

がん分子標的探索プログラム

メタデータ	言語: 出版者: 公開日: 2024-06-12 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/0002000702

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



がん分子標的探索プログラム

Division of Molecular Cell Signaling

シグナル伝達研究分野

Professor	Katsuji Yoshioka 善岡 克次
Assistant Professor	I Ketut Gunarta
Postdoctoral Researcher	Ryusuke Suzuki 鈴木 隆介
Graduate Students	Dewi Yuliana (D4), Purvee Erdenebaatar (D4), Ravdandorj Odongoo (D4), Yuhei Kishi 岸 勇平 (M2)
Assistant Staff	Hisayo Inotani 猪谷 久世

【 Abstract 】

JNK/SAPK-associated proteins (JSAPs), JSAP1 (also known as JIP3) and JSAP2 (also known as JLP or SPAG9), were first identified as scaffold proteins for the MAP kinase (MAPK) signaling pathways. Subsequent studies showed that JSAP proteins can also function as motor-cargo adaptors. Increasing evidence suggests that JSAP2 is overexpressed in many types of cancer and involved in cell proliferation and invasion. However, the physiological roles of JSAP in non-transformed cells remain largely unknown. Recently we found that aneuploidy was induced in non-transformed hTERT RPE-1 cells by overexpressing JSAP2 (or JSAP1). To explore the functional roles of JSAP, we analyzed JSAP2 knockdown (KD) hTERT RPE-1 cells and found reduced cell proliferation of JSAP2 KD cells. RNA-seq analyses of JSAP2 KD and control cells suggested the involvement of JSAP2 in the regulation of cell cycle progression. We are studying how JSAP2 is involved in the processes.

Curcumin, a major component of turmeric, is known to exhibit multiple biological functions including antitumor activity. We previously reported that JSAP2 reduces curcumin-induced cell death by modulating p38 MAPK and autophagy through the regulation of lysosome positioning. We investigated the role of JSAP1 in curcumin-induced stress, and found that JSAP1 also attenuates curcumin-induced cell death. However, JSAP1 knockout showed no or little effect on the activation of JNK and p38 MAPKs in response to curcumin. In addition, small molecule inhibitors of JNK and p38 MAPKs did not increase curcumin-induced cell death. Furthermore, JSAP1 depletion did not impair lysosome positioning and autophagosome-lysosome fusion. Instead, we noticed substantial autolysosome accumulation accompanied by an inefficient autophagic flux in JSAP1 knockout cells. Taken together, these results indicate that JSAP1 is involved in curcumin-induced cell death differently from JSAP2, and may suggest that JSAP1 plays a role in autophagosome degradation and its dysfunction results in enhanced cell death.

