

研究区分		一般共同研究
研究課題		がんの悪性進展過程におけるヒストンの翻訳後修飾変化の解析
研究代表者	所属・職名・氏名	大阪大学大学院生命機能研究科・准教授・木村宏
受入担当教員	職名・氏名	教授・鈴木健之
【研究目的】	<p>近年、ヒストンの翻訳後修飾やその反応を担う酵素の異常が、発がんステップに関与していることが頻りに報告されている。本研究では、がんに関わるヒストンのメチル化・脱メチル化酵素群の細胞生物学的機能を解析し、エピゲノム異常によるがんの発症と悪性の分子機構を解明することを目的とする。そのために、我々が開発したヒストンの翻訳後修飾特異的、修飾部位特異的なモノクローナル抗体を用いて、エピゲノム解析と個々の細胞レベルでのグローバルなヒストン翻訳後修飾の動態解析を行う計画である。特に、上皮・間葉転換 (EMT) など、がん細胞の悪性進展過程における新しいエピジェネティックな制御機構を明らかにすることを目指している。</p>	
【研究内容・成果】	<p>ヒストン H3 のメチル化修飾部位のうち、遺伝子の発現制御に重要な 4 番目の Lys 残基 (K4)、および K9、K27、K36、K79 について、それぞれのメチル化修飾の状態を特異的に認識するマウスモノクローナル抗体の作製を遂行した。作製した抗体を用いて、正常細胞とがん細胞、あるいは悪性度の異なるがん細胞を比較しながら、ヒストンのメチル化修飾のダイナミクスを解析した。特に、がんの悪性進展過程に重要な上皮・間葉転換 (EMT) のプロセスにおいて、個々の細胞レベルでのグローバルなヒストンのメチル化修飾の変化を調べ、その分子メカニズムを解析することを試みた。</p> <p>ヒストン H3 の重要なメチル化修飾 Lys 残基について、種々の修飾状態を認識する特異性の高いモノクローナル抗体の作製に成功した。また、アセチル化、リン酸化など他の翻訳後修飾とメチル化修飾が併存する状態を認識する抗体についても開発を完了した。がん細胞の悪性進展過程のモデルとして、A549 肺がん細胞株が TGF-beta 処理によって、上皮・間葉転換 (EMT) を誘導される実験系に着目した。これらの特異的修飾認識抗体を用いて、EMT 誘導の前後の個々の細胞レベルでのヒストン H3 の翻訳後修飾の変化を調べた。その結果、特に H3K27 のトリメチル化 (me3) レベルの著しい上昇を検出することができた。この結果は、H3K27 脱メチル化酵素 JMJD3 のノックダウンが EMT を誘導するという機能ゲノミクス研究分野の実験結果とも合致する。さらに、しかし、H3K27 メチル化レベルが変化するけれども、このメチル化修飾を担う酵素群 PRC2 および PRC1 複合体の各構成要素の発現そのものは、TGF-beta 処理によってほとんど変化しないことを突き止めた。すなわち、PRC2 および PRC1 複合体の細胞内の動態 (複合体構成、細胞内局在、翻訳後修飾など) を調べることが重要であることを示唆する結果であり、この解析を通じて、EMT プロセスにおける動的クロマチン構造制御の分子基盤を解明していきたいと考える。</p>	
【成果等】	<p>【主な論文発表】</p> <p>Hayashi A, Yamauchi N, Shibahara J, Kimura H, Morikawa T, Ishikawa S, Nagae G, Nishi A, Sakamoto Y, Kokudo N, Aburatani H, and Fukayama M. (2014). Concurrent activation of acetylation and tri-methylation of H3K27 in a subset of hepatocellular carcinoma with aggressive behavior. PLoS One 9, e91330.</p> <p>Ideno H, Shimada A, Kamiunten T, Imaizumi K, Nakamura Y, Kimura H, Araki R, Abe M, Nakashima K, and Nifuji A. (2014). Search for conditions to detect epigenetic marks and nuclear proteins in immunostaining of the testis and cartilage. J Histology 2014, 658293.</p> <p>Sato Y, Mukai M, Ueda J, Muraki M, Stasevich TJ, Horikoshi N, Kujirai T, Kita H, Kimura T, Hira S, Okada Y, Hayashi-Takanaka Y, Obuse C, Kurumizaka H, Kawahara A, Yamagata K, Nozaki N, and Kimura H. (2013). Genetically encoded system to track histone modification in vivo. Sci Rep 3, 2436.</p> <p>Sadaie M, Salma R, Carroll T, Tomimatsu K, Chandra T, Young AR, Narita M, Pérez-Mancera, Bennett DC, Chong H, Kimura H, and Narita M. (2013). Uneven alterations in the lamin B1 genomic profile regulate heterochromatin formation and gene expression during senescence. Genes Dev 27, 1800-1808.</p> <p>【学会発表】</p> <p>なし</p> <p>【その他特筆事項】</p> <p>なし</p>	