



システム癌  
新次元

## 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. 17

CONQUERING CANCER THROUGH NEO-  
DIMENSIONAL SYSTEMS UNDERSTANDING

2019年4月

公募研究

# トランスオミクス解析による がん悪性進展機構の解明

公募研究 A01-5-18 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 学術研究員 押川 清孝



## がんのシステム変遷

ゲノム損傷などによって偶発的に生じた初期がん細胞は、その後さらなる変遷を経て、浸潤・転移能を有する悪性度の高いがん細胞へと進展します。この悪性進展化には、大腸がんの多段階発がんに代表されるゲノム変異の蓄積が重要な役割を担っていると考えられています。その一方で、遺伝子変異を伴わない変化が悪性

進展化に関与している可能性も十分に考えられます。例えば、栄養や酸素濃度などの環境変化が初期がん細胞に働きかけることで、悪性進展化に寄与している可能性が挙げられます。また、細胞内の代謝中間体がエピジェネティックな機構を介して転写環境に影響を与えることが示されており、環境要因が半永続的に細胞の性質を変えてしまう可能性も示唆されてい

ます(図1)。つまり、生体内で生じたがん細胞は様々な生体内環境に対して適応するために細胞内システムを変化させること(=システム変遷)で生き残り、より悪性度の高いがん細胞へと進化していると考えられます。このシステム変遷はがんの抗がん剤耐性や悪性進展のメカニズムを理解する上で重要な課題ですが、その詳細は明らかになっていません。

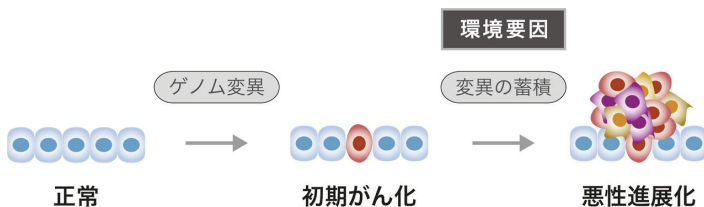


図1: がん悪性進展と環境要因

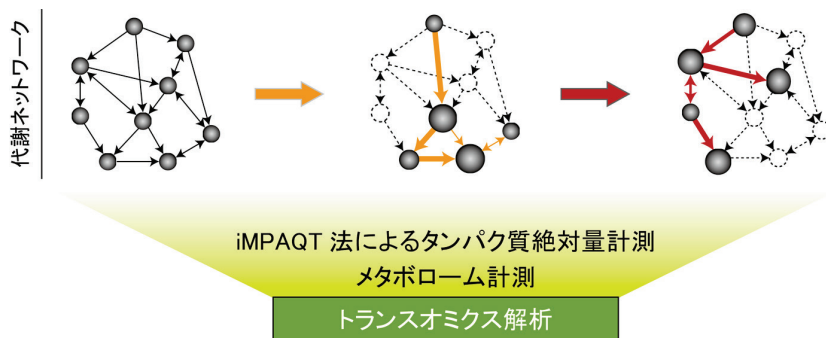


図2: がん悪性進展に伴う代謝ネットワーク変遷を捉える

## iMPAQT法を中心としたトランスオミクス解析

われわれは、このがんのシステム変遷を分子レベルで明らかにしようとして取り組んでいます。まずはじめに、正常細胞にがん遺伝子を導入して悪性度の低い初期がん細胞を作製したのち、試験管内で悪性進展化させる方法を模索しました。その結果、足場非依存培養を行うことで生き残った細胞は、より高いコロニー形成能および造腫瘍能を有することが判明しました。本研究では、この足場非依存培養を繰り返し行うことで段階的に生じる多様に悪性化したがんモデル細胞のプロテオーム情報およびメタボローム情報を複合的に取得することで、がん悪性進展におけるシステム変遷の統合的理解を目指しています(図2)。

プロテオーム解析では、独自に開発した次世代型プロテオミクス技術であるiMPAQT(in vitro proteome based Mass-spectrometry for Protein Absolute Quantification)法(特許第5468073号)による解析を行っています。iMPAQT法は、

- ① ヒト完全長cDNAよりコムギ無細胞翻訳系を用いて組換えタンパク質の作製。
- ② これらを酵素消化後、質量測定を行い、ペプチドデータベースの構築。
- ③ その情報を基にしてMRM(Multiple Reaction Monitoring)法を用いた選択的定量法により実サンプルのタンパク質の存在量の測定による絶対定量。

