

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 7 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26430111

研究課題名(和文) 正常及び癌組織幹細胞分化制御機構におけるクロマチン構造調節因子DEKの役割の解明

研究課題名(英文) The role of DEK oncogene in normal and cancer stem cells

研究代表者

原 明 (Hara, Akira)

岐阜大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：10242728

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：DEK癌遺伝子の機能を明らかにするため、ドキシサイクリン誘導性DEK発現コントロールマウスを作製した。DEKの発現は、正常組織や臓器に組織学的な変化はきたさなかった。遺伝子レベルでは、たばこや発癌物質に代表される環境因子による組織変化に影響され、消化管扁平上皮臓器では、細胞増殖速度の促進がみられ、悪性腫瘍の形成と腫瘍細胞の増殖を加速させた。その腫瘍細胞増殖促進のメカニズムは、腫瘍細胞のセルサイクルのG1/S移行を活性化させることであった。DEKは癌遺伝子としての性格を有し、将来の癌治療のターゲットとなりうる基盤的成果を得ることができた。

研究成果の概要(英文)：We have generated doxycyclin-inducible Dek transgenic mouse. Dek induction unchanged the histology of the mouse tissues in the normal condition. However, when exposed to the carcinogen, the DEK-inducible mouse enhanced the tumor proliferation and tumor progression in the organ with squamous cell epithelium. Dek overexpression enhanced the G1/S transition in tumor cells. We have clarified Dek is the true oncogene. The target therapy against the DEK in cancers will be promised in the future.

研究分野：再生医学

キーワード：腫瘍 再生

1. 研究開始当初の背景

多細胞生物を構成する種々の細胞は、遺伝情報として同じセットのゲノム DNA を有しており、同一の遺伝情報から選択的に遺伝子発現することで、細胞種固有の形質が規定されている。この遺伝子発現は、転写因子とクロマチン構造調節因子により時間・空間的に制御されている。

その転写因子群の一つである **DEK 遺伝子** は、『**proto-oncogene**』と呼ばれ、ある種の急性骨髄性白血病で、DEK-CAN 融合遺伝子が癌化の原因であることが報告されている (*Blood, 1992*)。現在まで、様々な癌細胞での発現亢進が知られ、DNA 修復、複製、遺伝子発現コントロールなどに関与していると言われつつも、その分子機能についてはほとんど解析が進んでいない。

《最近の知見では、DEK のさらなる多彩な機能が分かってきた。》

- ① 網膜の発分化に関与し、また網膜から発生する網膜芽細胞腫では周囲正常組織と比較し、ほぼ全腫瘍細胞で高発現している。 (*Genes Chromosomes Cancer. 2006*)
- ② 筋組織で幹細胞から前駆細胞への分化、特に非対称分裂 (asymmetric cell division) を促し、その時 DEK の発現は microRNA により制御されている。 (*Nature, 2012*)
- ③ クロマチンリモデリング時に、ヒストンを修飾する“ヒストンシャペロン”という蛋白として機能し、このシャペロン機能異常がクロマチン構造制御の破綻 (癌化) に関連。 (*Genes Dev. 2010*)

以上より、DEK は、少なくとも幹細胞の分化・維持及び癌化に関わるエピジェネティック修飾、特にクロマチン構造調節(リモデリング)に関与していることが示唆される。こうしたクロマチンリモデリング能を持つ因子の変異による細胞がん化は、変化したタンパク質

自身の機能に起因する可能性とそれらの制御下にある遺伝子発現量の変化に起因する可能性とが考えられ、そのメカニズムは未だ不明で、かつ新しい領域である。今後、以下の2点に注目する必要がある。

- 1) 細胞集団からなる組織、つまり幹細胞ニッチ(微小環境)における生体レベルでの各臓器の DEK 分化制御機構及びその破綻は未だ不明である。
- 2) クロマチン環境を整える役割を持つ因子群のメカニズムは、iPS 細胞や ES 細胞の分化制御など再生医学にも極めて重要で応用可能である。

