

平成 26 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

研究区分	一般共同研究	
研究課題	乳癌発症に伴うエピゲノム変化の解析	
研究代表者	所属・職名・氏名	早稲田大学・教授・仙波憲太郎
受入担当教員	職名・氏名	教授・鈴木健之
【研究目的】	<p>乳癌におけるゲノムの変化では、点変異や転座とともに「遺伝子増幅」が普遍的に観察される。複数の遺伝子が増幅する遺伝子増幅では、塩基配列情報や変異検出頻度だけから、原因遺伝子を特定することは困難である。申請者らは、乳癌組織の遺伝子増幅領域（アンプリコン）からドライバー遺伝子とサポーター遺伝子を体系的に同定する新しいシステムを構築し、細胞レベルでの様々な遺伝子機能評価系を確立してきた。本共同研究では、アンプリコン候補遺伝子の過剰発現を特徴とする <i>in vitro</i> および <i>in vivo</i> 遺伝子評価系を利用し、遺伝子増幅による乳癌の発症および悪性化の過程をエピゲノム変化の側面から解析することを目的とする。</p>	
【研究内容・成果】	<p>我々は <i>in vitro</i>, <i>in vivo</i> の癌化能の様々な評価系を用いて、乳癌に観察される遺伝子増幅領域（アンプリコン）から、複数のがん遺伝子候補（<i>ADORA2B</i>, <i>TBX2</i>, <i>RARA</i> など）を同定することに成功した。これらの遺伝子が発癌を誘発する過程で、細胞にどのようなエピゲノム変化を誘導するのかを調べる研究計画を立案した。具体的には、がん遺伝子を導入する前後の細胞において、DNA メチル化アレイおよびヒストン修飾抗体による ChIP シークエンス法などを用いて、DNA のメチル化とヒストンの翻訳後修飾の変化をゲノムワイドに調べ、乳癌発症・悪性化におけるエピゲノム異常を包括的に解析することにした。また、がん遺伝子を導入した乳癌モデルマウスから生じた乳癌についてもエピゲノム変化の情報を収集して、比較解析を行うことにした。さらに、エピジェネティック制御に関与する数十種類の酵素群（DNA メチル化・脱メチル化酵素、ヒストンメチル化・脱メチル化酵素など）の発現や動態の変化を、定量 PCR や特異的抗体による免疫染色、ChIP 法で解析することで、乳癌発症および悪性進展をエピジェネティック制御機構の破綻という視点から解析した。</p> <p>これまでの実験から、エピジェネティック制御に関与する数十種類の酵素群のうち、悪性度の高い乳癌として知られるトリプルネガティブ型乳癌で顕著に発現が変化する酵素や、低酸素刺激後の乳癌細胞株において発現変化が顕著に誘導される酵素を同定した。乳癌細胞株において、これらの酵素の発現を強制発現やノックダウンによって変化させると、癌幹細胞様の性質を有するスフィアの形成能に影響を与えることを見いだした。こうした結果をふまえて、乳癌の悪性進展過程における酵素の役割と分子レベルでの作用機序について、さらに詳細な解析を進行中である。</p>	
	<p>【主な論文発表】</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ Doi A., Ishikawa K., Shibata N., Ito E., Fujimoto J., Yamamoto M., Shiga H., Mochizuki H., Kawamura Y., Goshima N., <u>Semba K*</u>, Watanabe S., Enhanced expression of retinoic acid receptor alpha (RARA) induces epithelial-to-mesenchymal transition and disruption of mammary acinar structures, <i>Mol Oncol.</i> 2015 Feb;9(2):355-64.(*:corresponding author) ・ Ito-Kureha T., Koshikawa N., Yamamoto M., <u>Semba K.</u>, Yamaguchi N., Yamamoto T., Seiki M., Inoue J., Tropomodulin 1 expression driven by NF-κB enhances breast cancer growth, <i>Cancer Res.</i> 2015 Jan 1;75(1):62-72. <p>【学会発表】</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ Ishikawa K., <i>et al.</i>, Retinoic Acid Receptor Alpha (RARA) Overexpression Induces Epithelial-to-Mesenchymal Transition (EMT) and Malignant Tumor Progression with <i>ERBB2</i> in Mammary Gland, POST-TRANSLATIONAL REGULATION OF CELL SIGNALING, San Diego, USA ・ Matsui A., <i>et al.</i>, Identification and functional analysis of HNF1B as a Novel Oncogene, POST-TRANSLATIONAL REGULATION OF CELL SIGNALING, San Diego, USA ・ 松井貴香 他, 上皮細胞を用いたアンプリコン 17q12-21 のスクリーニングによる新規がん遺伝子 HNF1B の同定とその機能解析, 第 37 回日本分子生物学会年会、横浜 ・ 公地将大 他, 17q23 アンプリコンにおける新規トランスフォーミング遺伝子 TBX2 の機能解析, 第 37 回日本分子生物学会年会、横浜 ・ 三上紘史 他, SLUG と SOX9 による乳腺上皮細胞の幹細胞化に伴う p53 経路の活性化, 第 37 回日本分子生物学会年会、横浜 ・ 小林 舜 他, 遺伝子機能解析に用いるマウス乳腺組織構築系の開発, 第 37 回日本分子生物学会年会、横浜 	

平成 26 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

	<ul style="list-style-type: none"> ・公地将大 他, 17q23 アンプリコンにおける推定がん遺伝子 TBX2 のトランスフォーミング活性, 第 73 回日本癌学会学術総会、横浜 ・細川義人 他, In vivo スクリーニングによるがん遺伝子の同定, 第 73 回日本癌学会学術総会、横浜 ・藤元次郎 他, プリン受容体ファミリー遺伝子 P2Y6 の ERBB2 に依存した細胞癌化能の同定及び解析, 第 18 回日本がん分子標的治療学会学術集会、仙台 ・伊原辰哉 他, ヒト完全長 cDNA クローンを用いた <i>in vivo</i> スクリーニングシステムの確立とそれを用いたがん遺伝子の同定, 第 18 回日本がん分子標的治療学会学術集会、仙台 ・松井貴香 他, 上皮細胞株を用いたアンプリコン 17q12-21 のスクリーニングによる新規がん遺伝子 HNF1B の同定と機能解析, 第 2 回低酸素研究会
	<p>【その他特筆事項】 なし</p>