

癌における転写ネットワーク変異の体系的解明

Systemic Analysis of transcriptional network in cancer

油谷 浩幸 (ABURATANI HIROYUKI)

東京大学・先端科学技術研究センター・教授



研究の概要

がんゲノムに生じたコピー数異常、DNAメチル化異常について先進的ゲノム解析技術を利用して系統的に測定し、さらに転写因子標的および共役因子の同定、ヒストン修飾およびインスレーターのマッピングを含めたエピゲノム解析手法を樹立した。これらの情報の統合によってがんにおける転写ネットワーク変異の解明が期待される。

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ゲノム科学・応用ゲノム科学

キーワード：染色体変異、DNAメチル化、エピゲノム解析、転写ネットワーク

1. 研究開始当初の背景

がんの初期病変から進行病変についてこれらの解析を体系的に行って遺伝子変異の蓄積の過程を明らかにすることによりがん化において重要なシグナルネットワークの解明が期待される。少量の臨床検体からも網羅的に遺伝子レベルの解析を行うことにより、臨床ゲノム学 (Clinical Genomics) の実現を目指す。

2. 研究の目的

遺伝子発現プロファイル、メチル化、染色体増幅および欠失についてそれぞれを個別に解析するのではなく、これらのデータを統合することにより、がん化のプロセス解明を目指す。そのための包括的解析技術を開発する。

- 1) がんにおける転写調節異常の体系的解明
- 2) 転写ネットワーク変異の同定アルゴリズムの開発

3. 研究の方法

- 1) SNP アレイを用いたアレール別コピー数解析
- 2) 網羅的 DNA メチル化検出
 - 2-1 タイリングアレイ及び高速シーケンサーを用いたメチル化 CpG の検出
 - 2-2 質量分析による定量的メチル化解析
- 3) ChIP-chip/seq によるエピゲノム解析
 - 3-1 転写因子結合部位の検出
 - 3-2 ヒストン修飾

4. 研究の主な成果

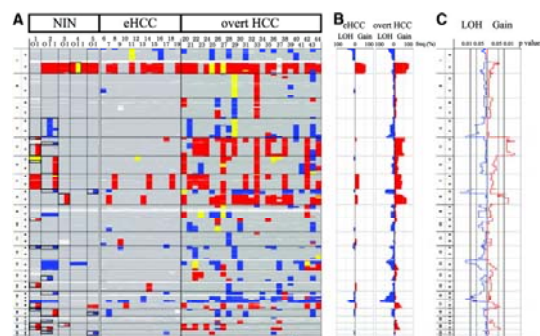
本研究課題実施中にゲノム関連解析技術は大きく進歩したことから、データの統合的解析を敢えて急がず、遺伝子発現、染色体及びエピゲノム等の個々の情報を如何に包括的に取得する技術開発に専ら注力した。

1) ゲノムコピー数解析の重要性

SNP アレイを用いたコピー数解析 SNP 情報を利用してアレール別にコピー数を測定するアルゴリズム Genome Imbalance Map を開発した。本発明が契機となり国際構造多型コンソーシウムを設立し、ヒトゲノムコピー数多型の研究へと展開した。

ゲノムコピー数と遺伝子発現 染色体変異領域に存在する多数の遺伝子の発現レベルに影響を及ぼすものの、その殆どは染色体コピー数の変化により生じた二次的に変動しているものが多い。

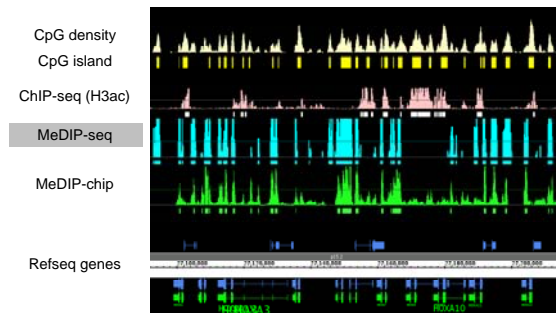
アレール別コピー数解析による染色体異常の検出 1コピー分に相当するシグナルレベルの推定が可能なることから臨床材料を用いてホモ欠失領域の検出を高感度に行うことができた。染色体 8p23 に位置する CSMD1 遺伝子は肝細胞癌に



