

炎症からの消化器発癌におけるゲノム・エピゲノム異常の 統合的解析と生成機構の解明

Global analysis of genetic and epigenetic alterations during
inflammation-associated gastrointestinal cancer development,
and elucidation of its mechanism

千葉 勉 (CHIBA TSUTOMU)

京都大学・医学研究科・教授



研究の概要

消化器癌の発症には感染などによる炎症の持続が重要な役割をはたしている。一方、癌は様々な遺伝子異常の蓄積により生じることが知られている。本研究は、炎症を背景とした消化器発癌過程におけるゲノム/エピゲノム異常の生成・蓄積に遺伝子編集酵素 Activation-induced cytidine deaminase (AID) が果たす役割を明らかにし、炎症を背景とした消化器癌の発症過程において多段階的に生じるゲノム/エピゲノム異常を統合的に理解することを目指している。

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：上部消化管学（食道、胃、十二指腸）、下部消化管学（小腸、大腸）、肝臓学

1. 研究開始当初の背景

消化器癌の発症にはピロリ菌や肝炎ウイルスなどの感染とその結果、惹起される炎症の持続が重要な役割をはたしている。一方、発癌過程では癌関連遺伝子に変異や欠失などのゲノム異常が生成・蓄積することが知られている。この、癌細胞で認められる多様なゲノム異常は、発癌前の早期から慢性炎症や感染症を伴った臓器で潜在的に蓄積していることが明らかになりつつあり、感染・炎症からの発癌過程における遺伝子異常の生成機序が注目されている。

申請者らは、遺伝子編集酵素 Activation induced cytidine deaminase (AID) がヒト DNA 配列に遺伝子変異や組み換えを導入する作用をもつことに着目し、これまでに、(1) 消化器系臓器に AID が持続発現することが、胃癌や肝癌などの消化器発癌につながることで、(2) ヒト臨床検体では、胃炎、肝炎、大腸炎、胆管炎、食道炎など慢性炎症を伴った上皮細胞では AID 発現を認めるとともに、*p53* などの発癌関連遺伝子に変異が誘導されていること、(3) 炎症性サイトカイン刺激やピロリ菌、肝炎ウイルス感染などが誘因となり、消化器系上皮細胞に AID 発現が誘導されることを明らかにしてきた。以上の成績は、消化器系臓器の炎症を背景とした発癌過程において、遺伝子編集酵素 AID の発現がゲノム異常を導入して発癌に関与している可能性

を強く示唆するものである。

2. 研究の目的

炎症からの発癌過程で生じるゲノム、エピゲノム異常の全体像やその分子機構については十分明らかではない。本研究課題では、(1) 炎症を背景とした消化器癌の発症過程において多段階的に生じる、ゲノム/エピゲノム異常を経時的かつ統合的に解析し、(2) ゲノム/エピゲノム異常生成の分子機序を AID に焦点を当てて明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では、消化器系上皮細胞や組織幹・前駆細胞に AID を持続発現させたマウス組織、慢性肝炎・胃炎・大腸炎などのヒト臨床検体組織、を解析対象とし、次世代シーケンサー技術を駆使することにより、AID の作用により生じるゲノム・エピゲノム異常の全体像の解明を目指す。ゲノム異常の解析には、ヒト・マウスの全 exon 領域をカバーする whole exome キャプチャーシステムを用いて、全エクソン配列中のゲノム変化を次世代シーケンサーにより同定・解析する。エピゲノム解析は、解析対象検体から全 DNA を抽出し、メチル化結合蛋白を用いてメチル化されている DNA 断片を結合させることにより、DNA メチル化を受けている遺伝子領域を特異的に抽出する。引き続き、次世代シーケンサーを

用いて包括的に塩基配列変化を解析しコントロールサンプルと比較することにより、AID の持続発現により生じたエピゲノム変化の全体像を検討する。

また、消化器系臓器の組織幹・前駆細胞をラベルしたモデルマウスに慢性炎症刺激を加え、経時的に各臓器の幹細胞マーカー陽性細胞を分離・精製し、組織幹細胞に誘導された AID 発現量変化と、幹・前駆細胞に生成・蓄積したゲノム変化の全体像を包括的にとらえることにより、炎症発癌過程において組織幹細胞にもたらされる遺伝子変化と、組織幹細胞が癌細胞の発生起源として果たす役割を検証する。

4. これまでの成果

C 型肝炎ウイルス (HCV) 感染による慢性肝炎/肝硬変を背景とした肝癌の発生過程におけるゲノム異常の全体像、*H. pylori* 感染による慢性胃炎を背景とした胃癌症例の胃粘膜に潜在的に蓄積している発癌関連遺伝子のゲノム変化を次世代シーケンサーを用いた whole exome sequencing により明らかにした。特に、HCV 感染による慢性肝炎患者を背景とした肝癌の発生過程では、レプチン受容体に高頻度にゲノム変化が惹起されていることをはじめて示すことにより、炎症、エネルギー代謝異常、発癌の 3 つの病態をつなぐ新しい分子相関を提唱することができた。

