

平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 研究開発領域： エピゲノム研究に基づく診断・治療へ向けた新技術の創出
2. 研究開発課題名： ヒト消化器上皮細胞の標準エピゲノム解析と解析技術開発
3. 研究開発代表者： 金井弥栄（国立がん研究センター研究所分子病理分野）
4. 研究開発の成果

【目的】本研究では、国際ヒトエピゲノムコンソーシアム（IHEC）に参加し、年齢・性別の異なる複数の日本人検体から得られた消化器（胃・大腸・肝）・泌尿器（腎）正常上皮細胞等の高品質な標準エピゲノムプロファイルを取得し、データを公開するとともに、エピゲノム解析技術開発を行う。IHEC に参画する日本代表として国際貢献を果たすと同時に、がん等の疾患エピゲノム研究の強固な基盤を構築することを研究の目的とする。

【成果の概要】

(1) 標準エピゲノムプロファイル決定とデータ共有促進

- ・試料と情報を全グループ（金井・柴田・伊藤・鈴木グループ）間で受け渡し、全データを共同で取得した。
- ・ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針」・「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を遵守し、研究倫理審査委員会の承認を得て、文書で同意の意思を表明した国立がん研究センター受診者の手術検体より、全ての解析対象細胞を採取した。ヘルシンキ宣言を遵守し、個人情報保護に十分注意して解析を進めた。
- ・IHEC の解析要件を満たした標準エピゲノム・ゲノム情報を取得し、（全ゲノムバイサルファイトシーケンシング[WGBS]、クロマチン免疫沈降シーケンシング[ChIP-seq]、RNA-seq、WGS）、ナショナルバイオサイエンスデータベースセンター等への登録を完了した。

(2) IHEC データを用いた統合エピゲノム解析

- ・正常肝細胞（6人）においては、DNA メチル化率の個体差を示す personal differentially methylated region (pDMR) を同定して ゲノム-エピゲノム相互作用 を明らかにした。IHEC 国際科学委員会委員長 Henk Stunnenberg 博士が Cell ならびにその姉妹誌において刊行を企画する“IHEC package papers”（2016 年ブリュッセルにおける IHEC 総会時にプレスリリース予定）に加わるため、投稿しリバイス対応中である。加えて、エピゲノムの個体差を惹起する可能性のあるゲノム多型近傍の共通モチーフ等を探索した。
- ・肝炎ウイルス感染陽性症例（2人）の肝細胞の解析では、肝発がん過程で DNA メチル化異常を誘導する可能性のあるヒストン修飾異常等を同定した。
- ・大腸がん症例（右半・左半結腸計 12 人）の大腸吸収上皮細胞の解析では、右半・左半結腸のエピゲノムプロファイルの差異を明らかにした。右半結腸に CpG アイランドメチル化形質陽性がんが発生する素地が存在しないか、探索を継続している。
- ・胃がん症例（16 人）の EpCAM 陽性上皮細胞の標準エピゲノムプロファイル取得中で、ピロリ菌感染・慢性萎縮性胃炎・腸上皮化生等の胃がん発生と関わる諸因子とエピゲノムプロファイルの関係について検討を進めた。

(3) エピゲノム解析技術開発

- ・Post-bisulfite adaptor-tagging (PBAT) 法のプロトコルの最適化・改良を進めた。
- ・Sure-Select PBAT による高感度ターゲットメチローム解析のプロトコルを洗練した。
- ・高性能酸化バイサルファイト (oxBS)-seq や Tet-assited バイサルファイト (TAB)-seq と Sure-Select PBAT 解析を組み合わせた、高感度ターゲットヒドロキシメチローム解析法の開発を進めた。
- ・細胞浸透性の塩基修飾試薬ジメチル硫酸 (DMS) を用い、細胞核を単離せずに in vivo でクロマチンアクセスビリティを調べる新しい方法 DMS-Seq の開発を進めた。
- ・WGBS 解析パイプライン BMap によるマッピング、基本統計量の算出、変化点検出アルゴリズムによるメチル化ドメイン決定、メチル化ドメインランドスケープの描出までを行うパイプラインを整備した。

(4) IHEC 対応

2015 年 11 月 16-18 日に、東京において、当チームの研究経費を用いて IHEC 年次総会（IHEC Science Day & Annual Meeting 2015 Tokyo）を AMED と共同開催した（図 1）。IHEC 各ワークグループ等に引き続き参画し、解析手技とデータ共有プラットフォームの国際標準化ならびにデータ公開の両面で国際貢献に努めた。IHEC 日本チームの web ページを引き続き運営し、IHEC 関連書籍の発刊を準備するなど、開発した解析手技の普及を図るとともに、チーム外の我が国の研究者や国民への情報発信に努めた。

図1 東京における IHEC 年次総会

