

## がん分子標的探索プログラム 機能ゲノミクス研究分野

### 1. 研究スタッフ

#### 常勤

教授	鈴木 健之	2008年4月～現在
助教	石村 昭彦	2008年4月～現在
事務主任	相川 みち代	2008年4月～2009年3月

#### 非常勤

特任助教	寺島 農	2008年4月～2012年3月
博士研究員	丹下 正一朗	2012年7月～現在
研究補助員	西田 和永	2008年4月～2010年7月
	横田 航志	2008年7月～2010年7月
事務補佐員	小田原 敦子	2009年4月～現在

### 2. 研究概要

ゲノムに挿入変異を導入するレトロウイルスは、がんに関係する遺伝子を網羅的に単離し、その発症機構を解明するために有用なモバイル因子である。当研究分野では、レトロウイルス感染マウスに発症した腫瘍から、ウイルスタギングを用いて新しいがん関連遺伝子群の探索を進めてきた。特に、ヒストンやDNAのメチル化制御に関与する酵素群が、ウイルスの標的として高頻度に同定された。これらの酵素が引き起こすエピゲノム制御の異常は、可逆的に元に戻すという治療戦略が想定されるため、次世代のがん治療の標的として現在注目されている。まず私たちは、同定されたヒストンのメチル化制御酵素のいくつかが、がんの発症だけでなく、がんの悪性化の様々なステップに関与していることを見いだした。さらに、酵素によって発現が調節される特異的な標的遺伝子を同定することによって、がんの発症・悪性化を誘導する遺伝子発現カスケードの一端を明らかにすることができた。これまでに、がん細胞の運動性や浸潤能、上皮-間葉転換 (EMT)、抗がん剤に対する耐性獲得に影響を及ぼす酵素をそれぞれ複数同定している。これらの酵素の機能や発現制御機構を解析することで、がんの悪性化に関与するエピジェネティック制御の分子メカニズムを明らかにしたい。また、共同研究で進行しているエピゲノム修飾特異的抗体と修飾制御のモニター系の開発を通して、新規エピジェネティック医薬のスクリーニングに貢献することも将来的な目標としたい。

### 3. 主な研究成果

#### ① ヒストンのメチル化制御酵素によるがん関連遺伝子の発現調節

ウイルス挿入変異の大規模な解析から、ヒストンのメチル化酵素 (EZH2, SETD7, SMYD2 など) と脱メチル化酵素 (JMJD2C, PLU1, UTX, JMJD3 など) を新たな標的として同定した。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、cDNA の大規模シーケンシングによるデジタル発現プロファイルを行った (東京大学・菅野純夫教授、金沢大学・佐藤賢二教授との共同研究)。食道がん等で高発現が見られる JMJD2C 酵素が、ヒストン H3 の 9 番目のリジン (H3K9) の脱メチル化を介して、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。一方、腎がん等で変異が見られるがん抑制遺伝子 UTX 酵素は、H3K27 の脱メチル化を介して、RB ファミリーがん抑制遺伝子の発現上昇を誘導し、細胞の増殖を負に調節していることを見いだした。

#### ② ヒストン脱メチル化酵素 PLU1 による細胞浸潤能の亢進

乳がんや前立腺がん等で高発現が見られる PLU1 脱メチル化 (H3K4) 酵素が、がんの発症だけでなく、がん細胞の細胞浸潤能を亢進する活性をもつことを示し、がんの悪性化におけるヒストンメチル化制御酵素の新たな役割を見つけた。デジタル発現プロファイルを用いて PLU1 による転写制御の標的となる KAT5/TIP60 ヒストンアセチル化酵素を同定した。さらにその下流の標的である CD82/KAI1 遺伝子も含めて、PLU1 の制御する遺伝子発現カスケードが、がん細胞の浸潤に重要な働きを担っていることを明らかにした (東京工業大学・野崎直仁准教授との共同研究)。

#### ③ 上皮-間葉転換 (EMT) におけるヒストンメチル化制御酵素の新しい役割

がん抑制遺伝子候補である JMJD3 脱メチル化 (H3K27) 酵素の発現をノックダウンすると、がん細胞株の上皮-間葉転換 (EMT) が促進されることを見いだした。EMT に伴い、E-cadherin の発現が低下するが、その発現制御に重要な転写因子である ZEB1, ZEB2 の発現を抑制する miR-200 ファミリーの発現調節に JMJD3 が関与することがわかった。すなわち、ヒストンのメチル化を介した microRNA のエピジェネティックな発現制御による EMT の新しい分子メカニズムを明らかにした (投稿中)。

