

「エピゲノム研究に基づく診断・治療へ向けた新技術の創出」
平成 23 年度採択研究代表者

H25 年度
実績報告

金井 弥栄

国立がん研究センター研究所
副所長・分子病理分野長

ヒト消化器上皮細胞の標準エピゲノム解析と解析技術開発

§1. 研究実施体制

(1) 「国立がん研究センター」グループ

① 研究代表者：金井 弥栄（国立がん研究センター研究所、副所長・分子病理分野長）

② 研究項目

- ・研究の統括
- ・純化細胞調製
- ・標準エピゲノム解析
- ・IHEC 対応
- ・標準エピゲノムデータ活用促進

(2) 「国立がん研究センター」グループ

① 主たる共同研究者：柴田 龍弘（国立がん研究センター研究所がんゲノミクス研究分野、分野長）

② 研究項目

- ・標準エピゲノム解析
- ・エピゲノム解析技術開発
- ・IHEC 対応
- ・標準エピゲノムデータ活用促進

(3) 「東京大学」グループ

① 主たる共同研究者：伊藤 隆司（東京大学大学院理学系研究科、教授）

② 研究項目

- ・標準エピゲノム解析
- ・エピゲノム解析技術開発
- ・IHEC 対応
- ・標準エピゲノムデータ活用促進

(4)「東京大学」グループ

① 主たる共同研究者：鈴木 穰（東京大学大学院新領域創成科学研究科、教授）

② 研究項目

- ・標準エピゲノム解析
- ・IHEC 対応
- ・標準エピゲノムデータ活用促進

§ 2. 研究実施の概要

近年、がんなどの病気の発症に、“エピゲノム異常”が関わることが注目されている。エピゲノム異常を詳しく調べて、病気の診断法を開発し、薬の開発に役立てるためには、比較の対象となる正常細胞のエピゲノムの状態を知らなければならない。しかし、エピゲノム状態は細胞の種類毎に異なっており、全貌の把握には各国の研究者の分担と協力が必要である。そこで、我が国に加えカナダ・米国・EU 諸国・韓国等の研究者等が協議して、細胞の種類や人種等によるエピゲノムの違いを把握し、世界共有のエピゲノムデータベースをつくるため、国際ヒトエピゲノムコンソーシアム (IHEC) が創設された (<http://www.ihec-epigenomes.org/>)。

本研究は、我が国の代表研究チームの一つとして IHEC に参加し、国際貢献を果たすことを目的とする。具体的には、日本人で頻度の高い肝がん・胃がんの研究に役立てるため、老若男女の日本人の、肝臓や胃等の正常細胞のエピゲノム状態 (DNA メチル化の状態やヒストンタンパク質の状態) を、網羅的に調べる。また、今後のエピゲノム研究に役立てるために、エピゲノムを解析する新しい技術の開発も進めている。

本研究は、国の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を守り、国立がん研究センター研究倫理審査委員会の承認を得て行った。研究への参加に文書で同意して下さった患者さんの手術検体のうち、診断に用いた残りの組織少量を本研究に使わせて頂いた。これにより、診療に支障を来したり、患者さんに不利益が及ぶことはない。平成 25 年度の主な成果は以下の通りである。

1. 細胞の準備とエピゲノム解析

・細胞を取り出した: 手術で取られた組織をコラゲナーゼ灌流等の方法で処理し、正常の肝細胞や大腸の吸収上皮細胞等を、他の種類の細胞が混入しないように取り出した。同じように、胃や腎臓の細胞を純粹に取り出す手技も開発しつつある。

・エピゲノム解析を行った: 正常の肝細胞・大腸の吸収上皮細胞等で、全ゲノムバイサルファイトシーケンス・クロマチン免疫沈降・シーケンス・RNA-シーケンスといった方法を使い、エピゲノムの状態を調べた。この際には、高速シーケンサーを用い、この研究チームの研究者が独自に開発した PBAT 法等で解析をしている。

・IHEC のデータベース登録へ: 肝細胞については、データベースに登録する 6 種類のデータの取得が完了した。さらに、遺伝子の塩基配列の個人差・DNA メチル化の状態・ヒストンタンパク質の状態が相互に関係し合っ、肝細胞の機能に影響を与える可能性等についても検討を進めている。大腸の細胞については、データベースに登録する 12 種類のデータを取得しつつある。

2. 新しい解析技術の開発

・PBAT 法の改良: PBAT 法にペアエンドシーケンスといった方法を取り入れて、さらに効率を良くする工夫をした。また遺伝子のうち情報量の多い場所の DNA メチル化状態を重点的に調べる、SureSelect-PBAT 法を開発した。開発した最新の実験のやり方は、研究チームのホームページ (<http://crest-ihec.jp/>) から公開し、国内外の研究者に広く使ってもらえるようにした。

・5-ヒドロキシメチルシトシン解析: 最近注目されるようになったエピゲノム修飾のひとつで、まだ解析技術が確立していない 5-ヒドロキシメチルシトシン修飾の状態を調べるため、酸化バイサルファイトシーケンス法の改良を進めている。

・第 3 世代高速シーケンサーの活用: 現在使っているものよりさらに進んだ原理の第 3 世代の高速シーケンサーを用いて、DNA のメチル化やヒドロキシメチル化を直接読み取ることを試みた。

3. IHEC への貢献

データを共有して研究を進めやすくし、また IHEC のデータベースを公開するため、解析ツールやブラウザを開発した。IHEC 国際科学運営委員会・ワークグループ等で、各国が実験のやり方を統一して使いやすいデータベースにするために協議している。広報活動を引き受ける等して、IHEC の運営に貢献した。研究チーム独自のホームページを公開し、国内外の研究者や一般の方への

情報発信に努めている。2015年に我が国で IHEC の年次総会を開催する準備を行っている。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

論文詳細情報(国際)

1. Yae Kanai and Eri Arai, “Multilayer-omics analyses of human cancers: exploration of biomarkers and drug targets based on the activities of the International Human Epigenome Consortium” *Front Genet*, vol. 5, p.24, 2014 (DOI: doi: 10.3389/fgene.2014.00024).
2. Fumihito Miura and Takashi Ito, “PBAT: post-bisulfite adaptor tagging for highly efficient whole-genome bisulfite sequencing” *Methods Mol Biol*, 2014 (in press).