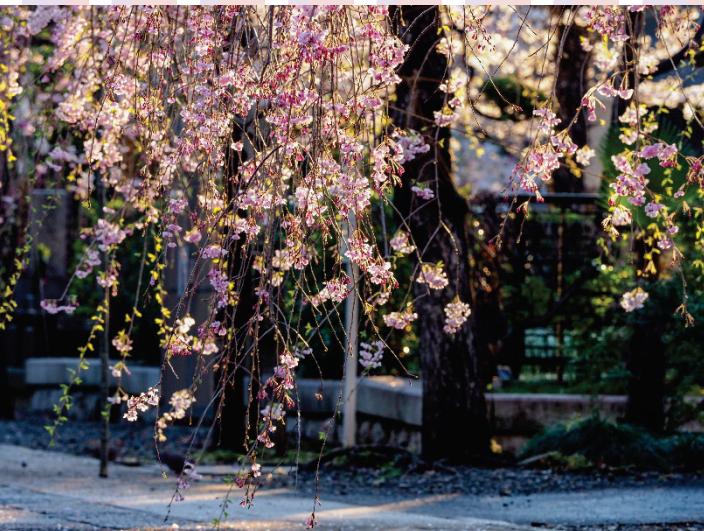




システム癌
新次元



DIMENSIONAL SYSTEMS UNDERSTANDING
CONQUERING CANCER THROUGH NEO-

がんシステムの新次元俯瞰と攻略

文部科学省科学研究費補助金 新学術領域研究

(研究領域提案型)(複合領域 : 4701)

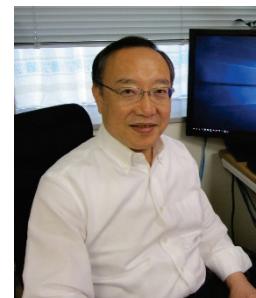
Newsletter

No. 16

2019年4月

公募研究

MLL-Menin-BRCA2複合体による がん抑制機能ネットワークの解析



公募研究 A01-3-18 研究代表者

東京医科歯科大学難治疾患研究所 教授 三木 義男

遺伝性疾患の中に、ある特定の遺伝子の異常によって発症する症例(単一遺伝子疾患)があり、腫瘍の場合、その多くは常染色体優性の遺伝形式(メンデルの法則)を取る。頻度の高い遺伝性腫瘍である遺伝性乳がん卵巣がん症候群(HBOC)では、原因遺伝子BRCA1・2の変異により乳がん、卵巣がんをはじめ、前立腺がん、すい臓がんなどが発症します。内分泌臓器に腫瘍が多発する多発性内分泌腫瘍症1型(MEN1)は、原因遺伝子MEN1の異常により、副甲状腺機能亢進症、下垂体腺腫、膀胱管内分泌腫瘍の三大病変等が発症します。BRCA1/2遺伝子、MEN1遺伝子は、いずれもがん抑制遺伝子で機能喪失型の遺伝子変異により発症します。MLL遺伝子はヒストンメチル化酵素で血液の発生に必須の機能を持つ遺伝子ですが、転座により融合型MLL遺伝子が形成、活性化されると急性リンパ性白血病(ALL)

の原因となり、これはがん遺伝子と呼ばれるグループに属します。MEN1遺伝子が作り出すタンパク質MeninとMLL遺伝子が作り出すタンパク質MLLとが相互作用(結合)し血液発生を制御することに加えて、融合型MLLとMeninの相互作用が白血病の原因となることが報告されています(Cancer Cell. 2015, 27:431-3)。また、Meninは、転写因子をクロマチン修飾酵素複合体、特にH3K4メチル基転移酵素MLL1およびMLL2に連結し、転写調節に関与します(図1)。MLLは、MLL1～MLL4、SET1AおよびSET1Bを含むファミリーを形成し、ヒストンH3 Lys4を特異的にメチル化(H3K4me3)し、クロマチン構造をオン型に変換することにより、造血および発生に関与する遺伝子の転写調節に中心的役割を果たします。我々はBRCA2遺伝子が作り出すBRCA2タンパク質がヘテロクロマチンタンパク質1(HP1)を介してMLLファミ

