

平成 31 年 4 月 4 日

海外特別研究員最終報告書

独立行政法人 日本学術振興会 理事長 殿

採用年度 30

受付番号 201860522

氏 名 松田 翁

(氏名は必ず自署すること)

海外特別研究員としての派遣期間を終了しましたので、下記のとおり報告いたします。

なお、下記及び別紙記載の内容については相違ありません。

記

1. 用務地（派遣先国名）用務地：マサチューセッツジェネラルホスピタル（国名：ボストン）

2. 研究課題名（和文）※研究課題名は申請時のものと変わらないように記載すること。

手術治療における周術期炎症に伴う腫瘍増殖メカニズムの制御による新規治療開発

3. 派遣期間：平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 16 日

4. 受入機関名及び部局名

マサチューセッツジェネラルホスピタル Cancer center

5. 所期の目的の遂行状況及び成果…書式任意 **書式任意 (A4 判相当 3 ページ以上、英語で記入も可)**

(研究・調査実施状況及びその成果の発表・関係学会への参加状況等)

(注)「6. 研究発表」以降については様式 10－別紙 1～4 に記入の上、併せて提出すること。

初期の目的

申請時には、食道癌術後急性期の腫瘍細胞動態の把握ならびに、癌細胞の増殖における炎症シグナルの関与を明らかにすることで申請者が過去にとらえた現象(術後急性期の炎症が予後不良因子である)の機序を示し、新規治療開発につなげることを目的とし、下記の2つを研究目的とした。

i) 手術を施行された患者の周術期の全血から循環癌細胞(CTC)を単離することで、手術後急性期における患者体内における腫瘍細胞動態(真に血中癌細胞量が増加しているのか)を捉える。そして、その細胞特徴(サイトカイン関連シグナルの亢進の有無やそれによる増殖の有無)を解析することで、手術そのものによって生じる全身性炎症がどのような機序で腫瘍細胞の増殖・転移にかかわっているかを明らかにする。

ii) 細胞周期をつかさどる BTG2 および SETD1A 遺伝子が細胞周期に与える過程において、炎症刺激のかかわりを明らかにすることで、全身性炎症による腫瘍増殖を制御することによる治療開発につなげる。

進行状況と成果

i) 癌患者の周術期 CTC を採取し、その機能解析を行う予定であったが、倫理委員会申請前の段階において、患者血液サンプルの採取が難しいことが共同研究者との相談のうえ明らかとなったため、後述する SETD1A 遺伝子の機能解析に関する研究に専念した。

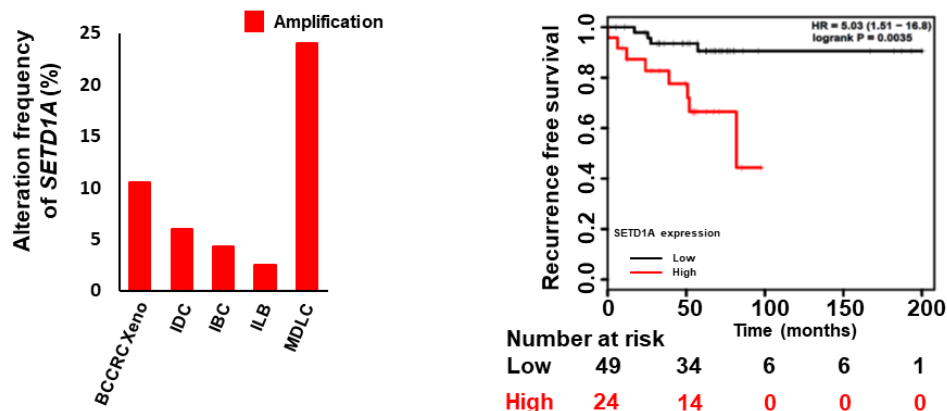
ii) (Tajima K*, Matsuda S*, et al. Nat Commun. In press)

