

令和 2 年 5 月 25 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16332

研究課題名(和文)皮膚組織幹細胞特異的エピジェネティクス制御機構を標的とした扁平上皮癌治療戦略

研究課題名(英文)Therapeutic strategy to target epithelial stem cell specific epigenetic regulation

研究代表者

羽澤 勝治 (hazawa, masaharu)

金沢大学・新学術創成研究機構・助教

研究者番号：40622460

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、重要な細胞制御機能因子である核膜孔複合体に注目し、幹細胞特性に関わるエピジェネティクス制御機序を解明することを目的とした。

申請者は、核膜孔複合体がゲノム配置制御を介して、幹細胞特性維持に関わる遺伝子の発現を活性化することを見出した。また、このゲノム配置に関与する相互作用領域を決定することに成功した。本研究により、これまでの転写制御因子-標的遺伝子の情報に加え、これらの核内空間で維持・制御される3D情報を得ることに成功した。ゲノムの構造・機能の更なる理解により、細胞の形質決定機序の根本原理や癌活性化シグナル確立に至るゲノム時空間動態解明の一助になることが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

遺伝子発現制御は細胞の形質決定に関わる機構である。これまでに幹細胞や癌細胞で中心的役割を担う転写制御因子とこれらの標的遺伝子の解明がなされてきたが、核内における構造・機能相関の解明は未だなされていなかった。

本研究により、NPCが核内ゲノムの配置・機能制御に関与すること、さらにNPCとゲノムの相互作用機序の一部を解明できた。本研究により明らかにされた、NPC-ゲノム相互作用阻害により、人為的な遺伝子発現操作をできる可能性があり、再生医療や癌治療への応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：This study aims to unmask stem-cell specific epigenetics regulation by nuclear pore complex (NPC).

I found that NPCs-mediated spatial-regulation of genomic DNA resulted in activation of oncogene-expression. Further, interacting mode between NPC and transcription environment was identified. These results gives annotation spatio-temporal information of transcription regulators and its target genes. Further study of NPC-mediated genomic structure and function will unmask how NPC regulates cell-fate determination mechanisms and cancer initiation-/progression.

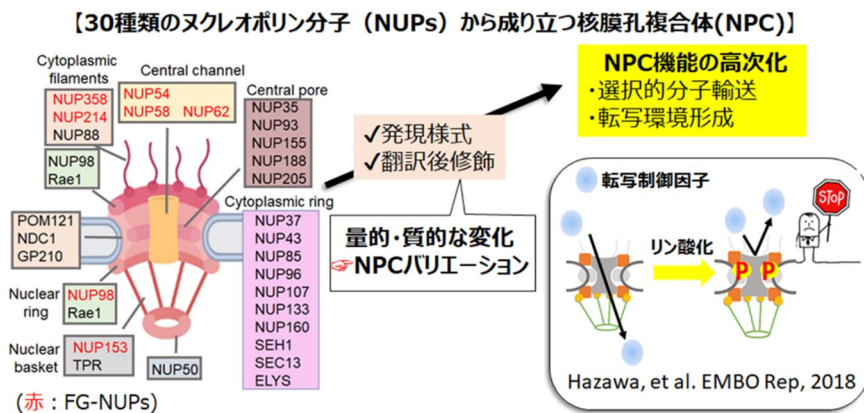
研究分野：腫瘍生物学

キーワード：核膜孔複合体 エピジェネティクス 腫瘍生物学 分子細胞生物学

1. 研究開始当初の背景

皮膚組織を構築する組織幹細胞、ケラチノサイトは自己複製しつつ、分化細胞を生じることによって秩序ある階層構造を維持する。ケラチノサイトの幹細胞特性を制御する機能分子(転写因子や細胞内キナーゼ)については広く研究されており¹⁾、これら機能分子の遺伝子変異が幹細胞特性制御の異常を引き起こし、扁平上皮癌(Squamous Cell Carcinoma; SCC)の発症・悪性化を引き起こす²⁾。しかし、未だ SCC の克服には至っておらず、SCC の病態制御に向けた新規治療標的分子の探索は重要な研究課題である。

