

異分野融合による多方面からのエピジェネティクスの解明

研究代表者： 沖 昌也（工学研究科・准教授）

共同研究者： 稲谷 大（医学部・教授）、高村 佳弘（医学部・准教授）、

水谷 哲也（医学部・准教授）、吉田 俊之（工学研究科・教授）

概 要	
	同じ DNA 配列から多様な遺伝子発現制御を生み出すエピジェネティックな制御機構は、ヒトなどの分化・発生や疾患のほか、多能性幹細胞“iPS 細胞形成”においても重要な役割を担う。本研究では、「酵母を用いた分子レベルでの解析（沖）」、「酵母で得られた知見をもとに、多細胞生物での分化誘導システムの実験系を用いた解析（水谷）」、「エピジェネティックな制御が予測される糖尿病合併症による白内障の発症メカニズム解明（稲谷・高村）」、「新たなスクリーニングを行う上で必須となるデータ解析をオートメーション化するシステムの開発（吉田）」など、異分野の研究者が融合し、様々な視点からの研究結果をもとに、エピジェネティクスの機能解明を目指した。
関連キーワード	エピジェネティクス、白内障、糖尿病、1 細胞追跡、発生・分化

研究の背景および目的

生物にとって重要な機能は種を越えて保存されている。本プロジェクトでは、酵母を用いる研究グループ（沖）、ヒト細胞を用いた研究を行っている研究グループ（水谷）、患者さんから採取した細胞を用いて臨床の観点から解析を行う研究グループ（稲谷・高村）が共同し、種を越えた共通のエピジェネティクスメカニズム解明を目指す。また、現在は、手作業で膨大な時間を費やして解析しているが、独自の解析ソフトを開発（吉田）することにより、研究の飛躍的な発展が期待される。上記のように、異なる研究分野の研究者が協力し合って、独自の視点から「エピジェネティクス」の解析システムを開発し、メカニズム解明を目指すことが本プロジェクトの最大の特色である。

独自の解析ソフトを開発することにより、現状では膨大な時間を要するために出来ないエピジェネティクスコントロール遺伝子を同定するためのゲノムワイドなスクリーニングが可能となる。また、酵母や培養細胞で得られた知見をヒトの疾患の解明に役立てるため、推定 700 万人と言われている糖尿病患者の合併症の中でも頻度の高い「白内障」に注目する。将来的には白内障の発症とエピジェネティックな発現制御の関与を明らかにすることにより、その制御を阻害する薬剤等を用い発現状態をコントロールし、患者負担の少ない点眼を中心とした薬物治療を可能とする創薬を目指す。

研究の内容および成果

(1) 1 細胞追跡システムを用いた解析（沖）：1 細胞追跡システムを用い、環境の変化によりエピジェネティックな発現状態がどのように変化するか追跡した。今年度は、DNA 損傷を誘導した際のエピジェネティックな発現状態の変化及び、栄養飢餓状態の際のエピジェネティックな発現状態

の変化に注目した。最初に DNA 損傷誘発時、及び栄養飢餓状態でエピジェネティックに発現状態が制御される遺伝子を同定した。同定した遺伝子のプロモーターとターミナーを残し、タンパク質コード領域を、蛍光タンパク質をコードする遺伝子に置き換えた株を作製した。作製した酵母株を用

い、1細胞追跡システムにより、様々な環境状態でのエピジェネティックな発現状態変化を解析し、一定の規則性が存在することを見出した。

(2) ヒト及びマウス細胞を用いた解析 (水谷・沖) : 酵母で同定したエピジェネティクス制御遺伝子を SiRNA により処理し、発現量の減少による表現型の変化を解析した。現在のところ顕著な表現型の変化は見られていない。

(3) 糖尿病と白内障合併症におけるエピジェネティックな変化に関する解析 (稲谷・高村・沖) : 今年度は解析に使用するサンプルを患者さんから採取した。具体的には、糖尿病の合併症として白内障を起こしている患者さんに絞り、コントロールとしては糖尿病ではないが白内障を起こしている患者さんの細胞、組織を用いる。具体的には、白内障手術の際に摘出する水晶体上皮細胞を含んだ前囊片 (直径 5.5mm の円) を採取した。1人あたり、約 4100 細胞数/mm²で、現在のところ3名の患者さんからサンプルを採取させていただいた。患者さんの年齢、性別は以下の通りである。

