

機関番号：72602

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20300229

研究課題名（和文）概日リズムの攪乱により誘導される発癌の分子メカニズム解明と
発癌予防法の開発研究課題名（英文）Mechanism of Tumor formation by deregulated circadian rhythm and
strategy for its prevention

研究代表者

大谷 直子（OHTANI NAOKO）

財団法人癌研究会・癌研究所がん生物部・主任研究員

研究者番号：50275195

研究成果の概要（和文）：

概日リズムの攪乱と発癌の関係を明らかにするため、新生仔にDMBAを塗布する化学発癌実験系を用いて、12時間毎に可視光線下と消灯の環境下(Light and Dark, LD群)で飼育する群と、出生時から暗い環境下で飼育するDD群(Dark and Dark)で発癌性に違いがあるかどうか比較した。DD群では肺腫瘍の数が雄雌ともに有意に多く、雄では3.9倍、雌では2.1倍多く発生した。今後、概日リズムの攪乱による肺癌促進の分子メカニズムを解明していく予定である。

研究成果の概要（英文）：

To clarify whether the deregulation of circadian rhythm is involved in cancer, DMBA (7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene) treated mice of 4 or 5 days old were kept in the completely dark condition during day and night (Dark and Dark, DD) or in 12 h-light and 12 h-dark condition (Light and Dark, LD). After 30 weeks, mice were sacrificed, and the spectrum and the number of tumors were analyzed. Mice kept in DD condition developed significantly more lung tumors (3.9 fold more lung tumors in male mice and 2.1 fold more lung tumors in female mice). As a next step, the molecular mechanisms of how deregulation of circadian rhythm promotes lung tumors will be elucidated.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	4,700,000	1,410,000	6,110,000
2009年度	5,000,000	1,500,000	6,500,000
2010年度	5,000,000	1,500,000	6,500,000
年度			
年度			
総計	14,700,000	4,410,000	19,110,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康スポーツ科学・応用健康科学

キーワード：生活習慣病

1. 研究開始当初の背景

近年、生活の夜型化が進み、概日リズムの乱れによる睡眠相後退症候群など、身体に対する様々な影響が問題視されている。さらに概日リズムの乱れによる重要な問題として、概日リズムが消失すると、様々な癌が起りやすくなる可能性が疫学的に示唆されている。

2. 研究の目的

本研究では、概日リズムの攪乱によりどのような種類の発癌の危険性が高まるのかを同定・解析し、さらにどのような分子メカニズムにより、概日リズムの攪乱による発癌促進が起こるのかを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

まず、概日リズムの攪乱によりどのような種類の発癌の危険性が高まるのかを検討するため、CD1 (ICR) 系統 (チャールズリバー) のマウスを用いて、生後4~5日のマウス新生仔の背中にDMBA (7,12-dimethylbenz [a]anthracene, 250 μ g) を塗布する化学発癌系 (新生仔DMBA発癌系) を用いた。この系では、通常、塗布後30週から40週後に肝癌、肺癌、悪性リンパ腫、皮膚癌など様々な悪性腫瘍が発生する。

この発癌系を用いて、12時間可視光線下で飼育し12時間消灯する通常的环境下 (Light and Dark, LD群) で飼育する群と、出生時から暗い環境下で飼育するDD群 (Dark and Dark) に分けて、発癌実験を行い、LD群、DD群間で発癌性に違いがあるかどうかを30週後に検討した。

4. 研究成果

(1) 暗環境で飼育すると肺腫瘍数が増加する

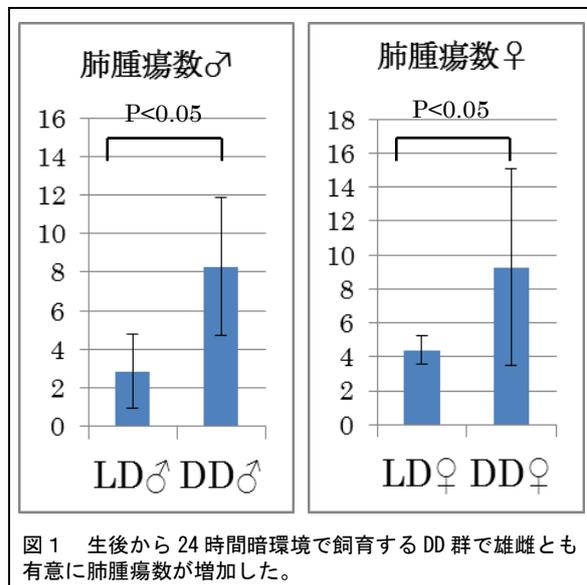
新生仔DMBA発癌系を用いると、30週齢時には雄雌ともほぼ100%のマウスで肺癌が発生し、雄マウスの場合にはさらに肝癌も多く発生することが明らかになった。

LD群の雄 (n=6) では肝癌 (肝細胞癌) の発生個数の平均値は 12.0 個、DD群の雄 (n=7) における肝癌の発生個数の平均値は 12.14 個で変わらなかった。一方、LD群の雄 (n=6) における肺癌 (肺腺癌) の発生個

数の平均値は 2.82 個、DD群の雄 (n=7) における肺癌の発生個数の平均値は 8.29 個でDD群の雄で肺癌が有意に多く発生した ($p < 0.05$)。雌では肺癌しか発生しなかったが、LD群の雌 (n=5) では肺癌の発生個数の平均値は 4.4 個、DD群の雄 (n=12) における肝癌の発生個数の平均値は 9.33 個でDD群の雌で肺癌が有意に多く発生した ($p < 0.05$) (図1)。

