

癌における転写制御変異の統合的解析

Integrated analysis of transcriptional regulation 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

癌細胞における増殖シグナルに関わる転写因子の標的遺伝子群の同定、発生・分化制御に関わるエピジェネティック制御の解析を通して、癌における転写制御変異の統合的解析を進める。そのためにデータ産生と並行して新たなゲノム解析技術の積極的な導入、新規データ解析手法の開発を通して「Genetics」と「Genomics」の統合へと展開する。

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：機能ゲノミクス、ゲノム、エピゲノム、がん

1. 研究開始当初の背景

細胞が癌化するプロセスにおいて種々の遺伝子あるいはゲノム変異が蓄積し、転写ネットワークの制御に破綻を生じる。

多重な転写制御系を理解するためには、それぞれの転写因子およびその複合体のゲノム上での局在、クロマチン構造の変化、転写活性の多様性を測定し、転写応答にどのように反映されるかを解析する必要がある。

2. 研究の目的

- 1) 染色体機能解析
1. シストローム解析
2. エピゲノム解析
3. 転写産物の同定 (トランスクリプトーム)
- 2) ゲノム多様性に基づく転写制御領域同定
- 3) 転写制御ネットワークの統合解析

3. 研究の方法・

- 1) 染色体機能解析
1. シストローム解析
 β -catenin, TP53, smad, androgen受容体などの転写因子の *in vivo* 標的遺伝子群をChIP-seq解析により探索し、発現プロファイル情報と統合して、癌細胞における転写制御変異の同定を進める。
2. がんエピゲノム解析
肝細胞癌、胃癌、肺癌、口腔癌について高密度ビーズアレイを用いてメチル化解析を行う。
3. トランスクリプトーム解析

RNA-seqによりRNA発現解析および非コードRNAを含む新規転写産物を同定する。

2) ゲノム多様性に基づく制御領域解析
アレル別遺伝子発現量の違いに着目して、2本の染色体間の転写制御の多様性を同定する。FAIRE (Formaldehyde-Assisted Isolation of Regulatory Elements) 解析を用いてオープンクロマチン配列の同定を試み、結合するタンパク及び結合配列の多様性に関して検討する。

3) 配列変異解析技術の開発

膵臓がん、肝細胞がんについて全エクソ解析 (exome) を行う。腫瘍含有率を考慮した変異検出プログラムを作成する。トランスクリプトーム解析は変異の検出に加えて、転座、逆位による融合遺伝子の検出を行う。

4. これまでの成果

1) 染色体機能解析

エピゲノム解析 (DNAメチル化、ヒストン修飾) 肝細胞癌、大腸癌、子宮体癌、胃癌、口腔癌についてMeDIP (メチル化DNA免疫沈降) およびInfinium法によるDNAメチル化プロファイル解析を行った。大腸癌は従来のCIMPに加えて中間的にメチル化を伴うグループを含めて3群に分かれることを認めた。肝細胞癌はメチル化プロファイルでは4群に層別化された。癌で異常メチル化を生じる領域はES細胞でPolycomb複合体が結合し、bivalentなドメインを形成している場合が多く、癌細胞の由来臓器によりメチル化の

標的遺伝子が異なることが明らかとなった。
クロマチン相互作用解析 解析技術としてChIA-PET法によるクロマチン相互作用の同定、chromatin accessibilityを反映するFAIRE解析を立ち上げた。

分化に伴うエピゲノム標識の変動 ヒト成人及び胎児組織のなかで組織特異的に低メチル化を示すプロモーターはGC含量が低く組織特異的な発現と相関した。一方、ES細胞では非CpGのメチル化も含めて高メチル化状態であった。細胞分化に伴い低メチル化がプロモーター領域から次第に拡大する傾向が認められた。

2) ゲノム多様性に基づく転写制御領域の同定

SNP検出アレイを用いてアレル別遺伝子発現を測定し、新たなimprinting領域を同定できた。転写因子やRNAポリメラーゼの結合、ヒストン修飾にもアレル間の多様性が認められ、多型と疾患の関連に重要な情報になると期待される。

3) 転写制御ネットワークの統合解析

転写ネットワーク (ChIP-seq) とトランスクリプトーム解析 TP53、 β -catenin/TCF4、smad2/3およびsmad4、HNF4 α 、HIF1 α 、AR、STAT6など増殖、分化に関わる転写因子の標的部位をChIP-seq法により同定した。エンハンサーとして働くTP53結合がかなり多く、転写開始点との間でクロマチンループを形成することをChIA-PET法によって検出した。 β -cateninの標的となり、大腸癌で高発現する非コードRNA遺伝子を複数同定した。

癌の変異解析 (エクソーム解析)、コピー数解析 本邦初のがんゲノムの全配列解読を国立がん研究センターの柴田らとの共同で行い、63のアミノ酸変化を伴う遺伝子変異を同定できたほか、逆位による融合遺伝子の存在も同定した。肝細胞癌38例についてexon capture法によってエクソン領域のみを約300Xで解析した。 β -catenin、TP53は比較的高頻度に変異が認められた。

5. 今後の計画

引き続き肝細胞癌を主たる対象としゲノム・エピゲノムの統合的解析を行い、発癌に関わる主要なシグナル経路の転写因子の標的遺伝子群の同定、エピジェネティックな制御、遺伝子変異を統合解析することにより個々のパスウェイの活性化、クロストークの解明を目指す。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

1. Totoki Y, Tatsuno K, Yamamoto S, Arai Y, Hosoda F, Ishikawa S, Tsutsumi S, Sonoda K, Totsuka H, Shirakihara T, Sakamoto H, Wang L, Ojima H, Shimada K, Kosuge T, Okusaka T, Kato K, Kusuda J, Yoshida T, Aburatani H & Shibata T. High-resolution characterization of a

hepatocellular carcinoma genome.

Nature genetics accepted.

2. Nagae G, Isagawa T, Shiraki N, Fujita T, Yamamoto S, Tsutsumi S, Nonaka A, Yoshiba S, Matsusaka K, Midorikawa Y, Ishikawa S, Soejima H, Fukayama M, Suemori H, Nakatsuji N, Kume S, Aburatani H. Tissue-specific demethylation in CpG-poor promoters during cellular differentiation. **Hum Mol Genetics** 2011 accepted
3. International Cancer Genome Consortium. International network of cancer genome projects. **Nature**. 464(7291):993-8. 2010
4. Murayama-Hosokawa S, Oda K, Nakagawa S, Ishikawa S, Yamamoto S, Shoji K, Ikeda Y, Uehara Y, Fukayama M, McCormick F, Yano T, Taketani Y, Aburatani H. Genome-wide single nucleotide polymorphism arrays in endometrial carcinomas associate extensive chromosomal instability with poor prognosis and unveil frequent chromosomal imbalances involved in PI3-kinase pathway. **Oncogene** 29(13):1897-908. 2010
5. 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.
6. 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.
7. 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
8. Hiratsuka S, Watanabe A, Sakurai Y, Akashi-Takamura S, Ishibashi S, Miyake K, Shibuya M, Akira S, Aburatani H, Maru Y. The S100A8-serum amyloid A3-TLR4 paracrine cascade establishes a pre-metastatic phase. **Nat Cell Biol**. 10(11):1349-55. 2008

ホームページ等

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