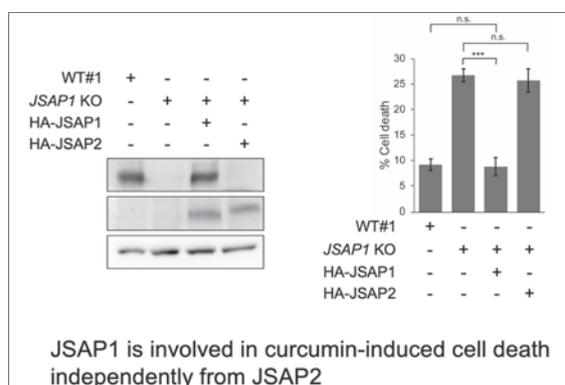
<2021年の研究成果, 進捗状況及び今後の計画>

1. 染色体安定性における JSAP の役割

染色体安定性の維持は正常な発生や恒常性の維持に必要不可欠であり, その異常はがんの発生・悪性化や先天性疾患などと深く関わっている。我々は, これまでに, ヒト正常二倍体不死化 RPE-1 (hTERT RPE-1) 細胞で JSAP2 タンパク質の発現レベルを上昇させると異数性細胞の割合が顕著に増加すること, 及び JSAP1, 2 二重欠損マウス胚性線維芽細胞では染色体分配異常が誘導されることなどを見出している。また最近, hTERT RPE-1 細胞で siRNA を用いて JSAP2 発現をノックダウン (KD) すると細胞増殖阻害が起こることが分かった。しかし, この JSAP2 KD 細胞の場合, metaphase spreads 解析に必要な分裂中期染色体を調製することはできなかった。現在, 目的タンパク質を素早く分解除去することが可能なオーキシソグロン法の導入に取り組んでいる。今後, 細胞周期制御における JSAP タンパク質の役割とその分子基盤の解明を目指して研究を進める予定である。

2. クルクミン誘導性細胞死における JSAP1 の役割

クルクミンはウコンの主要成分であり, 抗腫瘍活性を示すことが知られている。最近, 我々は, JSAP2 はオートファジーと p38 MAPK シグナル伝達経路を制御することにより, クルクミン誘導性の活性酸素を介した細胞死に対して抑制的に働くことが報告した。しかし, クルクミン誘導性細胞死における JSAP1 の役割については, これまでに報告がなく, 不明である。JSAP1 KD 細胞の作製・解析および JSAP1 (あるいは JSAP2) を用いたレスキュー実験を行い, JSAP1 は JSAP2 とは異なる機序によってクルクミン誘導性の細胞死に対して抑制的に働くことを明らかにした (DDT Gunarta *et al.* 2021)。



3. ストレス応答 MAPK の解析

JNK/p38 MAPK はストレス応答 MAPK としてよく知られており, それらの解析には低分子阻害剤が頻用されている。しかし, 3 種類の JNK (JNK1, JNK2, JNK3) および 4 種類の p38 (p38 α , p38 β , p38 γ , p38 δ), それぞれに特異的な阻害剤はなく, 各アイソフォームの機能については不明な点が多い。最近, 福永理己郎博士 (大阪医薬大) のグループが開発した多重ノックアウト法を用いた, ストレス応答 MAPK の詳細な機能解析に着手した (福永理己郎博士との共同研究)。

【 研究業績 】

< 発表論文 >

原著

(研究室主体)

1. Gunarta IK, Yuliana D, Erdenebaatar P, Kishi Y, Boldbaatar J, Suzuki R, Odongoo R, Davaakhuu G, Hohjoh H, Yoshioka K. c-Jun NH₂-terminal kinase (JNK)/stress-activated protein kinase-associated protein 1 (JSAP1) attenuates curcumin-induced cell death differently from its family member, JNK-associated leucine zipper protein (JLP). *Drug Discov Ther.* 15(2): 66-72, 2021.

< 学会発表 >

1. 鈴木 隆介, 善岡 克次: Effect of JLP overexpression on chromosome stability. 第 80 回日本癌学会学術総会, 2021 年 9 月 30 日, 横浜 (オンライン)
2. Gunarta IK, Odongoo R, Iwabuchi S, Hashimoto S, Yoshioka K. Role of JSAP2 in cell cycle regulation. 第 44 回日本分子生物学会年会, 2021 年 12 月 1 日, 横浜 (オンライン)

< 外部資金 >

1. 科学研究費補助金 基盤研究 (C) (研究代表者: 善岡克次) 「新規因子 JSAP による染色体安定性の維持機構」1,200 千円
2. 科学研究費補助金 若手研究 (B) (研究代表者: I Ketut Gunarta) “Role of kinesin/dynein adaptor JSAP in reactive oxygen species-induced cell death and lysosome positioning” 1,100 千円
3. 科学研究費補助金 研究活動スタート支援 (研究代表者: 鈴木隆介) 「モーターアダプター JLP による染色体安定性の制御機構」1,100 千円
4. 高橋産業経済研究財団 (研究代表者: 善岡克次) 「国際連携による肝細胞癌の基礎研究」1,000 千円

