

# システムがんNewsletter No. 10

2014年5月

システムの統合理解に基づくがんの先端的診断、治療、予防法の開発

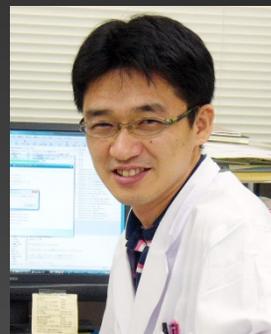
文部科学省科学研究費補助金 新学術領域研究（複合領域：4201）

## 公募研究の紹介

### p53による時間、空間的な 遺伝子発現制御機構の解明応用

松田 浩一

東京大学 医科学研究所ヒトゲノム解析センターシークエンス技術開発分野 准教授



#### p53：ゲノムの守護神

次世代シークエンサに代表される新しい技術により、がん組織における遺伝子異常の全貌が徐々に明らかになってきています。その結果、がん組織には非常に多くの遺伝子異常が蓄積していることが分かってきました。これら遺伝子異常によって遺伝子の機能が失われたり、また逆に活性化(暴走)したりすることでがん化すると考えられています。そのため、次世代シークエンサ解析で得られる膨大な情報は、新たながん化メカニズムの解明や、医療の個別化、治療薬開発に結びつくことが期待が寄せられています。このように技術の進歩にともない様々ながん関連遺伝子が見つかる中でも、p53という遺伝子は最もがん組織で異常が多く、「ゲノムの守護神」と呼ばれています。

p53はヒトの殆どのがんで異常が報告されており、その割合はがん全体の約半数に及びます。また生まれつきp53遺伝子に異常を持つ方(家系)では、高い確率でがんを発症することが分かっています。がん組織で見られるp53の異常は機能喪失型であることから、p53はがん化を抑制する働きを持つがん抑制遺伝子であると考えられています。我々はp53がどのようにがん化を抑制するかについてこれまで研究を行ってきました。

転写因子であるp53は様々なストレスによって活性化され、200以上の遺伝子発現を調節する事が知られています。我々の研究グループもがん細胞株を使って、p53によって発現誘導される遺伝子を探索してきました。これまでに、p53がDNAに生じた傷の修復に関与すること、またダメージが大きい場合に、クロマチンの構造を緩ませることでDNA切断を促進したり、細胞死を誘導したりする事で発がんリスクの高い細胞を体内から除去する事を報告しています。これらの成果は、p53を介した新たながん抑制メカニズムとして注目を集めています。

#### p53による転写制御ネットワークの全貌を明らかにする

これまでの研究では、特定の組織由来の細胞を用いてp53の標的遺伝子の探索が進められてきました。我々も大腸がんや脳腫瘍などの細胞株を用いて新しい標的遺伝子を同定しています。この手法では特定のがん組織におけるp53の標的は見つけることができますが、他の組織で同様の結果が得られるとは限りません。p53の異常はほとんどのがんで見られることから、p53の標的遺伝子を様々な組織で網羅的に検討する事が必要と考えられます。また近年p53が遺伝子だけではなく、micro RNAやlinc RNAなどのタンパク質をコードしないRNA(非

(次ページへ続く)

翻訳RNA)を発現制御していることが明らかとなってきましたが、その転写制御ネットワークの全貌は十分に解明されていません。そこでわれわれの研究グループでは、野生型およびp53遺伝子を欠損したマウスを用いて、放射線照射後の各臓器におけるRNAを次世代シーケンサにより解析することになりました。この解析を通じてp53による転写制御機構の全貌を個体レベルで明らかにする事がわれわれの研究の目的です。

