

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 革新的先端研究開発支援事業
(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation

研究開発課題名： (日本語) 高次エピゲノム機構の作動原理と医学的意義の解明
(英語) Molecular basis of higher-order epigenome and its medical significance

研究開発担当者 (日本語) 発生医学研究所 教授 中尾光善
所属 役職 氏名： (英語) Professor Mitsuyoshi Nakao, Institute of Molecular Embryology and Genetics

実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究 (日本語) 核内ドメインの形成機構とその制御因子の解析
開発課題名： (英語) Analyses of the mechanism for nuclear domain formation and
its regulators

研究開発分担者 (日本語) 大学院先端科学研究部 教授 谷 時雄
所属 役職 氏名： (英語) Professor Tokio Tani, Faculty of Advanced Science and Technology

II. 成果の概要 (総括研究報告)

- ・ 研究開発代表者による報告の場合

和文：

中尾グループは、ChIP-Chip/Seq、chromosome conformation capture (3C) 法を用いて、ヒト疾患に関連した遺伝子座を解析し、細胞状態に固有の高次エピゲノムがあることを明らかにしてきた。28年度には、**a)** 乳癌のホルモン療法耐性には、新規の長鎖非コードRNA群 (*Eleanors*) によるエストロゲン受容体 *ESR1* 遺伝子座の染色体ドメインレベルの活性化が重要な役割をもつこと (論文準備中)、**b)** 成人T細胞白血病 (ATL) において、ヒト染色体に挿入された HTLV-1 ゲノムのエピゲノム解析を効率化できる方法を確立したこと (*Sci. Rep.*, 2016)、**c)** siRNA ライブラリー、イメージング

と windchrm 形態分類法を組み合わせて、核小体の形成と機能に関わる分子を同定したこと（論文準備中）、**d**) ヒストンメチル化酵素（SETD8/ PR-Set7）が老化細胞における代謝リモデリング（核小体およびミトコンドリアの活性化）を担うこと（*Cell Rep.*, 2017）、**e**) グルココルチコイドで誘導される ANGPTL4 遺伝子座において、ホルモン刺激下に転写活性なクロマチンループが形成されること、などを見出した（*PLoS One*, 2017）。

全研究開発期間において、中尾・谷の両グループがチーム内で連携し、クロマチンおよび細胞核の構造と機能、siRNA ライブラリーと化合物ライブラリー、イメージングと形態分類法などを相補的に共同し、高次エピゲノムに関する先端研究を推進して、それぞれの研究開発が本領域「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」の推進につながった。

英文：

Nakao's group has investigated the higher-order epigenome regulation in human gene loci associated with diseases, using ChIP-Chip/Seq and chromosome conformation capture (3C) methods. Our research found **a**) biological significance of long non-coding RNAs called *Eleanors* that form transcriptionally active chromosomal domain in human *ESR1* gene locus, resulting in development of hormone therapy-resistant breast cancer (paper in preparation), **b**) new efficient method to analyze the epigenome state of HTLV-1 viral genome in adult T cell leukemia (ATL) cells (*Sci. Rep.*, 2016), **c**) identification of the factors involved in nucleolar structure and function, using siRNA library and windchrm classification of microscopic images (paper in preparation), **d**) SETD8/PR-Set7 histone methyltransferase regulates senescence-associated metabolic remodeling, leading to nucleolar-mitochondrial coactivation in senescent cells (*Cell Rep.*, 2017), and **e**) higher-order chromatin loop formation in glucocorticoid-induced *ANGPTL4* gene locus (*PLoS One*, 2017).

During whole research period, both Nakao and Tani groups have closely cooperated and investigated chromatin structure and function in the cell nucleus, using siRNAs and chemical libraries, together with imaging and winchrm classification methods to characterize higher-order epigenome under various cell conditions. We have published many research papers and produced new diagnostic and therapeutic technologies.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 4件、国際誌 13件）

1. H. Tanaka, S. Takebayashi, A. Sakamoto, T. Igata, Y. Nakatsu, N. Saitoh, S. Hino, and M. Nakao. The SETD8/PR-Set7 methyltransferase functions as a barrier to prevent senescence-associated metabolic remodeling. *Cell Rep.* 18: 2148-2161, 2017.
2. M. Nakamoto, K. Ishihara, T. Watanabe, A. Hirose, S. Hino, M. Shinohara, H. Nakayama, and M. Nakao. The glucocorticoid receptor regulates the *ANGPTL4* gene in a CTCF-mediated chromatin context in human hepatic cells. *PLoS One* 12: e0169225, 2017.

