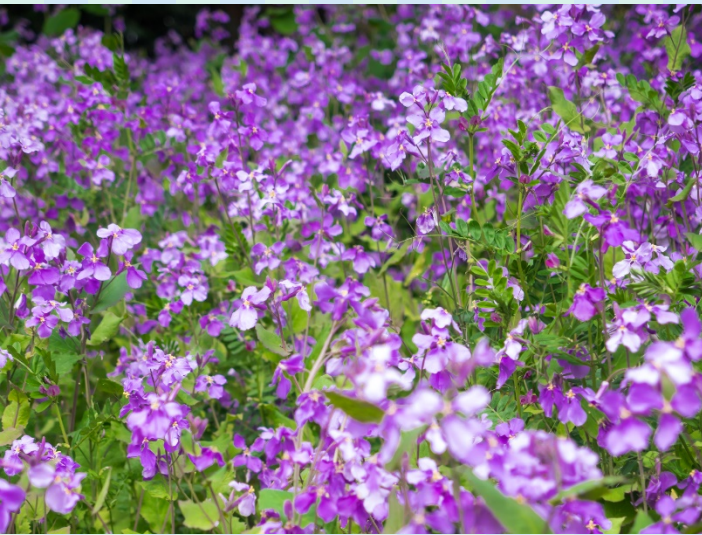




システム癌
新次元

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. 9

2017年6月

CONQUERING CANCER THROUGH
NEO-DIMENSIONAL SYSTEMS
UNDERSTANDING

公募研究

クロマチン構造変化が引き起こす がん化メカニズムの解明

公募研究 A01-7-16 研究代表者

九州大学生体制御医学研究所 助教 前原 一満



遺伝子の選択機構とその破たん

私たちヒトの体は 37 兆個の細胞で形成され、同一の遺伝情報(ゲノム)を保持しています。一方で、私たちの細胞は約 200 種と言われる多様な細胞により形成されており、2 万種以上の遺伝子から特定の遺伝子群を正確に選択し、発現させることで、幹細胞から筋肉や脂肪、神経などヒト組織を構成する細胞が形成されます(細胞分化)。したがって、がん化とは、本来

精妙に機能している遺伝子選択の機構が破綻し、無秩序な発現形式に陥った細胞の状態と捉えることができます。

クロマチン構造制御による遺伝子の選択

ゲノムは、29 億を超える DNA 塩基配列情報として存在し、その全長は細胞 1 個当たりで約 2m に達します。この長大な DNA は、ヒストンタンパク質(ヒストン H3, H4, H2A, H2B)に巻き付いた形で、きわめて高度に折りたたまれ、10 マイクロメート

ルの核に収納されています(図1)。クロマチン構造として折り込まれた DNA 上の遺伝子を適切に発現させる、あるいは発現を抑制させるためには、ヒストンを操作し、クロマチン構造そのものを変化させる必要があります。近年の研究で、ヒストンの化学修飾、ヒストンそのものの置換など、クロマチンの凝集と弛緩に至るクロマチン構造を制御するさまざまな機構が明らかになりつつあります。