リーに結合することを見出しました(図2)。BRCA2は、DNA損傷修復機能を主とする多機能分子ですが、これまで、BRCA2の転写制御への関与は不明でした。BRCA2のS期染色体上の局在位置から、BRCA2がヘテロクロマチンタンパク質1(HP1)を介してH3K9me3に結合し、さらにMLL複合体(MLL1, MLL2)に結合することを新たに示しました。これらを統合することにより、遺伝性乳がん卵巣がん症候群、多発性内分泌腫瘍症1型、白血病の原因遺伝子が一堂に会し、細胞の発がん抑制に係る転写を調節しているという驚くべき構図が描き出されました。そこで、①「BRCA2およびMeninとその転写共役因子MLLの転写調節メカニズムの解明」と②「3者の転写調節を受ける下流分子(群)を探索、がん抑制に働くパスウェイの同定」を目標として研究を進めています。

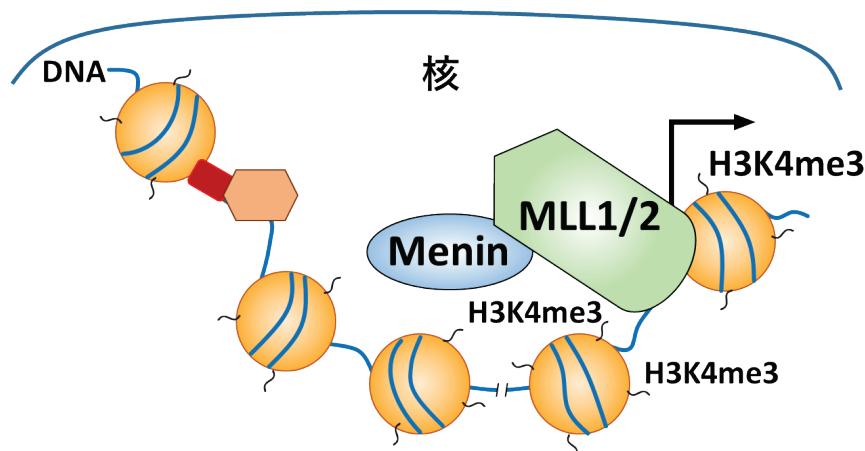


図1: MLLによるH3ヒストンのK4メチル化とMeninとの相互作用

3大原因遺伝子が作るタンパク質(Menin、MLL、BRCA2)が協働して制御する転写調節機構が、どのような細胞機能を調節するのか解析するにあたり、まず、①ヒストンメチル化機構でのBRCA2の新規機能を解明して、BRCA2遺伝子の変異とそのタンパク質機能との関連性を明らかにする。これまでの研究成果からBRCA2、HPI、MLL複合体、ヒストンH3のヒストンテールに対して、仮説モデルをたて検証を進めています。MLLは、CXXCDメインを介してDNAの非メチル化CpGに直接結合して、ヒストンH3K4のトリメチル化を触媒することが報告されています。そこで、ヒストンH3K9のメチル化にHP1 γ -BRCA2を足場としてMLLが結合して、H3K4me3を触媒し、さらに、そこにMeninがリクリートされ、H3K4のメチル化を制御するモデルを考えました(図3)。

Meninについて、MLL複合体を介した

BRCA2との相互作用メカニズムを解析します。それと並行して、②BRCA2、MLL、Meninのノックダウンによる発現制御因子を探索します。特に、mRNAとmiRNA、long non-coding RNA(lncRNA)の情報から、その関係性を理論的に応用し、miRNA-mRNA制御一標的関係を絞込み、見出した候補分子とlncRNA情報から関連するlncRNAを選定、その調節機能を明らかにすることで新たなlncRNA機能の解明が可能になると同時に、3者によるがん抑制パスウェイがより正確かつ頑健な分子機構として理解されることが期待されています。これまでに、BRCA2とMLLが同じ因子の発現制御に関与するか調べるため、BRCA2とASH2Lに対するsiRNAを導入させたMCF7細胞間でマイクロアレイ解析を行いました。ASH2Lは、MLL構成タンパク質の中で、MLL1-4すべてのヒストンH3K4メチル化活