#### ④ がん関連遺伝子候補 Jmjd5 脱メチル化酵素の機能解析

ヒストンの脱メチル化酵素である Jmjd5 がん関連遺伝子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。Jmjd5 null マウスは、胚性致死の表現系を示し、その原因のひとつが、細胞周期制御因子 p21/Cdkn1a の異常な発現亢進であることを見いだした。ChIP 解析の結果、Jmjd5 は p21/Cdkn1a 遺伝子の転写領域上のヒストン H3K36 メチル化を介して、その遺伝子発現を調節していることがわかった (東京都医総研・原孝彦研究員との共同研究)。また、Jmjd5 は、転写因子のユビキチン修飾に影響して、骨細胞の分化を負に制御するという新しい機能を持つことも明らかにした (東京大学・加藤茂明教授との共同研究)。

#### 4. 今後の研究目標

がんの新しい分子標的の開発のために、より良い標的を探索する研究（ウイルス挿入変異による候補探索）と、有望な標的に注目して掘り下げる研究（エピジェネティック制御因子の解析）を今後も継続していく。DNA のメチル化やヒストンのアセチル化と発がんとの関係は、古くから研究がさかんで、既に阻害薬が開発されているのに対し、ヒストンのメチル化制御は、最近開拓され発展している研究分野である。これまでに私たちは、細胞の浸潤能や上皮-間葉転換（EMT）、抗がん剤耐性獲得に関与するヒストンのメチル化制御酵素を発見しており、酵素の標的遺伝子の探索を通して、がんの悪性進展諸過程におけるヒストンメチル化の新しい役割を解明していきたい。また、メチル化制御酵素による microRNA の発現調節や、ヒストンメチル化と DNA メチル化との相関性、さらには DNA の積極的脱メチル化に関わる酵素群とがんとの関係についても重要な知見を得ており、エピジェネティクスに関与する様々な制御因子について解析を広げていきたい。さらに共同研究で、エピゲノム修飾の詳細な解析に必要な修飾特異的・修飾部位特異的なモノクローナル抗体と、各修飾に選択的な影響を与える化合物を選別可能な細胞ベースのアッセイ系の構築を進行しており、新しいエピジェネティック医薬開発への途を見いだしたい。

#### 5. 共同研究拠点への取り組み

共同研究テーマ「モバイル因子を用いた新規がん関連遺伝子の同定」および「がんの発症・悪性化におけるヒストンのメチル化制御に関する研究」について、共同研究課題を募集して取り組んでいる。2009 年度から 2010 年度まで、東京都医学総合研究所の原孝彦研究員と、2011 年度には東京工業大の野崎直仁准教授と共同研究を行ない、その成果を原著論文 1、3 に発表した。さらに 2012 年度は、広島大学の本田浩章教授、大阪大学の木村宏准教授、金沢大学の小出寛准教授との共同研究をスタートしている。これら以外にも共同研究に積極的に取り組み、その成果を原著論文 2、4、5 に発表した。また、共同研究拠点間の連携を活発化するために、富山大学和漢医薬学総合研究所と本研究所とのジョイントセミナーを年 2 回開催しており、本セミナーにおいても研究成果を発表した。さらに、本研究所を含む 9 カ所の生命科学系国立大学附置研究所が、研究所ネットワーク国際シンポジウムを毎年開催している。2012 年度から、このシンポジウムの本研究所運営委員となり、新たな研究領域の創造や優秀な若手人材育成を目指した有機的な研究所間の連携を推進するための取り組みを行なっている。