2. 研究の目的

新規クロマチン構造調節因子 DEK 遺伝子は遺伝子発現のオン・オフをコントロールするクロマチンの開閉に働く転写因子群の一つで、**エピジェネティック修飾**に重要な役割を果たしていると言われていても詳細は未だ不明である。

本研究では、①**幹細胞ニッチ(微小環境)での DEK による幹細胞分化制御機構**を明らかにし、②**DEK 機能破綻と癌との接点**を示し、**癌幹細胞ニッチにおける DEK 異常及びクロマチン環境異常の意義**を明らかにする。最終的に、**新たな領域の斬新な分子標的治療薬開発への基盤**とする。

3. 研究の方法

(1) ヒトでの DEK の関与は? → ヒト臨床症例における DEK、幹細胞マーカーの解析

ヒト正常組織及び癌症例で、DEK 発現細胞と幹細胞・前駆細胞との局在や発現レベルの特徴はあるのか? 癌細胞での DEK 発現の割合は?などを病理組織学的、臨床的に明らかとする。

(2) ヒト癌での DEK 阻害治療への可能性は? → ヒト癌細胞での DEK 発誘導及び化学療法感受性解析

治療への発展を目指すため、DEK 遺伝子を loss or gain 操作したヒト癌細胞を用いて解析する。これは、浸潤能や転移能の変化を in vitro 及び xenograft model を用いた in vivo で解析し、ヒト癌細胞内での DEK のメカニズムを明らかとする。さらに、既存及び microRNA 阻害剤など新たな抗がん剤や分子標的薬での感受性を検討する。

(3) 神経分化や癌の微小環境における DEK による幹細胞制御のメカニズムは？→DEK 遺伝子改変マウスの作製・解析

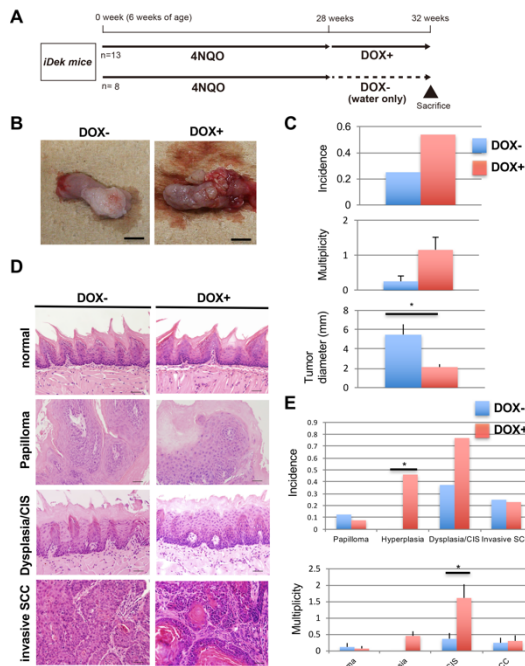
In vitro では解析不可能な各臓器の正常・癌微小環境での DEK 制御機構のメカニズムを探る。DEK のオン・オフだけでなく、蛍光色素をレポーターとして組み込んだ遺伝子改変マウスを作製し、正常幹細胞ニッチでの DEK 制御のメカニズムだけでなく、さらに我々の得意な発癌モデル実験を用い、未だ不明である生体における幹細胞ニッチでの DEK 制御のメカニズムを明らかとする。

