

令和 3 年 6 月 15 日現在

機関番号：17301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22724

研究課題名(和文)p53欠損腫瘍発症にエッセンシャルなゲノム上の特定配列

研究課題名(英文)The essential transcriptional factor and its genomic element for the development of p53-deficient tumors

研究代表者

伊藤 公成 (ITO, Kosei)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(歯学系)・教授

研究者番号：00332726

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：p53の不活化とMycの過剰発現をRunx3がmR1を通して仲介するという骨肉腫発症の分子基盤は、さまざまな腫瘍の発症に広く通底するものだろうか。

その可能性を検証するため、リンパ球特異的p53欠損マウス(胸腺リンパ腫モデルマウス/LPマウス)を新たに導入した。このマウスにおける胸腺リンパ腫の発症は、Runx1によるMycの過剰誘導に依存した。さらにLPマウスのmR1にホモ変異を導入すると、胸腺リンパ腫の発症が顕著に抑制された。以上の結果から、mR1を介したRunx1によるMycの発現誘導は、p53欠損性の腫瘍の発症機序における、がん種を越えた共通の分子基盤であると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

極めて広範にヒトがんに関与する、p53の不活化とMycの活性化が、mR1とRunxの介在で機能的に連結した。細胞の腫瘍化は複雑であると考えられているが、実際には、根底にシンプルな共通基盤が存在し、そこに関与する責任因子や特定のゲノムエレメントをターゲットにすることで、それを制御できる可能性がある。

現在の抗がん戦略は、テーラーメイド医療に代表させるように、個々の遺伝子異常に、個々に特化した分子標的薬で対処している。今回の成果は、この複雑な治療戦略を根本から見直すきっかけを与えている。

研究成果の概要(英文)：p53 deficiency and Myc dysregulation are the most frequently associated with human cancers. We have shown that Runx3 plays a role as a central oncogenic role mediating p53 inactivation and Myc upregulation via mR1; the essential genome element for Myc upregulation in osteosarcomagenesis. Here we focus on thymic lymphoma, which accounts for majority of tumours generated by systemic p53 deletion in mice. Mice lacking p53 specifically in T cells mostly succumbed to thymic lymphoma, certifying this Lck-Cre;p53F/F (LP) mouse line as a rational model to study the tumour. Depletion of Runx1, but not Runx3, effectively extended the lifespan of LP mice, phenocopying Myc-depleted LP mice. LP mice with specific mR1 disruption also presented a reduced thymic lymphoma incidence and thus an improved lifespan. These results suggest that Myc upregulation by Runx via mR1 is a common molecular basis for the pathogenesis of p53-deficient tumours across cancer types.

研究分野：分子腫瘍学

キーワード：T細胞リンパ腫 p53 c-Myc Runx 骨肉腫

1. 研究開始当初の背景

骨肉腫発症の分子メカニズムを解析した結果、骨肉腫発症の分子基盤は「p53 の遺伝子異常に伴う、Runx3 による c-Myc の過剰誘導」であることが判明した。さらに、Runx3 による Myc の過剰誘導に必須な Runx 結合配列「mR1」を、ゲノム上の特定位置において同定した。その mR1 を破壊すると、骨肉腫発症モデルマウスにおける骨肉腫の発症が顕著に抑制された (図 1)。

p53 の遺伝子異常は、ほぼすべてのヒトがんにおいて高頻度に観察される。実際、全身性 p53 欠損マウスは、骨肉腫のほかに胸腺リンパ腫を好発する。よって、p53 の不活化と Myc の過剰発現を Runx3 が mR1 を通じて仲介するという骨肉腫発症の分子基盤は、さまざまな腫瘍の発症に広く通底するのではないかと考えた。

