

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成22年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	がん遺伝子産物 RAS による広範な染色体領域にわたる転写抑制機構の解明
研究機関・ 部局・職名	東北大学・大学院医学系研究科・教授
氏名	中山 啓子

1. 当該年度の研究目的

がん遺伝子産物 RAS による広範な染色体領域にわたる転写抑制機構を解明するために、これまでに私たちが主に解析を進めてきている *Fas* 遺伝子領域に注目してより詳細な解析を進める。

まず、転写抑制性に働くことが知られており、しばしば発がん状態で異常が報告されているゲノム DNA のメチル化に注目する。これまでも *Fas* 遺伝子の RAS による転写抑制にはゲノム DNA のメチル化が寄与していることが報告されている。そこで、私たちが発見した広範な転写抑制にもこれまでの報告と同様の機構が関与しているかを検証する。

また、私たちは、転写抑制が同時に広範な領域にわたって起こることに特に注目している。近年、転写の制御には核内の配置(位置)が重要な意味を持っていることが示唆されていることより、RAS によって、染色体全体またはその一部が核内の特定の位置(転写活性が低い位置)に移動することで広い領域にわたって転写が低下する可能性を想定している。そこで、間期 3D-FISH を行い *Fas* 遺伝子領域の核内の位置を特定し、RAS によってその位置がどのように変化するかを観察することで、広範囲な転写抑制が RAS による染色体の核内配置の変化によるものであるかどうかを検証する。

2. 研究の実施状況

がん原遺伝子 RAS は、非常に多くのがんでその変異が認められており、発がんやがんの進展に寄与していると考えられている。RAS は small G protein であり、増殖因子受容体からのシグナルを核内へ伝達するシグナル伝達分子であるが、そのシグナル経路は多様である。私たちはこのシグナル経路が活性化された結果として、多数のがん抑制遺伝子の転写が抑制されること、この抑制には単なるプロモーターの転写活性抑制に依ってはいないことを見いだした。

そこで本年度は、このような転写抑制にプロモーター領域の DNA のメチル化が関与しているかについて検討を行った。これまでゲノム DNA、特にプロモーター領域のメチル化は転写を負に制御することが知られている。そこで私たちは RAS が DNA メチル化酵素を活性化し、がん抑制遺伝子のプロモーター領域をメチル化することで、転写が抑制されるという仮説を立て検証を行った。まず、DNA メチル化酵素阻害薬である 5-Aza-C 処理を行ったところ、RAS による転写の抑制が解除された。そこで RAS によって転写が抑制されることが知られている *Fas* 遺伝子のプロモーター領域のメチル化量をメチル化 DNA 免疫沈降法によって定量的に解析を行った。その結果、少なくとも *Fas* 遺伝子のプロモーターのメチル化は RAS や 5-Aza-C 処理によって変化は無かった。この結果から私たちは、RAS による転写抑制は DNA のメチル化に依存しないと結論づけた。5-Aza-C 処理による転写抑制の原因は不明である。

一方、染色体の核内配置について、*Fas* 遺伝子領域を含む BAC (バクテリア人工染色体) をプローブとして間期の FISH を行うための条件検討を行っており、核内配置を判定できる程度のシグナル強度を得ることが可能となったので、RAS によりこのシグナルがどのように変化するか、今後検討する予定である。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計4件</p>	<p>(掲載済み－査読有り) 計3件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Funaki T, Kon S, Ronn RE, Henmi Y, Kobayashi Y, Watanabe T, Nakayama K, Tanabe K, Satake M. Localization of SMAP2 to the TGN and its Function in the Regulation of TGN Protein Transport. <i>Cell Structure and Function</i> 36 (1): 83-95, 2011. ISSN:1347-3700 http://www.jstage.jst.go.jp/article/csf/36/1/36_83/_html 2. Matsumoto A, Tateishi Y, Onoyama I, Okita Y, Nakayama K, Nakayama KI. Fbxw7beta resides in the endoplasmic reticulum membrane and protects cells from oxidative stress. <i>Cancer Science</i> 102 (4): 749-55, 2011. http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1349-7006.2011.01851.x/full 3. Onoyama I, Suzuki A, Matsumoto A, Tomita K, Katagiri H, Oike Y, Nakayama K, Nakayama KI. Fbxw7 regulates lipid metabolism and cell fate decisions in the mouse liver. <i>Journal of Clinical Investigation</i> 121 (1): 342-54, 2011. <p>(掲載済み－査読無し) 計0件</p> <p>(未掲載) 計1件</p> <ol style="list-style-type: none"> 4. Fotovati A, Abu-Ali S, Nakayama K, Nakayama KI. Impaired ovarian development and reduced fertility in female mice deficient in Skp2. <i>Journal of Anatomy</i>, (in press). http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-7580.2011.01370.x/full
<p>会議発表 計0件</p>	<p>専門家向け 計0件</p> <p>一般向け 計0件</p>
<p>図書 計0件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状況 計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>東北大学大学院医学系研究科 附属創生応用医学研究センターがん医学コアセンター 細胞増殖制御分野 http://www.devgen.med.tohoku.ac.jp/index.html</p> <p>東北大学大学院医学系研究科 附属創生応用医学研究センター http://www.art.med.tohoku.ac.jp/</p>

様式19 別紙1

国民との科学・技術対話の実施状況	該当なし
新聞・一般雑誌等掲載計0件	
その他	該当なし

4. その他特記事項

該当なし

実施状況報告書(平成22年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額
直接経費	132,000,000	0	41,400,000	90,600,000
間接経費	39,600,000	0	12,420,000	27,180,000
合計	171,600,000	0	53,820,000	117,780,000

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を 除く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度 執行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額
直接経費	0	41,400,000	0	41,400,000	491,085	40,908,915
間接経費	0	12,420,000	0	12,420,000	150,000	12,270,000
合計	0	53,820,000	0	53,820,000	641,085	53,178,915

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	491,085	実験試薬、液化窒素等
旅費	0	
謝金・人件費等	0	
その他	0	
直接経費計	491,085	
間接経費計	150,000	
合計	641,085	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
				0		
				0		
				0		