

ヒトパピローマウイルス（HPV）関連中咽頭がんの ゲノム・エピゲノム異常の全体像を解明

1. 発表者：

安藤 瑞生（東京大学医学部附属病院 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 講師）
齊藤 祐毅（東京大学医学部附属病院 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 助教）
山嵜 達也（東京大学医学部附属病院 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 教授）

2. 発表のポイント：

- ◆ヒトパピローマウイルス（HPV）が引き起こす中咽頭がんにおいて、エピゲノム変化の標的が遺伝子の転写開始点にあることを明らかにしました。
- ◆HPV 関連中咽頭がんを高 DNA メチル化腫瘍の一群が存在することを見出し、分子生物学的特性を明らかにしました。
- ◆この研究成果は、HPV 関連がんにおいて、子宮頸がんよりも近年増加している中咽頭がんの制圧が急務である現在、病態解明と治療の最適化に役立つものと期待されます。

3. 発表概要：

ヒトパピローマウイルス（HPV、注 1）によって引き起こされる中咽頭がん（HPV 関連中咽頭がん）は、同じウイルスを原因とする子宮頸がんよりも患者数の増加が著しい悪性腫瘍であり、比較的若年者に生じることから、その克服が大きな課題となっています。HPV と関連がない中咽頭がんとは比べてがん関連遺伝子変異などゲノム（注 2）の異常が少ない一方、DNA メチル化などのエピゲノム（注 3）の異常が多いことが知られていますが、その全体像は明らかになっていません。

東京大学医学部附属病院耳鼻咽喉科・頭頸部外科の安藤瑞生講師らは、米国カリフォルニア大学の Joseph Califano 教授らと共同で、次世代シーケンサー（注 4）を用いて HPV 関連中咽頭がんのゲノムにみられる遺伝子異常、エピゲノム異常の全体像を解明しました。そして、エピゲノム異常の標的が遺伝子転写開始点にあることを世界で初めて明らかにしました。また、HPV 関連中咽頭がんの患者さんの中に、DNA メチル化が高度に生じている（高 DNA メチル化腫瘍）症例を見出し、この一群に特徴的な発がん経路の活性化があることも解明しました。

この成果は、HPV 関連中咽頭がんの病態解明に貢献し、治療の最適化の実現に役立つものと期待されます。本研究は、文部科学省科学研究費（国際共同研究加速基金）の支援を受けて行われ、日本時間 5 月 16 日に英国科学誌 *Nature Communications*（オンライン版）にて発表されました。

4. 発表内容：

【研究の背景】

ヒトパピローマウイルス（HPV）によって引き起こされる中咽頭がんは「HPV 関連中咽頭がん」と呼ばれ、飲酒や喫煙によって引き起こされる中咽頭がんとは性質が大きく異なることが知られています。同じウイルスを原因とする子宮頸がんよりも近年の患者数増加が著しく、比較的若年者に生じることから、その制圧が世界的な課題となっています。これまでの研究により、HPV 関連中咽頭がんにはがん関連遺伝子変異などのゲノム異常が少ない一方で、DNA メチル化などのエピゲノム異常に富むことが知られています。しかし、エピゲノムの全体像は

明らかになっていません。今回、東京大学医学部附属病院耳鼻咽喉科・頭頸部外科の安藤瑞生講師、齊藤祐毅助教、山嵜達也教授らは、米国カリフォルニア大学サンディエゴ校の Joseph Califano 教授らと共同で、HPV 関連中咽頭がんのゲノム・エピゲノム異常の全体像解明を試みました。

【研究内容】

研究グループは、HPV 関連中咽頭がんの腫瘍組織 47 例、および健常者の中咽頭組織 25 例を対象として、次世代シーケンサーを用いたゲノム・エピゲノムの統合的解析を行いました。具体的には遺伝子変異解析、遺伝子発現解析、DNA メチル化解析を実施しました。さらに、ヒトの腫瘍組織をマウスに移植して増殖させる PDX (Patient-Derived Xenograft) という技術を用いて、エピゲノム調節機構のひとつであるヒストン修飾 (注 5) も解析しました。得られた結果を検証するために、The Cancer Genome Atlas (TCGA、注 6) の公開データベースを使用したコンピューター解析を行い、また、細胞株を用いた分子生物学的実験も実施しました。

