

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：82606
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2014～2016
課題番号：26460482
研究課題名(和文) ヒストンH3バリエーションとヒストン修飾によるがん化とがん細胞の進展機構

研究課題名(英文) Histone adaptation of cancer cell

研究代表者
藤井 誠志 (Fujii, Satoshi)

国立研究開発法人国立がん研究センター・先端医療開発センター・ユニット長

研究者番号：30314743

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：ヒストンシャペロンによるヒストンH3バリエーションの取り込みとそれに連動するヒストン修飾により、腫瘍抑制遺伝子の転写が制御され、この制御はヒストンH3バリエーションの取り込みを行うヒストンシャペロンによって起こることを見出した。ヒストンH3バリエーションの取り込みによる遺伝子発現の変動を乳癌細胞亜型間で検討したところ、遺伝子発現変動は認められたが、乳癌細胞亜型を変えるほどの遺伝子発現変化は認められなかった。ヒストン修飾機構によって発現誘導され、がん関連線維芽細胞に発現するTEM1が胃癌患者の予後不良因子であることを見出した。

研究成果の概要(英文)：A tumor suppressor gene was regulated by cooperation of histone H3 variant incorporated by histone chaperone and histone modification working together with incorporation of histone H3 variant. On the other hand, incorporation of histone H3 variant did not lead to complete change of gene expression profiling distinguishing two different breast cancer subtypes. Significant correlations between CAF (cancer associated with fibroblast)-TEM1-positivity or CAF-TEM1-intensity and RFS (recurrence-free survival), OS (overall survival), or COS (cancer-related overall survival) were observed ($P < 0.001$, Kaplan-Meier curves) regarding gastric cancer patients.

研究分野：実験病理学

キーワード：Cancer Histone

1. 研究開始当初の背景

ヒストンバリエントがクロマチン構造の変化に及ぼす影響は、エピジェネティック制御の解明に重要であると考えられているにも関わらず、その詳細な機構は未だ明らかではない。ヌクレオソームを構成するコアヒストンであるヒストン H3 の N 末端のリジン (K) などのアミノ酸は、ヒストン修飾酵素の作用でメチル化、アセチル化といった翻訳後修飾を受けて、その領域の DNA の転写を制御する。ところが、そのヒストン H3 には H3.1、H3.2、H3.3 のバリエントが存在することが報告された。重要な知見として、ヒストン H3 バリエント間で、ヒストン修飾を受けるリジン (K) の K9、K18、K27 の修飾効率が異なることが判明している。以上から、取り込まれるヒストン H3 バリエントが、ヒストン修飾を決定づける可能性が指摘でき、ヒストン H3 バリエントとヒストン修飾は連動して転写制御に重要な役割を持つと考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、がん化、がん細胞の進展におけるヒストン H3 バリエントの取り込みとヒストン修飾の変化による転写制御を明らかにすることである。

3. 研究の方法

(1) ヒストン H3 バリエントの取り込みによるクロマチン構造変化についての検討

ChIP-sequence 法による解析 ~ 3 種類のヒストン H3 バリエント H3.1、H3.2、H3.3 を導入した乳癌細胞株を用いて、ChIP-sequence 法により、H3K27 のヒストン残基を標的とするヒストン修飾蛋白の局在、ヒストン修飾のメチル化、アセチル化状態の変化を検討した。

各種のヒストン H3 バリエントの取り込みによりクロマチン構造変化を起こす遺伝子を検討した。

(2) がん関連線維芽細胞とオートファジーにおけるヒストン修飾の意義についての検討を行った。加えて、がん関連線維芽細胞に発現し、ヒストン修飾機構によって発現誘導される候補遺伝子 *TEM1* 発現の臨床病理学的意義についての検討を行った。

