

金沢大学がん研究所共同研究成果報告書

平成23年4月11日提出

対象研究テーマ：がんの発症・悪性化に関わる新しいがん関連遺伝子の単離

研究期間：2010年4月8日～2011年3月31日

研究題目：ウイルス挿入変異によって同定されたがん関連遺伝子 *Jmjd5* の血液・血管の発生における機能解析

研究代表者：東京都臨床医学総合研究所 副参事研究員 原 孝彦

研究成果の概要：

リンパ腫瘍のがん関連遺伝子として同定された *Jmjd5* の正常細胞での機能を解析するために、*Jmjd5* の遺伝子改変マウスを用いて研究を行った。*Jmjd5* null マウスでは、胎生 9.5-10.5 日において、成長阻害とともに、卵黄囊の血管新生の異常が認められた。また、卵黄囊、および AGM 領域(Aorta-Gonad-Mesonephros 領域)での造血活性の低下が認められたことから、*Jmjd5* が血液・血管内皮細胞の発生に重要な働きを持つことが明らかとなった。さらに詳細な解析を進めるため、血液・血管内皮細胞特異的 *Jmjd5* 欠損マウス (Tie2-Cre; *Jmjd5*^{lox/lox}) の作製に取り組み、これを完了した。

研究分野：分子生物学

キーワード：*Jmjd5*, 造血幹細胞, 血管内皮細胞, 発生

1. 研究開始当初の背景

がん発症・悪性化の分子メカニズムを解析するためには、その原因となる遺伝子を同定することが重要である。レトロウイルス感染発がんモデルマウスでは、ウイルスがゲノムへ挿入することで、挿入部位の遺伝子変異や周辺遺伝子の発現異常を引き起こし、がんを発症する。そのため、ウイルス挿入部位を解析することで、原因遺伝子を容易に同定することができる。ウイルス挿入変異の標的として高頻度に同定される宿主因子として、これまでに、ヒストンのメチル化を制御する酵素の多くが同定されてきた。そのうち、*Jmjd5* はヒストン脱メチル化酵素ファミリーの一つである。*Jmjd5* をはじめとするヒストン脱メチル化酵素の正常細胞での機能は未だ不明な点も多いため、その解析を行うことは極めて重要である。

2. 研究の目的

白血病・リンパ腫などのがん発生に関わる遺伝子として、AML/RUNX1,SCL/Tal1, Lmo2 などの多くの遺伝子が報告されている。これらの遺伝子は、がんの原因遺伝子となるとともに、血液・血管内皮細胞の分化、発生において、重要な役割を担うことが明らかにされてきた。リンパ腫から同定されたがん関連遺伝子 *Jmjd5* においても、同様の機能を持つ可能性がある。本研究は *Jmjd5* の *in vivo* での血液・血管内皮細胞発生への関与を明らかにす

ることを目的とする。

3. 研究の方法

Jmjd5 の exon4 を欠失させた *Jmjd5* null マウスは、著しい成長阻害を伴い、胎生 11 日目前後に胚性致死となる。このマウスを胎生 9.5-10.5 日で回収し、卵黄囊や AGM 領域(Aorta-Gonad-Mesonephros 領域)での造血活性をコロニーアッセイやフローサイトメトリーによって検討した。また、*Jmjd5* コンディショナル KO マウスを用いて、血液・血管内皮細胞特異的 *Jmjd5* 欠損マウス (Tie2-Cre; *Jmjd5*^{lox/lox}) の作製を試みた。

4. 研究成果

Jmjd5 の exon4 を欠失させた *Jmjd5* null マウスの表現型解析の結果、この欠損マウスは出産されることが無く、胎生 11 日目前後に胚性致死となることが観察された。また、*Jmjd5* null マウスは著しい成長阻害を伴っていた。成長阻害を細胞レベルで解析するために、*Jmjd5* null マウスから、Mouse embryonic fibroblast (MEF)を樹立することを試みたが、樹立することができなかった。しかし、*Jmjd5* 遺伝子座に Neo カセットを持つ *Jmjd5* Neo/Neo マウスは、胚性致死となるものの、それ由来の MEF を樹立することができた。この *Jmjd5* hypomorphic 変異 MEF を用いて解析したところ、細胞増殖能の著しい低下が観察された。