## 6. 研究業績

### 原著論文

1. Ishimura A, Minehata K, Terashima M, Kondoh G, Hara T, Suzuki T. Jmjd5, an H3K36me2 histone demethylase, modulates embryonic cell proliferation through the regulation of Cdkn1a expression. *Development*, 139:749-759, 2012.
2. Youn MY, Yokoyama A, Fujiyama-Nakamura S, Ohtake F, Minehata K, Yasuda H, Suzuki T, Kato S, Imai Y. JMJD5, a Jumonji C (JmjC) domain-containing protein, negatively regulates osteoclastogenesis by facilitating NFATc1 protein degradation. *J Biol Chem*, 287:12994-3004, 2012.
3. Yoshida M, Ishimura A, Terashima M, Enkhbaatar Z, Nozaki N, Satou K, Suzuki T. PLU1 histone demethylase decreases the expression of KAT5 and enhances the invasive activity of the cells. *Biochemical J*, 437:555-564, 2011.
4. Terashima M, Ishimura A, Yoshida M, Suzuki Y, Sugano S, Suzuki T. The tumor suppressor Rb and its related Rbl2 genes are regulated by Utx histone demethylase. *Biochem Biophys Res Commun*, 399:238-244, 2010.
5. Ishimura A, Terashima M, Kimura H, Akagi K, Suzuki Y, Sugano S, Suzuki T. Jmjd2c histone demethylase enhances the expression of Mdm2 oncogene. *Biochem Biophys Res Commun*, 389:366-371, 2009.
6. Minehata K, Kawahara A, Suzuki T. Meis1 oncogene regulates the development of endothelial cells in zebrafish. *Biochem Biophys Res Commun*, 374:647-652, 2008.

### 著書・総説など

1. 鈴木健之: ウイルス挿入変異によるがん関連遺伝子の同定, *細胞*, Vol.40, No.2: 56-59, 2008.
2. 鈴木健之: ウイルス挿入変異による新しいがん関連遺伝子の同定, *十全医学会雑誌* Vol.117, No.2: 60-61, 2008.

### 主な学会発表など

1. Suzuki, T. がんの発症・悪性化におけるヒストンのメチル化制御. 第2回富山大学和漢医薬学総合研究所・金沢大学がん進展制御研究所ジョイントセミナー (金沢) 2012年7月
2. Suzuki, T. レトロウイルス挿入変異を利用した新しいがん関連遺伝子の探索. 金沢医科大学ハイテクリサーチセンター公開シンポジウム (招待講演) (金沢) 2012年2月
3. Suzuki T, Terashima M, Enkhbaatar Z, Oktyabri D, Tani N, Ogura M, Ishimura A. Functional analysis of histone methyltransferases and demethylases in the process of malignant progression of cancer. 第34回日本分子生物学会年会 (横浜) 2011年12月
4. Ishimura A, Minehata K, Terashima M, Kondoh G, Hara T, Suzuki T. Jmjd5, which is identified by retroviral insertional mutagenesis, regulates embryonic cell proliferation through

- the epigenetic control of Cdkn1a. 第 34 回日本分子生物学会年会 (横浜) 2011 年 12 月
5. Suzuki T, Yoshida M, Terashima M, Enkhbaatar Z, Ishimura A. Identification of cancer related genes regulated by histone methyl-transferases and demethylases. 第 70 回日本癌学会学術総会 (名古屋) 2011 年 10 月
  6. Terashima M, Ishimura A, Suzuki T. Possible role of histone demethylases in malignant progression of tumors. 第 70 回日本癌学会学術総会 (名古屋) 2011 年 10 月
  7. Ishimura A, Terashima M, Suzuki T. Jmjd5, which is identified by retroviral insertional mutagenesis, regulates Cdkn1a and modulates embryonic cell growth. 第 70 回日本癌学会学術総会 (名古屋) 2011 年 10 月
  8. Terashima M, Ishimura A, Yoshida M, Suzuki T. Functional analysis of histone demethylases involved in malignant progression of tumors, The 6th International Symposium of Institute Network, (Tokyo) June, 2011.
  9. Suzuki T. Identification of novel cancer related genes using retroviral insertional mutagenesis. 血液フォーラム 21 (京都) 2011 年 5 月
  10. Enkhbaatar Z, Yoshida M, Ishimura A, Terashima M, Suzuki Y, Suzuki T. Identification of cancer related genes regulated by histone demethylase, using massively parallel sequencing technology. International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa and the 11th Spring Symposium of the Molecular Biology Society of Japan, (Kanazawa) May, 2011.
  11. Terashima M, Ishimura A, Yoshida M, Suzuki T. Functional analysis of histone demethylases involved in cancer by identifying its target genes. International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa and the 11th Spring Symposium of the Molecular Biology Society Japan, (Kanazawa) May, 2011.
  12. Ishimura A, Minehata K, Terashima M, Hara T, Suzuki T. Jmjd5, a candidate cancer-related gene identified by retroviral insertional mutagenesis, regulates the expression of Cdkn1a and modulates embryonic cell proliferation. International Symposium on Tumor Biology in Kanazawa and the 11th Spring Symposium of the Molecular Biology Society of Japan, (Kanazawa) May, 2011.
  13. Suzuki, T. レトロウイルス感染マウスを用いたがん分子標的の探索. 北海道大学遺伝子病制御研究所共同研究集会 (招待講演) (札幌) 2010 年 12 月
  14. Suzuki T, Terashima M, Yoshida M, Ishimura A. Functional analysis of histone methyltransferases and demethylases identified by mouse retroviral insertional mutagenesis. 第 33 回日本分子生物学会年会 (神戸) 2010 年 12 月
  15. Terashima M, Ishimura A, Yoshida M, Suzuki T. Functional characterization of JmjC domain-containing proteins and SET domain-containing proteins involved in cancer. 第 69 回日本癌学会学術総会 (大阪) 2010 年 9 月
  16. Ishimura A, Terashima M, Suzuki T. The physiological role of Jmjd5, a candidate cancer gene identified by retroviral insertional mutagenesis. 第 69 回日本癌学会学術総会 (大阪) 2010 年