SETD1A 遺伝子は、エピジェネティクスを介して遺伝子発現を制御するヒストンメチル化酵素の 1 因子であり、乳癌、前立腺癌をはじめとした多くの癌腫で遺伝子発現が上昇している。所属研究室においては、細胞周期をつかさどる BTG2 遺伝子を上流で制御するメカニズムを、ヒストン修飾に関連の ShRNA プールを用いてスクリーニングを行い、ヒストンメチル化酵素である SETD1A 遺伝子が miRNA を介して BTG2 抑制ならびに、癌の増殖に関与していることを明らかにした。

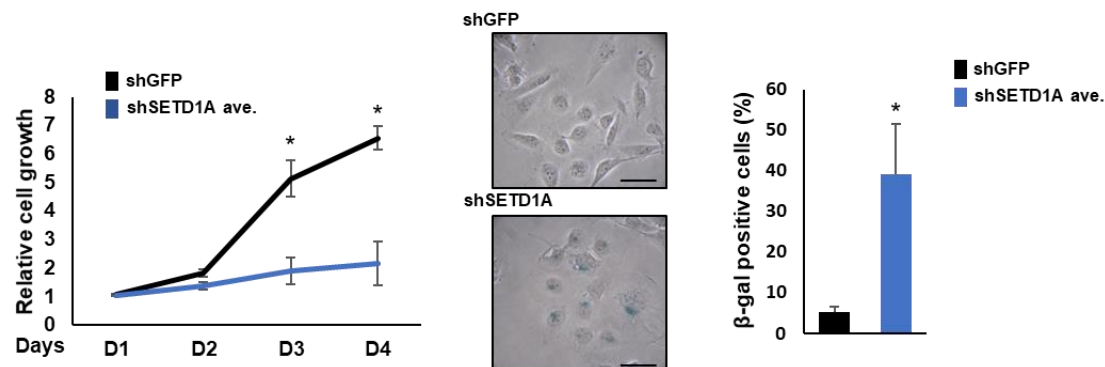
(Tajima K, et al. Nat Commun. 2015.) このような背景をもとに、われわれが行ったプロジェクトと成果を後述する。

なお、課題申請時に捉えられていた SETD1A にともなう炎症性シグナルは、後述するとおり Senescence に伴うサイトカイン分泌であることが明らかとなっている。

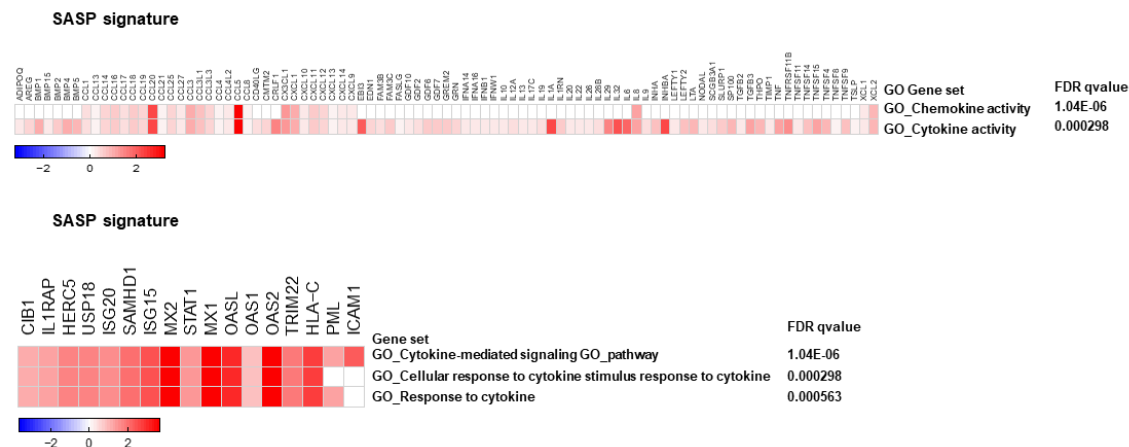
- SETD1A 遺伝子の Copy number は乳癌の多くで増加しており、同群の予後は不良である。