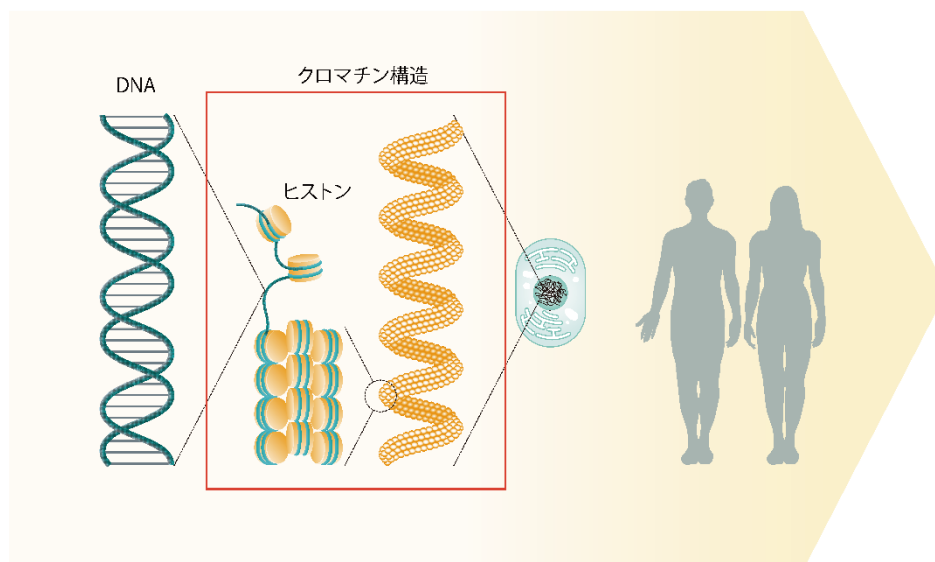


図1: クロマチン構造

クロマチン構造の破たんとかん化:ヒストン遺伝子の異常

クロマチン構造の破たんとかん化の関わりとしてよく知られるもののひとつに、小児性脳腫瘍におけるヒストン遺伝子の変異があります (Schwartzentruber et. al, Nature, 2012; Gang et. al, Nature Genetics, 2012)。この小児性脳腫瘍の原因と考えられるヒストン遺伝子からつくられるヒストン H3.3 は、すべてのヒストン H3 のうちの 5 % 程度を占めるバリエーション(亜種)であり、転写活性の高い領域に比較的多く取り込まれることがわかっています。この H3 バリエーションは、多数を占める主要なヒストン H3.1 と比べてわずかに 5 アミノ酸が異なっているだけで、このわずかな違い

こそが機能的に重要であり、ヒストンバリエーションが細胞毎に異なる遺伝子の選択を可能にするカギの一つであることがわかってきています。

私のプロジェクト: 遺伝子選択機構を担うクロマチン機能の解析と、その破たんによるがん化の解明

私は一昨年に、コンピュータによるヒストン遺伝子の探索法を開発し、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(バリエーション)遺伝子を見出し、報告しました(図2) (Maehara and Harada et. al, Epigenetics & Chromatin, 2015)。さらに、遺伝子改変マウス、モデル細胞を使った実験から、ヒストンバリエーションの選択的なクロマチンへの取り込みが、

細胞分化の過程で遺伝子発現を選択することを明らかにしました。一つの成果は、新規バリエーションのひとつ H3t の遺伝子欠損は男性不妊症の原因となることを明らかにしました (Ueda and Harada et. al, Cell Rep., 2017)。また、ヒト特異的なヒストンやヒストン修飾について、さらに詳細な解析を進めています (Kujirai et. al, Nucleic Acids Res., 2016; Kaimori and Maehara et. al, Sci. Rep. 2016)。現在は特に、H3.3 とわずかに 2 アミノ酸だけ異なる H3mm7 と呼ばれるヒストンバリエーションの 1 アミノ酸に起因して、遺伝子発現のレート調整因子としてクロマチン機能の発揮に関わる可能性を見出し、これについては現在論文発表の準備を行っています。