性能を抑制することが報告されています。両細胞間で10分の6.6以下の発現抑制を示す共通因子が110種類検出されました。その中にノンコーディングRNA(ncRNA)が41種類(長鎖ncRNA; 25種類)検出されました。

本研究は、3大がん疾患の原因遺伝子産物複合体が制御するがん抑制パスウェイが、組織特異的か関連する組織では共通に機能するのかを理解することが、特色であり、また、乳がん発生メカニズムの新たな展開が期待されるものです。

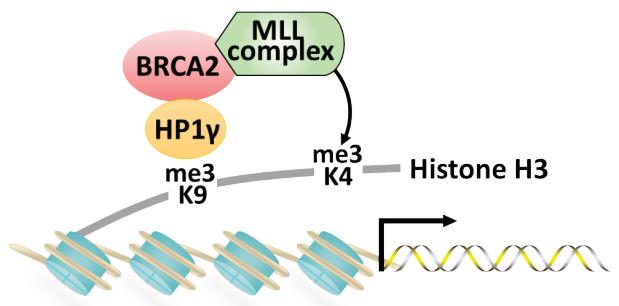


図2: BRCA2、MLL複合体、ヒストンテールのモデル

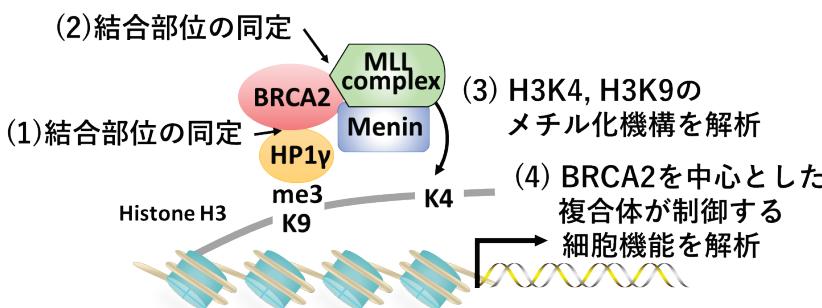


図3: BRCA2、MLL複合体、Menin、ヒストンテールのモデル

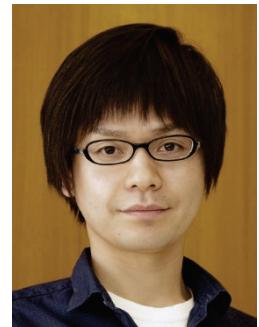
S期染色体において、BRCA2はヒストンH3K9me3上にHP1 γ を介して局在し、MLL複合体、MeninによるHistone H3K4のトリメチル化を制御する。

公募研究

新しい 基礎生物学の発見が新たな癌治療を創る

公募研究 A01-4-18 研究代表者

九州大学生体防御医学研究所分子医科学分野准教授 松本 有樹修



癌研究をより発展させるには、これまでとは異なった視点が必要です

癌は死亡原因の1位であることから、歴史的に最も勢力的に解析されてきた研究領域のひとつであり、癌の根治はわれわれ研究者と国民の悲願です。これまで膨大な量の癌研究が行われてきたにも関わらず、未だに全ての癌を治療する方法はありません。このことは、これまでとは全く異なった視点による癌研究を行う必要性を示しています。

DNAがRNAを転写し、RNAがタンパク質を翻訳し、このタンパク質が生命機能に重要なことは、分子生物学の基本として知られています(図1)。近年、次世代シーケンサーなどの技術の進展により、大量の新しいRNAが見つかりました。その塩基配列から推測するに、新しく見つかったRNAの多くはタンパク質を翻訳していないだろうと考えられました。これらタンパク質を翻訳しないRNAはnon-coding RNAと呼ばれ、RNA自身が機能を持ってい