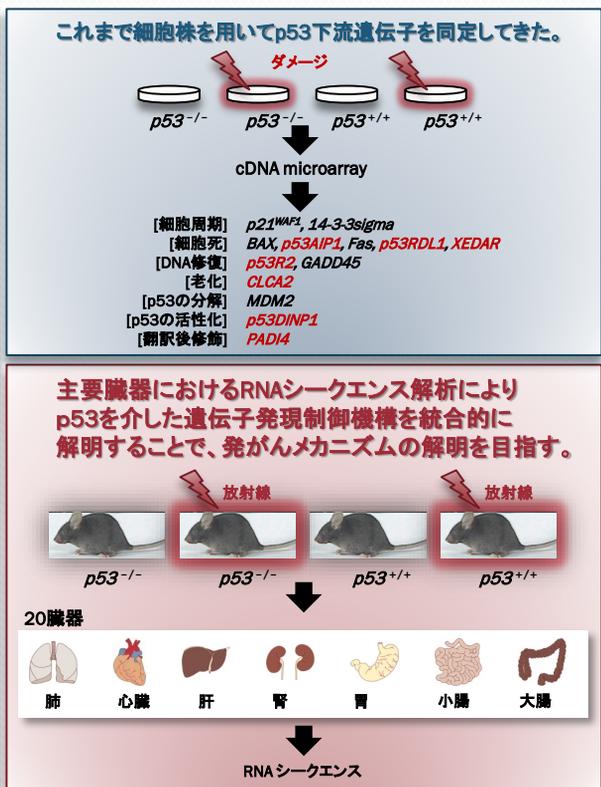
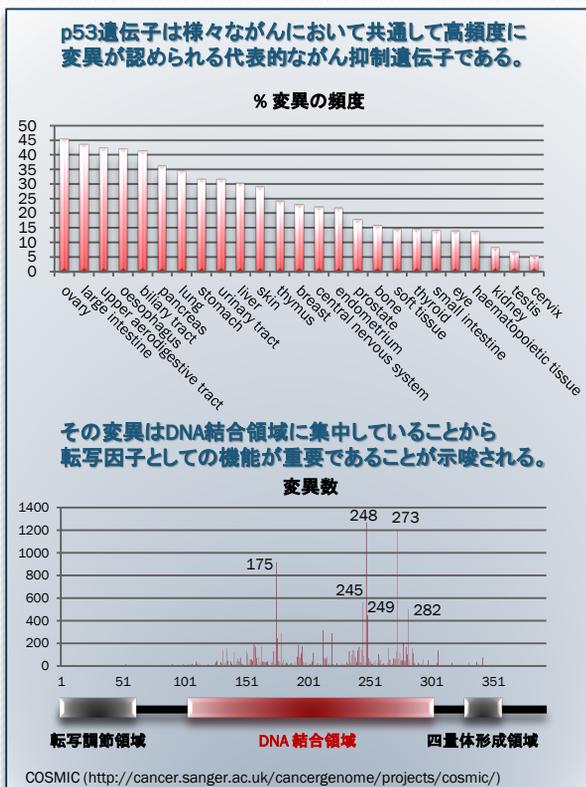
### 方法とこれまでに得られた結果

p53遺伝子欠損マウスに低容量の放射線照射を行う事でがんの発症率が高まる事が知られています。この発がんモデルにおける各臓器でのRNA量を網羅的に調べることで、p53を介した発がん抑制機序を個体レベルで明らかにできると期待されます。具体的な手順としては、放射線照射1日後にp53正常型および

欠損型のマウスから20臓器を回収します。それら臓器からRNAを抽出し、その全配列を次世代型シーケンサにより解析し、p53によって制御される遺伝子群および非翻訳RNAを網羅的に同定することを試みました。さらには、遺伝子配列情報を元にp53の結合配列の有無、ヒト遺伝子との相同性の検討、ヒトがん細胞株やがん組織での発現検討を行うことで、p53による遺伝子発現制御の全貌を明らかにしていく予定です。

これまでに条件検討を行い、最適な条件で臓器を回収しました(20臓器x24匹=480臓器)。さらに各臓器から回収したRNAの評価を行い、解析に用いるサンプルを決定しました。理化学研究所の中川英刀グループリーダーおよび東京大学医科学研究所の宮野悟教授のグループの協力の元に、現在、配列解読とデータ解析まで順調に進んでいます。

## p53による時間、空間的な遺伝子発現制御機構の解明



### 方法とこれまでに得られた結果

現在、データ解析が一部終了しており、複数の新規p53標的遺伝子、非翻訳RNAが同定されてきています。臓器特異的に誘導される遺伝子については、相当するヒトがん組織での役割について今後検討する予定です。これらの解析結果が、発癌メカニズムの解明および新規治療法の開発に発展することを期待します。