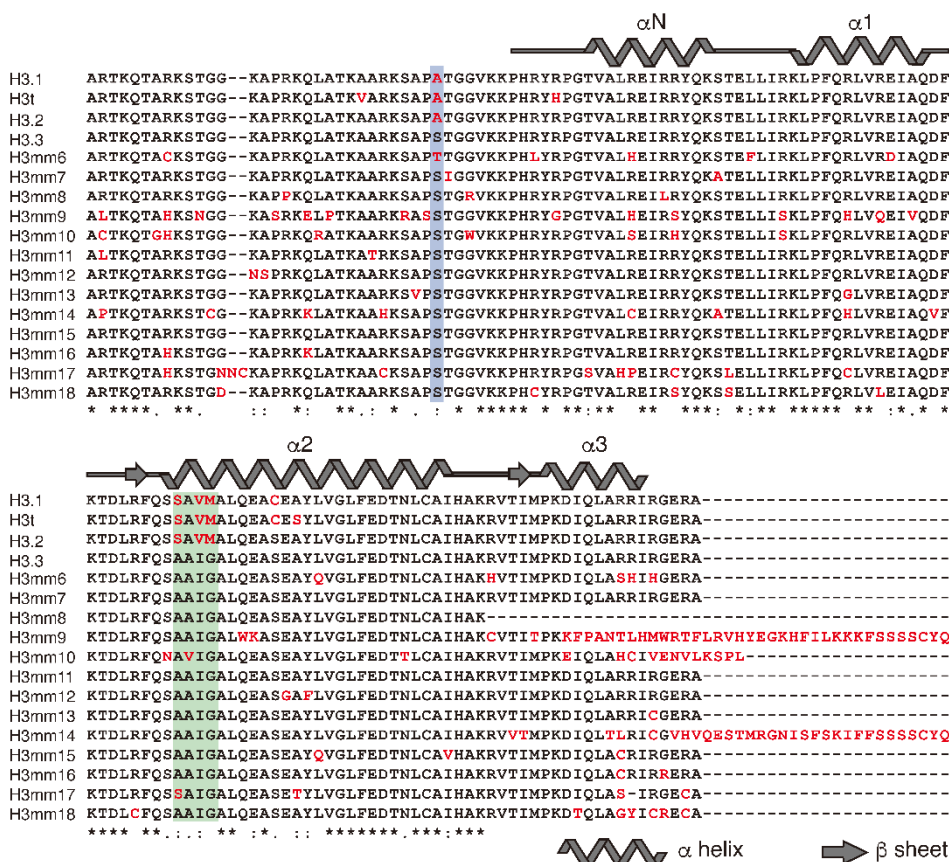


図2: マウスヒストンバリエーション H3t および H3mm6-18

公募研究

薬剤耐性癌細胞の多様性に対応する 至適分子標的薬選定プロセスの体系化

公募研究 A01-8-16 研究代表者

岩手医科大学医歯薬総合研究所 特任教授 西塚 哲



国立がん研究センターがん情報サービス『がん登録・統計』によると、生涯がん罹患リスク(生涯でがんと診断される確率)は男性で 63%、女性で 47%に上ります。しかしながら、ほとんどの場合は何らかの治療を受けており、「がんになること＝がんによる死亡」ではありません。むしろ、近年のがん治療の進歩により、多くのがんでは 10 年前と比較するとその生存率は高くなっています。このような背景には、がん治療の方法が確立され、どこかの医療機関を受診しても高い水準の治療が受けられるようになったことが挙げられます。一方で、今でも一定数の再発が見られ、いわゆる「がんによる死亡」は、治療に抵抗して生き延びたがん細胞によって再発が引き起こされていることが確認されています。このような現実からは少し離れて、多くのがん治療や新薬の研究・開発は

まったく新しい治療法に注目しています。しかしながら、我が国の医療事情や対象患者の生物学的特性にあった安全な治療法が確立されているのですから、がんによる死亡を減少させるには、今行われている治療の恩恵を変えずに、「なぜ再発が起こるのか」や「再発が起きた時の対応」を研究することが重要なのです。

再発がんの生物学的特性を解析するために、私たちはいくつかの抗がん剤投与後の再発モデルを作製してきました。目に見えない密度の培養ががん細胞を抗がん剤存在下で培養すると、いわゆる「薬剤抵抗性がん細胞」が数千から数万個の細胞からなる直径 1mm の亜集団(コロニー)を形成します。これらは、目に見える部分のがんを切除し、かつ抗がん剤治療を行っても起こる再発を試験管内でよく再現したモデルです。実際、進行胃がん治療後に

