

金沢大学がん研究所共同研究成果報告書

平成21年4月20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： 2008年11月1日～2009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 原 英二

研究成果の概要：

マウスの生体内において Bmi-1 遺伝子と p16^{INK4a} 遺伝子の発現をリアルタイムに可視化・計測出来るイメージングシステムの開発に成功した。このイメージングシステムを用いて Bmi-1 遺伝子の発現が皮膚化学発癌の初期（良性腫瘍）において著しく低下する一方で癌抑制遺伝子である p16^{INK4a} 遺伝子の発現が顕著に上昇することを見出した。この結果は少なくとも皮膚化学発癌の過程において Bmi-1 遺伝子の発現低下が良性腫瘍から悪性腫瘍への形質転換を防ぐ働きに関与している可能性を強く示唆している。

研究分野：

キーワード：

1. 研究開始当初の背景

p16^{INK4a} 遺伝子は重要な癌抑制遺伝子として知られているがその生体内での発現調節機構は未だ不明なままである。これまで主に培養細胞を用いた研究からポリコム・グループ転写因子の一つであり幹細胞性の維持に関与している Bmi-1 が p16^{INK4a} 遺伝子の発現調節に重要な働きをしていることが示唆されてきた。しかし、Bmi-1 ノックアウトマウスは生後まもなく死亡するため、発癌や個体老化の過程で Bmi-1 がどのように p16^{INK4a} 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。

2. 研究の目的

分子イメージングの技術を使い Bmi-1 遺伝子と p16^{INK4a} 遺伝子発現の体内動態を解析することで Bmi-1 による p16^{INK4a} 遺伝子発現調節機構及びその生体内での役割を明らかにすることを目的としている。

3. 研究の方法

完全長の Bmi-1 遺伝子及び周辺の転写調節領域を十分な長さ持つマウスの染色体断片が組み込まれた Bacterial Artificial Chromosome (BAC) クローンを利用し、Bmi-1 とルシフェラーゼとの融合蛋白を発現する組み換え染色体断片を作製する。この染色体断片を組み込んだトランスジェニックマウスを作成し、内在性の Bmi-1 遺伝子の発現をルシフェラーゼ活性として可視化できることを確認する。この Bmi-1 発現可視化マウスと既に作成済みである p16^{INK4a} 発現可視化マウスとを用いて発癌や個体老化の過程で Bmi-1 及び p16^{INK4a} の発現をイメージングし、それら遺伝子の発現動態を比較検討する。

4. 研究成果

(1) 様々な解析から作成したトランスジェニックマウス (Bmi-1 レポーターマウス) が発する発光シグナルが内在性 Bmi-1 遺伝子の発現をうまく反映していることが確認された。このため、このシステムを用いることで、これまで困難であった Bmi-1 の生体内での機能明らかに出来る可能性が示唆された。

(2) DMBA/TPA を用いた化学皮膚発癌の過程でパピローマの発生とともに、Bmi-1 遺伝子の発現が低下する一方で、p16^{INK4a} 遺伝子の発現が上昇した。この結果からパピローマの発生過程で Bmi-1 の発現低下が p16^{INK4a} 遺伝子の発現誘導に関与している可能性が示唆された。

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)

1) Ohtani, N., Mann, D.J. & Hara E.

Cellular senescence: its role in tumor suppression and aging. **Cancer Sci.** 100: 792-797 (2009)

2) Inomata, K., Aoto, T., Masunaga, T., Tanimura, S., Binh, N.T., Wakayama, T., Hara, E., Iseki, S., Shimizu, H. & Nishimura, E.K.

Genotoxic stress abrogates renewal of melanocyte stem cells by triggering their differentiation. **Cell in press** (2009)

[学会発表] (計 2 件)

1) Ohtani, N., Yamakoshi, K., Takahashi, A. & Hara, E. Visualizing the dynamics of oncogenic stress response in living mice.

AACR Conference on Mouse model of Cancer (San Francisco, U.S.A.) January 12-15, 2009

2) Yamakoshi, K., Takahashi, A., Ohtani, N. & Hara, E. Real-time imaging of p16^{INK4a}

expression visualizes the dynamics of senescence signalling in living animals.

日本分子生物学会 (神戸) 2008 年 12 月 9 日～12 日

[図書] (計 0 件)

[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

原 英二 (財団法人癌研究会癌研究所・部長)

(2) 研究分担者

大谷直子 (財団法人癌研究会癌研究所・主任研究員)

高橋暁子 (財団法人癌研究会癌研究所・研究員)

山越貴水 (財団法人癌研究会癌研究所・嘱託研究員)

(3) 本研究所担当者

平尾 敦 教授