

最先端・次世代研究開発支援プログラム
事後評価書

研究課題名	がん遺伝子産物 R A S 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

【研究目的】

がん遺伝子 *RAS* は、もっとも古くから知られているがん原遺伝子の一つであり、非常に高頻度でヒトがんに活性型変異が見つかることから、抗がん剤の標的分子として注目されている。しかしながら、未だに *RAS* を直接標的とした抗がん薬の開発には成功しておらず、その原因の一つは、その遺伝子産物 *RAS* が非常に多様な機能を有するタンパク質であるからと考えられる。そこで、多くの *RAS* の下流分子の中から発がんに関与する分子を探索することは、抗がん薬開発における標的候補を絞るための有効な取り組みである。研究代表者らは、がん遺伝子産物 *RAS* の活性化がどのような経緯で発がんを誘導するのかを新しいアプローチによって解析し、*RAS* による発がん機構に新しい概念を提示することを目的とした。

RAS の異常活性化によって、様々ながん抑制遺伝子の転写が抑制されることが知られている。研究代表者らは、この点に注目し *RAS* による転写抑制機構の解析を行い、いくつかの遺伝子で、その遺伝子の周辺 100 k b 以上の領域にわたって、周囲の遺伝子も含めて *RAS* によって転写が抑制されていることを発見した(未発表データ)。このことは、*RAS* が遺伝子固有のプロモーター活性を制御するのではなく、遺伝子領域・染色体領域にわたって広範囲に転写を抑制する機能を持つことを示唆している。

本研究課題では、このような *RAS* の領域にわたる転写抑制の分子メカニズムを明らかにするために、(1) *Fas* 遺伝子発現を抑制する分子メカニズムの解明、(2) ゲノム全体にわたる解析という二点から、この課題に取り組んだ。特に次世代シーケンサーを駆使することによって、単一の遺伝子の解析を越えて、網羅的な解析を行うことを目指した。

本研究は、臨床医学的には上述したような抗がん薬の標的分子探索へ有用なヒントを与えると考えた。さらに、本研究は *RAS* を起点としているが、*RAS* によって得られた結果から、転写制御機構における新しいシステムを発見し、発がん機構の理解に留まらず、特に発生・分化・再生など転写が時機特異的にダイナミックに変化する機構の理解へと繋げたいと考えた。

【総合評価】	
	特に優れた成果が得られている
○	優れた成果が得られている
	一定の成果が得られている
	十分な成果が得られていない

【所見】	
① 総合所見	
<p>本研究課題の当初目的は、RAS による広範な遺伝子転写抑制のメカニズムを解明し、RAS による発がん機構について新しい概念を見出すことであった。残念ながら東日本大震災によって長期間研究を中断せざるを得なかったこと、当初設定した仮説通りに研究が進まなかったこともあり研究計画の一部が停滞している状況であった。本研究課題で、研究代表者らは RAS による Fas 遺伝子の転写抑制とヒストン H3K27me3 修飾変化に何らかの相関があること、RAS による転写制御は遺伝子近傍の制御にのみ起因しているのではないことを示唆する結果を得た。また膜蛋白質である FAS の細胞表面上での発現を指標として FACS を利用した活性化 RAS 発現による FAS 遺伝子発現抑制にかかわる遺伝子の shRNA ライブラリースクリーニングを行ない、いくつかの候補遺伝子の抽出に成功した。</p> <p>さらにゲノム全体にわたる解析を行い、ヒストン H3K27me3 の修飾が低下し、転写が亢進する領域を発見した。さらにそれらの変化が RAS や Raf の発現によって、転写がまず変化し、ついでヒストン H3K27me3 の修飾が変化するという、転写活性の変化がヒストンの修飾変化をもたらすことを示唆する結果を得た。このことはヒストン H3K27me3 修飾が、転写の抑制の維持機構に貢献するという仮説にも反する新しい概念として他の研究者から評価されている。</p>	

② 目的の達成状況	
<p>・所期の目的が <input type="checkbox"/>全て達成された ・ <input checked="" type="checkbox"/>一部達成された ・ <input type="checkbox"/>達成されなかった)</p>	
<p>本研究課題では、RAS による広範な遺伝子転写抑制のメカニズムを解明し、RAS による発がん機構について新しい概念を見出すことを目的とした。当初、具体的目標として 1) RAS による広範な染色体領域の転写抑制に関わるシグナル伝達経路の解析、2) 抑制される遺伝子に共通するシスエレメントやヒストンコードの同定、3) 抑制される遺伝子(領域)の核内配置の解析、4) 発癌における RAS の役割が明らかになっているマウスがんモデルやヒトがん検体で同様の遺伝子転写抑制が認められるか検証する、などが計画されていた。</p> <p>本研究では、FAS 遺伝子などの個別の遺伝子領域におけるヒストン修飾を解析し、FAS 遺伝子については活性化 RAS 発現により H3K27me3 修飾が増加するものの、それは時間的に同遺伝子の転写抑制に引き続いて観測されたことから、H3K27me3 修飾は</p>	