3. S. Tomita, M.O. Abdalla, S. Fujiwara, T. Yamamoto, H. Iwase, M. Nakao, and N. Saitoh. Roles of long non-coding RNAs in chromosome domains. **Wiley Interdiscip. Rev. RNA**, 8: 2017.
4. X. Wang, S. Liang, Y. Sun, H. Li, F. Endo, M. Nakao, N. Saitoh, and L. Wu. Analysis of estrogen receptor β gene methylation in autistic males in a Chinese Han population. **Metab. Brain Dis.** (in press).
5. W.A. Hassan, S. Takebayashi, M.O.A. Abdalla, K. Fujino, S. Kudoh, Y. Motooka, Y. Sato, Y. Naito, K. Higaki, J. Wakimoto, S. Okada, M. Nakao, Y. Ishikawa, and T. Ito. Correlation between histone acetylation and expression of Notch1 gene in human lung carcinoma and its role in the origin of combined small cell lung carcinoma. **Lab. Invest.** (in press).
6. K. Ishihara, M. Nakamoto, and M. Nakao. DNA methylation-independent removable insulator controls chromatin remodeling at the HOXA gene locus via retinoic acid signaling. **Hum. Mol. Genet.** 25: 5383-5394, 2016.
7. T. Tsutsumi, K. Iwao, H. Hayashi, T. Kawaji, T. Inoue, S. Hino, M. Nakao, and H. Tanihara. Potential neuroprotective effects of an LSD1 inhibitor in retinal ganglion cells via p38 MAPK γ activity. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.** 57: 6461-6473, 2016.
8. K. Nakamura, Y. Baba, K. Kosumi, K. Harada, H. Shigaki, K. Miyake, Y. Kiyozumi, M. Ohuchi, J. Kurashige, T. Ishimoto, M. Iwatsuki, Y. Sakamoto, N. Yoshida, M. Watanabe, M. Nakao, and H. Baba. UHRF1 regulates global DNA hypomethylation and is associated with poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. **Oncotarget** 7: 57821-57831, 2016.
9. S. Hino, K. Kohrogi, and M. Nakao. Histone demethylase LSD1 controls the phenotypic plasticity of cancer cells. **Cancer Sci.** (Reviews) 107: 1187-1192, 2016.
10. P. Miyazato, H. Katsuya, A. Fukuda, Y. Uchiyama, M. Matsuo, M. Tokunaga, S. Hino, M. Nakao, and Y. Satou. Application of targeted enrichment to next-generation sequencing of retroviruses integrated into the host human genome. **Sci. Rep.** 6: 28324, 2016.
11. T. Nakayama, N. Saitoh, K. Morotomi-Yano, KI. Yano, M. Nakao, and H. Saitoh. Tunicamycin induces discharge of the nucleus and chromatin fibers to extracellular spaces in a range of myeloid cell lines. **Cell Biol. Int.** 40: 597-602, 2016.
12. Y. Xi, W. Shen, L. Ma, M. Zhao, J. Zheng, S. Bu, S. Hino, and M. Nakao. HMGA2 promotes adipogenesis by activating C/EBP β -mediated expression of PPAR γ . **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 472: 617-623, 2016.
13. A. Matsumoto, C. Sakamoto, H. Matsumori, J. Katahira, Y. Yasuda, K. Yoshidome, M. Tsujimoto, I.G. Goldberg, N. Matsuura, M. Nakao, N. Saitoh, and M. Hieda. Loss of the integral nuclear envelope protein SUN1 induces alteration of nucleoli. **Nucleus** 7: 68-83, 2016.
14. 山本達郎、中尾光善、齊藤典子。クロマチンから核構造へ、遺伝子発現制御機構—クロマチン、転写制御、エピジェネティクス— (田村隆明・浦聖恵 編)、東京化学同人、231-242, 2017.
15. 日野信次朗、阿南浩太郎、高瀬隆太、興梠健作、中尾光善。FAD 依存性ヒストン脱メチル化酵素による遺伝子制御、実験医学増刊 (遺伝子制御の新たな主役 栄養シグナル)、羊土社、34: 88-94, 2016.
16. 興梠健作、日野信次朗、中尾光善。環境エピゲノムと疾患、**Bio Clinica** (エピゲノムの遺伝)、北隆館、31: 23-27, 2016.
17. 中尾光善。序論、エピジェネティクスと環境科学 (中尾光善 企画)、最新医学 (印刷中)