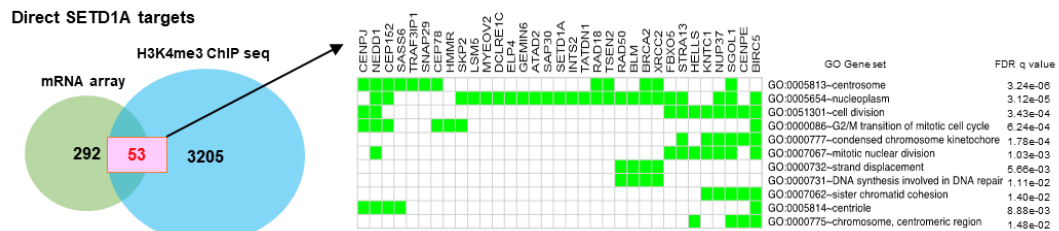
- 乳癌、大腸癌、肺癌細胞株において SETD1A 遺伝子の発現を抑制すると、細胞増殖能が低下し、Senescence associated β galactosidase 活性が上昇する。



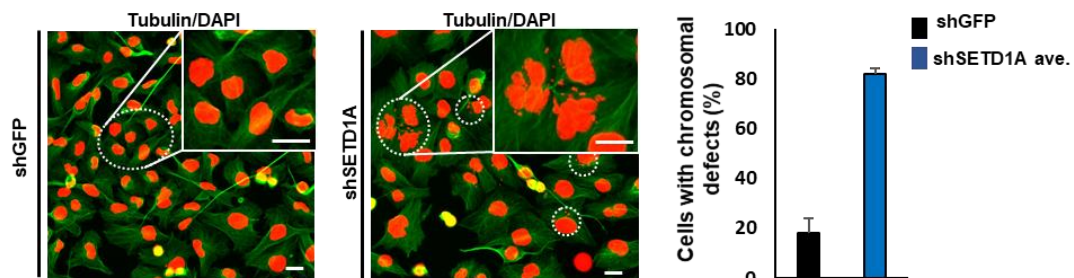
- 同群においてサイトカイン関連 Gene signature は上昇しており、Senescence associated secretory phenotype が確認された。



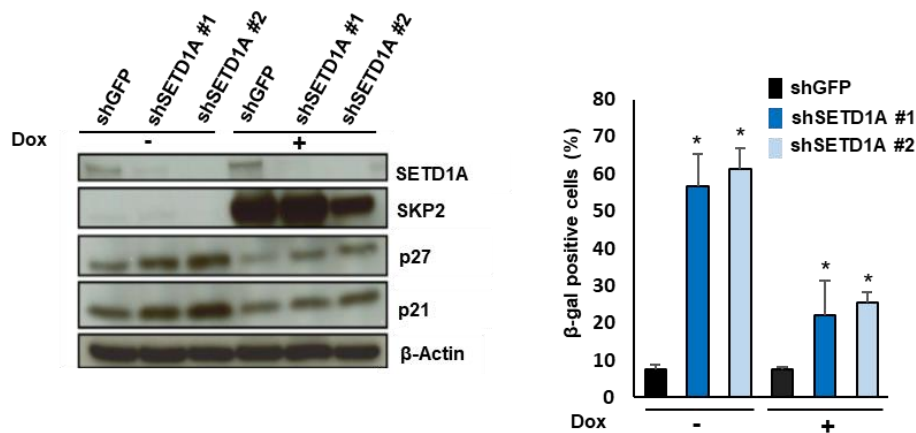
- Senescence が誘導されるメカニズムを明らかにするため、2 種類の細胞株における RNA 発現解析、抗 H3K4me3 抗体を用いた ChIP sequence を合わせ、SETD1A が直接的に制御する 51 遺伝子を同定した。さらに、同遺伝子群が細胞周期、DNA 修復をつかさどることが明らかとなった。