Division of Translational and Clinical Oncology

腫瘍制御研究分野

Professor	Toshinari Minamoto 源 利成
Assistant Professor	Takahiro Domoto 堂本貴寛
Graduate Students	Hiroyoshi Nakanishi 中西宏佳 (D4: ~3 月), Masahiro Uehara 上原将大 (D4: ~3 月), Ryosuke Ota 太田亮介 (D4: 太田病院), Satoshi Takenaka 竹中 哲 (D4: 肝胆膵・移植外科学)
Postdoctoral Researchers	Masahiro Uehara 上原将大 (4 月~), Dilireba Bolidong (4 月~)
Research Fellow	Masanori Kotake 小竹優範 (9 月~)
MRT* Program Students	Shuhei Morita 守田周平, Takashi Ishida 石田 岳 (2018. 12. ~)
Assistant Staff	Atsuko Asaka 浅香敦子 *MRT: Medical research training

【 Abstract 】

The mission of our division centers on laboratory and clinical research to develop the novel strategies and modalities for diagnosis and treatment of the gastrointestinal, refractory and rare cancer types including glioblastoma, bone and soft tissue sarcomas. Research projects are based on biological characteristics of individual tumor types that are relevant to their invasive and metastatic potential, resistance to therapy, recurrence and outcome of patients. Our current efforts are focused on (1) research and development of the cancer therapy by targeting aberrant glycogen synthase kinase (GSK)3 β ; (2) understanding of malignant phenotypes of cancer by investigating pathological metabolic properties (eg., aerobic glycolysis, tumor-promoting autophagy); and (3) biological basis of gastrointestinal and refractory cancer, all for clinical translation. We have been also establishing the tissue material resources of human stomach and colorectal cancer for our own projects described above as well as for studies collaborating with our institutional and many other research groups. In an immediate couple of years, we have obtained the preliminary results indicating the putative roles of tumor GSK3 β as a molecular hub that connects the pathways responsible for tumor invasion and resistance to therapy, thus enforcing its potential as a major cancer therapeutic target. We are extending this project toward investigation of the putative roles for GSK3 β in promoting esophageal squamous cell carcinoma (ESCC; the major type of esophageal cancer in Asia and Japan) and pancreatic neuroendocrine neoplasms as well as in acquiring chemoresistance in pancreatic cancer. We also have been trying to develop cellular and mouse models predisposing to ESCC by CRISPR-Cas9-based genome editing of the metabolic enzymes including glycogen synthase and GSK3 β . In addition to these projects, we have clarified the genetic and epigenetic characteristics of traditional serrated adenoma and duodenal non-ampullary adenoma and adenocarcinoma.

<2021年の研究成果、進捗状況及び今後の計画>

1. glycogen synthase kinase (GSK) 3 β 阻害によるがん治療法の研究、開発

Wnt 経路抑制因子と認識されている GSK3 β が固有の分子経路を介して、がんの悪性形質を推進することを系統的に示してきた。そして、GSK3 β 阻害のがん治療効果を細胞レベルと担がん動物で実証した。また、学内外の外科系グループと連携し、膵がん、膠芽腫や骨軟部肉腫などの難治、希少がんで高活性を示す GSK3 β が、腫瘍浸潤性と治療（抗がん剤、放射線）不応性の悪性形質を連結することを見出した。一連の研究をもとに、GSK3 β 阻害薬品の転用と抗がん剤を併用するがん治療法を開発し、再発膠芽腫（附属病院脳神経外科）と進行膵がん（金沢医科大学病院）を対象とする医師主導臨床研究によりその安全性と抗腫瘍効果を検証した。2021年には食道扁平上皮がんと抗がん剤耐性獲得膵がんに対する GSK3 β 阻害の治療効果とメカニズムを明らかにした。また、GSK3 β 阻害によるがん治療の概念実証のため、膵内分泌腫瘍（PNET）の共同研究に加えて、米国で臨床試験中の GSK3 β 阻害剤 9-ING-41 を開発した Actuate 社と共同で治療耐性膵がんの前臨床試験を計画した。