(3) ヒストンシャペロンによるヒストンバリエントの取り込み調節が遺伝子発現に与える影響についての検討を行った。

(4) 血管内皮細胞の形質変化におけるヒストン修飾の役割についての検討を行った。

(5) 乳癌細胞亜型のうち、ホルモン陽性乳癌

亜型、トリプルネガティブ乳癌亜型の細胞株に、H3.1、H3.2、H3.3 の各ヒストンバリエントを取り込ませた場合の影響について検討した。

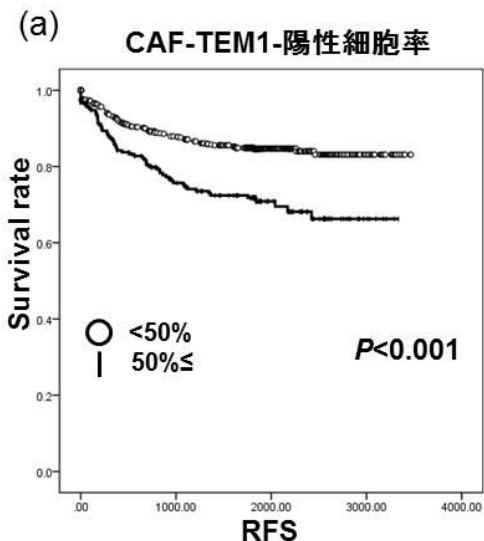
(6) ラットの胃十二指腸液逆流性食道発がんモデルを用いた多層オミックス解析を行った。

4. 研究成果

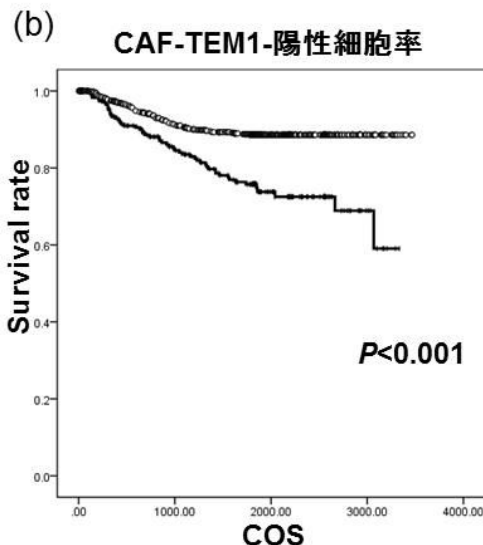
(1) については、ヒストン修飾蛋白の局在が変化する遺伝子、ヒストン修飾状態が変化する遺伝子を抽出した。腫瘍抑制遺伝子では、ヒストンバリエントに連動してヒストン修飾状態が変わり、遺伝子発現状態が変化した。一方、細胞骨格関連遺伝子については、各ヒストンバリエントを導入したクローン細胞においても遺伝子発現の変化はみられなかった。

(2) がん関連線維芽細胞でヒストン修飾により発現するようになる候補遺伝子 *TEM1* を見出し、オートファジーが遺伝子発現に影響を与える可能性を見出した。加えて、がん関連線維芽細胞における *TEM1* の発現が胃癌患者の予後不良因子であることを見出した。

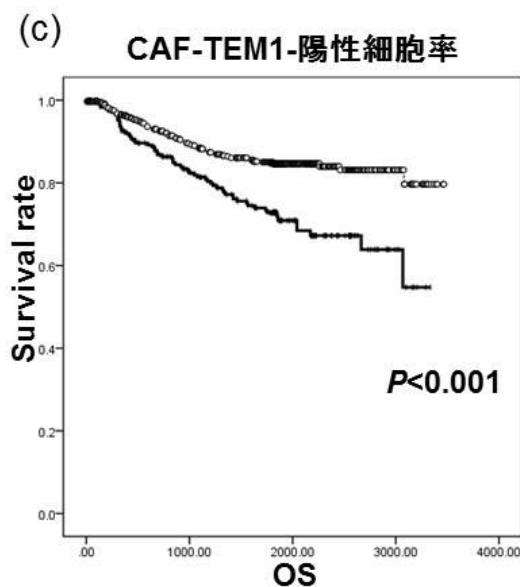
(a) : CAF1(がん関連線維芽細胞)における *TEM1* 陽性細胞率と recurrence-free survival との関係 (Fujii S, et al. *Cancer Med.* 2015;4:1667-78.より改変)