腹腔内に無数の小さな結節が観察されることがありますが、これはがん性腹膜炎というしばしば治療抵抗性の病態です。私たちは、このような再発が薬剤耐性コロニーを起点としていてと考え、その分子生物学的特性について独自に開発したコロニーライゼート(細胞溶解液)アレイ(Colony Lysate Array, CoLA)を用いて解析しました(図1)。CoLA を用いると直径 1mm のコロニーから多数のタンパクを計測することができ、どのような機能的状態で薬剤耐性となったかを推定することができます。胃がん化学療法で最も多く用いられる薬剤である 5-フルオロウラシル(5-FU)について検証すると、耐性コロニーでは PI3K というタンパクの活性化が起きており、5-FU 耐性細胞でのみマウス胃での腫瘍形成性が認められ、薬剤耐性と腫瘍形成の関連が示唆されました(図2)。

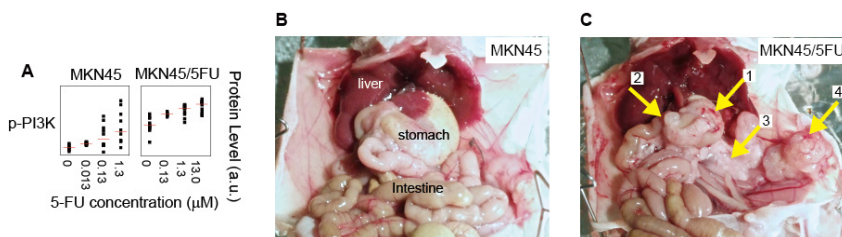
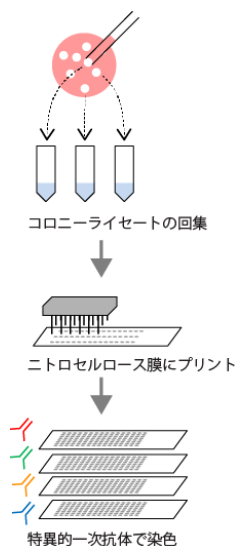


図2: 5-FU 耐性ヒト胃癌細胞

(A) MKN45 は親細胞株、MKN45/5FU はその 5-FU 耐性細胞株で 5-FU 濃度依存的に PI3K が活性化している。(B) 親株をマウス胃粘膜下層へ移植したもの。腫瘍は形成されない。(C) 5-FU 耐性細胞をマウス胃粘膜下層へ移植したもの。胃のほか、所属リンパ節、腹膜、肝臓への転移が見られる。Ishida et al, Sci Rep, 2017 より改編。

図1: コロニーライゼートアレイ(CoLA)の作製(久米浩平、西塚 哲、実験医学 2017 年、Vol. 35、No. 5 より改編)

逆相タンパクアレイ(Rreverse-phase protein array)を基にして薬剤耐性コロニー解析用に特化している。

この結果を受けて、5-FU と PI3K 活性化阻害剤 GDC-0941 の同時投与による治療を行うと、予想通り腫瘍の進展が有意に抑制されました。また、5-FU と同様に胃がん治療に用いられる薬剤シスプラチン(CIS) 耐性コロニーを形成する細胞は、薬剤によって誘導されているのではなく、もともと細胞集団に一定数含まれていることがわかりました。つまり、タンパク質を標的とする薬剤よりも、RNA などタンパク質以外の分子階層を標的にする必要があると示唆されたことになります。化合物スクリーニングを進めたところ、RNA 合成阻害剤である α -アマニチンが同定されました。 α -アマニチンはこれを産生するキノコを摂取すると致死的な肝・腎毒性を引き起こしますが、CIS の同時投与では α -アマニチンの抗腫瘍活性を失わずにその毒性も軽減するという興味深い結果が得られています(図3)。これら 5-FU や CIS 耐性がん細胞を用いた実験の結果から、すでにヒトへの投与が

始まっている薬剤(GDC-0941)の再発がんへの応用や、今後薬剤として開発する意義がある化合物(α -アマニチン)を同定できたといえます。臨床応用への道のりはまだ始まったばかりですが、このような再発がんの抑制へ向けた治療選択法が体系化されれば、がんによる死亡を大きく減少させることができるはずです。

