

○ 国立がん研究センターとの共同研究

「慢性炎症で誘導される幹細胞型エピゲノムが大腸発がんに与える影響の解明」

(エピゲノム創薬研究室 リュウ ユウ 特任助教)

(概要)

慢性炎症によるエピゲノム異常誘発には、TNF が重要であることが知られている。申請者は、慢性炎症によって胃上皮細胞が腸上皮細胞に変わる『細胞運命転換』自体で、エピゲノム異常の蓄積が加速する前がん状態となることを示した。また、共同研究者は、大腸上皮細胞が TNF によって幹細胞型エピゲノムを獲得することを見出した。

これらのことから、申請者は、TNF で誘発される幹細胞型エピゲノムは、一部の大腸上皮細胞が死ぬか、エピゲノム異常の蓄積を加速させてがん化するかの『運命決定の臨界点』を反映していると考えた。しかしながら、この運命決定の臨界点形成の仕組みや発がんに与える影響は不明のままである。

そこで本研究では、TNF 処理前後のマウス大腸オルガノイドのクロマチンアクセシビリティをシングルセルレベルで解析し、(1) 幹細胞型エピゲノム形成の機序、(2) 幹細胞型エピゲノム形成の発がんへの影響を明らかにすることを目的とする

(研究成果報告)

慢性炎症によるエピゲノム異常誘発には、サイトカインシグナルが重要であることが知られている。研究代表者は、慢性炎症によって胃上皮細胞が腸上皮細胞へと変化する「細胞運命転換」過程で、エピゲノム異常が蓄積し、前がん状態が加速することを示した。また、共同研究者は、TNF- $\alpha$  処理マウス大腸オルガノイドのヒストン修飾解析から、幹細胞型エピゲノムの出現を見出した。これらのことから、幹細胞型エピゲノムの獲得が「運命決定の臨界点」を反映していると考えた。そこで本共同プロジェクトでは、複数のサイトカイン処理大腸オルガノイドを用いてクロマチンアクセシビリティをシングルセル解析し、(1) 幹細胞型エピゲノム形成の機序、(2) 幹細胞型エピゲノム形成の発がんへの影響を明らかにすることを目的とした。

令和 6 年度は、幹細胞型エピゲノム形成の機序の解明を遂行した。共同研究者の武田が、*Apc*KO/*Kras*<sup>G12D</sup>/*Trp53*KO オスマウスの大腸オルガノイドを樹立後、Activin および TGF- $\beta$  を添加した。研究代表者 Liu が、添加 2 週間後のオルガノイドを用いてシングルセル ATAC-seq (scATAC-seq) を実施した。未処理、Activin または TGF- $\beta$  処理において、それぞれ 4,708、6,254 と 4,603 細胞のデータを取得した。

令和 7 年度は scATAC-seq の詳細な解析を行った。TGF- $\beta$  処理ではクロマチンアクセシビリティに有意な変化は無かったが、Activin 処理では未処理と比較して 13,542 のオープン領域と 6,448 のクローズ領域を同定した。モチーフ解析により、オープン領域では AP-1/ATF ファミリー転写因子、クローズ領域では Fox ファミリーと Wnt 経路関連転写因子がそれぞれ有意にエンリッチされた。

これまでに報告した TNF- $\alpha$  に加え、Activin によるエピゲノム変化を同定したことで、幹細胞型エピゲノム変化が、リガンド特異的なクロマチンリモデリングを介して誘導されることが示された。これらの結果は、幹細胞型エピゲノム形成の分子機序の理解を深めるとともに、大腸上皮細胞の運命決定および発がん過程にどのように関与するかを解明する基盤となる。