9月

17. Suzuki T, Terashima M, Yoshida M, Ishimura A. Functional analysis of histone methyltransferases and demethylases identified by mouse retroviral insertional mutagenesis. The 10<sup>th</sup> Awaji International Forum on Infection and Immunity, (Awaji) September, 2010.
18. Ishimura A, Minehata K, Terashima M, Hara T, Suzuki T. The role of Jmjd5, a candidate cancer gene identified by retroviral insertional mutagenesis: Analysis of Jmjd5-deficient mice. The 5th International Symposium of Institutes Network, (Kanazawa) June, 2010.
19. Ishimura A, Minehata K, Terashima M, Hara T, Suzuki T. Functional analysis of Jmjd5, a candidate cancer gene identified by retroviral insertional mutagenesis. 第32回日本分子生物学会年会 (横浜) 2009年12月
20. Terashima M, Ishimura A, Kimura H, Suzuki Y, Sugano S, Suzuki T. Transcriptional regulation by the JmjC-domain-containing proteins involved in cancer. 第32回日本分子生物学会年会 (横浜) 2009年12月
21. Ishimura A, 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
22. Suzuki T, Terashima M, Ishimura A, Sugano S, 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
23. Suzuki T, Terashima M, Ishimura A. Involvement of histone methyltransferases and demethylases in mouse retrovirus-induced leukemia/lymphoma. The 9<sup>th</sup> Awaji International Forum on Infection and Immunity, (Awaji) September, 2009.
24. Suzuki T, Ishimura A, Terashima M, Suzuki Y, Sugano S, Yoshida M. Identification of novel cancer genes using retroviral insertional mutagenesis in mice. 第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会 (神戸) 2008年12月
25. Ishimura A, Minehata K, Terashima M, Hara T, Suzuki T. 新規がん抑制遺伝子候補 Jmjd5 の機能解析. 第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会 (神戸) 2008年12月
26. Suzuki T. Involvement of histone methyltransferases and demethylases in cancer identified by retroviral insertional mutagenesis. 第67回日本癌学会学術総会 (名古屋) 2008年10月
27. Suzuki T. ウイルス感染マウスを用いた新しいがん分子標的の探索. The 22nd Meeting of the Society for the study of Mammalian Genetics, (Tokyo) September, 2008
28. Suzuki T, Ishimura A, Terashima M. Identification of the genes involved in mouse retrovirus-induced leukemia/ lymphoma by high-throughput retroviral tagging. The 8th Awaji International Forum on Infection and Immunity, (Awaji) September, 2008.
29. Suzuki T. Identification of novel cancer genes using retroviral insertional mutagenesis in mice. The Joint Symposium of the 3rd International Symposium of Institutes Network and Hot Spring Harbor-Global COE Symposium, (Oita) February, 2008.