において頻繁に染色体欠失が認められる一方で、プロモータ領域の DNA メチル化によっても不活性化がもたらされることを報告した。

2) 網羅的 DNA メチル化解析

タイリングアレイによるメチル化検出 メチル化シトシンに対する抗体を用いてメチル化された DNA 断片を濃縮し (MeDIP)、タイリングアレイにより検出する MeDIP-chip 法を樹立した。さらに高速シーケンサーの利用による異常メチル化領域の検出を行った (MeDIP-seq 法)。



質量分析によるメチル化の検出 メチル化領域の定量的検証には質量分析装置 MassArray を用いて行った。標識を必要としないので迅速かつ定量的に多数検体を解析できる利点がある。大腸癌はエピジェノタイプにより3群に分けられた。

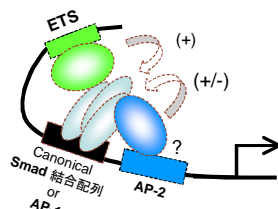
3) 転写ネットワークの解析

増殖・分化シグナルに関与する転写因子のネットワーク 細胞分化あるいは発癌過程にとって重要と考えられる因子として、p53, smad2/3, β -catenin/TCF4、アンドロゲン受容体、GATA1/2 についての解析を進めた。TGF β 処理することにより Smad2/3 が結合する部位を ChIP-chip 解析により同定し、近傍配列のモチーフ解析から AP-2 と協調的に作用していることを見いだした。

転写因子の標的

配列 転写開始点直上の所謂プロモーター領域に結合する例は必ずしも多くなく、遺伝子間あるいは遺伝子内のイントロンに結合するような例も多く認められ、ヒストン修飾データと統合することによって結合の意味づけを行った。p53 結合部位にヒストン H4 アセチル化が誘導されることを認めた。また新規標的遺伝子として、P53 標的である PHLDA3, AR 標的として APP を同定した。

染色体高次構造 コヒーシンと CTCF の共局在を見いだした。



5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

CNV マップの作製は SNP とは異なる多様性がヒトゲノムに広汎に存在することを示したもので極めてインパクトが高い。

転写制御研究とエピジェネティクスとを融合することの重要性を提唱できたことが大きい。CTCF とコヒーシンの関係をはじめ、遺伝子転写制御と転写因子結合との関係 (プロモーターとエンハンサー)、分化によるヒストン修飾の成熟化、CpG アイランド領域の DNA メチル化の変動など、これまで観察し得なかった現象をゲノムワイドに測定可能になった。

DNA メチル化の網羅的測定にいち早く取り組み、エピゲノミクスの重要性を提唱した。米国では 2008 年よりエピゲノム計画が立ち上がっており、我が国でも早急に立ち上げる必要があろう。

6. 主な発表論文

- 1) Kawase T, Ohki R, Shibata T, Tsutsumi S, Kamimura N, Inazawa J, Ohta T, Ichikawa H, **Aburatani H**, Tashiro F, Taya Y. PH domain-only protein PHLDA3 is a p53-regulated repressor of Akt. *Cell*. 136(3):535-50. 2009.
- 2) Midorikawa Y, Yamamoto S, Tsuji S, Kamimura N, Ishikawa S, Igarashi H, Makuuchi M, Kokudo N, Sugimura H, **Aburatani H**. Allelic imbalances and homozygous deletion on 8p23.2 for stepwise progression of hepatocarcinogenesis. *Hepatology*. 49(2):513-22. 2009.
- 3) Koinuma D, Tsutsumi S, Kamimura N, Taniguchi H, Miyazawa K, Sunamura M, Imamura T, Miyazono K, **Aburatani H**. ChIP-chip analysis of Smad2/3 binding sites reveals roles of ETS1 and TFAP2A in TGF- β signaling. *Mol Cell Biol*. 29(1):172-86. 2009
- 4) Wendt KS, Yoshida K, Itoh T, Bando M, Koch B, Schirghuber E, Tsutsumi S, Nagae G, Ishihara K, Mishiro T, Yahata K, Imamoto F, **Aburatani H**, Nakao M, Imamoto N, Maeshima K, Shirahige K, Peters JM. Cohesin mediates transcriptional insulation by CCCTC-binding factor. *Nature*. 451(7180):796-801. 2008
- 5) Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, **Aburatani H**, Lee C, Jones KW, Scherer SW, Hurles ME, et al. Global variation in copy number in the human genome. *Nature*. 444(7118):444-454. 2006

ホームページ等

<http://www.genome.rcast.u-tokyo.ac.jp/>