

# 難治疾患共同研究拠点共同研究終了報告書

平成 25 年 3 月 2 日

東京医科歯科大学難治疾患研究所長 殿

申請者(代表者)

所属機関 徳島大学

職 名 教授

氏 名 井本 逸勢

下記により、共同研究の終了報告を致します。

記

研究題目	(和) 統合的ゲノム・エピゲノム解析による新規乳癌関連遺伝子の網羅的探索 (英) Integrative genomic/epigenomic analyses for novel breast cancer-associated genes		
研究領域番号 (研究領域から選択)	1	研究対象番号 (研究対象から選択)	A
研究領域	1. 難治疾患の病因・病態解明に関する基礎・応用研究 2. 難治疾患の診断・治療・予防法の開発に関する基礎・応用研究 3. 難治疾患研究に有用な解析技術・モデル生物の開発に関する基礎・応用研究		
研究対象	A. 悪性腫瘍の共同研究 B. 脳・神経系難治疾患の共同研究 C. 心・血管系難治疾患の共同研究 D. 運動器系難治疾患の共同研究 E. 免疫・感染系難治疾患の共同研究 F. 代謝系難治疾患の共同研究 G. その他の難治疾患の共同研究		
研究期間	平成 23 年 4 月 1 日 ~ 平成 24 年 3 月 31 日		
研究組織			
氏名	所属機関・部局等	職名	役割分担
井本 逸勢 丹黒 章 稲澤 譲治 小崎 健一	徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 東京医科歯科大学難治疾患研究所 東京医科歯科大学難治疾患研究所	教授 教授 教授 准教授	研究統括・機能解析 臨床検体収集 ゲノム解析 エピゲノム解析
難治疾患研究所共同研究対応教員	(共同研究をした教員名を記載) 稲澤譲治 教授 (難治疾患研究所 分子細胞遺伝)		

## 研究成果

本研究では、肝細胞がん(HCC)関連新規がん抑制遺伝子の同定を目的に、MeDIP-CpG island アレイ法を用いた網羅的 DNA メチル化解析と発現アレイ法を用いた網羅的発現解析による統合的解析を試みた。現状において、アレイ法による網羅的 DNA メチル化スクリーニング法は、アジレント社では MeDIP-CpG island アレイ法、ならびに CpG サイトのメチル化を bisulfite 処理後の SNP として検出するイルミナ社の BeadArray 法があるが、両社の網羅的 DNA メチル化解析に関するシステムは、いずれも解析ソフトウェア開発が極めて不十分であるため、我々は本研究で、解析アルゴリズムを独自に確立した。同アルゴリズムは、MeDIP-CpG island アレイ解析に使用した肝細胞癌細胞株 3 株で DNA メチル化ステイタスが文献に報告されている延べ 41 の CpG island について、アレイ上での各 CpG island における probe の最大値を抽出し、報告されている DNA メチル化ステイタスとの整合性を ROC 曲線で検討することによって、感度・特異度を最も維持可能な cut off 値を設定した。即ち、各 CpG island における probe の最大値が 1 以上をメチル化陽性、1 未満をメチル化陰性とし、COBRA 法等でのバリデーションを行ったところ、極めて高い一致率を示した。上記の HCC 細胞株を用い、発現アレイによるがん細胞株において正常肝組織に比して発現低下しかつ DNA メチル化抑制剤処理により発現回復の認められる遺伝子を網羅的に探索し、MeDIP-CpG island アレイ法で検出したメチル化評定候補との統合的解析を行うとともに、HCC 臨床検体での Validation を行うことで、HCC において DNA 過剰メチル化により発現抑制されている新規 HCC 抑制遺伝子候補 MZB1 を同定した。本遺伝子を、その発現を消失した細胞株に強制発現させると、in vitro ならびに in vivo で細胞増殖抑制が認められ、がん抑制活性が確認された。さらに、同遺伝子の発現消失が、HCC の予後予測において、統計的に既知の予測因子と独立した因子であることを確認した。これらの所見は、MZB1 が HCC 抑制遺伝子であることを示唆するとともに、診断マーカーとして有用である可能性を示していた。

本研究成果は、2012 年 7 月号米国癌学会 Clinical Cancer Research に掲載され、論文の Figure の 1 つは同号の表紙に採用された。また、その研究論文により筆頭著者の松村 聡は、平成 24 年度東京医科歯科大学同窓会田中道子賞を受賞した。

利用した難治疾患研究リソース  
(○で囲む)

- 1) 疾患バイオリソース
- 2) 疾患モデル動物
- 3) 疾患オミックス

使用した設備・資料・試料等

HCC 細胞株  
培養関連機器  
アジレント社アレイシステム  
分子生物学的解析機器

本研究成果に関連する論文発表状況

(本共同研究拠点経費による研究であることが謝辞に明示されている論文には \* 印を付けて下さい)

1. Matsumura, S., Imoto, I., Kozaki, K., Matsui, T., Muramatsu, T., Furuta, M., Tanaka, S., Sakamoto, M., Arii, S. and Inazawa, J.: Integrative array-based approach identifies MZB1 as a frequently methylated putative tumor-suppressor in hepatocellular carcinoma. *Clin. Cancer Res.*, 18: 3541-3551, 2012. [Epub 2012 May 9]
2. Ono, H., Imoto, I., Kozaki, K., Tsuda, H., Matsui, T., Kurasawa, Y., Muramatsu, T., Sugihara, K. and Inazawa, J.: SIX1 promotes epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer through ZEB1 activation. *Oncogene*, 31: 4923-4934, 2012. [Epub 2012 Jan 30]
3. Kurasawa, Y., Kozaki, K., Pimkhaokham, A., Muramatsu, T., Ono, H., Ishihara, T., Uzawa, N., Imoto, I., Amagasa, T. and Inazawa, J.: Stabilization of phenotypic plasticity through mesenchymal-specific DNA hypermethylation in cancer cells. *Oncogene*, 31: 1963-1974, 2012. [Epub 2011 Aug 29]
4. Ishihara, T., Inoue, J., Kozaki, K., Imoto, I. and Inazawa, J.: The HECT-type ubiquitin ligase ITCH targets lysosomal-associated protein multispinning transmembrane 5 (LAPTM5) and prevents LAPTM5-mediated cell death. *J. Biol. Chem.*, 286: 44086-44094, 2011. [Epub 2011 Oct 18]
5. Tsuruta, T., Kozaki, K., Uesugi, A., Furuta, M., Hirasawa, A., Imoto, I., Susumu, N., Aoki, D. and Inazawa, J.: *miR-152* is a tumor suppressor microRNA that is silenced by DNA hypermethylation in endometrial cancer. *Cancer Res.*, 71: 6450-6462, 2011. [Epub 2011 Aug 25]
6. Uesugi, A., Kozaki, K., Tsuruta, T., Furuta, M., Morita, K., Imoto, I., Omura, K. and Inazawa, J.: The tumor suppressive microRNA *miR-218* targets the mTOR component Rictor and inhibits AKT phosphorylation in oral cancer. *Cancer Res.*, 71: 5765-5778, 2011. [Epub 2011 Jul 27]
7. Muramatsu, T., Imoto, I., Matsui, T., Kozaki, K., Haruki, S., Sudol, M., Shimada, Y., Tsuda, H., Kawano, T. and Inazawa, J.: YAP is a candidate oncogene for esophageal squamous-cell carcinoma. *Carcinogenesis*, 32: 389-398, 2011. [Epub 2010 Nov 26]