

「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24年度採択研究代表者

H26 年度  
実績報告書

金田篤志

千葉大学大学院医学研究院分子腫瘍学  
教授

エピゲノム変異誘導に対する調整因子・抵抗因子の同定

## § 1. 研究実施体制

(1)「金田」グループ(研究機関別)

① 研究代表者:金田 篤志 (千葉大学大学院医学研究院、教授)

② 研究項目

・生理的エピゲノム変化の調整因子の同定

網羅的発現解析、エピゲノム解析、調整因子候補の同定

調整因子候補の局在解析、情報解析、機能解析

・異常エピゲノム変異における調整因子・抵抗因子の同定

感受性・抵抗性細胞の同定

網羅的発現・エピゲノム解析、調整因子・抵抗因子候補の同定

調整因子・抵抗因子候補の局在解析、情報解析、機能解析

(2)「深山」グループ(研究機関別)

① 主たる共同研究者:深山 正久 (東京大学大学院医学系研究科、教授)

② 研究項目

・異常エピゲノム変異における調整因子・抵抗因子の同定

不死化正常細胞サブクローンの樹立

臨床標本の採取・検証

調整因子・抵抗因子の機能解析、発癌機構解析

## § 2. 研究実施の概要

本研究はエピゲノム変異を2つのモデルで解析します。1つは正常細胞が癌遺伝子活性化に際し生理的にエピゲノム変化し細胞増殖を停止する早期細胞老化のモデルです。この研究によりエピゲノム変化の調整機構や癌遺伝子変異(+)癌の発癌機構を理解します。1つはウイルス感染がエピゲノム異常を誘導するモデルで、外的因子のエピゲノム変異誘導による発癌機構を理解します。

### (A) 癌遺伝子活性化による早期細胞老化モデルと癌遺伝子変異(+)発癌

Ras 誘導性、Raf 誘導性細胞老化のモデルを用いて、網羅的発現解析、shRNA ライブラリーを用いた網羅的ノックダウンを行い、細胞老化に必須であり、不活化により細胞老化を回避させる遺伝子を探しています。同定された遺伝子は重要なシグナル因子やエピゲノム修飾に関連する遺伝子を含みます。

これらの破綻による癌化について、これまで大腸進行癌を解析し、RAF 変異(+)と相関する高メチル化群、RAS 変異(+)と相関する中メチル化群、など独特の大腸癌サブタイプが存在することを同定しています。大腸癌の平坦早期病変を解析すると、側方進展型腫瘍は、RAS 変異(+)中メチル化群と癌遺伝子変異(-)低メチル化の2群に明瞭に層別化され、それぞれ肉眼形態の異なる病変を形成します<sup>(1)</sup>。RAF 変異(+)症例についても、高メチル化・RAF 変異を伴う病理形態学上も独特な早期病変を形成しており、各分子サブタイプは全く異なる大腸発癌経路を示していると考えられます。これら各サブタイプの腺腫と癌について網羅的遺伝子変異解析を行い、細胞老化に必須なシグナルを含め、癌で特異的に認める遺伝子変異の有無を解析しています。

同定された異常の癌診断への応用について検討した結果、血漿中に存在する癌由来 DNA を PPP1R3C メチル化と EFHD1 メチル化を用いて検出する手法を開発し、早期においても大腸癌を高感度に検出するマーカーであることを報告しました<sup>(2)</sup>。

### (B) ウィルス感染による異常エピゲノム誘導モデルと EB ウィルス(+)胃癌

これまで我々は EB ウィルス陽性胃癌が独特な高メチル化状態を示し、実際に EB ウィルス感染により低メチル化胃癌細胞株にこの独特な高メチル化状態を誘導することに成功してきました。

EB ウィルス感染により生じる異常メチル化について時間的・空間的に詳細なマッピングを行い、新規メチル化を誘導する機構と、それに抵抗する機構が存在することを示しました。候補因子のノックダウンにより、メチル化誘導/抵抗に関連し得る因子の同定を進めています。

胃癌症例の遺伝子変異網羅的解析を行い、ARID1A を含め EB ウィルス(+)胃癌特異的に認める遺伝子変異を複数同定しました。胃癌における ARID1A の不活化は、我々のグループでも免疫染色により EB ウィルス(+)胃癌で高頻度に不活化されていることを報告しているが、ARID1A を含めこれらの因子のノックダウン下に EB ウィルス感染を行い、癌化への寄与について解析しています。

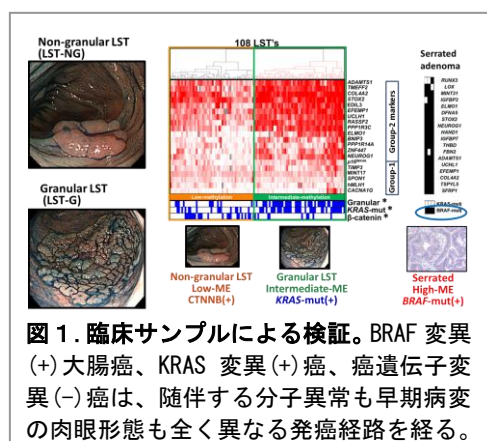


図 1. 臨床サンプルによる検証。BRAF 変異(+)大腸癌、KRAS 変異(+)癌、癌遺伝子変異(-)癌は、随伴する分子異常も早期病変の肉眼形態も全く異なる発癌経路を経る。

#### 代表的な論文

1. Sakai E, Ohata K, Chiba H, Matsuhashi N, Doi N, Fukushima J, Endo H, Takahashi H, Tsuji S, Yagi K, Matsusaka K, Aburatani H, Nakajima A, Kaneda A. Methylation epigenotypes and genetic features in colorectal laterally spreading tumors. *Int J Cancer*, 135:1586–95, 2014. doi: 10.1002/ijc.28814.
2. Takane K, Midorikawa Y, Yagi K, Sakai A, Aburatani H, Takayama T, Kaneda A. Aberrant promoter methylation of PPP1R3C and EFHD1 in plasma of colorectal cancer patients. *Cancer Med*, 3:1235–45, 2014. doi: 10.1002/cam4.273.