

令和 5 年 6 月 18 日現在

機関番号：72602

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16344

研究課題名(和文) 乳がん細胞における老化様エピゲノム異常がもたらす悪性化機構の解明

研究課題名(英文) Analysis of tumor progression caused by aberrant senescence-like epigenome in breast cancer cells

研究代表者

宮田 憲一 (MIYATA, Kenichi)

公益財団法人がん研究会・がん研究所 がんエピゲノムプロジェクト・特任研究員

研究者番号：20816938

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、老化細胞で特徴的な染色体構造変化(ORSP)が、一部の乳がんでも形成されているという我々が同定した知見に基づき、乳がんにおけるORSPが腫瘍悪性化機構へ及ぼす影響の解明を目的として研究を行った。細胞生物学的な解析及び情報解析により、ER(エストロゲン受容体)陽性乳がんにおいてORSPを起こしている細胞が多いこと、また、その細胞は老化細胞様の遺伝子発現変化を起こしている傾向があることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、細胞生物学的な解析及び情報解析により、ER(エストロゲン受容体)陽性乳がんにおいて老化細胞に類似した遺伝子発現変化を起こしている細胞集団の存在を発見した。これらの研究成果は、乳がんにおいて、老化細胞で特徴的な染色体構造変化(ORSP)を呈する細胞が共通の治療標的となりうる可能性を示唆しており、さらなる研究により新規治療戦略の開発に繋がる可能性を示唆された。

研究成果の概要(英文)：Based on our finding that chromosomal structural alterations (ORSPs) characteristic of senescent cells are also formed in some breast cancers, this study aimed to elucidate the effect of ORSPs in breast cancer on the mechanism of tumor progression. Through cell biological and bioinformatics analysis, we found that ER (estrogen receptor)-positive breast cancers have a high number of cells that undergo ORSP and that these cells tend to have senescent-like gene expression profile.

研究分野：細胞老化

キーワード：細胞老化 反復配列 SASP 乳がん

1. 研究開始当初の背景

我が国の乳がんの罹患率は年々増加傾向にあり、女性では罹患率が最も高いがんである。乳がんの約70%はER(エストロゲン受容体)陽性型であり、エストロゲンにより増殖・転移が促進されるため、エストロゲンの働きを抑制するホルモン療法が広く行われている。しかし、約30%のER陽性型乳がん患者においてはホルモン療法に対して不応性であることや、長期療法によって治療耐性を獲得し再発を来すこと等が問題となっている。そのため、既存療法に代わる新規治療戦略の開発が強く求められている。

2. 研究の目的

研究代表者はこれまでに、ゲノム上の遺伝子非コード領域の反復配列のクロマチン構造が、老化細胞ではオープン状態にあり、この特徴的な染色体構造：ORSP (Opened Repetitive Sequence Phenotype) が SASP (Senescence-Associated Secretory Phenotype) 因子の遺伝子発現に重要であることを明らかにしてきた。また、老化細胞が ORSP を示すことで SASP 因子を分泌し、がん細胞の悪性を助長していることも明らかにしてきた。そこで、本研究計画では、老化細胞で特徴的な ORSP が、一部の乳がんでも形成されているという我々が同定した新知見に基づき、乳がんにおける ORSP が腫瘍悪性化機構へ及ぼす影響の解明、さらには乳がんの新規治療戦略の開発へ繋げることを目的としている。

3. 研究の方法

乳がん細胞における ORSP (Opened Repetitive Sequence Phenotype) を評価するために、ゲノム上の遺伝子非コード領域の反復配列を認識するプローブを設計し、DNA-FISH (DNA-Fluorescence in situ hybridization) を行い、高頻度に ORSP を起こしている細胞の特徴を解析した。

ORSP が遺伝子発現へ与える影響をゲノムワイドに評価するために、高頻度に ORSP が起きているがん細胞株と起きているがん細胞株とをクロマチンアクセシビリティを指標に分類し、前者で特徴的な遺伝子群の同定を行った。

単一細胞レベルでも高頻度に ORSP が起きている細胞と起きている細胞を、クロマチンアクセシビリティを指標に比較解析できる新規パイプラインの構築を行い、乳がん微小環境において高頻度に ORSP が起きている細胞集団で特徴的な遺伝子群の同定を行った。

4. 研究成果

乳がん細胞及び老化細胞において、ORSP (Opened Repetitive Sequence Phenotype) を検出及び評価する方法を確立するために、ゲノム上の遺伝子非コード領域の反復配列を認識するプローブを設計し、様々な細胞株で DNA-Fluorescence in situ

hybridization (DNA-FISH) 解析を実施し、一部の乳がん細胞株において ORSP を検出することに成功した。さらに、その細胞の特徴を解析した結果、乳がん細胞の中でも特に ER (エストロゲン受容体) 陽性型の細胞株で ORSP が顕著に起きていることが明らかになった。

クロマチンアクセシビリティとトランスクリプトームの両方の情報が公共データベースに登録されている細胞株について、反復配列のクロマチンアクセシビリティを指標に ORSP を呈するがん細胞株とそうでない細胞株を分類し、前者で特徴的な遺伝子群の同定を行った結果、ORSP を呈するがん細胞株ではクロマチンリモデリング関連遺伝子群の発現が有意に上昇していることが明らかになった。興味深いことに、ER 陽性型の乳がん細胞株においても、これらの遺伝子群の発現上昇が観察された。

