

令和 2 年 5 月 28 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15210

研究課題名(和文)ゲノム核内空間配置の変換による組織特異的発がん機構の解明

研究課題名(英文)Subnuclear genome organization for cell-type specific cancer development

研究代表者

伊藤 謙治 (Ito, Kenji)

東京大学・医科学研究所・特任研究員

研究者番号：20757504

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：申請者は本研究課題期間中に、全身でがん遺伝子の発現を誘導可能な明細胞肉腫モデルマウスを樹立し、がんが出来ない組織では癌遺伝子誘発性細胞老化(Oncogene Induced Senescence; OIS)が起こっていること、一方で、がんが出来る組織ではOISの回避が起こっていることを明らかにした。さらに、明細胞肉腫の起始細胞で発現する転写因子が形成するクロマチン構造の変化が、組織特異的発がんの背景にあるメカニズムであることを明らかにし、論文として発表した(Komura S*, Ito K*, Nature Com., 2019)。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、細胞老化は発がんの抑制に関与しうることが報告されている。したがって、本研究成果はゲノム核内構造の変換を伴うクロマチン構造の変化に着目し、それをマウス個体内で誘導する事で細胞老化を誘導し、発がんを抑制出来る可能性を示したという点において意義深いと言える。

研究成果の概要(英文)：During the period of this research project, we established a doxycycline-inducible clear cell sarcoma model mouse capable of inducing oncogene expression in various types of tissue. By using this mouse, we uncovered (1) Oncogene Induced Senescence (OIS) has occurred in most cell types, and (2) avoidance of OIS and cancer development have occurred only in soft tissue. We also clarified that the change in chromatin structure formed by the transcription factor expressed in the cell of origin of clear cell sarcoma is the mechanism behind the tissue-specific cancer development. This work was published from Nature Communications (Komura S*, Ito K*, Nature Com., 2019).

研究分野：分子生物学、細胞生物学、エピジェネティクス

キーワード：ゲノム核内構造 遺伝子変異 発がん エピジェネティクス 老化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

- (1) がんは遺伝子変異を基盤とした病気であるが、エピゲノム変化も発がんに重要であることがわかってきている。
- (2) 近年、癌遺伝子誘発性細胞老化 (OIS) が発がんに抑制的に働くことが報告されている。OIS の過程でゲノム核内空間配置の変化による大規模なクロマチン構造変換が起こることが報告されていることから、発がんの抑制にゲノム核内空間配置の変化が重要である可能性を示唆している。
- (3) 近年、ゲノム核内空間配置が新たなエピゲノム機構として転写等の核内イベントに重要であることがわかってきている。また、がん細胞や iPS 細胞を用いた研究で、核膜に近いゲノム領域では、DNA のメチル化レベルが低下しており、遺伝子変異が入りやすいことが報告された。ゲノム核内空間配置の違いが細胞種特異的な遺伝子変異に重要であることを示唆している。
- (4) 異なる組織に出来るがんでは、変異が入り、がんの発生、増殖に直接的な原因として関与するドライバー遺伝子の種類が異なる。近年、発がん過程において獲得したパッセンジャー変異がドライバー遺伝子の変異に起因する特定のシグナル経路を異常に活性化することで OIS が誘導され、発がんに抑制的に働くことが報告された。OIS の誘導による発がんの抑制と遺伝子変異が密接に関わっていることを示している。

2. 研究の目的

これまで、発がん過程におけるエピゲノムの重要性は主に DNA のメチル化状態と関連して調べられてきたが、ゲノム核内空間配置の重要性はほとんど明らかになっていない。このような背景を踏まえ、発がんと同時に OIS を誘導可能なマウスモデルを作製して発がんが回避された時に、ゲノム核内空間配置がどのように変化するのかを調べる。最終的には、その変化を DNA のメチル化状態や遺伝子変異と関連させることで、がんの組織特異性におけるゲノム核内空間配置の重要性を明らかにすることを本研究課題の目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、所属研究室で既に樹立されているマウスモデルを使用し、発がんと同時に全身で OIS を誘導可能なマウスモデルを作製することを試みた。そのマウスモデルの発がんが誘導された組織と発がんが回避された組織のゲノム核内空間配置やヒストン修飾等のエピゲノム状態を詳細に解析し、獲得した遺伝子変異と関連させて調べることにした。

