

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 22 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461021

研究課題名(和文) 膵臓癌におけるクロマチンリモデリングの役割

研究課題名(英文) The functional role of chromatin remodeling regulator Brg1 in pancreatic cancer

研究代表者

福田 晃久 (Fukuda, Akihisa)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：70644897

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：膵臓癌はPanINおよび嚢胞性病変のIPMN・MCNの形態的に異なる前癌病変から発生すると考えられているが、特にIPMN由来膵臓癌についてはその発生の分子機構は不明である。本研究では、SWI/SNFクロマチンリモデリング複合体のcatalytic ATPase サブユニットとして必須因子であるBrg1に焦点を当て、膵臓癌の発生・進行におけるBrg1の機能的役割を明らかにすることを目的とした。本研究により、Brg1が膵臓で活性化Kras下においてin vivoで癌抑制遺伝子としてはたらき、IPMNおよびIPMN由来膵臓癌の発生を抑制していることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDA) develops through distinct precursor lesions, including pancreatic intraepithelial neoplasia (PanIN) and intraductal papillary mucinous neoplasia (IPMN). However, little is known about molecular mechanisms of development of IPMN and IPMN-derived PDA. We have recently reported that loss of Brg1, a core subunit of SWI/SNF chromatin remodeling complexes, cooperates with oncogenic Kras to form cystic neoplastic lesions that resemble human IPMN and progress to PDA. We revealed that Brg1 is a determinant of context-dependent Kras-driven pancreatic tumorigenesis and chromatin remodeling may underlie the development of distinct PDA subsets.

研究分野：消化器内科学

キーワード：膵臓癌 マウスモデル

1. 研究開始当初の背景

膵癌は我が国でも増加傾向にあり、予後不良の難治性癌である。膵臓癌は PanIN、嚢胞性病変である IPMN・MCN の形態的に異なる前癌病変から発生すると考えられている。IPMN 由来膵癌は PanIN 由来膵癌に比べると比較的予後が良いことから、両者は生物学的に異なると考えられてきたが、特に IPMN 由来膵癌についてはその発生の分子機構は未だ十分に分かっていない。

エピジェネティクスによる遺伝子発現制御が癌化に重要な役割を果たしていることが明らかになりつつある。なかでもクロマチンリモデリングに重要な働きをする SWI/SNF 複合体は、近年ヒトの様々な癌種において、その構成成分の inactivating mutations が多数報告されていることから、癌化に関わることが強く示唆される。膵臓癌に関しては、SWI/SNF クロマチンリモデリング複合体のなかの catalytic ATPase サブユニットである Brg1 と、DNA 結合蛋白である ARID1a、ARID2 において不活化の遺伝子変異があることが報告された。また興味深いことに、ヒト IPMN 標本の約半数において Brg1 の発現が低下または消失していることが 2012 年に John Hopkins のグループから報告された。しかしながら、クロマチンリモデリング因子が膵臓癌の発生・進行にどのような働きをしているかについては未だ明らかでなかった。

2. 研究の目的

本研究では、SWI/SNF クロマチンリモデリング複合体の catalytic ATPase サブユニットとして必須因子である Brg1 に焦点を当て、膵臓癌の発生・進行における Brg1 の機能的役割を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

膵臓特異的に $Kras^{G12D}$ を活性化し、さらにそれと同時に Brg1 ノックアウトを加えた遺伝子改変マウス ($Ptf1a-Cre; Kras^{G12D}; Brg1^{f/f}$)

を作成し解析した。

4. 研究成果

膵臓特異的に $Kras^{G12D}$ を活性化し、さらにそれと同時に Brg1 ノックアウトを加えた遺伝子改変マウス ($Ptf1a-Cre; Kras^{G12D}; Brg1^{f/f}$) を作成し解析した結果、100%の浸透率で膵嚢胞性腫瘍性病変が生じた。膵嚢胞性病変を詳細に解析した結果、Muc1・Muc5AC を発現し、膵管との連続性があり、卵巣様間質がみとめられず、ER・PR 発現陰性であることから、ヒト IPMN 様であることが明らかになった。 $Ptf1a-Cre; Kras^{G12D}; Brg1^{f/f}$ (ホモ) マウスには low~high grade dysplasia の IPMN がみとめられ、さらに IPMN 由来の膵臓癌の自然発生が高率にみとめられた。一方、 $Kras$ が活性化されていても、Brg1 が野生型またはヘテロのマウスには IPMN および膵臓癌の形成はみとめられなかった。以上より、Brg1 が膵臓で活性化 $Kras$ 下において *in vivo* で癌抑制的に働き、IPMN および IPMN 由来膵臓癌の発生を抑制していることが明らかになった。