核膜孔複合体(Nuclear Pore Complex; NPC)は30種類のヌクレオポリン分子(NUP)から成るタンパク質複合体であり、核膜における唯一の分子輸送ルート‘核膜孔’を形成する³⁾。最近、組織特有の NPC 発現様式が存在し、これらが NPC の機能変換を起こすことで組織幹細胞の性質を制御することがわかってきた⁴⁾。例えば、NUP153 はエピジェネティクス制御(遺伝子の配列変化によらない遺伝子発現制御メカニズム)を介してマウス ES 細胞の多能性を維持する一方、神経幹細胞への分化誘導過程で役割を終えた NUP153 の発現は消失する⁵⁾。また、筋芽細胞の分化に伴い発現量が上昇する NUP210 は、分化過程で発生する小胞体ストレスを軽減し、細胞死から防護する^{6), 7)}。一方、皮膚組織幹細胞やこれらに起因する SCC 細胞の形質決定に関わる NPC の機能は不明である。



2. 研究の目的

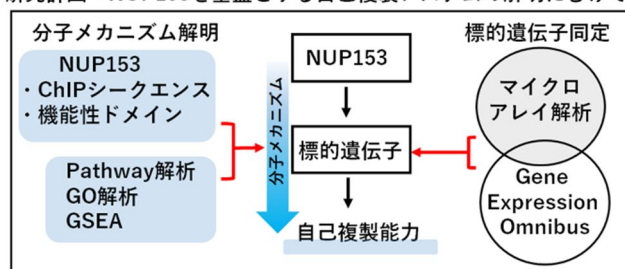
本研究は、皮膚組織を構築する組織幹細胞ケラチノサイトと扁平上皮癌細胞に共通する幹細胞特性(自己複製システムと未分化維持)に関わる NPC 作動原理を解明することである。また、NPC の発現異常と SCC 発症・悪性化の関連性について明らかにし、ケラチノサイト特有の自己複製システムを標的とした皮膚疾病の新たな予防・治療法の開発に貢献できる

3. 研究の方法

本研究では、幹細胞特性に関わる NUP153 の機能を明らかにするために、以下について取り組む。NUP153 が作用するゲノム領域をクロマチン免疫沈降(ChIP)シーケンス法により同定し、NPC が制御する遺伝子領域を解明する。また、既知のゲノム機能制御因子の ChIP シーケンスデータと比較解析をすることで、NPC が作用する領域の機能的意義を明らかにする。

NUP153 の発現量を抑制した細胞における遺伝子発現プロファイルを RNA シーケンス法で決定し、NUP153 により制御される標的遺伝子を決定し、この標的遺伝子発現制御に関わるエピジェネティクス制御機構を解明する。相互作用因子の同定については、時間・予算内で可能であれば遂行する。以上により、NUP153 が基盤となるケラチノサイト特有の自己複製制御メカニズムを解明する。

研究計画：NUP153を基盤とする自己複製システムの解明にむけて

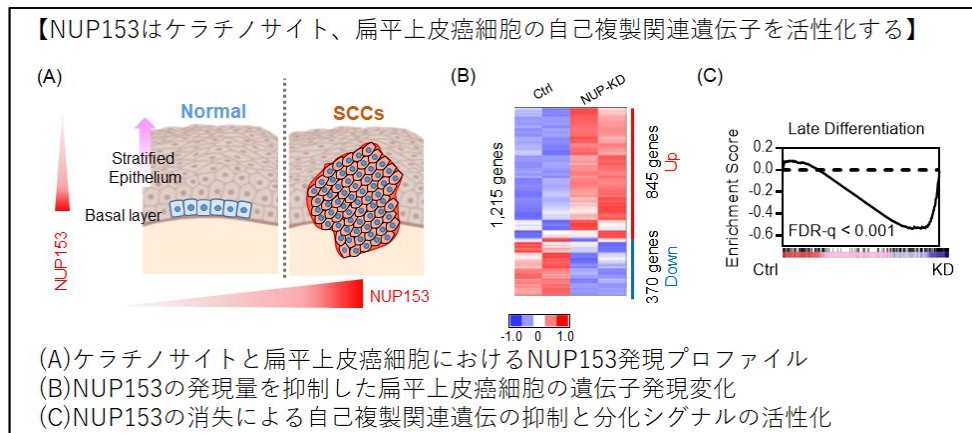


4. 研究成果

当初計画していた遺伝子改変マウス実験を変更し、ケラチノサイトと扁平上皮癌細胞における NUP153 の発現量ならびに機能解析をすることで、NUP153 を基盤とする自己複製システムの解明に取り組んだ。

