

研究題目 核内ダイナミクスを介した AIRE 依存的発現制御基盤の解明

研究組織

研究代表者：堀家 慎一（金沢大学学際科学実験センター）

共同研究者：松本 満（徳島大学先端酵素学研究所）

研究分担者：

【1】研究の概要

[1-1] 本研究の目的・概要

フィンランドに多数の疾患家系が存在する自己免疫性多腺性内分泌疾患 I 型の原因遺伝子として知られる *AIRE* 遺伝子は胸腺髄質上皮細胞で高く発現しており、自己のゲノムから発現するプロテオームを網羅的に自己抗原として提示し、それに反応する T 細胞を除去し（ネガティブセレクション）、自己抗原に対する免疫寛容を成立させるという重要な任務を課せられている。しかしながら、*AIRE* 遺伝子が同定されて 20 年余りが経とうとする現在、*AIRE* が司る転写制御の分子基盤については未だ不明のままである。そこで、我々は *AIRE* が核マトリクスに作用し、グローバルに組織特異的遺伝子群の転写を制御している可能性があるのではないかと考え、*AIRE* の細胞生物学的視点に立った機能解析により転写因子としての機能とは異なる新たな *AIRE* の分子基盤を明らかにすることを目的とした。

[1-2] 研究の方法・経過

AIRE 制御染色体ドメインの一つである *INS2*, *IGF2* 遺伝子領域 (11p15.5) は、ゲノム刷り込みを受ける領域であり、その解析には、親由来を区別した解析が必須となる。そこで、申請者独自の親由来の明らかなヒト 11 番染色体を一本保持したマウス A9 雑種細胞を用いて、親アレル特異的な遺伝子発現制御や核内ダイナミクスの解明に取り組む。また、マウス A9 雑種細胞ではマウスの胸腺髄質細胞と比べ *AIRE* の発現量が十二分に高くなくことからマウス A9 雑種細胞へヒト *AIRE* 遺伝子を強制的に発現させた細胞を樹立し解析する。

【2】研究成果

[2-1] 本共同研究で明らかになった研究成果

ヒト *AIRE* 遺伝子を強制的に発現させたマウス A9 雑種細胞を樹立し、*INS2*, *IGF2*, *H19*, *KCNQ10T1* 遺伝子に関してリアルタイム PCR 法で遺伝子発現量を解析した結果、これらのゲノム刷り込みを受ける遺伝子発現に差は認められなかった。一方、ヒト 11 番染色体ペインティングプローブを用いた DNA-FISH 解析において、興味深いことに、*AIRE* の強制発現により 11 番染色体の核内におけるテリトリーの大きさに違いがあることが明らかとなった。現在、*INS2*, *IGF2* 遺伝子領域の核内配置と 11 番染色体テリトリーとの関連について解析中である。

[2-2] 本共同研究による波及効果及び今後の発展性

本共同研究によって得られた結果は、*AIRE* の分子基盤を読み解く上で、大きなシーズとなりうる可能性が示唆された。今後、「*AIRE* と染色体テリトリー」の視点からグローバルな組織特異的遺伝子発現制御を明らかにすることで、自己免疫疾患に対する発症機序の解明や治療法に繋がる可能性が期待される。

【3】主な発表論文等

[3-1] 論文発表

1. Togashi T, Meguro-Horike M, Nagaya S, Sugihara S, Ichinohe T, Araisio Y, Yamaguchi K, Mori K, Imai Y, Kuzasa K, **Horike SI**, Asakura H, Watanabe A, Morishita E. (2020) “Molecular genetic analysis of inherited protein C deficiency caused by the novel large deletion across two exons of PROC.” *Thromb Res.*, 188:115-118. doi: 10.1016/j.thromres.2020.03.009.
2. Hazawa M, Sakai K, Kobayashi A, Yoshino H, Iga Y, Iwashima Y, Lim KS, Chih-Cheng