4. 研究成果

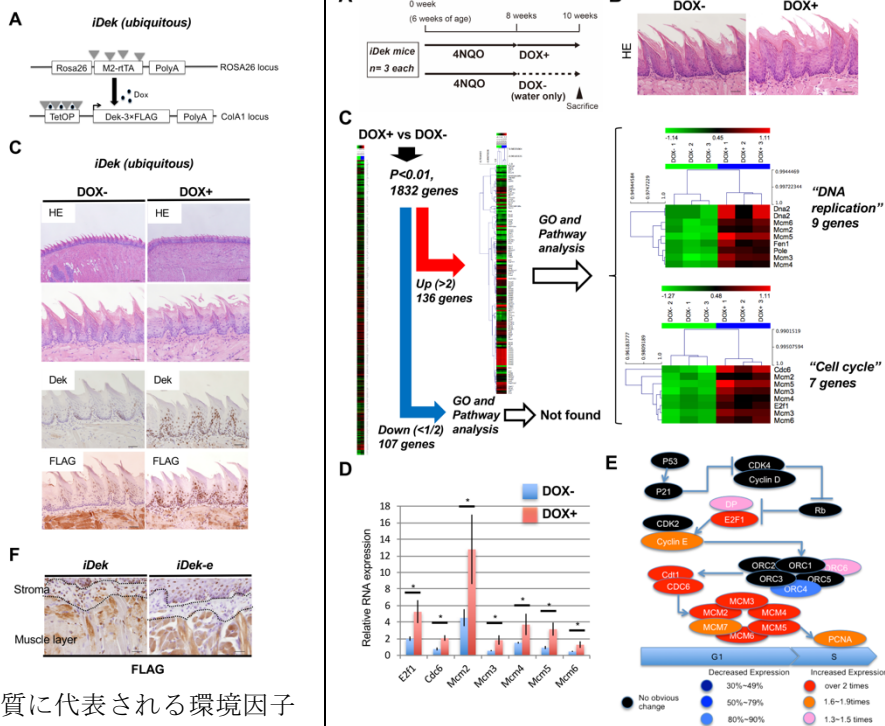
DEK 癌遺伝子の機能を明らかにするため、ドキシサイクリン誘導性 DEK 発現コントロールマウスを作製した。DEK の発現は、正常組織や臓器に組織学的な変化はきたさなかった(右図)。

遺伝子レベルで

は、たばこや発癌物質に代表される環境因子による組織変化に影響され、消化管扁平上皮臓器では、細胞増殖速度の促進がみられ、悪性腫瘍の形成と腫瘍細胞の増殖を加速させた(下図)

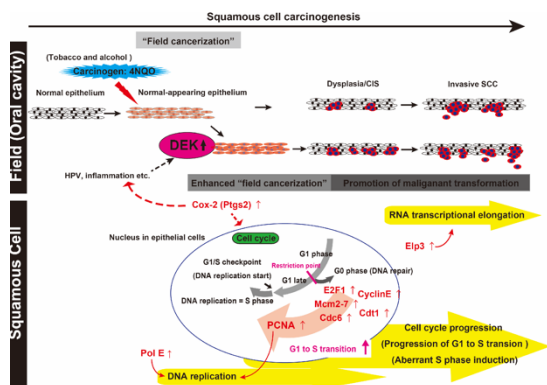


その腫瘍細胞増殖促進のメカニズムは、腫瘍細胞のセルサイクルの G1/S 移行を活性化させることであった(下図)。



DEK は癌遺伝子としての性格を有し、将来の

癌治療のターゲットとなりうる基盤的成果を



得ることができた(下図)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

1. Hisamatsu K, Noguchi K, Tomita H, Muto A, Yamada N, Kobayashi K, Hirata A, Kanayama T, Niwa A, Ishida K, Nakashima T, Hatano Y, Suzui N, Miyazaki T, Hara A. Distinctive crypt shape in a sessile serrated adenoma/polyp: distribution of Ki67-, p16INK4a-, WNT5A-positive cells and intraepithelial lymphocytes. *Oncol Rep. (in press)* 査読有り

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

該当無し

6. 研究組織

(1) 研究代表者

原 明 (HARA AKIRA)

岐阜大学・医学系研究科・教授

研究者番号 : 10242728

(2) 研究分担者

富田 弘之 (TOMITA HIROYUKI)

岐阜大学・医学系研究科・准教授

研究者番号 : 50509510

(3) 連携研究者

該当無し