2. がんの代謝特性にもとづく悪性形質の解析研究

GSK3 β はグリコーゲン代謝を制御する。また、特定の間代謝産物が解糖経路と自食作用の接点になるとが知られている。そこで大腸がんを中心に、がん固有の糖代謝（Warburg 効果）に関わる触媒酵素やがん促進性自食作用に対する GSK3 β の統合的解析を進めている。これとは別に、内視鏡的にヨード不染を特徴とする食道の扁平上皮発がん初期の生物学的特性は細胞内グリコーゲンの減少、消失である。そこで、患者由来の正常食道扁平上皮細胞とマウスを対象に、グリコーゲン合成酵素と GSK3 β のゲノム編集による食道扁平上皮発がん状態の誘発を試みる研究を 2018 年に開始し、目的の改変マウスを作出して、経過観察を継続している。また 2021 年には、GSK3 β がエネルギーセンサー酵素 AMPK をリン酸化により不活性化するという知見をもとに、食道扁平上皮がんにおける両酵素の関連解析を始めた。

3. ヒト消化管がん組織バンクを中心とする大腸がんの分子病理学的研究

消化管がん研究や臨床研究の基礎資源として 2008 年から本事業を開始し、2010 年にこの事業を当研究所ヒトがん組織バンクに継承し現在に至っている。この組織資源の共同利用促進のために、日本医療研究開発機構ゲノム医療支援サイト (<http://www.biobank.amed.go.jp/biobank/index.html>) に情報公開している。山梨大学：竹田 扇らが開発した大気圧イオン化法-質量分析を用いて、大腸がん質量分析診断法開発の共同研究を継続している。大腸組織の質量分析パターンをもとに特有の統計解析と機械学習を組合わせて非がん/がんの判別（診断）アルゴリズムを構築し、90%以上の感度と特異度による判別を可能にした（論文作成予定）。現在、島津製作所基盤技術研究所と共同で、大腸がんの質量分析-内視鏡診断法の内視鏡デバイス開発に着手した。組織バンク検体を利用して、名古屋市立大学（十二指腸腺腫、早期がん）、香川大学（大腸がんテロメア解析）と共同研究を開始した。

【 研究業績 】

< 発表論文 >

原著

1. Shimasaki T, Yamamoto S, Omura R, Ito K, Nishide Y, Yamada H⁴, Ohtomo K, Ishisaka T, Okano K, Ogawa T, Tsuji H, Matsuo Y, Minamoto T, Tomosugi N, Ferain E, Ochiya T. Novel platform for regulation of extracellular vesicles and metabolites secretion from cells using a multi-linkable horizontal co-culture plate. *Micromachines* 12 (11): 1431, 2021. doi: 10.3390/mi12111431
2. Kotake M, Bando H, Kaneko M, Takemura H, Minamoto T, Kawakami K. LOH of the thymidylate synthase locus in combination with genotype has prognostic and predictive significance in colorectal cancer. *Mol Clin Oncol* 15: 235, 2021. doi: 10.3892/mco.2021.2398

< 学会発表 >

1. Takahiro Domoto, Masahiro Uehara, Satoshi Takenaka, Dilireba Bolidong, Tatsuhiko Furusawa, Osamu Takeuchi, Tomoharu Miyashita, Toshinari Minamoto. GSK3 β interconnects the malignant properties in therapy-resistant pancreatic cancer. The 10th International Conference of the International Society of Gastroenterological Carcinogenesis (ISGC 2021), November 26 (Fri), 27 (Sat), 2021, Gifu, Japan (WEB).
2. Masahiro Uehara, Takahiro Domoto, Satoshi Takenaka, Dilireba Bolidong, Osamu Takeuchi, Tomoharu Miyashita, Toshinari Minamoto. Glycogen synthase kinase (GSK) 3 β participates in acquired resistance to gemcitabine in pancreatic cancer. The 10th International Conference of the International Society of Gastroenterological Carcinogenesis (ISGC 2021), November 26 (Fri), 27 (Sat), 2021, Gifu, Japan (WEB).
3. Dilireba Bolidong, Takahiro Domoto, Masahiro Uehara, Hemragul Sabit, Tomoyuki Okumura, Yoshio Endo, Mitutoshi Nakada, Tomoharu Miyashita, Richard W. Wong, Toshinari Minamoto. Potential therapeutic effect of targeting glycogen syntase kinase (GSK)3 β in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC). The 10th International Conference of the International Society of Gastroenterological Carcinogenesis (ISGC 2021), November 26 (Fri), 27 (Sat), 2021, Gifu, Japan (WEB).
4. 松田陽子, 成澤裕子, 葉 娟娟, 山川けいこ, 向井裕理, 谷元ミサ, 横平政直, 本間尚子, 源 利成. 長いテロメアを有する腫瘍の頻度と予後との関連.