以上の研究により、HPV 関連中咽頭がんの腫瘍組織は正常組織とは異なる DNA メチル化状態を示し、従来注目されてきた遺伝子の調節領域である「プロモーター領域 (注 7)」よりも、むしろ「転写開始点」における DNA メチル化状態の変化が遺伝子発現と強く関連していることを突き止めました (図 1)。TCGA データベースを用いた検証実験により、中咽頭がんだけでなく乳がんにおいても、転写開始点における DNA メチル化状態の変化がより重要であることが示唆されました。また、抑制性のヒストン修飾 (H3K9me3) が転写開始点において DNA メチル化と協調的にはたっている可能性も示されました。これらの結果は、発がんにつながるエピゲノム異常の解明において、転写開始点への注目を促す画期的な発見です。

続いて、DNA メチル化状態を指標にして HPV 関連中咽頭がん症例を解析した結果、患者さんの中に高メチル化腫瘍に分類される一群が存在することを同定しました (図 2)。高メチル化腫瘍群では、Myc 経路という発がん経路の活性化が見られ (図 3)、この事実は細胞株を用いた分子生物学的実験によって裏付けられました。過去の基礎的研究で Myc によるエピゲノムの調節機構が報告されていましたが、実際の HPV 関連中咽頭がんにおいて示された初めての報告となります。

【社会的意義】

これらの成果により HPV 関連中咽頭がんのゲノム・エピゲノムの全体像が明らかとなり、HPV 関連中咽頭がんの病態解明に大きな進展をもたらしました。今後の治療の最適化の実現にも役立つものと期待されます。本研究は、文部科学省科学研究費 (国際共同研究加速基金) の支援を受け、東京大学医学部附属病院耳鼻咽喉科・頭頸部外科と米国カリフォルニア大学サンディエゴ校 Moores がんセンター頭頸科との共同研究チームによって行われました。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「*Nature Communications*」 (オンライン版：5 月 16 日)

論文タイトル：Chromatin dysregulation and DNA methylation at transcription start sites associated with transcriptional repression in cancers.

著者：Mizuo Ando*, Yuki Saito, Guorong Xu, Nam Q. Bui, Kate Medetgul-Ernar, Minya Pu, Kathleen Fisch, Shuling Ren, Akihiro Sakai, Takahito Fukusumi, Chao Liu, Sunny Haft, John Pang, Adam Mark, Daria A. Gaykalova, Theresa Guo, Alexander V

Favorov, Srinivasan Yegnasubramanian, Elana J. Fertig, Patrick Ha, Pablo Tamayo,
Tatsuya Yamasoba, Trey Ideker, Karen Messer & Joseph A. Califano*

DOI 番号 : 10.1038/s41467-019-09937-w

アブストラクト URL : <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09937-w>

6. 問い合わせ先 :

<研究内容に関するお問い合わせ先>

東京大学医学部附属病院 耳鼻咽喉科・頭頸部外科

講師 安藤 瑞生 (あんどう みずお)

電話 : 03-5800-8665 (直通) FAX : 03-3814-9486 (直通)

E-mail : andom-tky@umin.ac.jp

<広報担当者連絡先>

東京大学医学部附属病院

パブリック・リレーションセンター (担当 : 渡部、小岩井)

電話 : 03-5800-9188 (直通)

E-mail : pr@adm.h.u-tokyo.ac.jp

7. 用語解説 :

(注1) ヒトパピローマウイルス (HPV)

ヒト乳頭腫ウイルスとも言われ、疣 (いぼ) を形成することから名付けられました。多くの人が生涯で一度は感染するとされている一般的なウイルスです。発がんリスクが高いといわれる HPV16 型や 18 型でも、感染したウイルスが自然に排除されることもあります、長い間排除されないまましていると子宮頸がんや中咽頭がんが発生すると考えられています。

(注2) ゲノム

ある生物のもつすべての遺伝情報、あるいはこれを保持する DNA の全塩基配列のこと。

(注3) エピゲノム

細胞の形質を娘細胞に伝達する仕組みのうち、DNA の塩基配列以外の要素のことを指します。遺伝子発現の制御に重要な役割を果たし、発がんにおいて重要なメカニズムと考えられています。DNA メチル化やヒストン修飾による遺伝子発現の制御が代表的な機構です。