## バイオインフォマティクスを活用した p53 ネットワーク探索とがん治療への応用

時野 隆至

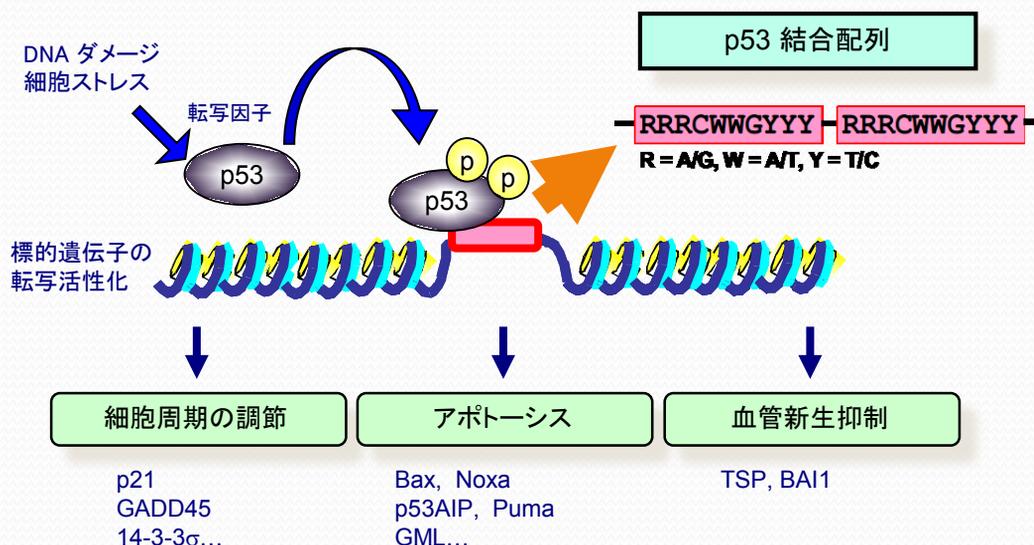
札幌医科大学 医学部附属フロンティア医学研究所ゲノム医科学部門 教授

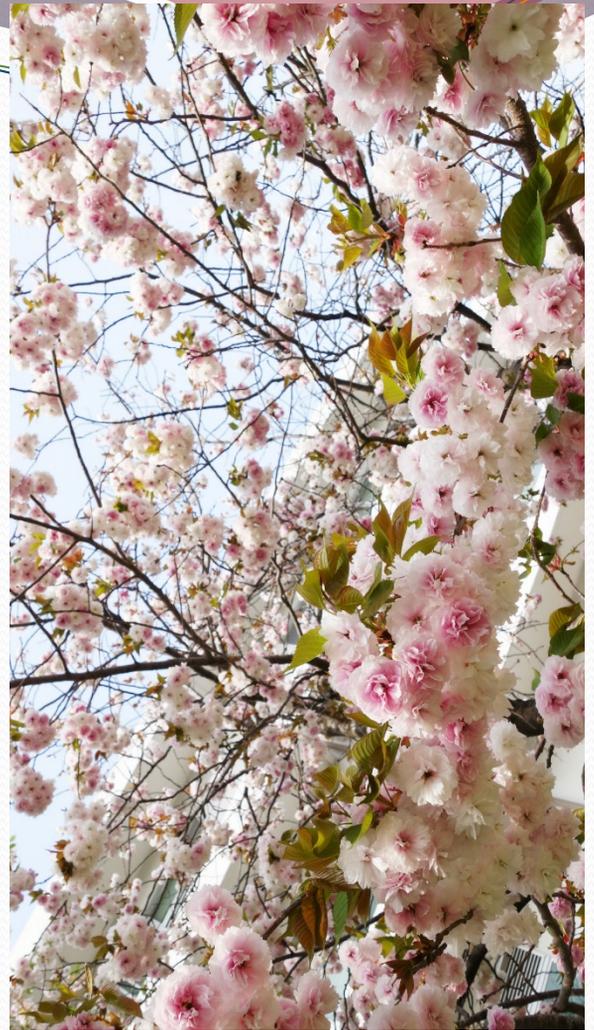


次世代シーケンサによる網羅的な解析により、ヒトがんゲノムの概観が明らかになってきました。大部分のヒトがんにおける遺伝子変異は、高頻度に変異のある少数の遺伝子群と、低頻度しか変異のない多数の遺伝子群から構成されます。現在、140から200遺伝子が、変異したときにがん化を推進するドライバー遺伝子であることがわかってきました。このドライバー遺伝子は12から20種類のシグナル経路に分類することができます。これらのシグナル経路の全貌を解明することが、がんの基礎研究において最も重要な課題の1つであります。

多種類の悪性腫瘍において最も高頻度に変異が検出されるのががん抑制遺伝子p53であり、約半数以上のがんでp53経路の異常が見られることから「ゲノムの守護神」と呼ばれています。p53は転写因子として、多くの標的遺伝子の発現を制御することによって、アポトーシス誘導・細胞周期停止・DNA修復などを調節しています。さらに、これまで予想されてきた以上に、p53は転移/浸潤・エネルギー代謝調節・免疫監視機構・多能性維持 (iPS)においても多様な機能をもつことがわかってきました。したがってp53の直接の転写標的を探索することは重要であり、