次に、胎生 9.5-10.5 日の *Jmjd5* null マウスを観察したところ、成長阻害と同時に、卵黄膜上の血管網の消失が見られ、血管新生が著しく抑制されていることがわかった。この卵黄嚢から血液細胞を採取し、その造血活性を検討したところ、赤血球コロニーをはじめとする、造血前駆細胞の減少が認められた。また、成体型造血幹細胞が発生することが知られている AGM 領域のコロニーアッセイの結果でも、造血前駆細胞の減少が認められた。

すなわち、*Jmjd5* は血液細胞・血管内皮細胞の共通前駆細胞であるヘマンジオブラストを経由する血液・血管内皮細胞の発生に重要な働きを持つことが示唆された。そのため次に、*Jmjd5* コンディショナル KO マウスと *Tie2-Cre* マウスを掛け合わせ、*Jmjd5* 遺伝子を血液・血管内皮細胞特異的に欠損させる実験を計画した。本年度は、血液・血管内皮細胞特異的 *Jmjd5* 欠損マウス (*Tie2-Cre; Jmjd5^{fllox/fllox}*) の作製が完了したので、今後さらに詳細な解析を行う予定である。

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 3 件)

Tanegashima K, Suzuki K, Nakayama Y, and Hara T. Antibody-assisted enhancement of biological activities of CXCL14 in human monocytic leukemia-derived THP-1 cells and high fat diet-induced obese mice. *Exp. Cell Res.*, **316**, 1263-1270, 2010.

Ohbayashi K, Tanaka K, Kitajima K, Tamura K, and Hara, T. A novel role for the intraflagellar transport protein CMG-1 in regulating the transcription of *cyclin-D2*, *E-cadherin*, and integrin- α family genes in mouse spermatocyte-derived cells. *Genes to Cells.*, **15**, 699-710, 2010.

Kitajima K, Minehata K, Sakimura K, Nakano T, and Hara T. *In vitro* generation of HSC-like cells from murine ESCs/iPSCs by enforced expression of LIM-homeobox transcription factor *Lhx2*. *Blood*, **117**: 3748-3758 2011.

[学会発表] (計 4 件)

Kitajima K, Zheng J, Minehata K, Nakano T, and Hara T. Long-term repopulation of adult hematopoiesis by in vitro differentiated blood cells from ESCs/iPSCs by LIM homeobox transcription factor, *Lhx2*. 第 8 回幹細胞シンポジウム, 2010.5.13-15, 淡路島.

Ishimura A, Minehata K, Terashima M, Hara T

and Suzuki T. The role of *Jmjd5*, a candidate cancer gene identified by retroviral insertional mutagenesis: Analysis of *Jmjd5*-deficient mice. The Joint Symposium of the 5th International Symposium of Institutes Network and the International Symposium Commemorating Inauguration of Kanazawa University Cancer Research Institute. 2010. 6. 金沢.

Ishimura A, Minehata K, Terashima M, Hara T and 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 2010. 9. 大阪.

Ishimura A, Minehata K, Terashima M, Hara T and Suzuki T. The physiological function of *Jmjd5*, a candidate cancer-related gene identified by retroviral insertional mutagenesis. 平成 22 年度「個体レベルでのがん研究支援活動」ワークショップ 2011. 2. 大津.

[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]

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

東京都臨床医学総合研究所・副参事研究員
原 孝彦

(2)研究分担者

東京都臨床医学総合研究所・主席研究員
峯畑健一

(3)本研究所担当者

機能ゲノミクス・教授 鈴木健之