

**【目的】** これまでの癌研究は、遺伝子変異に重点をおいた研究が中心であった。近年次世代シーケンサーの進化に伴い、あらゆる癌種において全ゲノムに渡る網羅的解析が多数行われた結果、癌と genetics の分野では研究が飛躍的に進んでいる。一方次世代シーケンサーの進歩は DNA のメチル化やヒストンタンパク質の修飾といった epigenome 領域の研究にも大きな発展をもたらし、癌に関連した epigenome 変化も次々と報告されている。しかしながら、これまでに epigenome が関連した有力な癌治療薬やバイオマーカーが発見されたという報告は少ない。癌の進展・転移に epigenome 状態の変化が関与しているのは、過去の報告からも疑いはないが、その関係性にはいまだ不明な点が数多く残されていると考える。そこで研究代表者は、癌の進展・転移と epigenome 状態変化の間には、その他の要因が複雑に関与して、結果的に癌の進展や転移を引き起こしていると考えた。近年癌細胞における代謝の分野で注目されている、one carbon metabolism (以下 1C metabolism) は、ある特定の癌種において代謝が活性化していると言われている。この 1C metabolism の中間代謝産物にはS-アデノシルメチオニン (以下 SAM) が含まれており、この SAM は DNA やヒストンタンパク質へメチル基を付与する供与体として働くことが知られている。そこで研究代表者は、1C metabolism を介した epigenome 状態変化が癌の進展・転移に関与しているのではないかと考えた。この 1C metabolism を介した epigenome 状態変化と癌の進展・転移との関係性を明らかにすることによって、新たな癌治療薬の開発や新規バイオマーカーの発見につながるのではないかと考え、本研究を立案した。

**【方法】** 1C metabolism の代謝活性を低下させるため、筆者はヒト大腸癌細胞株である HCT116 及びヒト膵癌細胞株である PANC1 において、代謝経路の構成遺伝子である MAT2A 遺伝子の遺伝子発現を、CRISPR/Cas9 の技術を用いて低下させた。MAT2A 遺伝子変異株と元の癌細胞株をそれぞれ免疫不全マウスの皮下に投与し、皮下腫瘍を形成させた。形成された皮下腫瘍は組織学的解析を行った。また、腫瘍から RNA 及び DNA を抽出し、RNA-seq 及び whole genome bisulfite sequence を行った。また、癌のマウスモデルにおいて、通常餌投与群とコリン欠乏食投与群に分けて腫瘍形成能を比較検討した。

**【結果】** CRISPR/Cas9 によって樹立した MAT2A 遺伝子変異大腸癌細胞株は、元の大腸癌細胞株と比べ、免疫不全マウスの皮下に投与した際に形成される腫瘍の径が大きかった。また、ホルマリン固定後 HE 染色し観察したところ、MAT2A 遺伝子変異大腸癌細胞株由来の腫瘍では N/C 比の大きな未分化な腫瘍細胞が増生しており、元の大腸癌細胞株由来の腫瘍で見られる様な腺管構造は欠如していた。それぞれの腫瘍から RNA を抽出し、RNA-seq を行い網羅的な遺伝子発現解析をしたところ、元の大腸癌細胞株由来の腫瘍と比較して、MAT2A 遺伝子変異大腸癌細胞株由来の腫瘍では、KDM5 ファミリーの遺伝子発現が上昇していた。

1C metabolism を介した epigenome 状態変化と癌の関連性