- Incidence and prognostic relevance of long telomere cancers. 第 110 回日本病理学会総会, 2021 年 4 月 22 日(木)–24 日(土), 京王プラザホテル, 東京.
5. 岩嶋友紀, 羽澤勝治, 源 利成, Richard Wong. 核膜孔複合体による gene-gating 形成機序. 日本生化学会北陸支部第 39 回大会, 2021 年 6 月 5 日(土), WEB.
 6. Takahiro Domoto, Satoshi Takenaka, Masahiro Uehara, Dilireba Bolidong, Tatsuhiko Furukawa, Tomoharu Miyashita, Toshinari Minamoto. Glycogen synthase kinase (GSK) 3 β renders pancreatic cancer acquiring resistance to gemcitabine via the STAT3 activation. 堂本貴寛, 竹中 哲, 上原将大, ボリドン ディレバ, 古川龍彦, 宮下知治, 源 利成. GSK3 β は STAT3 の活性化を介して膵がんのゲムシタビン耐性獲得に寄与する. 第 80 回日本癌学会学術総会, 2021 年 9 月 30 日(木)–10 月 2 日(土), パシフィコ横浜.
 7. Takeshi Sawada, Eiji Kubota, Keishi Nakamura, Naoki Takahashi, Ryosuke Ota, Masashi Idogawa, Yasushi Sasaki, Takashi Tokino, Toshinari Minamoto, Hiromi Kataoka. RAS, BRAF and PIK3CA mutations in circulating tumor DNA and comparison with mutations in tissue in colorectal cancer. 澤田 武, 久保田英嗣, 中村慶史, 高橋直樹, 太田亮介, 井戸川雅史, 佐々木泰史, 時野 隆, 源 利成, 片岡洋望. RAS 野生型転移性大腸癌患者における循環腫瘍 DNA 中の RAS, BRAF, PIK3CA 変異の同定と腫瘍組織の変異との比較. 第 80 回日本癌学会学術総会, 2021 年 9 月 30 日(木)–10 月 2 日(土), パシフィコ横浜.
 8. Masaharu Hazawa, Toshinari Minamoto, Takeshi Suzuki, Richard Wong. NUP153 drives oncogenic TP63 expression through liquid-liquid phase separation mediated gene-gating in squamous cancer. 羽澤勝治, 源 利成, 鈴木 健之, ウォング リチャード. NUP153 は相分離を介した Gene-gating 機構で TP63 の発現を誘導する. 第 80 回日本癌学会学術総会, 2021 年 9 月 30 日(木)–10 月 2 日(土), パシフィコ横浜.
 9. 堂本貴寛, 上原将大, 竹中 哲, ディレバ ボリドン, 古川龍彦, 竹内 修, 宮下知治, 源 利成. GSK3 β は膵がんの難治性腫瘍形質を連関する. 第 32 回日本消化器癌発生学会総会, 2021 年 11 月 26 日(金), 27 日(土), 岐阜市(WEB).
 10. 上原将大, 堂本貴寛, 竹中 哲, ディレバ ボリドン, 竹内 修, 宮下知治, 源 利成. Glycogen synthase kinase (GSK) 3 β は膵がんのゲムシタビン獲得耐性に寄与する. 第 32 回日本消化器癌発生学会総会, 2021 年 11 月 26 日(金), 27 日(土), 岐阜市(WEB).