から構成されており、本方法は多数のタンパク質の絶対量を同時に測定する新技術です(図3)。これまでにがん細胞や臨床検体を対象にプロテオームの絶対定量を実施しており、がん細胞特有の代謝状態の解明を行ってきました(Matsumoto M., et al., *Nature Methods* (2017))。現在、環境要因で生じる悪性化プロセスに関与すると思われるカテゴリー(代謝酵素、シグナル伝達因子、クロマチン制御因子等)を中心に、悪性進展化するモデル細胞のプロテオームの絶対量計測を実施しています。iMPAQT法の測定・解析に関しては連携研究者の中山敬一・松本雅記両博士の協力を

得て行っています。加えて、メタボロームなどの情報を階層横断的に取得する予定です。メタボロームの測定・解析に関しては連携研究者の馬場健史博士の協力を得て実施します。

## 今後の展望

本研究から得られる成果は、がん悪性化を多階層分子ネットワークの挙動として記述・可視化するものであり、がん研究領域において極めてインパクトの高い結果を提供できると考えられます。しかしながら、このような研究は多検体解析から生じるおよび多階層に跨るビッグデータを産生することになり、その解釈にはスーパーコンピューター及び様々な情報生物学的手法の適用が必須であることから、システム癌新次元の領域内で実施してこそ、その本領を発揮できるものと考えています。すなわち、得られたデータの本新学術領域での共有は、情報生物学の専門家やがん研究専門家との有機的な連携を生み出し、さらなる解析や解釈がなされ、細胞システム破綻としての細胞がん化機構の理解を促進するものと期待しています。

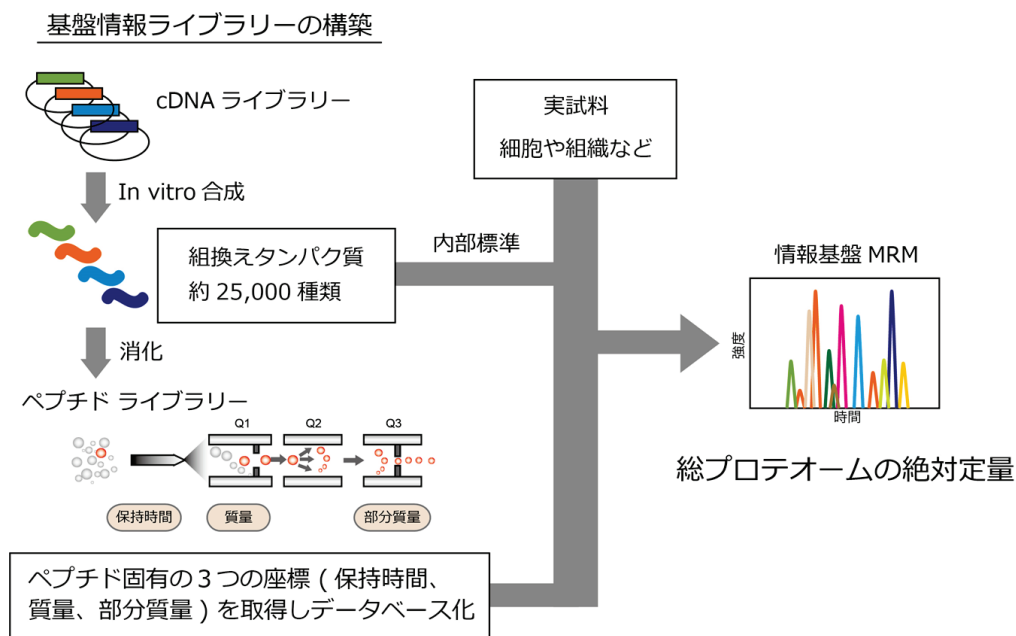


図3: iMPAQT法

## 公募研究

# クロマチン組成変化が引き起こす がん化メカニズムの解明

公募研究 A01-6-18 研究代表者

九州大学生体防御医学研究所 助教 前原 一満



## クロマチン構造制御による適切な遺伝子の選択

ヒト細胞のDNAの総全長は、約2mに達します。この長大なDNAは、ヒストンタンパク質(H3, H4, H2A, H2Bからなる八量体)に巻き付いた形で、きわめて高度に折りたたまれ、わずか10マイクロメートルの核に収納されています(図1)。つまり、クロマチン構造として折り込まれたDNA上の遺伝情報を読み取るには、引き出しを開けて必要な書類を取り出すように、クロマチンの基本構成要素であるヒストンを(化学的・物理的に)操作し、変化させる必要があります。私たちの体は、骨や筋肉・神経等の特定の機能を獲得するために、幹細胞の状態から分化する際に、各々に必要な遺伝子のセットを選択した細胞の集まりといえます。この観点で見ると、がん化とは、正常に獲得、機能するはずの遺伝子