(注4) 次世代シーケンサー

大量同時並列シーケンサーとも呼ばれ、従来の手法と比較して極めて高速かつ大量に DNA の塩基配列を解読できる機器。近年のゲノム・エピゲノム研究の急速な進歩には、次世代シーケンサーの性能向上が大きく貢献しています。

(注5) ヒストン修飾

ヒストンは細胞核に存在するタンパクで、DNA はヒストンに巻き付くことによって安定した構造として存在しています。ヒストンの一部分はアセチル化、メチル化、リン酸化、モノユビキチン化などさまざまな修飾を受けており、遺伝子発現を制御するエピゲノムの重要な要素です。

(注6) The Cancer Genome Atlas (TCGA)

2006 年から米国で開始された大型がんゲノムプロジェクトで、ゲノム異常・DNA メチル化異常、遺伝子・タンパク質発現異常について網羅的な解析を行っています。現在では 30 種類を超えるがんについて、巨大なデータリソースとして公開されています。

(注7) プロモーター領域

転写 (DNA から RNA を合成する段階) に関与し、遺伝子発現のタイミングや発現量の制御に重要な役割をもつ領域です。実際に転写が始まる位置は、転写開始点と呼びます。プロモーター領域は転写開始点のやや上流に位置し、ここに転写因子というタンパクが結合して転写が始まります。

9. 添付資料：

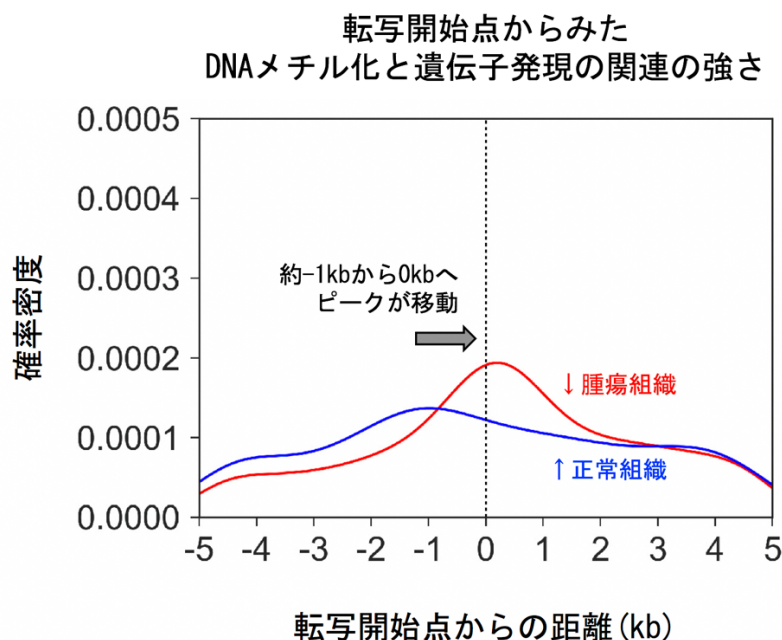


図 1. DNA メチル化状態の変化が遺伝子発現に関連するゲノム上の位置を、約 2 万遺伝子の総和として転写開始点からの距離で示している。青で示す正常組織では転写開始点よりも約 1kb 上流 (遺伝子プロモーター領域) にピークがあるのに対し、赤で示す腫瘍組織のピークは 0kb (転写開始点) にほぼ一致している。

