

研究報告書  
令和4年度：A課題

2024年 4月 27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 東京大学

住 所 東京都文京区本郷 7-3-1 医学部教育研

究棟 11 階

研究者氏名 鯉沼 代造

(研究課題)

消化管神経内分泌腫瘍の進展を支配するエピゲノム調節機構の意義

令和5年 4月 1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。

## 背景・目的

膵・消化管神経内分泌腫瘍 NEN は特徴的なシグナル経路および下流の遺伝子群発現により、他のがん種にはない形質を示す。これまでにゲノム・エピゲノム解析上の特徴が報告されているが、比較的限られた症例数のデータに基づいており、未だ十分明らかにされたとは言い難い。

本研究では先行する報告ではいまだその役割が明らかにされていない NEN 特異的発現転写因子の役割として見出した、転写制御・腫瘍の形質変化・腫瘍形成能の変化に注目し、こうした転写因子が如何にこれらの作用を発揮しているのか、自らの専門である網羅的エピゲノム解析手法を用いて明らかにすることを目的としている。

## 方法

NEN 特異的発現転写因子を CRISPR/Cas9 で不活化した NEN 細胞株 ECC12 を用い、網羅的遺伝子発現解析を行った。またこの遺伝子不活化細胞を用いて取得した H3K27 アセチル化 ChIP-seq データを用いて、活性化ゲノム領域の特徴について解析を行った。またこの細胞株の移植腫瘍から *in situ* tagmentation および ATAC-seq を行った。膵・消化管 NEN の病理組織の免疫染色に向けた検討を行った。

## 結果

遺伝子不活化 ECC12 細胞の RNA-seq の結果、RT-PCR で既に見いだしたソマトスタチン受容体 SSTR1 の発現減少を確認するとともに、WNT や PKC シグナル経路、細胞骨格、抗原提示などに関する遺伝子群の発現変動を生じることが示唆された。

活性化ゲノム領域の特徴を遺伝子不活化の前後で比較解析した結果、一定の q-value で同定した領域数はそれぞれ 7 万か所弱で大きな変動を認めなかった。そこでそれぞれのゲノム領域での活性化状態の半定量化を試み、SSTR1 遺伝子座をはじめ変動する領域のあることを見出した。

*in situ* tagmentation を移植腫瘍の凍結切片を用いて実施した。ライブラリーを構築して ATAC-seq データ取得し、*in vitro* で確認した活性化ゲノム領域がこのデータで濃縮していることを確認できた。

病理組織検体の免疫染色による検討については FFPE サンプルでの染色条件に関する予備的検討を進めた。

## 考察及び展望

網羅的遺伝子発現解析の結果はこの転写因子の NEN における一定の役割を示すものであると考えられた。一方で本研究に先立って行われたこの転写因子を大腸がん細胞に過剰発現させ行った RNA-seq では NEN の形質獲得を示唆する遺伝子発現は顕著でなかったことから、NEN の形質獲得には他の因子の寄与も必要であると考えられた。

エピゲノムデータからこれら遺伝子発現変動にはクロマチンアクセシビリティの変化を伴っていることが示唆されたが、一方でこの転写因子が支配するのは NEN の形質の一部であると考えられた。

*In situ* tagmentation を用いた論文報告はなお限られているが、一部で空間エピゲノム解析研究に用いられつつある。本研究で得られたノウハウを活用することで今後病理検体を用いて知見を得ることが期待できる。FFPE サンプルでの予備的検討ではなおサンプル調製条件の最適化が必要と考えられ、今後の課題である。

## 成果発表

なし