選択機構が破綻し、無秩序な遺伝子発現に陥った細胞の状態だと捉えることができます。とりわけヒストンタンパク質には、通常タイプの他に複数の亜種(H3でいえばH3.1/2/3のサブタイプ)が存在し、それらヒストンおよびその化学修飾の付与に関わる遺伝子(エピゲノム関連因子)の変異が、さまざまな疾患を引き起こす要因となることが分かってきています。

## 筋肉の再生を加速するヒストンバリエント: H3mm7

私は2015年に、コンピュータを使ってゲノム配列からヒストン様の遺伝子を網羅的に検出する方法を開発し、これまで知られていなかった14種のマウスおよびヒトのヒストン亜種(バリエント)遺伝子を発見し報告していました(Epigenetics & Chromatin, 2015)。昨年度は、発見した新規亜種のうち、H3.3とわずかアミノ酸2つ分だけ異なるH3mm7が、マウスの筋肉(骨格筋)中に

僅かに存在する筋幹細胞に多く含まれることを明らかにし、その機能を解析しました(Nature Communications, 2018)。筋幹細胞は、筋損傷が生じると速やかに増殖し、分化することで、短時間に筋肉を再生します。H3mm7遺伝子を欠損したマウスでは、筋幹細胞の数は変化しないまま、損傷後の筋肉の再生が遅延することが分かりました(図2)。より詳細な解析によって、ヒストンH3mm7が、筋幹細胞内でクロマチン構造を緩めることで、細胞内の遺伝子発現レベルを高め、筋の再生を加速する作用があることが分かりました。このメカニズムは、ヒストンの置き換えによって、生体組織の遺伝子発現量を調整する機構が存在することを示唆しており、今後の幹細胞研究の推進や再生医療への応用が期待されます。

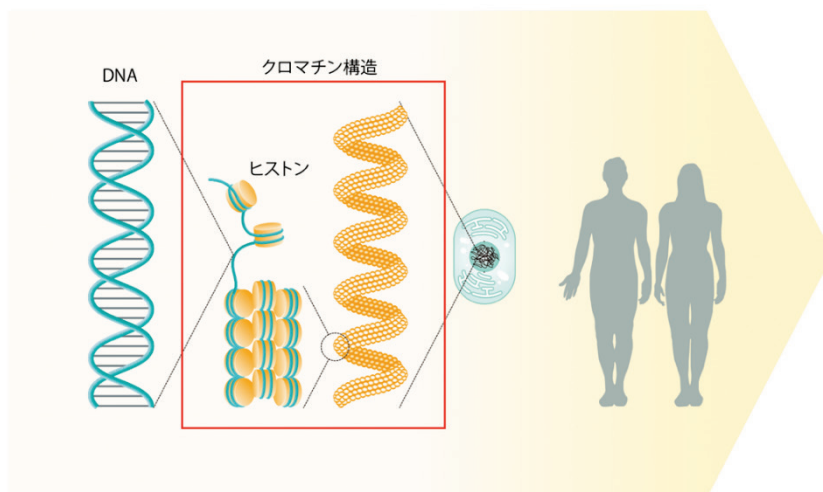


図1: クロマチン構造



## 生体組織のクロマチン組成を解き明かす 技術: ChIL-seq

本計画では、クロマチンを構成するヒストンの組成変化がもたらす遺伝子発現調整メカニズムの解明をさらに推し進めます。とはいえ、幹細胞など限られたタイミングや部位でのみ発現し機能する神出鬼没なヒストンバリエントを詳細に解析するために、少数細胞を対象とした高感度なエピゲノム因子の検出技術の確立が急務となりました。そこで、私たちは、1-1000細胞レベルの極めて少数の細胞を用いてヒストンタンパク質の局在を含むエピゲノム情報を高感度かつ高精度に検出可能な「クロマチン挿入標識(Chromatin Integration

