

## 機能ゲノミクス研究分野

### <研究スタッフ>

教授 :	鈴木健之	助教 :	石村昭彦
博士研究員 :	寺島農	事務補佐員 :	小田原敦子

### <研究の概要>

本研究分野では、マウス白血病ウイルスに感染した発がんモデルマウスを用いて、ウイルス挿入変異の標的となるがん関連遺伝子を網羅的に同定し、その機能や遺伝子間の相互作用を解析することで、がんの発症や悪性化の分子メカニズムを解明することを目指している。ヒストンのメチル化・脱メチル化に関与する酵素群の多くが、これまでに同定されており、新しいがん分子標的の候補として、特に注目して解析を進めている。

### <今年度の成果、進行状況と今後の計画>

#### 1) ヒストンのメチル化を制御する酵素群のがんにおける重要性

ウイルス挿入変異の大規模な解析から、高頻度に単離される標的として、ヒストンのメチル化酵素 17 種(Ezh2, Setd7, Smyd2 など)と脱メチル化酵素 11 種(Fbxl10, Jmjd3, Jmjd2c など)を同定した。メチル化、アセチル化、リン酸化などヒストンの翻訳後修飾は、転写制御、DNA 複製、X 染色体不活性化をはじめとする様々な生物学的現象に関与している(ヒストンコード仮説)。ヒトのがんでは、ヒストンのアセチル化酵素の変異や脱アセチル化酵素の発現異常が検出され、脱アセチル化酵素の阻害剤が既に抗がん剤として開発されている。これに対し、ヒストンのメチル化と発がんの関係は、脱メチル化酵素の発見が比較的最近のため、まだ十分に解析が進んでいない。私たちは、候補となるメチル化を制御する酵素群について、本研究所のヒトがん組織バンク(腫瘍内科・矢野教授、腫瘍制御・源教授との共同研究)を利用し、ヒトのがんにおける発現様式を解析している。肺がん組織では、一部のメチル化酵素(Setd3, Suv39h1 など)と脱メチル化酵素(Plu1, Jmjd2b など)の発現異常がこれまでに検出された。酵素を高発現する肺がん細胞株で、siRNA によって酵素の発現をノックダウンすると、細胞増殖の著しい抑制が観察されており、メチル化の脱制御によるクロマチン機能の異常が、ヒトのがんで重要な役割を果たしていることが示されつつある。

#### 2) ヒストンのメチル化制御酵素による遺伝子発現の調節

メチル化制御酵素の発現異常が細胞内の遺伝子発現に与える影響を調べるために、

がん遺伝子候補 (Jmjd2c, Plu1 など) や、がん抑制遺伝子候補 (Utx, Jmjd3 など) の酵素の発現を ON/OFF できる細胞株を樹立し、cDNA の大規模シークエンシングによる発現プロファイリングを行っている（東大新領域・菅野教授との共同研究）。本年度は、食道がんで高発現が見られる Jmjd2c 脱メチル化酵素が、Mdm2 がん遺伝子の発現上昇を誘導し、細胞内の p53 がん抑制遺伝子産物の減少を引き起こすことを明らかにした。その際、Mdm2 遺伝子発現制御領域に Jmjd2c がリクルートされ、その領域に存在するヒストン H3 の 9 番目のリジン (H3K9) の脱メチル化を介して、クロマチン構造を転写抑制状態から転写活性化状態に変換することを見いたしました。このように、標的遺伝子の発現とともに、その発現制御領域でのヒストンの翻訳後修飾の変化を調べることで、がん細胞における遺伝情報発現異常の本質を理解していきたい。

### 3) メチル化制御酵素のヒストン以外の標的の探索

ルシフェラーゼレポーターを用いた転写制御活性の解析から、メチル化制御酵素のなかに、ヒストンだけでなく、p53, NFkB, AP1 などの転写制御因子や、Wnt シグナル経路の因子に直接的に影響を与える酵素 (Lsd1, Jmjd2a, Jmjd3, Smyd5, Whsc1l1 など) が存在することがわかった。いくつかのケース (Fos/Lsd1, Jun/Jmjd3 など) では、酵素と転写制御因子との相互作用を発見しており、現在、転写制御因子のメチル化の有無やその状態変化を調べている。こうした酵素の新しい作用メカニズムを解明するとともに、ヒストン以外の新規基質の探索をさらに進めることで、タンパク質の機能制御におけるメチル化修飾の普遍的な重要性を明らかにしたいと考えている。

### 4) がん関連遺伝子候補 Jmjd5 の機能解析

同定した候補のうち、Jmjd5 遺伝子産物は、ヒストン脱メチル化酵素のモチーフ JmjC ドメインを持つものの、それ単独での酵素活性が検出されていないユニークなタンパク質である。私たちは、Jmjd5 の生理機能や発がんにおける役割を解明するために、Jmjd5 conditional KO マウスを作製した。これまでに、Jmjd5 遺伝子の欠損により、胚性致死が引き起こされること、その際、細胞周期の制御因子 p21 の発現の亢進が見られることがわかった。また、p53 遺伝子や p21 遺伝子の KO マウスとの交配実験から、Jmjd5 と p53・p21 シグナル経路との間の遺伝学的な相互作用を示唆する結果が得られている。さらに、いくつかの組織で特異的な機能を担っていることが示唆されるため、conditional KO マウスを用いて、血液・血管細胞、神経細胞、破骨細胞での機能を調べる共同研究も進行している。

<発表論文>

原著

1. Ishimura A, Terashima M, Kimura H, Akagi K, Suzuki Y, Sugano S and Suzuki T. Jmjd2c histone demethylase enhances the expression of Mdm2 oncogene. Biochem. Biophys. Res. Commun. 389(2), 366-371, 2009.

<学会発表>

国際学会

1. Suzuki T, Terashima M and Ishimura A. Involvement of histone methyltransferases and demethylases in mouse retrovirus-induced leukemia/lymphoma. The 9th Awaji International Forum on Infection and Immunity, September 2009, Awaji, Japan.

国内学会

1. Suzuki T, Terashima M, Ishimura A, Sugano S and Yoshida M. Involvement of protein methyltransferases and demethylases in oncogenesis identified by viral insertional mutagenesis. 第68回日本癌学会学術総会（横浜2009年10月）
2. Ishimura A and Suzuki T. Functional analysis of Jmjd5, a candidate cancer gene identified by retroviral insertional mutagenesis. 第68回日本癌学会学術総会（横浜2009年10月）
3. Terashima M, Ishimura A, Kimura H, Suzuki Y, Sugano S and Suzuki T. Transcriptional regulation by the JmjC-domain-containing proteins involved in cancer. 第32回分子生物学会年会（横浜2009年12月）
4. Ishimura A, Minehata K, Terashima M, Hara T and Suzuki T. Functional analysis of Jmjd5, a candidate cancer gene identified by retroviral insertional mutagenesis. 第32回分子生物学会年会（横浜2009年12月）