

Title	Depletion of JARID1B induces cellular senescence in human colorectal cancer
Author(s)	太田, 勝也
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34248
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

〔論文題名：Thesis Title〕

Depletion of JARID1B induces cellular senescence in human colorectal cancer
(JARID1Bを制御することで大腸癌は細胞老化へ誘導される)

専攻名 : 外科系臨床医学専攻
Division

学位申請者 : 太田 勝也
Name

〔目的〕

発癌過程において癌遺伝子及び癌抑制遺伝子のジェネティック変化は段階的に蓄積される。さらに、癌幹細胞の治療抵抗性の発生と維持はジェネティック変化を基盤としたエピジェネティック変化（後天的ゲノム修飾）に依存している。本研究は、エピジェネティクス因子であるヒストン脱メチル化因子JARID1Bに注目した。乳癌や白血病ではJARID1Bの転写活性標的遺伝子が報告されている一方、消化器癌では詳細な検討および標的遺伝子の同定はなされていない。今回、消化器癌における生物学的動態を解明し、JARID1Bの標的遺伝子を同定することを目的とした。

〔方法ならびに成績〕

先行実験では、JARID1Bは大腸癌細胞株であるColo201とHCT116において高発現していることを確認し、臨床検体においてJARID1Bのエピキタスな発現を認めることを確認した。

まず、大腸癌細胞株であるColo201とHCT116に対してJARID1Bの転写活性を可視化するシステムをウイルスベクターによって作成し、細胞のマーキングとトレーシングを行った。Flow cytometryを用いて可視化した細胞を陽性分画と陰性分画に分け培養を続けた結果、JARID1Bの発現は可塑性を示した。また、陽性分画と陰性分画をそれぞれNOD/SCIDマウスを用いて異種間移植を試みた結果、JARID1Bの陽性分画は陰性分画と比較して有意に造腫瘍能が増加した。この造腫瘍能の違いはJARID1Bの発現が細胞周期に積極的に関与し、癌細胞のヒエラルキーの中でもAmplifying cellに対して機能している可能性が考えられた。そこで、Fucciシステムを用い細胞周期に応じた発現変化について解析し、JARID1Bと細胞周期との関連を確認した。特に、G1/Sチェックポイントに近いG1相後期でJARID1Bの発現が高いことが分かった。次に、ChIP Assayにより標的遺伝子の探索を行った。結果、JARID1BはヒストンH3の第4リジン残基(K4)の触媒に関わり、その脱メチル化の標的遺伝子は癌抑制遺伝子*p16^{INK4A}*であることを同定した。

異種間移植の結果より癌増殖能の変化はJARID1Bの発現の少ない細胞分画で有意に低下していたことから、RNA干渉法による大腸癌細胞株の生物学的変化を観察した。JARID1Bを阻害した場合、増殖能の低下と治療抵抗性の低下を認めた。細胞内では活性酸素レベルが上昇し、細胞老化タンパク質であるβ-Galactosidaseの蓄積が見られ、癌細胞は細胞老化へと誘導された。さらに、既存の幹細胞マーカーCD44、ALDHにより展開した癌幹細胞分画はJARID1B阻害により減少することが分かった。

〔総括〕

本研究では、JARID1BがヒストンH3K4の脱メチル化反応を触媒することにより、癌抑制遺伝子 (*p16^{INK4A}*) のプロモーター領域のクロマチンを閉じた状態（ヘテロクロマチン）にする結果として癌細胞形質が悪性化することを消化器癌で初めて明らかにした。加えて、JARID1Bを阻害することにより癌細胞は細胞老化へと誘導され、大腸癌幹細胞分画が減少し腫瘍増殖が制御されることを確認した。難治性の癌幹細胞を標的化するための標的分子として、ヒストン脱メチル化因子 (JARID1B) の機能を解析し、癌幹細胞の創生と維持を担う機能の一端が明らかになった。

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 太田 勝也	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 森 正樹
	副 査 大阪大学教授 竹原 敏郎
	副 査 大阪大学教授 野口 眞三郎
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>本論文は、大腸癌におけるエピジェネティクスであるヒストン脱メチル化因子JARID1Bの発現と細胞老化との関連性を明らかにすることを目的とした。臨床検体や細胞株においてJARID1Bの発現を確認、細胞株内ではJARID1Bの発現は可塑性を示していた。JARID1Bの阻害実験により大腸癌細胞株は造腫瘍能が低下し、細胞内は細胞老化蛋白β-Galが蓄積していた。さらに、JARID1B阻害はCD44⁺/ALDH⁺癌幹細胞分画を減少させた。JARID1Bの発現は細胞周期のG1相後期に高いことが確認され、ChIP実験によりJARID1Bは癌抑制遺伝子p16^{INK4A}を標的として発現を制御していたことが示された。</p> <p>申請者の本研究によって、JARID1Bが癌抑制遺伝子p16^{INK4A}のプロモーター領域を制御する結果として、癌細胞が悪性化することを大腸癌で初めて明らかにした。加えて、阻害実験により癌細胞の細胞老化を誘導し、癌幹細胞の形成が鈍化されることにより腫瘍増殖が阻止されたことを示した。</p> <p>以上の内容は癌研究における新たな知見と考えられるため博士(医学)の学位授与に値する論文と判断する。</p>	