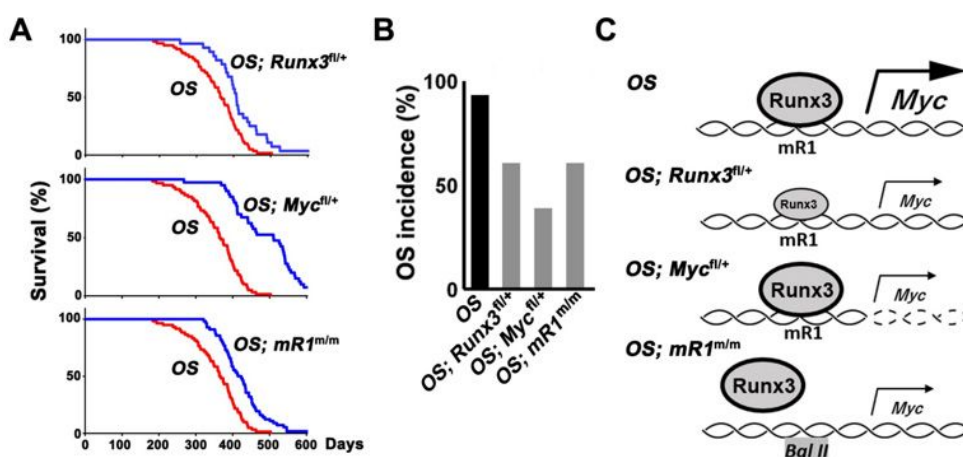


図 1 Runx3あるいはMycのヘテロ欠損、あるいはmR1ホモ変異は、同様に骨肉腫発症モデルマウス(骨芽細胞特異的p53遺伝子KOマウス: OSマウス)をレスキューする。
 A. OSマウスは、Runx3あるいはMycのヘテロ欠損、あるいはmR1のホモ変異で延命した。
 B. OSマウスの造腫瘍性は、Runx3あるいはMycのヘテロ欠損、あるいはmR1のホモ変異で減弱した。
 C. Runx3ヘテロ欠損、Mycヘテロ欠損、mR1のホモ変異は、同じ結果をもたらした。

2. 研究の目的

p53 の破綻に起因して発症する腫瘍は、骨肉腫のほかにも多い。実際、先天的に p53 の遺伝子異常をもつ Li-Fraumeni 症候群の患者は、悪性肉腫のほか、血液腫瘍、乳がん、脳腫瘍など、さまざまな腫瘍を発症する。全身性 p53 ノックアウトマウスも同じ傾向をもち、とりわけ血液腫瘍のひとつである胸腺リンパ腫を好発する。

そこで、上述の骨肉腫の発症機序が、胸腺リンパ腫の発症にも通底するかどうかを検証するため、p53 欠損性の胸腺リンパ腫モデル(T 細胞特異的 p53 遺伝子欠損マウス / LP マウス)を導入し、p53 欠損性リンパ腫発症における Runx ファミリーおよび Myc の機能、そして mR1 の有効性を検証することにした。

3. 研究の方法

T 細胞特異的 p53 遺伝子欠損マウス / LPマウス (*Lck-Cre;p53^{fl/fl}*) を導入した。この LPマウス

スは $p53^{-/-}$ マウスと同様・同程度に T 細胞リンパ腫を発症することが知られている。そこでこの LP マウスをベースに、以下 A~E のラインを作成し、実際に 1 . Myc は p53 欠損 T 細胞リンパ腫の発症に必須か、2 . Myc の発現亢進に必要なものは、Runx1、Runx2、Runx3 のどれであるのか、さらに 3 . mR1 がその発現亢進のエッセンシャルエレメントであるかどうか、をマウスレベルで検討する。それぞれを数十匹飼育し、1 年以上にわたり胸腺リンパ腫の発症を観察する。

- A. *Lck-Cre; p53^{fl/fl}* (LP マウス)
- B. *Lck-Cre; p53^{fl/fl} Runx1^{fl/+}* (LP; *Runx1^{fl/+}* マウス)
- C. *Lck-Cre; p53^{fl/fl} Runx2^{fl/+}* (LP; *Runx2^{fl/+}* マウス)
- D. *Lck-Cre; p53^{fl/fl} Runx3^{fl/+}* (LP; *Runx3^{fl/+}* マウス)
- E. *Lck-Cre; p53^{fl/fl} Myc^{fl/+}* (LP; *Myc^{fl/+}* マウス)
- F. *Lck-Cre; p53^{fl/fl} mR1^{m/m}* (LP; *mR1^{m/m}* マウス)

4 . 研究成果

解析結果を図にまとめる。LP マウスが発症した胸腺リンパ腫を単離し、正常な胸腺組織と比較したところ、p53

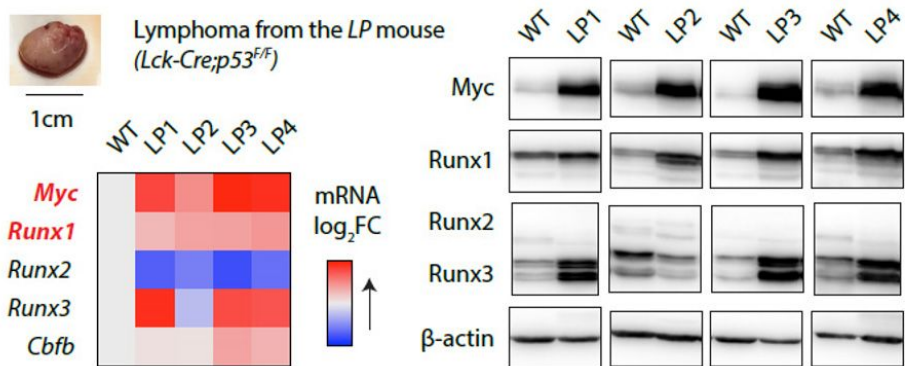


図2 LPマウス由来のリンパ腫では顕著にMyc, Runx1, Runx3の発現が亢進する。

欠損リンパ腫

において、顕著な Myc、Runx1、Runx3 の発現亢進が確認された(図2)。

そこで、A~Fのマウスラインそれぞれ数十匹を1年以上観察したところ、LPマウスに比べて顕著に延命し造腫瘍性が低下したのは、LPマウス; *Myc^{fl/+}*とLPマウス; *Runx1^{fl/+}*であり、おもしろいことに予想に反して、LPマウス; *Runx3^{fl/+}*マウス(およびLPマウス; *Runx2^{fl/+}*マウス; データは示さず)では、延命