ER 陽性乳がん臨床検体の単一細胞 ATAC-Seq (Assay for Transposase-Accessible Chromatin with high-throughput sequencing) 解析を行い、高頻度に ORSP が起きている細胞とそうでない細胞とを、ゲノムワイドにクロマチン領域のアクセシビリティ評価を行った。通常の scATAC-seq 解析パイプラインでは、ORSP の検出に対応していないため、まずは新規解析パイプラインの構築を行った。その後、この新規パイプラインを活用し、乳がん臨床検体の scATAC-seq データについて解析を行った結果、興味深いことに、ORSP を示す乳がん細胞では細胞老化で特徴的な LCE (Late cornified envelope) 遺伝子座のクロマチンアクセシビリティ及び遺伝子発現スコアが著しく上昇していることを見出した。これらの結果から、ORSP を示す乳がん細胞は老化細胞と一部のクロマチン構造に加えて遺伝子発現も類似してことが明らかとなり、この類似点が老化細胞と乳がん細胞の共通の治療標的になりうる可能性を示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Sugawara Sho, Okada Ryo, Loo Tze Mun, Tanaka Hisamichi, Miyata Kenichi, Chiba Masatomo, Kawasaki Hiroko, Katoh Kaoru, Kaji Shizuo, Maezawa Yoshiro, Yokote Koutaro, Nakayama Mizuho, Oshima Masanobu, Nagao Koji, Obuse Chikashi, Nagayama Satoshi, Takubo Keiyo, Nakanishi Akira, Kanemaki Masato, Hara Eiji, Takahashi Akiko	4. 巻 5
2. 論文標題 RNaseH2A downregulation drives inflammatory gene expression via genomic DNA fragmentation in senescent and cancer cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-022-04369-7	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 Misawa Tomoka, Hitomi Kazuhiro, Miyata Kenichi, Tanaka Yoko, Fujii Risa, Chiba Masatomo, Loo Tze Mun, Hanyu Aki, Kawasaki Hiroko, Kato Hisaya, Maezawa Yoshiro, Yokote Koutaro, Nakamura Asako J., Ueda Koji, Yaegashi Nobuo, Takahashi Akiko	4. 巻 24
2. 論文標題 Identification of Novel Senescent Markers in Small Extracellular Vesicles	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2421 ~ 2421
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms24032421	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 Saeki Sumito, Kumegawa Kohei, Takahashi Yoko, Yang Liying, Osako Tomo, Yasen Mahmut, Otsuji Kazutaka, Miyata Kenichi, Yamakawa Kaoru, Suzuka Jun, Sakimoto Yuri, Ozaki Yukinori, Takano Toshimi, Sano Takeshi, Noda Tetsuo, Ohno Shinji, Yao Ryoji, Ueno Takayuki, Maruyama Reo	4. 巻 25
2. 論文標題 Transcriptomic intratumor heterogeneity of breast cancer patient-derived organoids may reflect the unique biological features of the tumor of origin	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Breast Cancer Research	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13058-023-01617-4	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 Kumegawa Kohei, Yang Liying, Miyata Kenichi, Maruyama Reo	4. 巻 13
2. 論文標題 FOXO1 is associated with poor outcome and maintains tumor-promoting enhancer?gene programs in basal-like breast cancer	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Oncology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fonc.2023.1156111	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 Miyata Kenichi、Takahashi Akiko	4. 巻 13
2. 論文標題 Pericentromeric repetitive ncRNA regulates chromatin interaction and inflammatory gene expression	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nucleus	6. 最初と最後の頁 74 ~ 78
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/19491034.2022.2034269	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 Miyata K, Imai Y, Hori S, Nishio M, Loo TM, Okada R, Yang L, Nakadai T, Maruyama R, Fujii R, Ueda K, Jiang L, Zheng H, Toyokuni S, Sakata T, Shirahige K, Kojima R, Nakayama M, Oshima M, Nagayama S, Seimiya H, Hirota T, Saya H, Hara E, Takahashi Akiko	4. 巻 118
2. 論文標題 Pericentromeric noncoding RNA changes DNA binding of CTCF and inflammatory gene expression in senescence and cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2025647118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2025647118	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 Hitomi Kazuhiro, Okada Ryo, Loo Tze Mun, Miyata Kenichi, Nakamura Asako J., Takahashi Akiko	4. 巻 21
2. 論文標題 DNA Damage Regulates Senescence-Associated Extracellular Vesicle Release via the Ceramide Pathway to Prevent Excessive Inflammatory Responses	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 3720 ~ 3720
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21103720	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 -

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 宮田憲一、高橋暁子
2. 発表標題 細胞老化特異的なノンコーディングRNAによる発がん機構の解析
3. 学会等名 第20回日本抗加齢医学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kenichi Miyata, Akiko Takahashi
2. 発表標題 Analysis of noncoding RNA and chromatin organization in senescent cells
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高橋暁子, 宮田憲一, 羅智文, 菅原祥
2. 発表標題 The Analysis of Epigenetic alteration in cellular senescence and cancer : 細胞老化とがんにおけるエピゲノム異常の解析
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

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

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
---------	---------