

研究区分	一般共同研究	
研究課題	DNA の積極的脱メチル化に関わる酵素群の幹細胞およびがん細胞における役割の解析	
研究代表者	所属・職名・氏名	金沢大学医薬保健研究域医学系・准教授・小出寛
受入担当教員	職名・氏名	教授・鈴木健之
【研究目的】	<p>エピジェネティクス修飾のひとつであるゲノム DNA のメチル化の制御は、遺伝子発現の重要な調節機構である。本研究では、胚性幹細胞 (ES 細胞) とがん細胞株を対象として、DNA の脱メチル化経路に関連する酵素群の発現様式と発現調節機構を解析し、ES 細胞の未分化性維持や多分化能、がん細胞の増殖や悪性化における DNA 脱メチル化関連酵素群の役割を明らかにすることを目的とする。両細胞を比較しながら解析することで、がん細胞の幹細胞的性質と DNA 脱メチル化経路との関係性を見だし、がん幹細胞を標的とする新しいエピジェネティック医薬の開発の可能性を検討することも目標のひとつとする。</p>	
【研究内容・成果】	<p>未分化胚性幹細胞 (ES 細胞) および特定の細胞系列に分化誘導した ES 細胞、マウス胚線維芽細胞 (MEF)、様々ながん細胞株を対象として、DNA 脱メチル化に関連した酵素群 (ヒドロキシラーゼ、デアミナーゼ、グリコシラーゼ) の遺伝子発現を定量 RT-PCR 法で測定した。特徴的な発現変化を示した酵素については、shRNA によるノックダウンなどを用いて、細胞の増殖、未分化性、運動能などの表現型に与える影響を調べることを開始した。また、TET1 ヒドロキシラーゼ遺伝子の発現制御に関して、その遺伝子発現を制御する DNA 領域のメチル化状態との関連を解析することにした。</p> <p>DNA の積極的脱メチル化経路の第一段階を担う TET ファミリー酵素 (TET1, TET2, TET3) のうち、TET1 の発現は、未分化 ES 細胞で極めて高く、神経系や筋肉への分化誘導を行うことで、その発現が著しく低下することが確認された。また、TET1 の発現状態は、他のいくつかの細胞においても、細胞の増殖状態等に応じて、ダイナミックに変化することがわかった。これら TET ファミリー酵素のヒトのがんでの重要性を確認するために、ヒト大腸がん細胞株由来の cDNA を用いて定量 PCR を行い、その発現量を調べたところ、TET2 と TET3 は細胞株間での発現量に著明な変化はなかったが、TET1 の発現は、細胞株間で高発現と極端な低発現という二極化の傾向を示した。大変興味深いことに、TET1 低発現を示したがん細胞株は、ゲノム DNA 中の CpG アイランドの高頻度なメチル化をもつ CpG アイランドメチル化形質 (CIMP) を示す傾向があることを見いだした。CIMP 表現型は、特にがんでは、がん抑制遺伝子の DNA メチル化による発現抑制と関わっていることが知られている。また、CIMP は、がん患者の予後と深く関係していることが報告されているが、CIMP が誘導され成立するメカニズムは、ほとんど解明されていない。そこで、CIMP 表現型や TET1 遺伝子の発現抑制を導く分子メカニズムについて、さらに解析を進めていくこととした。</p>	
【成果等】	<p>【主な論文発表】</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Tada Y, Yamaguchi Y, Kinjo T, Song X, Akagi T, Takamura H, Ohta T, Yokota T, Koide H. The stem cell transcription factor ZFP57 induces IGF2 expression to promote anchorage-independent growth in cancer cells. <i>Oncogene</i>. 2014 in press 2. Fujii Y, Kakegawa M, Koide H, Akagi T, Yokota T. Zfp296 is a novel Klf4-interacting protein and functions as a negative regulator. <i>Biochem Biophys Res Commun</i>. 2013 Nov 15;441(2):411-7. 3. Uranishi K, Akagi T, Sun C, Koide H, Yokota T. Dax1 associates with Esrrb and regulates its function in embryonic stem cells. <i>Mol Cell Biol</i>. 2013 May;33(10):2056-66. <p>【学会発表】</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Yuhki Tada, Yukari Yamaguchi, Hiroyuki Takamura, Tadayuki Akagi, Tetsuo Ohta, Takashi Yokota, Hiroshi Koide : Identification of an ES-specific gene Zfp57 as a novel oncogene ; 第 11 回幹細胞シンポジウム 2013 年 5 月 東京 2. 田 野 祐 喜、山 口 紫、赤 木 紀 之、高 村 博 之、太 田 哲 生、横 田 崇、小 出 寛 : 癌 細 胞 の 増 殖 に お け る ES 細 胞 特 異 的 分 子 Zfp57 の 機 能 解 析 ; 日 本 生 化 学 会 北 陸 支 部 第 31 回 大 会 2013 年 5 月 金 沢 3. 田 野 祐 喜、山 口 紫、赤 木 紀 之、高 村 博 之、太 田 哲 生、横 田 崇、小 出 寛 : ES 細 胞 特 異 的 遺 伝 子 Zfp57 は HT1080 細 胞 に お い て 癌 遺 伝 子 と し て 機 能 す る ; 第 36 回 日 本 分 子 生 物 学 会 2013 年 12 月 神 戸 <p>【その他特筆事項】 なし</p>	