NUP153 の発現量を抑制した細胞の遺伝子発現様式を RNA シークエンス法により、核膜孔複合体 (NPC) が幹細胞特性維持に関わる遺伝子の発現を活性化することを見出した。また、内在性 NUP153 を標的とした ChIP シークエンス法により、NPC にが相互作用するゲノム領域を決定することに成功した。また、NUP153 分子の特定領域が、核膜孔複合体が介するエピジェネティクス制御に必要であることを見出した。現在、これらの成果を論文投稿準備中であり、本稿において詳細なデータを示すことができないことをお詫びしたい。

本研究により、これまでの転写制御因子-標的遺伝子の情報に加え、これらの核内空間で維持・制御される 3D 情報を得ることに成功した。また、本研究により NPC によるゲノム作用機序はこれまで研究されてきた転写制御因子とは異なる可能性が高いことが見出されており、NPC による遺伝子活性化機序の理解ならびに標的分子の解明により、ゲノム構造・機能を遮断できる薬剤の開発と治療応用への展開が期待される。また、ゲノムの構造・機能の更なる理解により、細胞の形質決定機序の根本原理や癌活性化シグナル確立に至るゲノム時空間動態解明の一助になることが期待される。



< 引用文献 >

1. Rothenberg SM and Ellisen LW. *J Clin Invest.* 122, 1951-7, 2012.
2. Cancer Genome Atlas Network, *Nature.* 517, 576-82, 2015.
3. Hazawa M., et al. *EMBO Rep.* 19, 73-88. 2018.
4. Raices M. and D'Angelo MA. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 13, 687-99, 2012.
5. Jacinto FV., et al. *Genes Dev.* 29, 1224-38, 2015.
6. D'Angelo MA., et al. *Dev Cell.* 22, 446-58, 2012.
7. Gomez-Cavazos JS and Hetzer MW. *J Cell Biol.* 208, 671-81, 2015.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Hazawa M, Yoshino H, Nakagawa Y, Shimizume R, Nitta K, Sato Y, Sato M, Wong RW, Kashiwakura I.	4. 巻 12
2. 論文標題 Karyopherin- 1 Regulates Radioresistance and Radiation-Increased Programmed Death-Ligand 1 Expression in Human Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Cell Lines.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 pii: E908
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.3390/cancers12040908.	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 -
1. 著者名 Dewi FRP, Jiapaer S, Kobayashi A, Hazawa M, Iklptikawati DK, Hartono, Sabit H, Nakada M, Wong RW.	4. 巻 24
2. 論文標題 Nucleoporin TPR (translocated promoter region, nuclear basket protein) upregulation alters MTOR-HSF1 trails and suppresses autophagy induction in ependymoma.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Autophagy	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1080/15548627.2020.	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 -
1. 著者名 Hazawa M, Sakai K, Kobayashi A, Yoshino H, Iga Y, Iwashima Y, Lim KS, Chih-Cheng Voon D, Jiang YY, Horike SI, Lin DC, Wong RW.	4. 巻 39(10)
2. 論文標題 Disease-specific alteration of karyopherin- subtype establishes feed-forward oncogenic signaling in head and neck squamous cell carcinoma.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oncogene	6. 最初と最後の頁 2212-2223
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1038/s41388-019-1137-3.	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 該当する
1. 著者名 Yasuda T, Kagawa W, Ogi T, Kato TA, Suzuki T, Dohmae N, Takizawa K, Nakazawa Y, Genet MD, Saotome M, Hama M, Konishi T, Nakajima NI, Hazawa M, Tomita M, Koike M, Noshiro K, Tomiyama K, Obara C, Gotoh T, Ui A, Fujimori A, Nakayama F, Hanaoka F, Sugawara K, Okayasu R, Jeggo PA, Tajima K.	4. 巻 14
2. 論文標題 Novel function of HATs and HDACs in homologous recombination through acetylation of human RAD52 at double-strand break sites.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLoS Genet.	6. 最初と最後の頁 e1007277
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1371/journal.pgen.1007277.	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 -