11. ディリレバ ポリドン, 堂本貴寛, 上原将大, アムラ サビット, 奥村知之, 遠藤良夫, 中田光俊, 宮下知治, リチャード ウォング, 源 利成. GSK3 β 阻害による食道扁平上皮がんの治療効果とメカニズム. 第 32 回日本消化器癌発生学会総会, 2021 年 11 月 26 日(金), 27 日(土), 岐阜市(WEB).

<講演>

12. 源 利成. 基調講演: GSK3 β のがん生物学とがん治療抵抗性の一隅. 第 29 回日本癌病態治療研究会 パネルディスカッション: 癌治療抵抗性の機序解明に基づく新たな治療法の開発, 2021 年 1 月 14 日(木), 15 日(金), G メッセ群馬, 高崎市.

<外部資金> ※2021 年が含まれる課題

- 2020 年ー2022 年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 課題番号 20K09100
宮下知治(代表), 源 利成, ほか(分担)
課題: GSK3 β を基軸とした食道発癌機構の解明と新規治療戦略の開発
研究経費: 4,160,000 円(直接経費 3,200,000 円, 間接経費 960,000 円)
- 2019 年ー2021 年度 科学研究費補助金 基盤研究(B) 課題番号 19H03727
源 利成 (代表), Richard Wong, 宮下知治(分担)
課題: 大腸がんの糖代謝改変と細胞核分裂機構を繋ぐ分子経路の解明とがん制御法開発への応用
研究経費: 17,420,000 円(直接経費 13,400,000 円, 間接経費 4,020,000 円)
- 2019 年ー2021 年度 科学研究費補助金 基盤研究 (C) 課題番号 19K07710
堂本貴寛(代表)
課題: GSK3 β によるがん促進的糖代謝特性の解明と制御への応用
研究経費: 4,420,000 円(直接経費 3,400,000 円, 間接経費 1,020,000 円)
- 2019 年ー2021 年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 課題番号 19K08367
太田亮介(代表), 澤田 武, 源 利成, ほか(分担)
課題: RNA シーケンスによる大腸鋸歯状腺腫の発癌機構の解明と分子標的治療の基盤確立
研究経費: 4,420,000 円(直接経費 3,400,000 円, 間接経費 1,020,000 円)
- 2019 年ー2021 年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 課題番号 19K08463
澤田 武(代表), 太田亮介, ほか(分担)
課題: 表在性非乳頭部十二指腸腫瘍の発癌機構の解明と, 進展を予測する内視鏡

診断体系の確立

研究経費： 4,420,000 円(直接経費 3,400,000 円, 間接経費 1,020,000 円)

Division of Functional Genomics

機能ゲノミクス研究分野

Professor	Takeshi Suzuki 鈴木 健之
Assistant Professors	Akihiko Ishimura 石村 昭彦 Minoru Terashima 寺島 農
Graduate Students	Kusuma Suphakhong (D4) Hanbing Lyu (D3) Risa Takatsuka 高塚理沙 (D3) Gerelsuren Batbayar (D3) Hyuga Ajichi 按察日向 (M2)
Technical Assistant	Atsuko Odawara 小田原 敦子