4. 研究成果

発がんと同時に OIS を誘導可能なマウスモデルを作製するため、淡明細胞肉腫 (Clear Cell Sarcoma : CCS) のマウスモデルに形成された腫瘍由来の細胞株を iPS 細胞作製技術を用いてリプログラミングし、CCS 由来 iPS 細胞 (CCS-iPSCs) を樹立した。続いて、CCS-iPSCs をマウスの胚盤胞に移植することで、全身で CCS 由来の遺伝子変異をもち、かつ CCS のドライバーとなる融合遺伝子 (EWS/ATF1 融合遺伝子) を発現誘導可能なキメラマウスを作製した。このキメラマウスの全身で EWS/ATF1 の発現を誘導したところ、腫瘍が認められたのは初代 CCS マウスモデルと同じ組織・領域 (皮下組織) だけであった。さらに腫瘍が形成されなかった組織と形成された組織を詳細に解析することで、腫瘍が形成されなかった組織では細胞老化 (Oncogene-induced senescence : OIS) が起こっているのに対し、腫瘍が形成された組織では OIS からのエス

ケープが起こっていることを明らかにした。この違いを生み出す分子メカニズムを明らかにするために、CCS-iPSCs由来のキメラマウスの胎児より樹立した繊維芽細胞とCCSの細胞株を *in vitro*の実験系のモデルとし、大規模なエピノム解析を行った。そのエピゲノム解析の結果と Single Cell RNA-seqのデータベースを用いた詳細な遺伝子発現解析を統合させることで、CCSの起始細胞において発現しているパイオニア転写因子EBF1がクロマチン構造変換を誘導し、がん細胞特異的なエンハンサー領域の形成を促進することがCCSの形成に重要であることを本研究期間内に明らかにした (Komura *, Ito *, et al., *Nat. Commun.* 2019) (図1)。

この知見に基づき、申請期間内に CCS-iPSCs に、核ラミナ遺伝子のコンディショナル KO アリルを導入し、腫瘍が形成される組織において特異的に大規模なゲノム核内空間配置の変換が誘導される発がんモデルの作製を試みたが、期間内に樹立するまでには至らなかった。

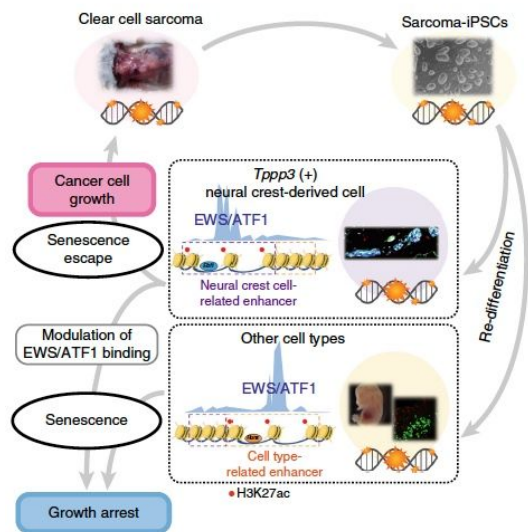


図1 . CCS マウスモデルを用いた研究成果の概略図

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Komura S, Ito K, Ohta S, Ukai T, Kabata M, Itakura F, Semi K, Matsuda Y, Hashimoto K, Shibata H, Sone M, Jo N, Sekiguchi K, Ohno T, Akiyama H, Shimizu K, Woltjen K, Ozawa, Toguchida J, Yamamoto T, Yamada Y.	4. 巻 5;10(1):3999
2. 論文標題 Cell-type dependent enhancer binding of the EWSATF1 fusion gene in clear cell	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature communications	6. 最初と最後の頁 1-19
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-019-11745-1	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

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kenji Ito, Akira Ohta, Knut Woltjen, Yasuhiro Yamada
2. 発表標題 Cancer drug screening based on refractoriness of cancer cell reprogramming
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kenji Ito, Akira Ohta, Knut Woltjen, Yasuhiro Yamada
2. 発表標題 Cancer drug screening based on refractoriness of cancer cell reprogramming
3. 学会等名 Keystone Symposia Conference : Cellular Plasticity: Reprogramming, Regeneration and Metaplasia (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ito K, Yamada Y
2. 発表標題 Cancer drug screening based on refractoriness of cancer cell reprogramming
3. 学会等名 第92回日本生化学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 伊藤 謙治、山田泰広	4. 発行年 2019年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 6
3. 書名 医学のあゆみ	

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----