特許

特になし

## 7. 外部資金受け入れ状況

### 2012年度

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, 「ウイルス挿入変異法で同定されたエピゲノム制御因子による疾患発症機構の解析」, 1,700 千円
2. 文部科学省科学研究費補助金, 新学術領域研究 (がん微小環境), 研究分担者 鈴木健之, 「呼吸器悪性腫瘍の微小環境の特性を標的とした新規制御法の開発」, 1,000 千円
3. 文部科学省科学研究費補助金, 若手研究 (B), 研究代表者 石村昭彦, 「ウイルス挿入変異法で同定された新規がん関連遺伝子 Jmjd5 の機能解析」, 1,400 千円

### 2011年度

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, 「ゲノムへの挿入変異を利用した疾患関連遺伝子の単離とその機能解析」, 1,000 千円
2. 文部科学省科学研究費補助金, 新学術領域研究 (がん微小環境), 研究分担者 鈴木健之, 「呼吸器悪性腫瘍の微小環境の特性を標的とした新規制御法の開発」, 2,000 千円
3. 文部科学省科学研究費補助金, 若手研究 (B), 研究代表者 石村昭彦, 「ウイルス挿入変異法で同定された新規がん関連遺伝子 Jmjd5 の機能解析」, 1,900 千円
4. 平成 23 年度重点戦略経費, 研究活性化推進経費, 研究分担者 鈴木健之, 「新規がんモデルシステムと次世代バイオインフォマティクスの連携による発がん制御機構の探索」, 750 千円

### 2010年度

1. 文部科学省科学研究費補助金, 特定領域 (感染マトリックス), 研究代表者 鈴木健之, 「白血病ウイルス感染による病原性発現に関与する細胞性因子の解析」, 3,500 千円
2. 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, 「ゲノムへの挿入変異を利用した疾患関連遺伝子の単離とその機能解析」, 1,100 千円
3. 文部科学省科学研究費補助金, 若手研究 (B), 研究代表者 石村昭彦, 「新規がん抑制遺伝子 Jmjd5 の血管新生・造血における役割と発がん機構の解明」, 1,400 千円
4. 平成 22 年度重点戦略経費, 中核的教育研究拠点形成, 研究分担者 鈴木健之, 「新規がんモデルシステムと次世代バイオインフォマティクスの連携による発がん制御機構の探索」, 750 千円

## 2009 年度

1. 文部科学省科学研究費補助金, 特定領域 (発がん), 研究代表者 鈴木健之, 「ゲノム不安定性を示すマウスを利用した新しいがん抑制遺伝子の単離とその機能解析」, 5,000 千円
2. 文部科学省科学研究費補助金, 特定領域 (感染マトリックス), 研究代表者 鈴木健之, 「白血病ウイルス感染による病原性発現に関与する細胞性因子の解析」, 3,500 千円
3. 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, 「ゲノムへの挿入変異を利用した疾患関連遺伝子の単離とその機能解析」, 1,500 千円
4. 文部科学省科学研究費補助金, 若手研究 (B), 研究代表者 石村昭彦, 「新規がん抑制遺伝子 Jmjd5 の血管新生・造血における役割と発がん機構の解明」, 1,900 千円

## 2008 年度

1. 文部科学省科学研究費補助金, 特定領域 (発がん), 研究代表者 鈴木健之, 「ゲノム不安定性を示すマウスを利用した新しいがん抑制遺伝子の単離とその機能解析」, 5,000 千円
2. 文部科学省科学研究費補助金, 特定領域 (感染マトリックス), 研究代表者 鈴木健之, 「白血病ウイルス感染による病原性発現に関わる細胞性因子の同定と解析」, 4,200 千円
3. 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, 「両アリルへの挿入変異導入を利用した疾患原因遺伝子の単離と機能解析」, 1,300 千円
4. 文部科学省科学研究費補助金, 若手研究 (B), 研究代表者 石村昭彦, 「核膜内膜蛋白 Man1 による心臓の左右非対称性制御メカニズム」, 1,400 千円
5. 北國がん基金助成金, 研究代表者 鈴木健之, 「レトロウイルス挿入変異システムを利用した新しいがん分子標的の探索」, 2,000 千円
6. 稲森財団研究助成金, 研究代表者 鈴木健之, 「ウイルス感染発がんモデルを用いた新しいがん分子標的の開発」, 1,000 千円

## 8. 特記事項

特になし