【 Abstract 】

We have been studying the function of epigenetic regulators such as histone methyl-modifying enzymes, long noncoding RNAs and RNA methyltransferase complex in the various steps of malignant progression of cancer. This year we investigated the role of KDM2B, a member of PRC1 complex that regulates histone ubiquitination, during TGF-beta-induced EMT of lung and pancreatic cancer cells. Knockdown of *KDM2B* inhibited TGF-beta-induced morphological conversion of the cells and increased cell migration/invasion as well as the expression changes of EMT-related marker genes. Overexpression of *KDM2B* influenced the expression of a subset of epithelial marker genes such as *CDH1*, *miR200a* and *CGN*, and enhanced the effects of TGF-beta. Mechanistic investigations revealed that KDM2B specifically recognized the regulatory regions of *CDH1*, *miR200a* and *CGN* genes and induced histone H2AK119 mono-ubiquitination as a component of PRC1 complex, thereby mediating the subsequent EZH2 recruitment and histone H3K27 methylation required for gene repression. Studies using KDM2B mutants confirmed that its DNA recognition property but not its histone H3 demethylase activity was indispensable for its function during EMT, suggesting the crucial role of KDM2B in the determination of target gene specificity. This study demonstrated the significance of the regulation of histone H2A ubiquitination in EMT process.

<2021 年の研究成果, 進捗状況及び今後の計画>

1. がん細胞の EMT におけるヒストンユビキチン化酵素複合体 PRC1 の役割

TGF- β 誘導 EMT の進行において, ヒストンメチル化 (H3K27me) 酵素複合体 PRC2 の必須の役割をこれまでに明らかにしてきた。本年度は PRC2 と協調して作用しうる

PRC1 ヒストンユビキチン化 (H2AK119Ub) 酵素複合体の関与を調べた。CRISPR/Cas9 スクリーニングによって、PRC1 関連因子 23 種類の中から、発現抑制が EMT に最も影響を与える因子 KDM2B を同定した。KDM2B は、一部の上皮系遺伝子 (*CDH1*, *miR200a*, *CGN* など) の発現抑制制御を介して EMT 進行や細胞運動性上昇に関与することが示された。変異体解析から、KDM2B の DNA 認識活性が PRC1 によるヒストンユビキチン化と、それに続く PRC2 によるヒストンメチル化、その結果としての上皮系遺伝子の特異的発現抑制に必要であることがわかった。すなわち、EMT 誘導遺伝子発現プログラムのエピジェネティック制御において、KDM2B による特異的 DNA 部位の認識とヒストンユビキチン化修飾が先導的な役割を担うことが明らかになった。

2. RNA の m6A メチル化修飾を認識する Reader 分子による EMT 関連 mRNA 制御

EMT におけるエピトランスクリプトーム制御を理解するために、m6A 修飾を受けた標的 RNA の調節機構を調べている。EMT 進行に重要な転写制御因子 JUN と JUNB が mRNA の m6A 修飾によって、主にタンパク質翻訳効率と mRNA 安定性の点からそれぞれ調節されていることを見いだした。すなわち、異なる m6A 修飾認識 Reader 分子による制御が示唆されることから、RNA 免疫沈降法による相互作用解析によって各 Reader 分子の同定を進め、RNA の m6A 修飾の役割を明らかにする計画である。

3. 肺がん細胞の薬剤抵抗性獲得に関与するエピジェネティック制御因子の同定

肺がんの分子標的治療において、EGFR 特異的 TKI に対する耐性がんの出現は克服すべき課題である。本年度は、EGFR 変異肺がん細胞 HCC827 のオシメルチニブ耐性獲得に関与するエピジェネティック制御因子を CRISPR/Cas9 スクリーニング法によって探索した。その結果、ヒストンアセチル化酵素 HBO1 を含む複数の候補因子の同定に成功した。スクリーニングで得られた候補遺伝子特異的な shRNA を用いて発現抑制実験を行った結果、HCC827 細胞の薬剤抵抗性が著しく上昇した。今後、これら候補遺伝子の作用機序を解明して、肺がんの薬剤耐性獲得の分子基盤の一端を明らかにし、耐性克服や耐性回避のための新たな戦略の確立を目指す。