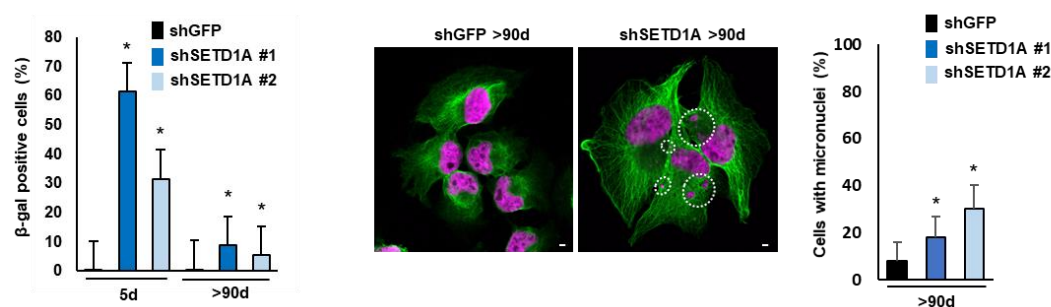
- SETD1A 抑制群において DAPI、抗 Tubulin 抗体を用いて蛍光染色を行ったところ、DNA の断片化が確認され、細胞周期が障害されていることを確認した。



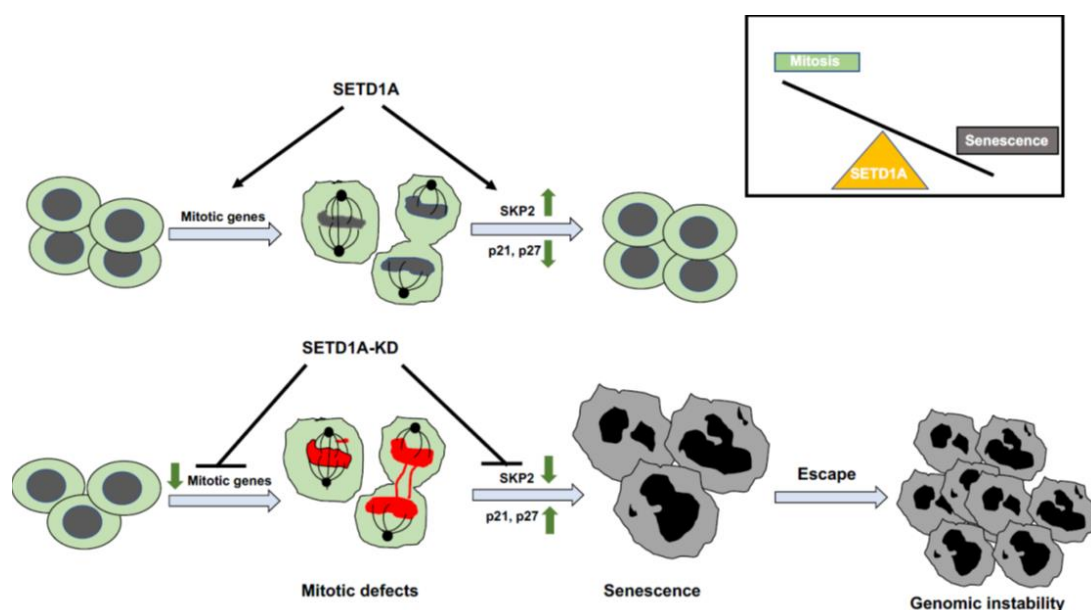
- SETD1A 抑制株で発現が低下していた 51 遺伝子の中に細胞周期をつかさどる p21、p27 の Ubiquitin ligase である SKP2 遺伝子が存在し、同遺伝子の高発現株において、SETD1A 抑制による Senescence 誘導が部分的に抑えられることを確認した。



- SETD1A 抑制株を長期培養することにより、再度増殖能を獲得し Senescence を回避した細胞群が確認された。同細胞群においては、SETD1A 抑制が軽減され、Senescence associated β galactosidase activity が低下していた。一方で、依然として断片された DAPI は残存しており、Senescence から回避した後も、Genomic instability が残存していることが示された。



- 癌細胞は、SETD1A 発現をとおして Senescence を回避し、増殖能を維持している可能性があると考えられた。



- 本プロジェクトは、Nature Communications にアクセプトされた。(Tajima K*, Matsuda S*, et al. Nat Commun. Accepted)