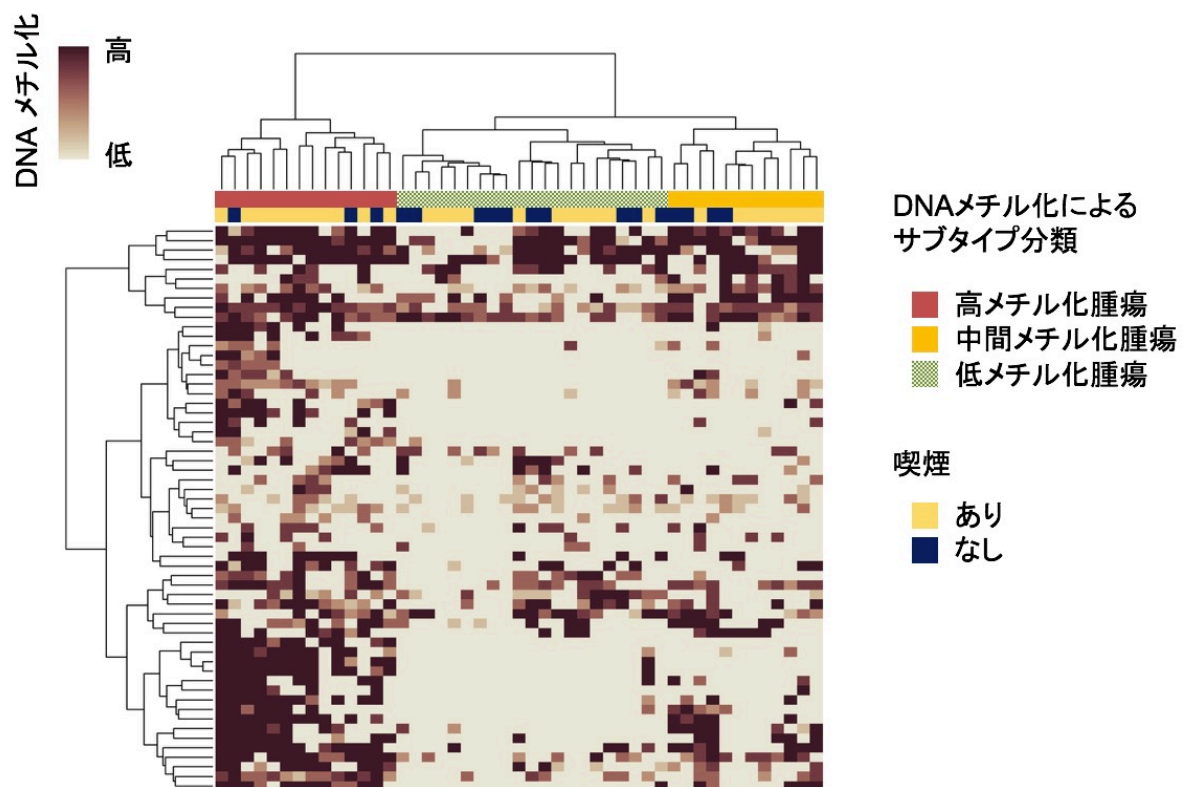


図 2. HPV 関連中咽頭がん 47 症例を、DNA メチル化状態を指標としてクラスタリング解析した。左端の 14 症例が高メチル化腫瘍と分類される。

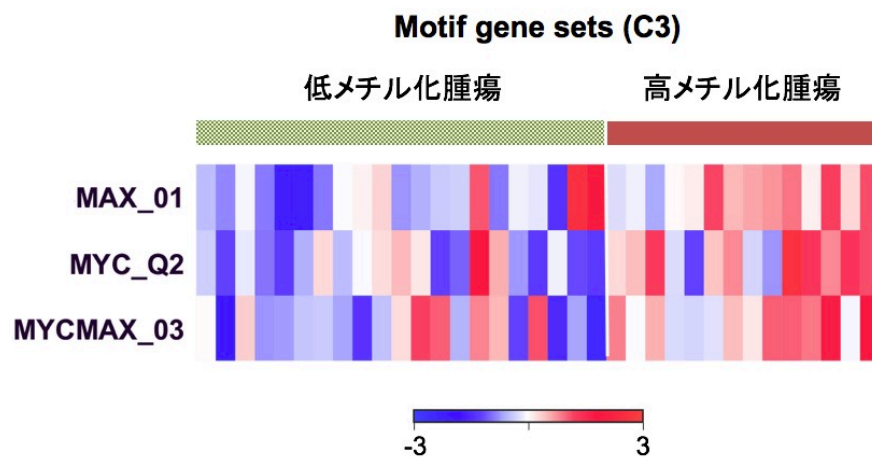


図 3. 高メチル化腫瘍と低メチル化腫瘍の遺伝子発現の差を解析した。右側の高メチル化腫瘍では、Myc 経路が活性化している（赤色で示す）ことが示唆された（Myc は Max という分子と複合体を形成してはたらく）。この結果は、細胞株を用いた分子生物学的実験によって裏付けられた。