5. 結果のまとめ

以上の結果から出生時から暗い環境下で飼育したDD群 (Dark and Dark) では新生仔 DMBA 発癌系により発生した肺癌が雄雌ともに有意に多く、雄では 3.9 倍、雌では 2.1 倍多く発生することが明らかになった (図1)。この理由として、肺癌の発症においては DD 条件下で飼育することによってサーカディアンリズムが消失し、サーカディアンリズム制御下で発現する遺伝子群の発現が異常になったことが原因である可能性がある。一方、肝癌はLD群、DD群間で発症率に差はなかった。



6. 今後の研究の推進方策

(1) サーカディアン遺伝子の関与

サーカディアン遺伝子のうち、癌抑制に働くとされているPeriod1、Period2等様々なサーカディアン遺伝子の発現が、各々の群の腫瘍部、非腫瘍部でどのように変化しているか、また、p53経路、RB経路の分子の発現

がサーカディアン遺伝子の発現とどのように関与しているかを今後解析していきたい。

(2) 抗がん剤投与とサーカディアンリズム

また、上記の発癌系において、ドキシソルビン等の抗癌剤を投与する群も用意し、抗癌剤による癌治療効果が、LD群、DD群間で違いがあるかどうかについて検討し、発癌性との関係について検証したい。

5. 代表的な研究成果 〔雑誌論文〕(計6件)

- 1 大谷直子、原英二
CDK インヒビター-p21^{Waf1/Cip1} 遺伝子発現ダイナミクスの生体内イメージング
実験医学 増刊号「生命現象の動的理解を目指すライブイメージング」(査読無)
vol.26, No.17, 50-58, (2008)
- 2 大谷直子、原 英二
生体内における p 2 1 遺伝子発現のリアルタイム・イメージング(査読無)
細胞工学 vol 27, No.2, 170-171, (2008)
- 3 Yamakoshi K, Takahashi A, Hirota F, Nakayama R, Ishimaru N, Kubo Y, J. Mann D. J, Ohmura M., Hirao A, Saya H, Arase S, Hayashi Y, Nakao K., Matsumoto M, Ohtani N, and Hara E.
Real-time *in vivo* imaging of p16^{Ink4a} reveals cross talk with p53. (査読有)
J. Cell Biol. 186, 393-407, (2009)
- 4 Ohtani N, Mann D. J. and Hara E.
Cellular senescence: Its role in tumor suppression and aging. (査読有)
Cancer Science, 100, 792-797 (2009)
- 5 Takeuchi S, Takahashi A, Motoi N, Yoshimoto S, Tajima T, Yamakoshi K, Hirao A, Yanagi S, Fukami K, Ishikawa Y, Sone S., Hara E. and Ohtani N.
Intrinsic cooperation between p16^{Ink4a} and p21^{Waf/Cip1} in the onset of cellular senescence and tumor suppression *in vivo*. (査読有)
Cancer Research 70, 9381-9390 (2010).
- 6 Ohtani N, Yamakoshi K, Takahashi A, and Hara E.
Real-time *in vivo* imaging of p16^{Ink4a} gene expression: a new approach to study senescence stress signaling in living animals. (査読有)
Cell Division, 5:1, doi:10.1186/1747-1028-5-1 (2010)

〔学会発表〕(計6件)

- 1 大谷直子
癌抑制機構としての細胞老化
日本再生医療学会シンポジウム、ステムセルエイジング 2009. 3月5日 東京
(招待講演)
- 2 Ohtani N
Real-time *in vivo* imaging of oncogenic stress response in living animals.
“Cell Proliferation Control”
International Symposium CELL CYCLE and CELL ARCHITECTURE 2009. 2.28
Nagoya
(招待講演)
- 3 Yamakoshi K, Takahashi A, Ohtani N and Hara E
Real-time *in vivo* imaging of p16^{INK4a} expression unveils a cross-talk between p53 and p16^{INK4a}
Salk Institute, Mechanism & Models of Cancer meeting
La Jolla, U. S. A. 2009.8.14
- 4 Takeuchi S, Takahashi A, Motoi N, Yamakoshi K, Ishikawa Y, Sone S, Hara E and Ohtani N
Cooperative role of p21^{Waf1/Cip1} and p16^{INK4a} in skin cancer prevention in mice
日本癌学会総会 2009年10月2日 横浜
- 5 Takeuchi S, Takahashi A, Motoi N, Yoshimoto S, Tajima T, Yamakoshi K, Ishikawa Y, Sone S, Hara E. and Ohtani N.
Intrinsic cooperation between p16^{Ink4a} and p21^{Waf/Cip1} in the onset of cellular senescence and tumor suppression *in vivo*.
Cold Spring Harbor Laboratory Meeting, Molecular Genetics of Aging
Cold Spring Harbor, New York, USA,
2010. 9. 29
- 6 Imai Y, Takahashi A, Yao R, Ohtani N, Hirota T, Tahara H, Ide T, Noda T, and Hara E
Identification of tumor stimulating factors in cellular senescence.
日本癌学会総会 2010年9月23日 大阪

〔図書〕（計1件）

- 1 細胞周期フロンティア
佐方功幸、稲垣昌樹、岸本武雄 編集
「組織幹細胞の老化」 p200～p206
大谷直子 執筆担当
2010年11月10日出版 共立出版

○出願状況（計0件）

○取得状況（計0件）

6. 研究組織

(1)研究代表者

大谷 直子 (OHTANI NAKO)

研究者番号：50275195