

# 金沢大学がん研究所共同研究成果報告書

平成22年4月1日提出

対象研究テーマ：幹細胞あるいはがん幹細胞の特定・可視化に関する研究

研究期間：2009年8月17日～2010年3月31日

研究題目：分子イメージングによる幹細胞可視化法の開発

研究代表者：財団法人癌研究会癌研究所 部長 原 英二

研究成果の概要：

インビボ・イメージングを用いることによりマウスの生体内においての Bmi-1 遺伝子と p16<sup>INK4a</sup> 遺伝子の発現動態を解析することに成功した。DMBA/TPA を用いた化学皮膚発癌の過程や加齢の過程で Bmi-1 遺伝子と p16<sup>INK4a</sup> 遺伝子の発現動態を比較検討した結果、両者の発現は必ずしも逆相関の関係にあるわけではなく、p16<sup>INK4a</sup> 遺伝子の発現は Bmi-1 以外の転写調節因子によっても制御されていることが明らかとなった。特に癌化した組織においては Bmi-1 以外のメカニズムにより、p16<sup>INK4a</sup> 遺伝子の発現が制御されている可能性が大きいことが強く示唆された。

研究分野：癌生物学

キーワード：p16<sup>INK4a</sup>, Bmi-1, 可視化、幹細胞

## 1. 研究開始当初の背景

哺乳動物の正常な細胞に発癌の危険性のある異常が生じると、p16<sup>INK4a</sup> 遺伝子の発現レベルが上昇し、細胞老化が誘導される。細胞老化は異常細胞の増殖を防ぐ重要な癌抑制機構として働いている一方で、組織幹細胞において細胞老化が起こると生体機能の衰え、即ち個体老化を起こすことが明らかになりつつある。これまで主に培養細胞を用いた研究から p16<sup>INK4a</sup> 遺伝子の発現はポリコム・グループ転写因子の一つである Bmi-1 により精密に制御されていることが示されてきた。しかし、発癌や個体老化の過程において Bmi-1 が生体内のどこで、いつ、どのように p16<sup>INK4a</sup> 遺伝子の発現を制御しているのかについては殆ど明らかにされていない。この問題を解決するために我々は昨年度から平尾敦 教授との共同研究を進めてきた。

## 2. 研究の目的

これまでの共同研究により、Bmi-1 遺伝子の発現と p16<sup>INK4a</sup> 遺伝子の発現をマウスの生体内でリアルタイムに測定できるイメージングマウスの開発に成功している。本年度はこれらのマウスを用いて、加齢や発癌の過

程での Bmi-1 と p16<sup>INK4a</sup> 遺伝子発現の生体内ダイナミクスの解明を目指した。更に、p16<sup>INK4a</sup> 遺伝子または Bmi-1 遺伝子を欠損したノックアウトマウスを用いた解析と組み合わせることにより Bmi-1 による p16<sup>INK4a</sup> 遺伝子発現調節の生体内での役割及びその作用機序を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

昨年度までに作成した Bmi-1 レポーターマウスと p16<sup>INK4a</sup> レポーターマウスとを用いて発癌や個体老化の過程で Bmi-1 及び p16<sup>INK4a</sup> の発現動態をインビボ・イメージングにより解析する。

## 4. 研究成果

DMBA/TPA を用いた化学皮膚発癌の過程で、Bmi-1 レポーターマウスと p16<sup>INK4a</sup> レポーターマウスが発する発光シグナルを解析することにより、発癌ストレスにより誘導される p16<sup>INK4a</sup> 遺伝子の発現は Bmi-1 の発現と必ずしも逆相関の関係にないことが分かった。

また、同様の結果が固体老化の過程でも認められ、p16<sup>INK4a</sup> と Bmi-1 の関係は組織、及び受けたストレスの種類に応じて大きく異なることが強く示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

Fernandez-Marcos, P.J., Pantoja, C.,  
Gonzalez-Rodriguez, A., Martin, N., Flores, J.M.,  
Valverde, A.M., Hara, E. & Serrano, M.

Normal proliferation and tumorigenesis but  
impaired pancreatic function in mice lacking the  
cell cycle regulator sei1.

**PLoS One.** 18: e8744 (2010).

Yamakoshi, K., Takahashi, A., Hirota, F., Nakayama,  
R., Ishimaru, N., Kubo, Y., Mann, D.J., Ohmura, M.,  
Hirao, A., Saya, H., Arase, S., Hayashi, Y., Naka,  
K., Matsumoto, M., Ohtani, N. & Hara, E.

Real-time in vivo imaging of p16<sup>Ink4a</sup> reveals  
cross-talk with p53.

**J. Cell Biol.** 186, 393-407 (2009)

[学会発表] (計 2 件)

Yamakoshi, K., Takahashi, A., Ohtani, N., &  
Hara, E. :

Real-time in vivo imaging of p16<sup>Ink4a</sup> expression  
unveils a cross-talk between p53 and p16<sup>Ink4a</sup>

The Salk Institute Meeting /Mechanisms &  
Models of Cancer (La Jolla, U.S.A.)

2009年8月12-16日

Hara, E. :

Real-time in vivo imaging of p16<sup>Ink4a</sup> reveals  
cross-talk with p53.

IMCB symposium on cell cycle regulation and  
tumorigenesis. (Singapore, Singapore)

2009年9月7-8日

[図書] (計 1 件)

高橋暁子、原 英二

細胞周期アッセイ法

**がん分子標的治療研究マニュアル**

(鶴尾 隆/曾根三郎編) 金芳堂 (2009)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

無し

6. 研究組織

(1) 研究代表者

財団法人癌研究会癌研究所 原 英二  
部長

(2) 研究分担者

財団法人癌研究会癌研究所 大谷直子  
主任研究員

財団法人癌研究会癌研究所 高橋暁子  
研究員

財団法人癌研究会癌研究所 山越貴水  
嘱託研究員

財団法人癌研究会癌研究所 吉本 真  
嘱託研究員

財団法人癌研究会癌研究所 杉田千鶴  
嘱託研究助手

財団法人癌研究会癌研究所 今井良紀  
大学院生

財団法人癌研究会癌研究所 田島丈子  
大学院生

(3) 本研究所担当者

遺伝子・染色体構築 平尾 敦 教授