4. ヒストンメチル化修飾分布に基づく EMT 制御転写因子の探索

ヒストンの H3K4me3 修飾は、細胞の特異性を決定する重要な遺伝子座に、より広範囲にマークされることが報告されている。そこで、EMT 誘導の前後で H3K4me3 修飾の ChIP-seq 解析を行い、誘導後に H3K4me3 修飾範囲が拡大する遺伝子の中から EMT 制御転写因子の新しい候補を探索した。選抜された候補には、SNAIL や SLUG など既知の EMT 転写因子に加えて、EMT との関係性が未報告の転写因子が 5 種類含まれていた。これらのうち、CEBPG は発現抑制実験や過剰発現実験の結果、新しい EMT 誘導転写因子であることが示された。また結合タンパク質の解析から、EMT 以外に DNA 修復過程への関与も示唆されている。今後、これら候補転写因子の機能と作用機序を解明し、EMT を含む悪性進展の誘導メカニズムの理解に貢献したい。

【 研究業績 】

< 発表論文 >

原著

(研究室主体)

1. Wanna-Udom S, Terashima M, Suphakhong K, Ishimura A, Takino T and *Suzuki T. KDM2B is involved in the epigenetic regulation of TGF- β -induced epithelial-mesenchymal transition in lung and pancreatic cancer cell lines. J Biol. Chem., 296: 100213, 2021.
(共同研究)
2. Yamahana H, Terashima M, Takatsuka R, Asada C, Suzuki T, Uto Y and *Takino T. TGF-beta1 facilitates MT1-MMP-mediated proMMP-9 activation and invasion in oral squamous cell carcinoma cells. Biochem Biophys Rep., 27:101072, 2021.
3. Takeuchi Y, Kimura N, Murayama T, Machida Y, Iejima D, Nishimura T, Terashima M, Wang Y, Li M, Sakamoto R, Yamamoto M, Itano N, Inoue Y, Ito M, Yoshida N, Inoue J, Akashi K, Saya H, Fujita K, Kuroda M, Kitabayashi I, Voon D, Suzuki T, Tojo A and *Gotoh N. The membrane-linked adaptor FRS2b fashions a cytokine-rich inflammatory microenvironment that promotes breast cancer carcinogenesis. Proc Natl Acad Sci, USA., 118(43): e2103658118, 2021.

< 学会発表 >

1. Suzuki T, Terashima M and Ishimura A. Functional analysis of KDM2B, a member of PRC1, in the transcriptional regulation of epithelial-mesenchymal transition. 第80回日本癌学会学術総会 (横浜2021年10月)
2. Hazawa K, Minamoto T, Suzuki T and Wong R. NUP153 drives oncogenic TP63 expression through liquid-liquid phase separation mediated gene-gating in squamous cancer. 第80回日本癌学会学術総会 (横浜2021年10月)
3. Ishimura A, Batbayar G, Lyu H, Suphakhong K, Wanna-Udom S, Terashima M, Yano S and Suzuki T. CRISPR/Cas9 screening of epigenetic factors relating to drug resistance. 第44回日本分子生物学会年会 (横浜2021年12月)
4. Terashima M, Suphakhong K, Ishimura A, Nishimura T, Horike SI, Nishimura T, Tange S, Hazawa K, Wong RW and Suzuki T. Roles of epithelial-mesenchymal transition-activating transcription factor candidates in cancer cells. 第44回日本分子生物学会年会 (横浜2021年12月)

5. Suzuki T, Wanna-Udom S, Suphakhong K, Terashima M, Lyu H, Ishimura A, Sakari M and Tsukahara T. Functional analysis of KDM2B, a member of PRC1, in the transcriptional regulation of epithelial-mesenchymal transition of cancer cells. 第44回日本分子生物学会年会（横浜2021年12月）

<外部資金>

1. 文部科学省科学研究費補助金, 基盤研究 (C), 研究代表者 鈴木健之, 1,000 千円 研究課題名「ゲノムワイドな挿入変異を利用した疾患関連 lncRNA の機能解析」
2. 文部科学省科学研究費補助金, 基盤研究 (C), 研究代表者 石村昭彦, 1,000 千円 研究課題名「がん悪性形質獲得に関するエピジェネティック制御因子の探索」