皮質混濁+ 皮質混濁- それぞれの皮質

1. 69歳、女性 糖尿病なし
2. 79歳、女性 糖尿病なし
3. 72歳、男性 糖尿病あり

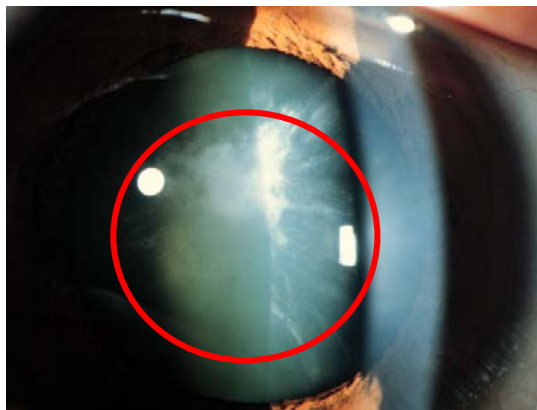


図1：前極白内障 (写真のように中央の前囊直下に混濁を呈する症例から同様に前囊サンプルを集める。)

(4) 1細胞追跡システム自動追跡ソフトの開発 (吉田・沖) : 今年度は、追跡の精度を更に加え、また、蛍光輝度測定 of 自動化及び系統図作製の自動化の機能を加えた。

本助成による主な発表論文等、特記事項および競争的資金・研究助成への申請・獲得状況

「主な発表論文等」

1. **Mizutani, T.***, Kawabe, S., Ishikane, S., Imamichi, Y., Umezawa, A., Miyamoto, K.: Identification of novel steroidogenic factor 1 (SF-1)-target genes and components of the SF-1 nuclear complex. *Mol. Cell. Endocrinol.* (in press)
2. Arimura S, **Takamura Y**, Takihara Y, Matsumura T, Tomomatsu T, **Inatani M.** (2015) *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 253(2), 307-12.
3. Kamata K, Goswami G, Kashio S, Urano T, Nakagawa R, Uchida H and **Oki M***. (2014) *J. Biochem.*, 155 (3), 159-171.
4. **Takamura Y**, Tomomatsu T, Yokota S, Matsumura T, Takihara Y, **Inatani M.** (2014) *J Cataract Refract Surg.* 40(11), 1850-1856.
5. **Takamura Y**, Tomomatsu T, Matsumura T, Arimura S, Gozawa M, Takihara Y, **Inatani M.** (2014) *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 55(8), 4741-4746.
6. **Mizutani, T.***, Ju, Y., Imamichi, Y., Osaki, T., Yazawa, T., Kawabe, S., Ishikane, S., Matsumura, T., Kanno, M., Kamiki, Y., Kimura, K., Minamino, N., Miyamoto, K. (2014) *Biochem. J.*, 460, 458-471
7. Kanno, M., Yazawa, T., Kawabe, S., Imamichi, Y., Usami, Y., Ju, Y., Matsumura, T., **Mizutani, T.**

Fujieda, S., Miyamoto, K. (2014) *Biochim. Biophys. Acta*, 1839, 406-414.

8. Imamichi, Y., **Mizutani, T.***, Ju, Y., Matsumura, T., Kawabe, S., Kanno, M., Yazawa, T., Miyamoto, K. (2014) *Biochim. Biophys. Acta.* 1839, 33-42.

「特記事項」

(国際学会招待講演)

1. **Oki M.**, 8th International Symposium on Nanomedicine, December 4, 2014.
2. **Mizutani, T.**, Miyamoto, K. ADRENAL 2014 The XVIth Conference on the Adrenal Cortex. June 17-20, 2014.

「競争的資金・研究助成への申請・獲得状況」

1. 参天製薬研究助成金 (採択)
代表：高村佳弘、分担：沖昌也
「糖尿病白内障のエピジェネティックな発現制御機構の解明と創薬」
2. ノバルティス科学振興財団
研究奨励金 (採択) 代表：沖昌也
「DNA 損傷時にエピジェネティックに発現誘導される *DDI2/3* の発現機構の解明」