### p53 応答配列と標的遺伝子





私たちの研究室ではこれまで多くのp53転写標的遺伝子を同定してきました。

本課題では新規のp53転写標的を同定するために、ヒト全ゲノム配列およびクロマチン免疫と次世代シーケンサを組み合わせて(ChIP-seq)、ヒトゲノムからp53結合部位(ChIP-seq peaks)を探索しました。同定したChIP-seq peakの約半数は遺伝子間領域に存在したので、長鎖遺伝子間非コードRNA (lincRNA: large intergenic non-coding RNA)がp53の転写標的の候補として考えられました。最近の研究からlincRNAは発生、分化、幹細胞性、がんをはじめとした様々な疾患において重要な働きをしていることが明らかになりつつあります。次に、バイオインフォマティクスを利用した網羅的なp53結合配列(p53 motif)予測とChIP-seq peaksからのデータを組み合わせ、網羅的にp53標的lincRNAの同定を試み、23個のlincRNAがp53によって転写誘導されることを確認しました。さらに機能的解析により、このうち特定のp53標的lincRNAの発現抑制がp53関連アポトーシス誘導を調整したり、特定の遺伝子群の発現を促進したりする結果を得ることができました。この結果は、腫瘍抑制を含めた多様な生理的機能においてp53とlincRNAが複雑な転写ネットワークを形成していることを示唆しています。今後はこのようなp53の基礎的研究から新たな診断法やがん治療開発への臨床応用につながる研究をめざしたいと考えています。

## 全ゲノム・トランスクリプトームのシステムの統合解析による肝がんの非コード領域の理解

中川 英刀

理化学研究所 統合生命医科学研究センターゲノムシーケンス解析研究チーム  
チームリーダー



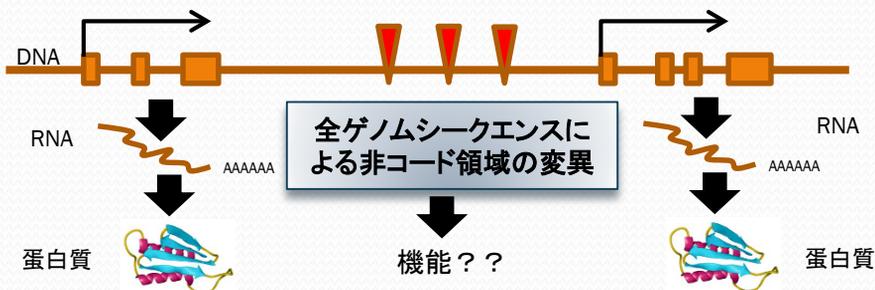
2003年にヒトゲノム計画の完了が宣言され10年が経ちました。ヒトゲノムのDNA配列は、約30億個のA・T・C・Gの4文字の情報が2倍体として合わさって構成されています。当初一番驚きであったのは、ヒトのゲノムの中にタンパク質をコードしている遺伝子が2万数千個しかなかったことであり、約30億個のDNA配列のうち1~2%しかタンパク質をコードして機能しているDNA配列がないことでありました。これは、ヒトという高等生物の複雑な生物学を説明できるような遺伝子の数ではなく、残りの99%のヒトゲノム配列は意味を持たないのか、とも議論されました。しかしながら、以後のRNA発現の詳細な解析により、タンパク質をコードしていないRNAが多数発現していることがわかってきており(非コードRNA)、その機能が今日注目されてきています。そして、ヒトゲノム計画完了後、いわゆる「次世代」シーケンサ技術の爆発的な進歩により、いまや個人やがんの全ゲノム情報(30億の配列情報)を10~20万円、一日で解読できるようになりつつあります。次世代シーケンサから得られるDNAやRNAの配列データ情報は爆発的に増加してきており(ペタバイト単位)、これらビッグデータから、いかに30億のゲノム配列を「解釈」するかが、今日問われています。

がんは発がん物質などの環境因子の暴露により、正常細胞のゲノム配列に様々な変異(配列置換)が蓄積し、正常な分子経路が破綻した結果、無秩序な細胞増殖をきたすことによって起こる「ゲノムの病気」であります。1つのがんの全ゲノムを解読すると、最大で10万個以上もの変異が同定されてきます。その多くがゲノムの非コード領域にあり、その変異が

