

研究報告書

平成29年度：A課題

平成31年 4月26日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀田 知光 殿

研究施設 京都大学ウイルス・再生医科学研究所

住 所 京都市左京区聖護院河原町53

研究者氏名 宮崎 正輝



(研究課題)

転写制御因子 Id2/Id3 による悪性リンパ腫発生の分子機構の解明

平成30年2月15日付助成金交付のあった標記A課題について研究が終了致しましたので
ご報告いたします。

研究成果

(目的)

bHLH型転写因子 E2A は、T, B リンパ球の分化に必須の転写因子として知られている。一方、E2A の阻害因子として機能する転写制御因子 Id (Id1-4) は、T 細胞の活性化を調節している。興味深いことに、ヒトの Burkitt リンパ腫においては、かなりの高頻度に E2A と Id3 の HLH 領域に点変異が認められている (WHO 分類 2016)。さらにマウスにおいても、Id2/Id3 の欠損により致死的な T 細胞リンパ腫を高頻度に起こすことを申請者が報告しており (Miyazaki, Gene & Development, 2015)、ヒト、マウスに共通の仕組みによりリンパ球のがん化が起こることが示唆されるが、その分子機構は解明されていない。本研究目的は、Id2/Id3 欠損 T 細胞から悪性リンパ腫へとどのように進展していくのかを、ATAC-seq や ChIP-seq 解析を行い、オープンクロマチン領域、エンハンサー/プロモーター領域を全ゲノムを対象に解析することで、その遺伝子発現プログラムの制御の分子機構を解明することを目的とする。

(実験結果と考察)

まず、野生型、Id2/Id3 欠損の CD4T 細胞と、Id2/Id3 欠損マウスの CD4+リンパ腫を集め、ChIP-seq 解析 (H3K27 アセチル化 (活性化マーカー)、H3K4 ジメチル化 (エンハンサーマーカー)) さらにオープンクロマチン領域を見るため ATAC-seq 解析を行った。結果、1502 個のリンパ腫特異的な活性化エンハンサー領域を同定した。また ATAC-seq 解析の結果から、転写

因子の結合モチーフ解析を行い、その頻度の違いを解析した(図1)。驚いたことに、野生型ナイーブT細胞に比べ、Id2/Id3欠損T細胞では、活性化オープンエンハンサー領域に多くの転写因子が結合する一方、リンパ腫では、その多くが消失し、全く新たな転写因子群のモチーフの出現を認めた。このことは、リンパ腫に進展する段階で、単なる活性化とは異なる、全く別の転写因子ネットワークが形成されたことの可能性を示すものである。

さらにChIP-seq解析の結果から、スーパーエンハンサーの同定を試みた。結果、野生型からId2/Id3欠損T細胞ではスーパーエンハンサーの絶対数が増加する一方、リンパ腫に進展するに従い、その数が1/2以下へと減少した。また上位5つの領域も大きく変化した(図2)。

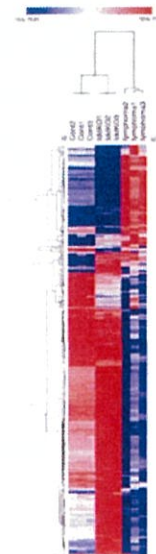


図1 オープン活性化エンハンサー領域に結合する転写因子結合モチーフの解析

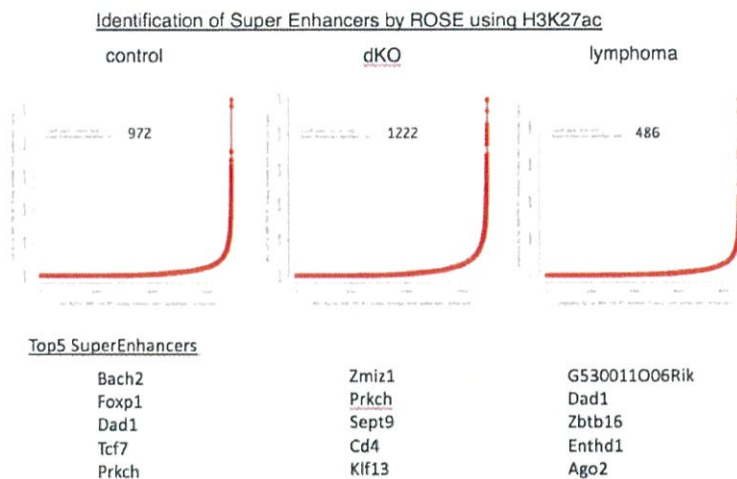


図2 野生型、Id2/Id3欠損T細胞、リンパ腫におけるスーパーエンハンサーの解析

以上のことから、Id2/Id3欠損によりT細胞が活性化するのに伴い、エンハンサー領域は大きく変化するが、リンパ腫へと進展するところでは、さらに活性化の傾向が増強するのではなく、全く異なる細胞の特性を持ったものへと変換することが、活性化エンハンサー領域の解析から言えることが明らかとなった。またそれに伴い、転写因子ネットワークも、活性化T細胞とは異なるものが形成される可能性が示唆された。

今後、これらの興味深いデータを基礎に、さらに解析を深めていきたい。