また、シーケンスキャプチャー技術をマウスゲノムに応用し、次世代シーケンサーを用いてマウスの全 exon 解析を実施することにより、肝発癌過程で AID により惹起されるゲノム異常の全体像を明らかにすることにより、AID のゲノム異常導入の標的遺伝子群の大部分が、ヒト癌組織で認められる変異獲得遺伝子であることを示すことができた。また、組織幹・前駆細胞への AID の持続発現によるゲノム・エピゲノム異常の生成～蓄積の結果、消化器癌の発生をみることをモデルマウスを用いて立証した。

5. 今後の計画

発癌過程では多くの遺伝子異常が生成・蓄積するが、その発生機構については不明であった。近年、ヒト自身の DNA や RNA に塩基変化を誘導する作用を有する遺伝子編集酵素の役割解明が進み、生体内に存在する内因性 mutagen として AID が、感染や炎症からの発癌過程におけるゲノム・エピゲノム異常の生成に重要な役割を果たしていることがわかってきた。本研究課題では、次世代シーケンサー技術を駆使することにより、本邦できわめて頻度の高い消化器系臓器における炎症～発癌過程で生じるゲノム・エピゲノム異常の相互関係の全体像を統合的に理解することを目指して展開していく。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)
1. Ikeda A, Shimizu T, Matsumoto Y, Fujii Y, Eso Y, Inuzuka T, Muzuguchi A, Shimizu K, Hatano E, Uemoto S, Chiba T, Marusawa H: Leptin receptor somatic mutations are frequent in HCV-infected cirrhotic liver and associated with hepatocellular carcinoma. **Gastroenterology** 146:222-232:2014.
 2. Kim SK, Nasu A, Komori J, Shimizu T, Matsumoto Y, Minaki Y, Kohno K, Shimizu K, Uemoto S, Chiba T, Marusawa H: A model of liver carcinogenesis originating from hepatic progenitor cells with accumulation of genetic alterations. **Int J Cancer** 134:1067-1076:2014.
 3. Nakanishi Y, Seno H, Fukuoka A, Ueo T, Yamaga Y, Maruno T, Nakanishi N, Kanda K, Komekado H, Kawada M, Isomura A, Kawada K, Sakai Y, Yanagita M, Kageyama R, Kawaguchi Y, Taketo MM, Yonehara S, Chiba T: Dclk1 distinguishes between tumor and normal stem cells in the intestine. **Nature Genet** 45:98-103:2013.
 4. Shiokawa M, Kodama Y, Yoshimura K, Kawanami C, Mimura J, Yamashita Y, Asada M, Kikuyama M, Okabe Y, Inokuma T, Ohana M, Kokuryu H, Takeda K, Tsuji Y, Minami R, Sakuma Y, Kuriyama K, Ota Y, Tanabe W, Maruno T, Kurita A, Sawai Y, Uza N, Watanabe T, Haga H, Chiba T: Risk of cancer in patients with autoimmune pancreatitis. **Am J Gastroenterol** 108:610-617:2013.
 5. Kanda K, Komekado H, Sawabu T, Ishizu S, Nakanishi U, Nakatsuji M, Akitake-Kawano R, Ohono M, Hiraoka Y, Kawada M, Kawada K, Sakai Y, Matsumoto K, Kunichika M, Kimura T, Seno H, Nishi E, Chiba T: Nardilysin and ADAM proteases promote gastric cancer cell growth by activating intrinsic cytokine signaling via enhanced ectodomain shedding of TNF α . **EMBO Mol Med** 4:396-411:2012.
 6. Okuyama S, Marusawa H, Matsumoto T, Ueda Y, Matsumoto Y, Endo Y, Takai A, Chiba T: Excessive activity of apolipoprotein B mRNA editing enzyme catalytic polypeptide 2 (APOBEC2) contributes to liver and lung tumorigenesis. **Int J Cancer** 130:1294-1301:2012.
 7. Takai A, Marusawa H, Minaki Y, Watanabe T, Nakase H, Kinoshita K, Tsujimoto G, Chiba T: Targeting activation-induced cytidine deaminase prevents colon cancer development despite persistent colonic inflammation. **Oncogene** 31:1733-1742:2012.
 8. Chiba T, Marusawa H, Ushijima T: Inflammation-associated cancer development in digestive organs: Mechanisms and roles for genetic and epigenetic modulation-. **Gastroenterology** 143:550-563:2012. (Review article)