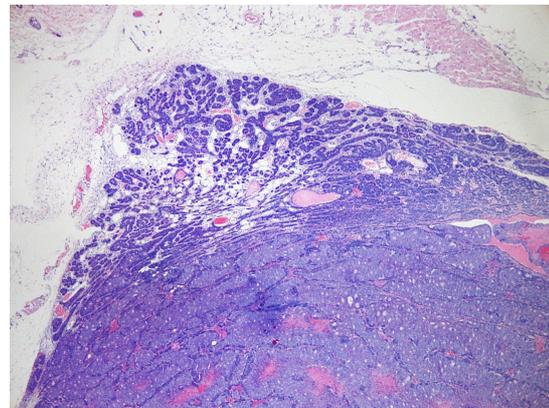


図 2 良性腫瘍のみならず腺様嚢胞癌様の悪性皮膚付属器腫瘍も発生する。

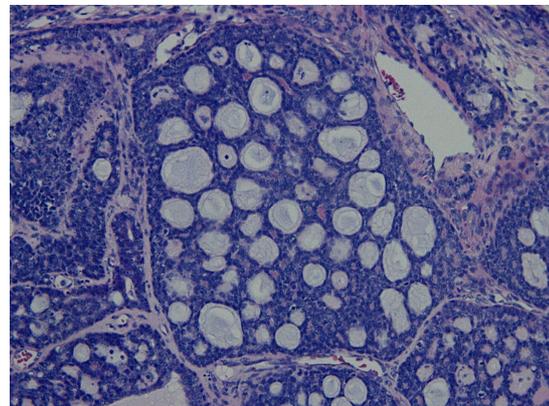
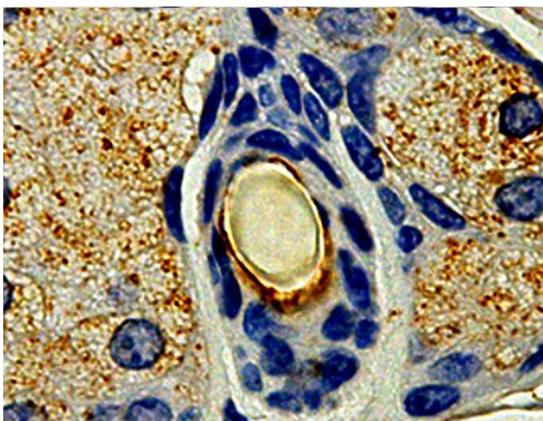


図 3

TMEM207 は皮膚バルジ野に発現する。免疫染色で TMEM207 の局在を検討すると図 3 のように皮膚バルジ野で発現がみられ、皮膚付随器腫瘍の発生基は、皮膚バルジ野である可能性が示唆される結果であった。



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 13 件)

1. Morikawa A, Takeuchi T, Kito Y, Saigo C, Sakuratani T, Futamura M, Yoshida K. Expression of beclin-1 in the microenvironment of invasive ductal carcinoma of the breast: correlation with prognosis and the cancer-stromal interaction. *PLoS One*. 2015 May 8;10(5):e0125762. doi: 10.1371/journal.pone.0125762. 査読有

2. Andoh T, Fujimoto T, Sudo T, Suzuki M, Sakurai Y, Sakuma T, Moritake H, Sugimoto T, Takeuchi T, Sonobe H, Epstein AL, Fukumori Y, Ono K, Ichikawa H

Boron neutron capture therapy as new treatment for clear cell sarcoma: trial on different animal model. *Appl Radiat Isot*. 2014;88:59-63. doi: 10.1016/j.apradiso.2013.12.007. 査読有

3. Kito Y, Saigo C, Atsushi K, Mutsuo F, Takeuchi T.

Transgenic mouse model of cutaneous adnexal tumors.

Dis Model Mech. 2014 Dec;7(12):1379-83. doi: 10.1242/dmm.017574. 査読有

4. Yamada T, Goto N, Tsurumi H, Takata K, Sato Y, Yoshino T, Moriwaki H, Kito Y, Takeuchi T, Iwata H. Mantle cell lymphoma with a unique pattern of CD5 expression: a case report with review of the literatures.

Med Mol Morphol. 2014;47:169-175 doi: 10.1007/s00795-013-0060-x. 査読有

5. Bai J, Kito Y, Okubo H, Nagayama T, Takeuchi T. Expression of ZNF396 in basal

cell carcinoma.

Arch Dermatol Res. 2014;306:399-404. doi: 10.1007/s00403 査読有

6. Kito Y, Bai J, Goto N, Okubo H, Adachi Y, Nagayama T, Takeuchi T. Pathobiological properties of the ubiquitin ligase Nedd4L in melanoma.