1. 著者名 Jiang Y, Jiang YY, Xie JJ, Mayakonda A, Hazawa M, Chen L, Xiao JF, Li CQ, Huang ML, Ding LW, Sun QY, Xu L, Kanojia D, Jeitany M, Deng JW, Liao LD, Soukiasian HJ, Berman BP, Hao JJ, Xu LY, Li EM, Wang MR, Bi XG, Lin DC, Koeffler HP.	4. 巻 9
2. 論文標題 Co-activation of super-enhancer-driven CCAT1 by TP63 and SOX2 promotes squamous cancer progression.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nat Commun.	6. 最初と最後の頁 3619
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1038/s41467-018-06081-9.	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 該当する

1. 著者名 Lim KS, Mohamed MS, Wang H, Hartono, Hazawa M, Kobayashi A, Voon DC, Kodera N, Ando T, Wong RW.	4. 巻 in press
2. 論文標題 Direct visualization of avian influenza H5N1 hemagglutinin precursor and its conformational change by high-speed atomic force microscopy.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochim Biophys Acta	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1016/j.bbagen.2019.02.015.	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 -

1. 著者名 Dewi FRP, Domoto T, Hazawa M, Kobayashi A, Douwaki T, Minamoto T, Wong RW.	4. 巻 9
2. 論文標題 Colorectal cancer cells require glycogen synthase kinase-3 for sustaining mitosis via translocated promoter region (TPR)-dynein interaction.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 13337-13352
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.24344	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hazawa M, Lin DC, Kobayashi A, Jiang YY, Xu L, Dewi FRP, Mohamed MS, Hartono, Nakada M, Meguro-Horike M, Horike SI, Koeffler HP, Wong RW.	4. 巻 19
2. 論文標題 ROCK-dependent phosphorylation of NUP62 regulates p63 nuclear transport and squamous cell carcinoma proliferation.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 EMBO Rep	6. 最初と最後の頁 73-88
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/embr.201744523	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Mohamed MS, Kobayashi A, Taoka A, Watanabe-Nakayama T, Kikuchi Y, Hazawa M, Minamoto T, Fukumori Y, Kodera N, Uchihashi T, Ando T, Wong RW.	4. 巻 11
2. 論文標題 High-Speed Atomic Force Microscopy Reveals Loss of Nuclear Pore Resilience as a Dying Code in Colorectal Cancer Cells.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 ACS Nano	6. 最初と最後の頁 5567-5578
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsnano.7b00906	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計5件(うち招待講演 0件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Hazawa M, Sakai K, Kobayashi A, Wong RW.
2. 発表標題 Disease-specific alteration of karyopherin-alpha subtypes establishes feedforward oncogenic signaling in squamous cell carcinoma
3. 学会等名 The 2018 ASCB EMBO Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 伊賀 祥紘、羽澤 勝治、Richard Wong
2. 発表標題 DNA損傷応答における核膜孔複合体の役割.
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 K. Sakai, M. Hazawa, A. Kobayashi, RW. Wong
2. 発表標題 Nuclear transport system caused by disease-specific Karyopherin alternation
3. 学会等名 Joint Annual Meeting of 70th JSCB and 51st JSDB
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hazawa M, Kobayashi A, Wong RW
2. 発表標題 ROCK-dependent phosphorylation of NUP62 regulates p63 nuclear transport in squamous cell carcinoma.
3. 学会等名 The 2017 ASCB EMBO Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 塚原涼太, 小林亜紀子, Wong RW, 羽澤勝治
2. 発表標題 皮膚組織幹細胞におけるNup153 の役割
3. 学会等名 第69回細胞生物学会大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Hazawa M, Kobayashi A, and Wong RW	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 240
3. 書名 NPCs in Mitosis and Chromosome Segregation In book: Nuclear Pore Complexes in Genome Organization, Function and Maintenance, chap 10	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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