ると考えられています。また、一般的に200塩基以下のものをsmall non-coding RNA、200塩基以上のものをlong non-coding RNA (lncRNA)と呼んでいます(図1)。Small non-coding RNAにはmicro RNAなどが含まれ、その機能はこれまで詳細に解析されてきていますが、lncRNAはまだあまり解析されていませんでした。

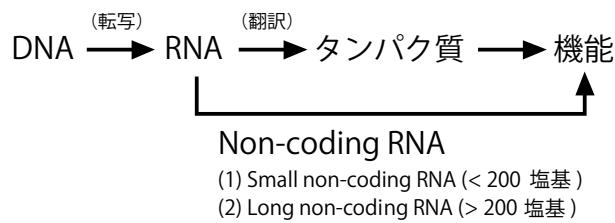


図1



図2

lncRNAの多くは、塩基配列をもとにタンパク質を翻訳しないと推測されていただけなので、本当にタンパク質を翻訳していないかどうかは、実際のところは詳細に検討されていませんでした。そこでわたしたちは、これらlncRNAの少なくとも一部は、実はタンパク質を翻訳しているのではないかという基本的な疑問を抱き解析を行ってみたところ、lncRNAと思われていたRNAから翻訳される小さなタンパク質(ポリペプチド)を多数発見することに成功しました。これらポリペプチドが生命にとって重要な役割を担っているのかを検討するために、それぞれ個々に詳細な解析を進めていきました。そしてこれらポリペプチドの一つが、アミノ酸依存的なmTORC1の活性化を制御していることを明らかにして、私たちはこの新規ポリペプチドをSmall regulatory polypeptide of Amino acid Response (SPAR)と名付けました。また、SPARは骨格筋の傷害時に、その発現量が低下する

ことによりmTORC1の活性化を促進して、骨格筋の再生の調節を行っていることも明らかにしました(Matsumoto et. al, Nature, 2017)(図2)。

新しい基礎研究を深めていき、癌治療法の創出へと繋げていきます

これら新規ポリペプチドは、これまで多くの研究者達が見逃してきた全く新しい機能性の因子です。さらにこのような新規ポリペプチドが多数存在することから、癌などの様々な疾患に関与しているものがある可能性も非常に高いです。私たちの研究計画では、特に癌の発生や進展などに関与する新規ポリペプチドを網羅的に同定して解析を行うことにより、新しい癌治療法の開拓へと繋げることを目標としています。

具体的には、まずIn silico解析というコンピューターを用いた解析により、ポリペプチドを翻訳する可能性があるlncRNAを全

てリストアップします。次に癌との関連性があるポリペプチドを同定するために、それらlncRNAのなかから、ヒトの様々な癌においてRNAの発現量が変化しているものや、DNAの変異が存在するものに絞りこみます。そして、遺伝子改変マウスの解析などを行うことにより、実際に個体においてそのペプチドが発癌と関連するかを検討し、さらに詳細な分子機構を明らかにしていきます。最終的に、それらポリペプチドや分子機構をターゲットとした創薬を行っていく予定です(図3)。

- 1 In silico解析による新規ポリペプチドの網羅的同定
- 2 癌関連新規ポリペプチドのスクリーニング
 - (1) 癌患者におけるDNAの変異
 - (2) 癌患者におけるRNAの発現変化
- 3 遺伝子改変マウスの作製による癌との関連性の検討
ポリペプチドが癌を引き起こす分子機構の解明
- 4 癌関連ポリペプチドを標的とした創薬

図3

Information



Human Genome Center

東京大学医科学研究所 ヒトゲノム解析センタースーパーコンピュータ

システム癌新次元で用いられるデータ解析ソフトウェアは、ヒトゲノム解析センターのスーパーコンピュータで動いています。スーパーコンピュータはどなたでもご利用になれます（有償）。



大容量のディスク装置



高密度の計算機

supcom.hgc.jp



システム癌
新次元

<http://neosystemscancer.hgc.jp/>