Labeling: ChIL)」法を世界に先駆けて開発し、発表しました(Nature Cell Biology, 2018)。ChIL法は、幹細胞等をターゲットとするクロマチン組成の解明に限らず、同一腫瘍内でさえ多様なゲノム・エピゲノム情報を持ったがん細胞群の解析に応用が期待される技術です。

## 次世代のビッグデータ解析フレームワークの提案

一細胞レベルで多数のデータを取得できたとしても、現状では、細胞分裂が始まって何時間経過したのか、組織の中心部あるいは辺縁部から取得された細胞なのか、等の時間・空間情報が失われているため、各一細胞データの間をつなぐ因果や系譜

について知ることは困難です。そこで、私は、ホッジ分解と呼ばれる数理的フレームワークを使い、多数かつバラバラに観測されたスナップショットである一細胞データを、適切なパッチワークによってつなぎ合わせ、それらに流れるダイナミクス(状態の時間変化)を抽出するデータ解析技術を開発しています(図3)。本技術を少数細胞エピゲノム解析データと組み合わせることで、細胞ががん化に至るクロマチン組成変化の系譜を追跡することが可能になると考えています。

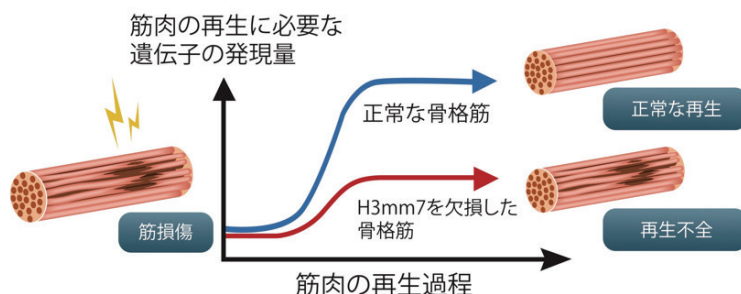


図2: H3mm7遺伝子を欠損したマウスは骨格筋の再生が遅延する

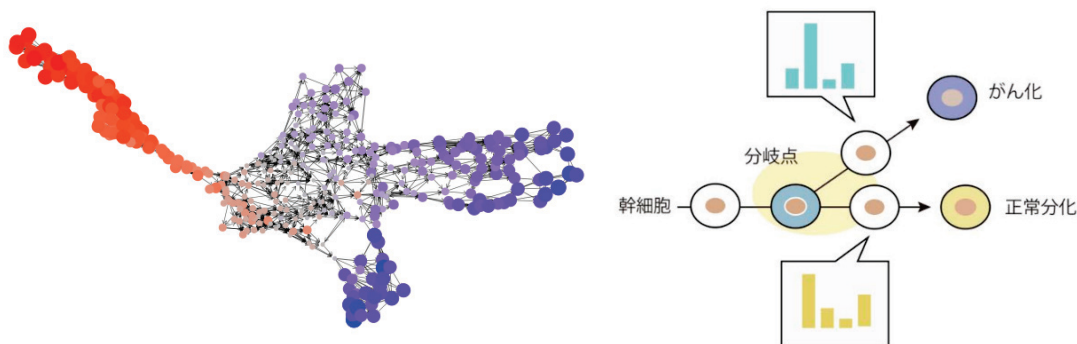


図3: 開発中のデータ解析手法を一細胞データに適用した結果(左)と、これを応用したエピゲノム系譜プロファイリングの構想図(右)

## Information

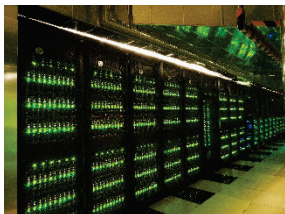


Human Genome Center

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](http://supcom.hgc.jp)



システム癌  
新次元

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

新学術領域研究「システム癌新次元」ニュースレター No. 17

発行日★平成31年4月20日(初版)

発行★がんシステムの新次元俯瞰と攻略

領域代表者★宮野 悟

- 東京大学医科学研究所 ヒトゲノム解析センター DNA情報解析分野
- 〒108-8639 東京都港区白金台4-6-1
- TEL: 03-5449-5615 FAX: 03-5449-5442
- E-mail: [miyanolab-jimu@edelweiss.hgc.jp](mailto:miyanolab-jimu@edelweiss.hgc.jp)