本研究領域では、消化器がんに対する既存の治療に抵抗するがん細胞を標的として治療し、再発を抑制することを目指しています。そのためには、まず培養がん細胞の遺伝子、遺伝子産物情報、既存薬剤への抵抗性を調べ基礎的な情報を集積し、その情報をもとに再発がんの動物モデルを用いて治療効果を検討することが必要です。また、より早い臨床応用も念頭に入れ、進行がん患者さんの血液・組織・臨床情報を用いて、高精度の再発がん検出法の検証、疫学情報を基にした治

療効果予測、またゲノム解析と人工知能解析を組み合わせるゲノム情報に基づいた至適分子標的薬の同定プロセスの体系化を目指します。このような本領域の目標達成には学問的多様性が不可欠です。連携研究者として、竹本和広先生(九州工業大学)、岩谷岳先生(岩手医科大学)、久米浩平先生(米国 City of Hope 研究所)、増田万里先生・山田哲司先生(国立がんセンター研究所)にご参画いただいているほか、領域内でも高橋隆先生・中枘昌弘先生(名古屋大学)、古川洋一先生・宮野悟先生(東京大学医科学研究所)との共同研究を進め、多彩な分野の融合に努めています。また、積極的な国際共同研究の一環として、岩手医科大学から 2 名の研究補助員を米国ジョージメイソン大学へ派遣していただき、現地での実験を行うとともに将来的な新しい学問領域の創生へと繋がる国際的なネットワーク作りにも力を注いでいます(図4)。

図3: シスプラチンと α -アマニチンによる癌性腹膜炎予防効果

(A)シスプラチンと α -アマニチンにより腹膜の結節形成が抑制された。(B)シスプラチンと α -アマニチン投与群では腹膜結節数が有意に抑制された。(C)シスプラチンと α -アマニチン投与群で有意に予後が延長した。Kume et al, *Sci Rep*, 2016より改編。

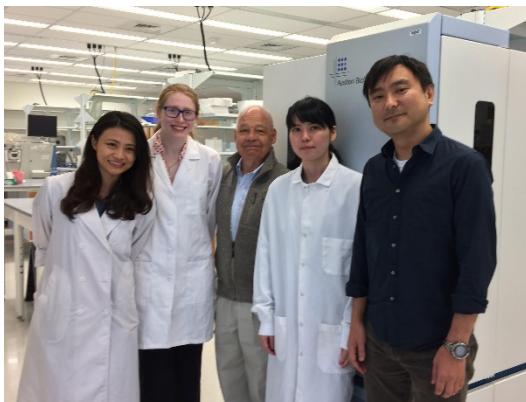
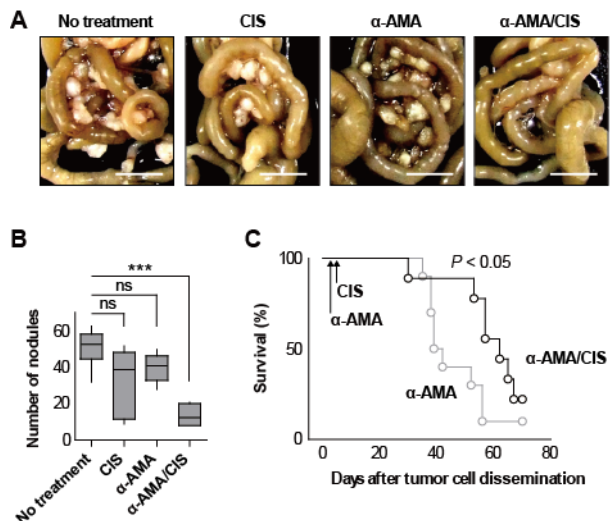


図4: ジョージメイソン大学で研究中の1コマ

左より、今田明里(岩手医科大学)、Kaitlin Wade、Lance Liotta(ジョージメイソン大学)、小泉優香(岩手医科大学)、西塚 哲。

Information



Human Genome Center

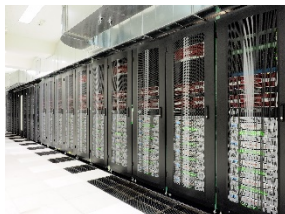
東京大学医科学研究所

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

<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.9

発行日★平成29年6月2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