IPMN 膵臓癌を生じるマウス $Ptf1a-Cre; Kras^{G12D}; Brg1^{f/f}$ マウスと、PanIN 膵臓癌を生じる従来の $Ptf1a-Cre; Kras^{G12D}; p53^{f/+}$ マウスにおいて、膵臓癌の発症率、予後、癌の転移・浸潤の有無などについて比較解析した結果、IPMN 膵臓癌マウスでは PanIN 膵臓癌マウスに比べて、癌の発生率は同等であるにも関わらず有意に予後がよく、転移・浸潤が少なかった。これはヒト IPMN 由来膵臓癌が PanIN 由来膵臓癌よりも予後がよいことに合致していた。RNA-deep sequencing による網羅的な遺伝子発現解析を行った結果、IPMN 膵臓癌では PanIN 膵臓癌に較べて、膵臓癌の進行に寄与する分子 (MMP7, Gabrp, Hmga2, Clic3, Adamts1, etc) の著明な発現低下がみとめられ、pathway 解析により、IPMN 膵臓癌では転移・浸潤に関わる遺伝子群の発現が著しく低下しており、発現パターンが大きく異なることが示された。

マウス PanIN 由来膵臓癌は、最近の研究報告

から、その起源となる細胞は膵管細胞ではなくて膵外分泌細胞であることが明らかになっている。細胞生物学的に PanIN 由来膵癌と異なる性質を持つ IPMN 由来膵癌は、起源となる細胞が異なるのではないかという仮説を立てた。成体マウス膵外分泌細胞および膵管細胞に特異的な Cre を発現するマウスと、活性化 Kras と Brg1 ノックアウトを組み合わせたマウスを用いた実験の結果、IPMN は膵外分泌細胞ではなくて膵管細胞から発生することが明らかになった。

ヒトの膵臓癌の発生ルートである IPMN・IPMN 由来膵癌に関しては、これまでその発生の分子メカニズムは十分に分かっていなかった。本研究により、エピジェネティックな遺伝子発現制御を行うクロマチンリモデリング因子 Brg1 が、膵癌の前癌病変である IPMN および IPMN 由来膵癌の発生を抑制していることが、マウスの個体レベルで初めて明らかとなり、IPMN および IPMN 由来膵癌の新規遺伝子改変マウスモデルが確立された。さらに、IPMN の起源となる細胞については、膵外分泌細胞ではなくて膵管細胞であることが今回のマウスモデルを用いた実験により初めて示された。

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 4 件)

1. von Figura G*, Fukuda A*, Roy N*, Liku ME, Morris Iv JP, Kim GE, Russ HA, Firpo MA, Mulvihill SJ, Dawson DW, Ferrer J, Mueller WF, Busch A, Hertel KJ, Hebrok M: The Chromatin Regulator Brg1 Suppresses Formation of Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm and Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. **Nat Cell Biol.**2014;16:255-67.

*Co-first authors

2. Fukuda A*. Molecular mechanism of Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm (IPMN) and IPMN-derived Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. **J Hepatobiliary Pancreatic Sci** 2015; 22:519-23.
Nakatsuji M, Minami M, Seno H, Yasui M, Komekado H, Higuchi S, Fujikawa R, Nakanishi Y, Fukuda A, Kawada K, Sakai Y, Kita T, Libby P, Ikeuchi h, Yokode M, and Chiba T. EP4 receptor-associated protein in macrophages ameliorates colitis and colitis-associated tumorigenesis. **PLoS Genetics** 2015 e1005542.
3. 膵癌の網羅的遺伝子解析の最近の研究で何が明らかになったか. 津田喬之、福田晃久. 分子消化器病 2014 vol.11 no.2:32-47.
4. 日本人のヒット作品:クロマチンリモデリング因子 Brg1 は IPMN および IPMN 由来膵癌の形成を抑制する. 福田晃久. 分子消化器病 2014 vol.11 no.2:99-104.
5. 美馬淳志、垣内伸之、福田晃久、児玉雄三. 遺伝性炎と孤発性膵炎の遺伝子異常. 分子消化器病 2015 vol.12 no.3:7-14.

[学会発表](計 1 件)

1. Takahisa Maruno, Akihisa Fukuda, Hiroshi Seno, Tsutomu Chiba. Identification of a pancreatic tumor specific stem cell marker. 第 73 回日本癌学会学術総会 2014 東京.

6. 研究組織

(1)研究代表者

福田晃久(FUKUDA AKIHISA)
京都大学・医学研究科・助教
研究者番号:70644897

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

妹尾浩 (SENO HIROSHI)

京都大学・医学研究科・教授

研究者番号：90335266