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 興梶健作、日野信次朗、阿南浩太郎、高瀬隆太、中尾光善、ヒストン脱メチル化酵素 LSD1 の白血病代謝における役割. 第 39 回日本分子生物学会年会 (シンポジウム: がんとかん幹細胞の代謝特性) 平成 28 年 12 月 2 日 (横浜市) 国内
2. 中尾光善、日野信次朗. エピジェネティクスとエネルギー代謝. 第 39 回日本分子生物学会年会 (シンポジウム: エピゲノム制御: 疾患発症における意義) 平成 28 年 12 月 1 日 (横浜市) 国内
3. 斉藤典子、アブダラ・モハメド、藤原沙織、山本達郎、富田さおり、前原一満、大川恭行、中尾光善. 乳がんにおいて非コード RNA 群が規定する活性染色体ドメイン. 第 39 回日本分子生物学会年会 (シンポジウム: 発生・老化・疾患をつかさどるクロマチンイベント) 平成 28 年 11 月 30 日 (横浜市) 国内
4. 斉藤典子、アブダラ・モハメド、藤原沙織、山本達郎、富田さおり、前原一満、大川恭行、中尾光善. 乳がんの治療耐性獲得に関わる核内非コード RNA エレノア. 第 89 回日本生化学会大会 (シンポジウム: クロマチンの動態変動) 平成 28 年 9 月 25 日 (仙台市) 国内
5. 中尾光善. エピジェネティクスと現代人の体質学. 第 56 回リンパ網内系学会総会・第 26 回日本樹状細胞研究会 (合同特別講演). 平成 28 年 9 月 2 日 (熊本市) 国内
6. 中尾光善. 代謝メモリー (DOHaD 説) を科学する. 第 52 回日本周産期・新生児医学会学術集会 (教育講演). 平成 28 年 7 月 17 日 (富山市) 国内
7. 中尾光善. 細胞老化に関わるエピゲノム因子の探索と解析. 第 43 回日本毒性学会学術年会 (シンポジウム: エピジェネティック毒性評価に向けたバイオマーカー探索とその関連研究の動向) 平成 28 年 6 月 30 日 (名古屋市) 国内
8. 中尾光善. エネルギー代謝とエピジェネティクス. 第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会 (会長特別企画: 先制医療の実現に向けて) 平成 28 年 5 月 14 日 (京都市) 国内
9. 中尾光善. エピジェネティクス (生命のプログラム) の基礎. 第 119 回日本小児科学会学術集会 (シンポジウム: エピジェネティクスと子供の成長) 平成 28 年 5 月 14 日 (札幌市) 国内
10. 中尾光善. がんとかんエピジェネティクスの新展開. 南九州腫瘍研究会 (特別講演) 平成 28 年 12 月 8 日 (鹿児島市) 国内
11. 中尾光善. エピジェネティクスと代謝メモリー. 第 23 回アミノ酸セミナー (特別講演) 平成 28 年 11 月 18 日 (東京) 国内
12. M. Nakao. Epigenetic regulation of cellular energy metabolism. RIKEN CDB-IMEG Joint Seminar. November 7, 2016 (Kumamoto, Japan) 国内
13. S. Hino, K. Anan, R. Takase, K. Kohrogi and M. Nakao. Regulation of cellular metabolism by histone demethylase LSD1. The 26th Hot Spring Harbor International Symposium (Trans-Omics: New Approaches in Biology and Medicine) November 2, 2016 (Fukuoka, Japan) 国内
14. 中尾光善. エピジェネティクスと現代人の体質学. 第 35 回分子病理学研究会 (特別講演) 平成 28 年 7 月 16 日 (東京) 国内
15. 中尾光善. エピジェネティクス機構による細胞制御と病態. 第 23 回肝細胞研究会 (特別講演) 平成 28 年 7 月 7 日 (大阪市) 国内
16. 中尾光善. エピジェネティクスとエネルギー代謝. 第 11 回臨床アミノ酸研究会 (特別講演) 平成 28 年 6 月 18 日 (東京) 国内