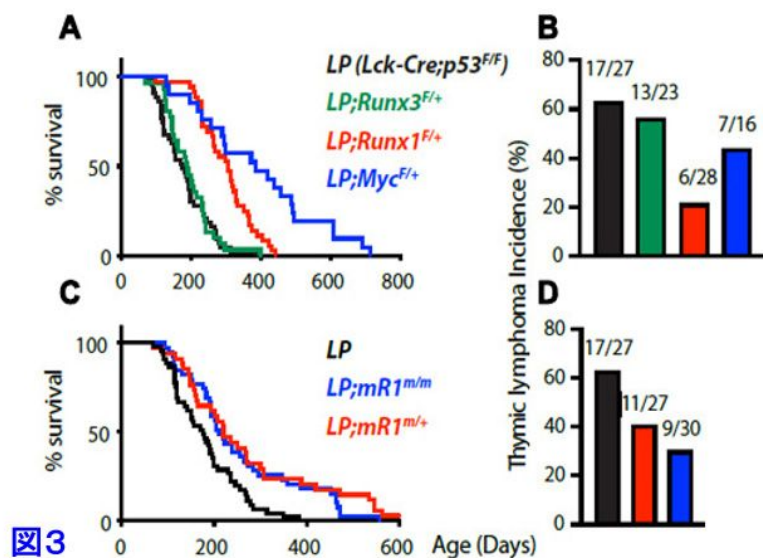


図3

効果および造腫瘍性の低下は観察できなかった(図3のAとB)。p53欠損性胸腺リンパ腫の発症においては、p53欠損性骨肉腫発症の場合と異なり、責任因子はRunx3ではなくRunx1であることが判明した。さらに、mR1の有効性を確認したところ、mR1においては、p53欠損性骨肉腫発症マウスの観察同様、その変化により有意に延命効果および造腫瘍性の低下が観察された(図3

のCとD)。

これらの結果から、p53 欠損性胸腺リンパ腫の発症は、mR1 を介した Runx1 による Myc の過剰誘導に依存すると結論した。骨肉腫と胸腺リンパ腫で Runx3 と Runx1 の違いはあるが、p53 非存在下における mR1 を介した Runx による Myc の発現誘導は、p53 欠損性腫瘍の発症機序における、悪性腫瘍の種を越えた共通の分子基盤であると考えられる (図4)。

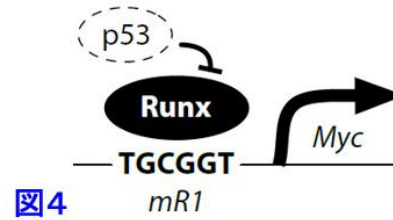


図4

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Date Y and Ito K	4. 巻 43
2. 論文標題 Oncogenic RUNX3: A Link between p53 Deficiency and MYC Dysregulation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecules and Cells	6. 最初と最後の頁 176-181
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.14348/molcells.2019.0285.	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 Date Y, Otani S, Ueno T, and Ito K	4. 巻 80
2. 論文標題 The oncogenic Runx3 - Myc axis defines p53-deficient osteosarcomagenesis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Research	6. 最初と最後の頁 301-301
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1158/1538-7445.AM2020-301	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4件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Kosei Ito
2. 発表標題 Oncogenic Runx3 in osteosarcoma development.
3. 学会等名 第22回 International RUNX Conference（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大谷昇平, 伊達悠貴, 伊藤公成
2. 発表標題 p53 represses c-Myc by inhibition of Runx3 to suppress osteosarcoma development.
3. 学会等名 第78回 日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊達悠貴, 大谷昇平, 伊藤公成
2. 発表標題 mR1 is an essential genomic element for p53-deficient osteosarcomagenesis.
3. 学会等名 第78回 日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊達悠貴, 大谷昇平, 上野智也, 伊藤公成
2. 発表標題 RUNX3 upregulates c-MYC via mR1 - an essential genomic element for p53-deficient osteosarcoma-genesis
3. 学会等名 米国がん学会 (AACR 2020) (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 分子硬組織生物学 http://www.de.nagasaki-u.ac.jp/dokuji/mbb/
--

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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------