同遺伝子の転写抑制の原因ではないものと考えられた。本研究課題の成果からは、当初目的である活性化 RAS 発現による染色体上の 100 kb 程度の領域が転写制御される分子機構を「核内配置を含む核内構造変化」を含めた観点から明らかにすることはできなかった。一方で、研究代表者らは、FAS の細胞表面上での発現を指標として FACS を利用した活性化 RAS 発現による FAS 遺伝子発現抑制にかかわる遺伝子の shRNA ライブラリースクリーニングを行ない、この系が正しく機能していることを確認した上でいくつかの候補遺伝子の抽出に成功した点は評価できる。

さらに当初の仮説は実証できなかったものの、研究代表者はゲノム全体にわたる解析を行い、ヒストン H3K27me3 の修飾が低下し、転写が亢進する領域を発見した。さらにそれらの変化が変異型 RAS や Raf の発現によって、転写がまず変化し、ついでヒストン H3K27me3 の修飾が変化するという、これまでの仮説とは相反する興味深い結果を得た。本研究成果は国際一流誌に発表され、高い評価を得ていると思われる。

研究全体としては東北大震災の影響などもあって遅れている傾向があったが、研究代表者を中心に粘り強く研究が続けられ、論文が国際一流誌に公表されたことに対して評価をしたい。

③ 研究の成果

・これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が
(ある ・ ない)

・ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が
(創出された ・ 創出されなかった)

・当初の目的の他に得られた成果が (ある ・ ない)

当初解析の対象としていた領域を含んだ BAC クローン遺伝子導入したレポーターが活性化 RAS 遺伝子発現によって内因性領域と同じような挙動を示さず、当初の目的を達成することができなかった。このため、FACS を使った shRNA ライブラリースクリーニングによる機能的検討が行われ、まだ論文の発表には至っていないが、この系が正しく機能していることを確認した上でいくつかの候補遺伝子の抽出に成功した。本研究課題終了後もこの系を用いることで新たな成果を創出することが期待される。

FAS 遺伝子領域の転写とヒストン修飾の解析から、活性化 RAS 遺伝子の発現によって、当該領域の転写活性が変化した後、当該領域のヒストン修飾が変化するという結果は、転写された新規 RNA もしくは活性化された転写装置によって当該領域のヒストン修飾をシスに変化させることを示唆しており、この点は当初の目的の他に得られた特記すべき研究成果であり、興味深い。

今後の研究によっては新しい発見に結びつく可能性もあるが、現時点ではブレークスルーと呼べるような成果は創出されているとは言えない。本プログラム終了後の研究代表者らの努力に期待したい。

④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が
(■見込まれる ・ □見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が
(□見込まれる ・ ■見込まれない)

当初研究計画では、*RAS* がん遺伝子が膵がんなどの難治がんによく活性化されていることから、難治がんの治療方法開発につながることを期待されたが、その糸口は本プログラム期間内では見えてこなかった。しかしヒストン H3K27me3 の修飾が低下し、転写が亢進する領域を発見し、それらの変化が変異型 *RAS* や *Raf* の発現によって、転写がまず変化し、ついでヒストン H3K27me3 の修飾が変化するという、興味深い結果を得た。

本研究の成果をさらに詳細に解析することにより、発生・分化・再生など転写の時機特異的に変化する機構の理解につながる成果が出れば、社会的なインパクトは今後大きいと期待される。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが (■行われた ・ □行われなかった)

当初研究計画で仮定した「BAC レポーター遺伝子による転写制御シス配列の同定」が研究途中で困難であることが明らかとなり、「shRNA ライブラリーを用いた機能的スクリーニング」に方針変更したことは評価できる。実験手法が ChIP シーケンシングなどの網羅的手法を主としており、大きな予算を割いたことが窺われるが、それに見合った成果が今後は得られることが期待できる。本研究課題は当初の仮説が実証できなかったこと、東日本大震災により研究が中断されたことなど、極めて困難な出来事が多かったが、研究代表者らは粘り強く研究を続け、一定の成果を得たことは高く評価したい。

共同研究が活発に行われていることは、研究室全体のアクティビティーの高さを示すものとして評価できる。研究代表者の独立性の明確化と独自性の高い研究の遂行が求められているが、論文の数は少ないものの、研究代表者を責任著者とした論文が公表されつつあり、今後の発展に大いに期待したい。

市民公開講座において本研究課題に関する発表を行うなど社会との対話は行っていることは評価する。