17. 中尾光善. エピジェネティクスとエネルギー代謝. 第 10 回日本エピジェネティクス研究会年会、平成 28 年 5 月 19 日（大阪市）国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 中尾光善. あなたと私はどうして違う？ 体質と遺伝子のサイエンス、日本成人病予防協会主催 第 42 回健康学習セミナーin 熊本（復興支援セミナー）平成 29 年 2 月 12 日（熊本市）国内

(4) 特許出願

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 革新的先端研究開発支援事業
(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation

研究開発課題名： (日本語) 高次エピゲノム機構の作動原理と医学的意義の解明
(英語) Molecular basis of higher-order epigenome and its medical significance

研究開発担当者 (日本語) 発生医学研究所 教授 中尾光善
所属 役職 氏名： (英語) Professor Mitsuyoshi Nakao, Institute of Molecular Embryology and Genetics

実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究 (日本語) 核内ドメインの形成機構とその制御因子の解析
開発課題名： (英語) Analyses of the mechanism for nuclear domain formation and its regulators

研究開発分担者 (日本語) 大学院先端科学研究部 教授 谷 時雄
所属 役職 氏名： (英語) Professor Tokio Tani, Faculty of Advanced Science and Technology

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発分担者による報告の場合

研究開発代表者：熊本大学発生医学研究所 教授 中尾光善 総括研究報告を参照。

谷グループは、核内ドメインの形成に影響を与える化合物を放線菌培養上清ライブラリーを用いて探索し、得られた化合物の作用機序の観点から高次エピゲノム機構を解析した。平成28年度では、a) 核膜近傍に形成される構造体 Nuage (トランスポゾンの発現を抑制しゲノムの恒常性維持に関わる piRNA 合成に必要な細胞内ドメイン)の形成阻害化合物を2種類新たに同定し、それらの作用機作解析から、Nuage の形成がリン酸化及び脱リン酸化によって制御されていることを明らかにした(論文準備中)。また、分裂酵母の染色体セントロメア上に顆粒状ドメインを形成するスプライシング因

子 Prp14p とセントロメア領域から転写される ncRNA (*dg* ncRNA)に含まれるイントロンが協同してヘテロクロマチン形成を誘導する新たな機構を解明した(PLOS Genetics, 2017)。b) 核内ドメインの一つ PcG body の形成を阻害する新規化合物 2052-46a の作用機構について研究を進め、構成因子 BMI1 のリン酸化により PcG body の分散が誘導されることを解明した。また、細胞核の分葉化を惹起する化合物 2057-9a を用いた解析から、好中球細胞核などに見られる核の分葉化が、Protein kinase C の活性化、RNA 結合蛋白質 YB-1 のリン酸化、チューブリン重合とモーター蛋白質 Dynein の活性化という一連の作用によって引き起こされることを解明した。また、成人 T 細胞白血病(ATL)に見られる核の分葉化（フラワー細胞と呼ばれ発症の診断基準となっている）も同様な仕組みで起こっている可能性を明らかにした（論文準備中）。更に、細胞核の分葉化を抑制し元の形態に戻す化合物をスクリーニングにより 22 種類同定した。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 2 件）

