

プロジェクト名

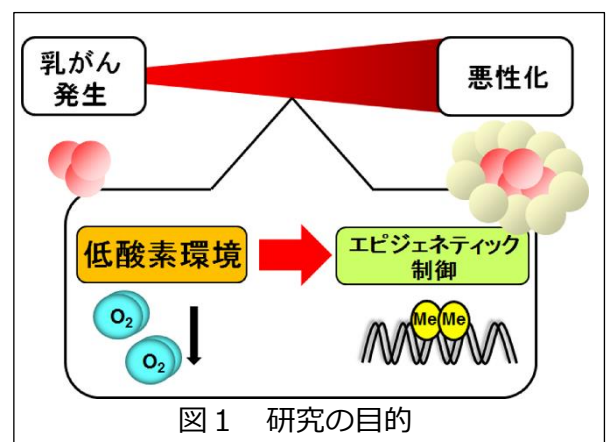
難治低酸素性乳がん研究プロジェクト2

目的

低酸素応答は、呼吸・代謝などを調節して、低酸素下における恒常性の維持に働く機構である。がんの微小環境もしばしば低酸素であり、がんの低酸素応答はその生存や悪性化に働く。国内における乳がんの患者数は年々増加しており、乳がん患者は女性のがん罹患者の中で現在一番多い。ヒト乳がん組織においても低酸素環境が形成されていること、さらに、低酸素環境では乳がんが悪性化して、転移が促進されることも、マウスモデルを用いた研究で示されている。

HIF は低酸素下で様々な生理応答を制御することから、低酸素応答の中心分子と位置付けられてきた。しかしながら、長期的な低酸素環境では HIF の活性が減少することなどから、低酸素応答制御には HIF 以外にも鍵となる分子が関与していると考えられている。しかしながら、その実体は依然未知である。本プロジェクトでは、第一期から引き続いて、

エピジェネティクスを介した遺伝子発現制御機構に着目しながら、低酸素応答の解明に取り組んできた。本研究を遂行することで、最終的に①低酸素性乳がんの悪性化機構 ②低酸素応答を司る新たな遺伝子発現制御機構 の解明をめざす (図1)。



構成メンバー

教授：石野史敏、澁谷浩司、三木義男、

准教授：中山恒

助教：与那城亮

研究成果

慢性期低酸素環境における代謝制御機構の解析

がんが代謝異常を引き起こすのに低酸素応答が関与しているのかを検証するために、乳がん細胞を長期的に低酸素環境で培養したところ、解糖系とミトコンドリア代謝を連結する役割を持つピルビン酸脱水素

酵素 PDH-E1 β の発現が低下することを明らかにした (図 2 a)。この発現低下により細胞の代謝状態は解糖系に依存した代

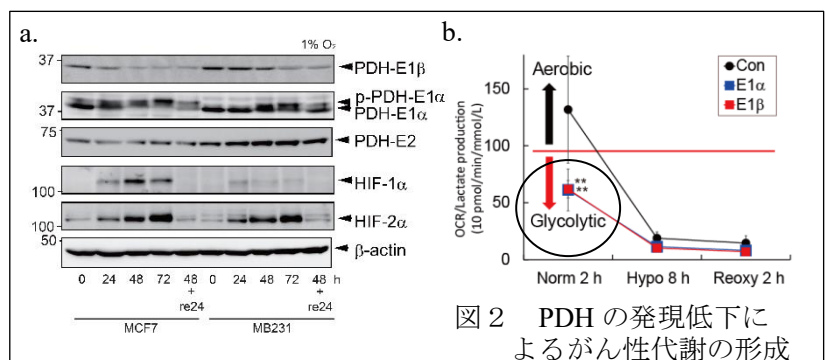


図 2 PDH の発現低下によるがん性代謝の形成

謝へと切り換わることが判明した。さらに、細胞を低酸素環境から通常酸素環境に戻す再酸素化培養を行ったところ、PDH-E1 β の発現が低下した状態が持続して、通常酸素下においても解糖系に依存した異常な代謝状態 (がん性代謝) が形成されることが明らかになった。次に、ミトコンドリアを利用した「正常代謝」を行っているがん細胞で PDH-E1 β をノックダウンしたところ、がん性代謝の表現型が顕れ (図 2 b)、PDH の発現低下ががんの異常代謝「Warburg 効果」が形成される分子機構の一つであることを明らかにした

(Cancer Res, 2018)。

慢性期低酸素環境における乳がんのメチル化異常の解析

- ・ DNA 脱メチル化酵素 TET の乳がん悪性化における役割

乳がんにおける TET の役割を明らかにするために、TET をノックダウンした乳がん細胞株を樹立した。この細胞は培養ディッシュ上での増殖は野生型と比べて大きな変化は認められなかった。一方で、免疫不全マウスに移植して腫瘍を形成させたところ、腫瘍形成能が亢進していることが明らかになった。次に、ヒト乳がんにおける TET の発現変化を検証するために、TCGA のデータベースより乳がん患者の正常・がん組織を比較したデータ 60 例を取得して、解析を行ったところ、悪性度の高いトリプルネガティブ型の乳がんの組織で、TET の発現が低下している傾向が認められた。

- ・ TET 標的遺伝子の同定

次に、TET の標的遺伝子を同定するために、野生型と TET ノックダウン細胞を比較した、mRNA-seq 解析を行った。その結果、十分なリード数が得られた遺伝子の中で、TET のノックダウンで発現量が 2 倍以上増加した遺伝子が 978 個、低下した遺伝子が 1006 個認められた。さらに、発現量が増加した遺伝子、減少した遺伝子の上位 50 個で、それぞれ GO 解析を行ったところ、ヌクレオソーム構築、膜輸送などの機能グループがそれぞれ上位で同定された。さらに、TET は脱メチル化酵素であることから、TET が標的遺伝子と結合しているのかを ChIP 解析により検証したところ、TET は発現変動の大きかった遺伝子のプロモーター領域に結合することが示された。

発表業績

Yonashiro R, Eguchi K, Wake M, Takeda N, and *Nakayama K. Pyruvate dehydrogenase PDH-E1 β controls tumor progression by altering the metabolic status of cancer cells.

Cancer Res., 78, 1592-1603, (2018)

プレスリリース

「がんが異常なエネルギー代謝を引き起こす新しい分子機構の同定」 2018年2月 東京医
科歯科大学