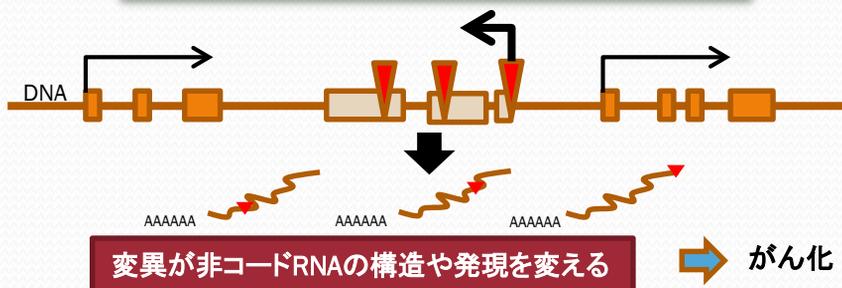
がん細胞にとってどういう役割があるのかは、ほとんど不明であります。がんの本態をゲノムを中心とした複雑なシステムとして解釈・理解するためには、このがんゲノムの非コード領域の理解が欠かせなくなってきました。

我々は、全世界共同で取りくんできている国際がんゲノムコンソーシアム(ICGC)の一環として、これまで日本人の肝臓がんを対象に全ゲノムの解読作業を、最新の次世代シーケンサと東京大学医科学研究所のスーパーコンピュータを駆使して行ってきています。この膨大なゲノムデータ(1つで約1テラバイト)に加えて、同じ肝臓がんのRNAのシーケンスを行って全RNAプロファイルを作成し、肝臓がんの非コード領域から転写される新たなRNA(非コードRNA)の同定を行っております。それらのRNA発現と全ゲノムシーケンスにより明らかになった非コード領域を含むゲノム変異の情報とを統合することによって、肝臓がんゲノムにおける非コード領域の理解と解釈を行い、がんのシステム異常の解明を図ろうとしています。

私は外科医として8年間、がん患者さんと共にがんの診断や治療に取り組んできました。残念ながら、私が外科医として働いていた時も、様々な治療薬が開発されてきた今でも、肝臓がんを含む多くのがんは治療することが困難です。また、様々な治療法が開発されてはいるものの、患者さんやそのがんにあった適正ながん医療(個別化医療)が広く行われているとはいえません。同じ臓器のがんであっても、転移をするがん、増殖が遅いがん、抗がん剤が効くがん、薬に対して強い副作用がでる患者さんといっ



**RNAシーケンス解析による非コードRNAの発見！**



たふうに、患者さんやそのがんにはそれぞれ個性があり、その個性に応じたケアが必要です。がんのゲノムが解読されればされるほど、そのゲノム構造が複雑で、不均一で、個々で異なる(多様)なことが明らかになり、個々の患者さんやそのがんを1つのシステムとして理解し、その治療戦略を考える必要があります。今回の「システムがん」での基礎研究は、がんゲノムの理解と解釈にとどまらず、その先にあるがんの医療の個別化につながるものと期待しており、自分の昔の患者さんの顔を浮かべながら、研究に取り組んでおります。



文部科学省新学術領域研究

## システムがん

システムの統合理解に基づくがんの  
先端的診断、治療、予防法の開発

オフィシャルWebサイト

<http://systemscancer.hgc.jp>

システムがんの研究内容、構成研究者情報、発表論文、研究会などの詳しい情報はこのWebサイトでご覧ください。



<http://twitter.com/SystemsCancer>

システムがんの研究成果、世界のがん研究、研究拠点、学会情報など最先端な話題をつぶやいています。



Human Genome Center

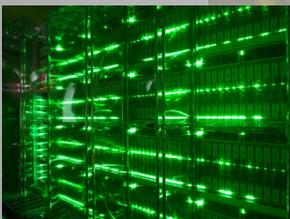
## 東京大学医科学研究所 ヒトゲノム解析センター スーパーコンピュータ

<http://supcom.hgc.jp>

システムがんで用いられるデータ解析ソフトウェアは、ヒトゲノム解析センターのスーパーコンピュータで動いています。スーパーコンピュータはどなたでもご利用になれます(有償)。



大容量のディスク装置



高密度の計算機

新学術領域研究「システムがん」ニュースレター No.10

発行日★平成26年5月19日(初版)

発行★システムの統合理解に基づくがんの先端的診断、治療、予防法の開発  
領域代表者★宮野 悟

- ★東京大学医科学研究所 ヒトゲノム解析センター DNA情報解析分野
- ★〒108-8639 東京都港区白金台4-6-1
- ★TEL: 03-5449-5615 FAX: 03-5449-5442
- ★E-mail: miyanolab-jimu@edelweiss.hgc.jp

編集★サトウアユ