Int J Exp Pathol. 2014;95:24-28. doi: 10.1111/iep.12051. 査読有

7. Kito Y, Fujii T, Nishiyama T, Saigo C, Okumoto T, Yokoyama N, Takeuchi T. Peduncular Liposarcoma of the Colon: a Case Report and Literature Review.

J Gastrointest Cancer. 2014 Sep 13. doi: 10.1007/s12029-014-9647-2. 査読有

8. Yamada T, Goto N, Tsurumi H, Takata K, Sato Y, Yoshino T, Moriwaki H, Kito Y, Takeuchi T, Iwata H. Mantle cell lymphoma with a unique pattern of CD5 expression: a case report with review of the literatures. *Med Mol Morphol*. 2014 Sep;47(3):169-75. doi: 10.1007/s00795-013-0060-x. 査読有

9. Ando M, Sato Y, Takata K, Nomoto J, Nakamura S, Ohshima K, Takeuchi T, Orita Y, Kobayashi Y, Yoshino T. A20 (TNFAIP3) deletion in Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorders/lymphomas. *PLoS One*. 2013;8(2):e56741. doi: 10.1371/journal.pone.0056741 査読有

10. Yamada R, Maeda N, Oguri H, Adachi Y, Takeuchi T, Furihata M, Fukaya T.

Is it possible to diagnose malignancy from fluid in cystic ovarian tumors?

Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2013;171:96-100. doi: 10.1016/j.ejogrb.2013.08.003. 査読有

11. Sato Y, Inoue D, Asano N, Takata K, Asaoku H, Maeda Y, Morito T, Okumura H, Ishizawa S, Matsui S, Miyazono T, Takeuchi T, Kuroda N, Orita Y, Takagawa K, Kojima M, Yoshino T.

Association between IgG4-related disease and progressively transformed germinal centers of lymph nodes. *Mod Pathol*. 2012;25:956-967. doi: 10.1038/modpathol.2012.54. 査読有

12. Yasukawa T, Bhatt S, Takeuchi T, Kawachi J, Takahashi H, Tsutsui A, Muraoka T, Inoue M, Tsuda M, Kitajima S, Conaway RC, Conaway JW, Trainor PA, Aso T. Transcriptional elongation factor elongin A regulates retinoic acid-induced gene expression during neuronal differentiation. *Cell Rep*. 2012; 29:1129-1136. doi: 10.1016/j.celrep.2012.09.031. 査読有

13. Takeuchi T, Adachi Y, Nagayama T.

13 Takeuchi T, Adachi Y, Nagayama T.

A WWOX-binding molecule, transmembrane protein 207, is related to the invasiveness of gastric signet-ring cell carcinoma.

Carcinogenesis. 2012;33:548-554

doi: 10.1093/carcin/bgs001.

査読有

〔学会発表〕(計 7 件)

1. 齊郷 智恵美、鬼頭 勇輔、竹内 保
PLA法を用いたSS18-SSX分子および関連分子の in situでの可視化 第104回日本病理学 平成27年4月30日 名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市)

2. 鬼頭 勇輔、齊郷 智恵美、大久保 寛、竹内 保
嚢胞性腎疾患モデルマウスを用いた研究 第104回日本病理学 平成27年4月30日 名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市)

3. 大久保 寛、鬼頭 勇輔、齊郷 智恵美、向井 崇貴、竹内 保
オートファジー関連分子 Beclin-1 の乳癌における発現 第103回日本病理学 平成26年4月26日 広島国際会議場(広島県・広島市)

4. 鬼頭 勇輔、齊郷 智恵美、向井 崇貴、大久保 寛、竹内 保
イオンチャンネルを標的とするユビキチン連結酵素 Nedd4L 異常と悪性黒色腫 第103回日本病理学 平成26年4月26日 広島国際会議場(広島県・広島市)

5. 鬼頭 勇輔、後藤 尚絵、倉林 睦、降幡 睦夫、大拙 祐治、竹内 保
皮膚付属器腫瘍モデルマウスを用いた付属器腫瘍起源細胞の考察 第102回日本病理学 平成25年6月7日 ロイトン札幌(北海道・札幌市)

6. 白 俊丞、鬼頭 勇輔、後藤 尚絵、倉林 睦、降幡 睦夫、大拙 祐治、竹内 保
大腸癌でのTMEM207発現、粘液癌との関係について 第102回日本病理学 平成25年6月7日 ロイトン札幌(北海道・札幌市)

7. 後藤 尚絵、佐藤 康晴、高田 尚良、鬼頭 勇輔、吉野 正、竹内 保
濾胞性リンパ腫におけるクロマチン再構成複合体 ARID1A の発現異常 第102回日本病理学 平成25年6月8日 ロイトン札幌(北海道・札幌市)

6. 研究組織

(1)研究代表者 竹内 保

(Takeuchi, Tamotsu)

岐阜大学・医学系研究科・教授

研究者番号: 50226990