1. M. Mutazono, M. Morita, C. Tsukahara, M. Chinen, S. Nishioka, T. Yumikake, K. Dohke, M. Sakamoto, T. Ideue, J. Nakayama, K. Ishii, and T. Tani. The intron in centromeric noncoding RNA facilitates RNAi-mediated formation of heterochromatin. **PLOS Genetics**, 13(2), e1006606, 1-25, 2017.
2. R. Satoh, Y. Matsumura, A. Tanaka, M. Takada, Y. Ito, K. Hagihara, M. Inari, A. Kita, A. Fukao, T. Fujiwara, S. Hirai, T. Tani, and R. Sugiura. Spatial regulation of the KH domain RNA-binding protein Rnc1 mediated by a Crm1-independent nuclear export system in *Schizosaccharomyces pombe*. **Mol. Microbiol.**, 10.1111/mmi.13636, 1-21, 2017.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. M. Mutazono, M. Morita, C. Tsukahara, M. Chinen, J. Nakayama, K. Ishii and T. Tani. The *cis*-element in the centromeric *dg* ncRNA intron promotes dimethylation of Histone H3K9 in fission yeast. RNA 2016, June 28, 2016 (Kyoto, Japan) ポスター発表、国内
2. Y. Cho, T. Ideue, K. Nishimura, N. Araki and T. Tani. Centromeric non-coding RNP complexes regulate chromosome segregation. RNA 2016, June 28, 2016 (Kyoto, Japan) ポスター発表、国内
3. K. Nakashima, Y. Kojimoto, S. Maeda, M. Igarashi and T. Tani. Identification and characterization of natural compounds that inhibit nuclear mRNA export. RNA 2016, June 28, 2016 (Kyoto, Japan) ポスター発表、国内
4. 野口貴史、平田久峰、池田智哉、小宮依琳、五十嵐雅之、谷時雄. RNA 結合タンパク質 YB-1 の異所的リン酸化は HeLa 細胞核の分葉化を引き起こす. RNA フロンティアミーティング 2016、平成 28 年 9 月 2 日（北海道ニセコ）口頭発表、国内

5. 長裕紀子、井手上賢、西村佳菜子、荒木令江、谷時雄. セントロメア由来 non-coding RNA による RBMX を介した染色体分離制御機構の解析. RNA フロンティアミーティング 2016、平成 28 年 9 月 2 日（北海道ニセコ）口頭発表、国内
6. 石川聡美、北折康訓、竹下友佳子、Ramesh Pillai、五十嵐雅之、吉村華夏、石川勇人、谷時雄. Nuage 形成に影響を与える天然化合物のスクリーニングと解析. 第 39 回日本分子生物学会、平成 28 年 11 月 30 日（横浜市）ポスター発表、国内
7. 牟田園正敏、長裕紀子、塚原千紘、西村佳菜子、坂本実鈴、井手上賢、中山潤一、石井浩二郎、荒木令江、谷時雄. セントロメア ncRNA による染色体動態の制御. 第 39 回日本分子生物学会、平成 28 年 12 月 1 日（横浜市）口頭発表、国内
8. 池田智哉、野口貴史、平田久峰、小宮依琳、五十嵐雅之、谷時雄. HeLa 細胞核の分葉化を誘導する Teleocidin A1 の作用機構解析. 第 39 回日本分子生物学会、平成 28 年 12 月 1 日（横浜市）ポスター発表、国内
9. 河野貴亮、井手上賢、荒木令江、谷時雄. 細胞分裂の制御に関わる Satellite I RNP 複合体の構成因子 YB-1 の解析. 第 39 回日本分子生物学会、平成 28 年 12 月 1 日（横浜市）ポスター発表、国内
10. 牟田園正敏、森田京、塚原千紘、知念まどか、中山潤一、石井浩二郎、谷時雄. 分裂酵母セントロメア dg ncRNA イントロンに存在するシスエレメントは Histone H3K9 のジメチル化を促進する. 第 39 回日本分子生物学会、平成 28 年 12 月 1 日（横浜市）ポスター発表、国内
11. 長裕紀子、井手上賢、荒木令江、谷時雄. コヒーシン制御因子を介したセントロメア non-coding RNP 複合体による染色体分離機構. 第 39 回日本分子生物学会、平成 28 年 12 月 1 日（横浜市）ポスター発表、国内
12. 山口拓也、田中千晶、佐堂晃太、小井手俊輝、平田久峰、吉村華夏、石川勇人、五十嵐雅之、谷時雄. 放線菌培養上清を用いた Polycomb group body の形成を阻害する化合物の同定と解析. 第 39 回日本分子生物学会、平成 28 年 12 月 1 日（横浜市）ポスター発表、国内
13. 野口貴史、平田久峰、池田智哉、小宮依琳、五十嵐雅之、佐藤賢文、谷時雄. 細胞核の形を決めるしくみ：核分葉化のケミカルバイオロジー. 第 34 回染色体ワークショップ、平成 29 年 1 月 12 日（木更津市）口頭発表、国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

(4) 特許出願