- Voon D, Jiang YY, **Horike SI**, Lin DC, Wong RW. (2020) “Disease-specific alteration of karyopherin- α subtype establishes feed-forward oncogenic signaling in head and neck squamous cell carcinoma.” *Oncogene*, 39(10):2212-2223, doi: 10.1038/s41388-019-1137-3
3. Togashi T, Nagaya S, Nagasawa M, Meguro-Horike M, Nogami K, Imai Y, Kuzasa K, Sekiya A, **Horike SI**, Asakura H, Morishita E. (2020) “Genetic analysis of a compound heterozygous patient with congenital factor X deficiency and regular replacement therapy with a prothrombin complex concentrate.” *International journal of hematology*, 111(1):51-56, doi: 10.1007/s12185-019-02767-y.
 4. Taketani H, Nishikawa T, Nakajima H, Kodo K, Sugimoto S, Aoi W, **Horike S**, Meguro-Horike M, Ishiba H, Seko Y, Umemura A, Yamaguchi K, Moriguchi M, Yasui K, Itoh Y. (2019) “Aging-associated impairment in metabolic compensation by subcutaneous adipose tissue promotes diet-induced fatty liver disease in mice.” *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 12, 1473-1492. doi: 10.2147/DMSO.S214093.
 5. Kometani M, Yoneda T, Demura M, Aono D, Gondoh Y, Karashima S, Nishimoto K, Yasuda M, **Horike SI**, Takeda Y. (2019) “Genetic and epigenetic analyses of aldosterone-producing adenoma with hypercortisolemia.” *Steroids*, 151:108470. doi: 10.1016/j.steroids.2019.108470.
 6. Iwasaki H, Shimura T, Yamada T, Okuda Y, Natsume M, Kitagawa M, **Horike SI**, Kataoka H. (2019) “A novel urinary microRNA biomarker panel for detecting gastric cancer.” *Journal of gastroenterology*, 54(12):1061-1069. doi: 10.1007/s00535-019-01601-w.
 7. Ichinose W, Cherepanov SM, Shabalova AA, Yokoyama S, Yuhi T, Yamaguchi H, Watanabe A, Yamamoto Y, Okamoto H, **Horike S**, Terakawa J, Daikoku T, Watanabe M, Mano N, Higashida H, Shuto S. (2019) “Development of a Highly Potent Analogue and a Long-Acting Analogue of Oxytocin for the Treatment of Social Impairment-Like Behaviors.” *Journal of Medicinal Chemistry*, 62(7):3297-3310. doi: 10.1021/acs.jmedchem.8b01691.
 8. Nishimura T, Nakata A, Chen X, Nishi K, Meguro-Horike M, Sasaki S, Kita K, **Horike SI**, Saitoh K, Kato K, Igarashi K, Murayama T, Kohno S, Takahashi C, Mukaida N, Yano S, Soga T, Tojo A, Gotoh N. (2019) “Cancer stem-like properties and gefitinib resistance are dependent on purine synthetic metabolism mediated by the mitochondrial enzyme MTHFD2.” *Oncogene*, 38(14):2464-2481. doi: 10.1038/s41388-018-0589-1.
- [3-2]学会発表
1. 有泉 桜子, 目黒 牧子, 山村 崇尚, 岡田 源作, **堀家 慎一**「社会行動を司るオキシトシン受容体遺伝子の発現制御機構の解明」日本生化学会北陸支部第 37 回大会, 福井, 2019 年 6 月 1 日 (口頭発表)
 2. **堀家 慎一**「遺伝子スイッチ (エピゲノム) が壊れると・・・」日本遺伝学会第 91 回大会 公開市民講座, 福井, 2019 年 9 月 14 日 (口頭発表)
 3. **堀家 慎一**, 岡田 源作, 目黒 牧子「統合失調症責任遺伝子座 SATB2 領域の解析」第 6 回北陸エピジェネティクス研究会, 福井, 2019 年 10 月 30~31 日 (口頭発表)
 4. 目黒 牧子, 赤木 佐千代, 岡田 源作, Janine M. LaSalle, Dag H. Yasui, **堀家 慎一**「PWS minimal critical region has a potential role for the expression of distal paternal expressed genes, MAGEL2 and NDN」第 42 回日本分子生物学会年会, 福岡, 2019 年 12 月 3~6 日 (口頭発表)
 5. **堀家 慎一**, 岡田 源作, 目黒 牧子「PWS minimal critical region has a potential role for the expression of distal paternal expressed genes, MAGEL2 and NDN」HOKURIKU RNA CLUB, 金沢, 2019 年 12 月 9 日 (口頭発表)
- [3-3]成果資料等
なし
- 【4】今後の課題等**
今回の解析では, マウス A9 雑種細胞というアーティフィシャルな実験系を用いたため, 本研究成果が実際, 正常なヒト細胞やマウス個体で認められるか不明である。今後, 正常なヒト細胞やマウス個体での解析を進める予定である。