(b) : CAF1(がん関連線維芽細胞)における *TEM1* 陽性細胞率と cancer-related survival との関係 (Fujii S, et al. *Cancer Med.* 2015;4:1667-78.より改変)



(c) : CAF1(がん関連線維芽細胞)における TEM1 陽性細胞率と overall survival との関係 (Fujii S, et al. *Cancer Med.* 2015;4:1667-78.より改変)



(3) ヒストンバリエントとヒストン修飾による制御がヒストンシャペロンによって起こることを見出した。

(4) 癌組織中の血管内皮細胞においても、ヒストンバリエント、ヒストン修飾が機能して遺伝子発現を変化させる可能性を見出した。

(5) ホルモン陽性乳癌亜型の方がトリプルネガティブ乳癌亜型に比較して、変動する遺伝子が多かったが、亜型を変えるほどの遺伝子発現変化は認められなかった。

(6) ヒストン修飾機能を有する蛋白をコードする遺伝子を含む重要な遺伝子のプロモーターのメチル化、脱メチル化、転写活性及

び転写抑制が認められた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

Fujii S, et al(他10名、1番目) TEM1 expression in cancer-associated fibroblasts is correlated with a poor prognosis in patients with gastric cancer. *Cancer Med.* 2015;4:1667-78. doi: 10.1002/cam4.515. 査読有り。

〔学会発表〕(計4件)

藤井誠志、栄養飢餓応答としてのがんのオートファジー. 第55回日本組織細胞化学会総会・学術総会(招待講演) 2014年9月27日~2014年9月28日、松本市中央公民館(長野県松本市)。

藤井誠志、がん関連線維芽細胞におけるTEM-1の発現は胃癌の予後不良に関係する、第73回日本癌学会学術総会、2014年9月25日~2014年9月27日、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)。

Fujii S, Suzuki Y, Ochiai A, Aoki F. Histone modification and histone variant cooperatively regulate gene expression in cancer cells. 第74回日本癌学会学術総会、2015年10月8日~2015年10月10日、名古屋国際会議場(愛知県名古屋市)。

藤井誠志、関 聖矢、関 真秀、宮下知治、武居亮平、高田智司、土原一哉、太田哲生、鈴木 穰、胃・十二指腸液逆流ラットモデルにおける発癌機構に関わるエピゲノム変化、第75回日本癌学会学術総会、2016年10月6日~2016年10月8日、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)。

〔図書〕(計6件)

藤井誠志. 頭頸部癌学-診断と治療の最新研究動向- VII. 頭頸部の検査・診断・各論 咽喉頭表在性扁平上皮癌の病理診断上の問題点. p268-272. 日本臨牀2017年.

藤井誠志. 腫瘍病理鑑別診断アトラス 乳癌 第2版. 分担執筆. 「第2部 組織型と診断の実際」IV. 特殊型乳癌 4. 腺様嚢胞癌. p94-99. 文光堂 2016年.

藤井誠志. 乳癌診療のための分子病理エッセンシャル. 乳癌における上皮間葉移行. p100-109. 南山堂 2016年.

藤井誠志. 臨床頭頸部癌学. 病理診断

A.頭頸部癌、B.唾液腺癌. p35-47. 南江堂. 2016年.

藤井誠志. 腫瘍病理鑑別診断アトラス
頭頸部腫瘍 II. 分担執筆.
「第3部 鑑別のポイント」I. 口腔咽頭
喉頭表面上皮由来腫瘍の良悪の判定.
p224-236, 文光堂 2015年.

藤井 誠志. 病理と臨床、病理と基礎生命
科学との接点(第6回) 細胞死. アポトー
シスとオートファジー. 32(9):
1039-1047. 文光堂. 2014年.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤井 誠志 (FUJII SATOSHI)
独立行政法人国立がん研究センター・先
端医療開発センター・ユニット長
研究者番号：30314743

研究者番号：

(2) 研究分担者

なし ()

研究者番号：

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号：

(4) 研究協力者

なし ()