

「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

H26 年度
実績報告書

金井 弥栄

(独)国立がん研究センター研究所 分子病理分野
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分子病理分野、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・エピゲノム統合解析
- ・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)「九州大学」グループ

① 主たる共同研究者：伊藤 隆司（九州大学大学院医学系学府、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”が関わることで注目されている。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、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・胃がん等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 26 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で処理する等し、正常の肝臓・大腸・胃・腎臓の上皮細胞等を、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、発がんの危険度が高い肝炎ウイルス感染陽性の肝細胞も取り出した。
- ・エピゲノム解析を行った：他の種類の細胞が混入しないように取り出した各種の細胞で、全ゲノムバイサルファイトシークエンس・クロマチン免疫沈降・シークエンス・RNA・シークエンスを行い、エピゲノム状態を調べた。この際には、高速シークエンサーを用い、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：エピゲノムデータセットの取得が完了した 13 種類の細胞について、IHEC のデータベースに登録する手続きを進めている。
- ・解析結果から新たに分かったこと：遺伝子の塩基配列の個人差が、DNA メチル化状態の個人差を誘導し、肝細胞の機能に影響を与える可能性がある。大腸の右半 (上行結腸)・左半 (下行結腸等) にもともと DNA メチル化状態の差があり、右半に DNA メチル化異常を高頻度に示すがんが出来やすい素地になっている可能性の検討を進めている。

2. 新しい解析技術の開発

- ・Post-Bisulfite Adaptor Tagging (PBAT) 法の改良：独自に開発した PBAT 法の効率を、さらに高める工夫をした (Miura and Ito. *Method Mol Biol*, 2 報印刷中)。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 (Miura and Ito. *DNA Research* 22: 13, 2015)。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：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・シークエンス法の改良を進めている。
- ・クロマチンアクセシビリティ解析：mRNA が作られているクロマチン領域を見つけるクロマチンアクセシビリティ解析についても、解析技術が安定しないことが各国チーム共通の課題となっていた。これを可能にするため、細胞に浸透していく試薬を使う新しい方法の開発に着手した。
- ・第 3 世代高速シークエンサーの活用：現在使っているものより進んだ原理の第 3 世代の高速シークエンサーを用いて、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、独自に開発したブラウザにデータを実装し、附属させる解析ツールも開発した。IHEC 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。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。