

令和2年5月19日

再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点
2019年度共同研究報告書

京都大学ウイルス・再生医科学研究所長 殿

研究代表者（申請者）

所属：京都府立医科大学医学研究科

職名：教授

氏名：八木田 和弘

下記のとおり共同研究課題の実施結果について報告します。

記

1. 研究課題： 組織形成における細胞分化と概日時計の共役関係の意義
2. ウイルス・再生医科学研究所共同研究者： 近藤 玄 教授
3. 研究期間： 2019年4月1日～2020年3月31日
4. 研究経過及び研究成果：

概日時計は、視床下部の視交叉上核に中枢が存在し、地球の自転周期に生体機能を適応させる役割を担う。一方で、視交叉上核のみならず全身の細胞に概日時計が備わっており、約24時間周期のリズムを刻んでいるが、全身の細胞レベルで概日時計が備わっている意義は未だに十分に理解されていない。我々は、これまでにマウス ES 細胞を用いた解析から、概日時計の成立が、細胞分化と共役関係にあることを明らかにした (Yagita ら、PNAS, 2010; Umemura ら、PNAS, 2014)。マウスの個体発生においても、細胞分化と共役した概日時計の形成がみられ、組織形成や個体発生との関連が示唆される (Umemura ら、PNAS, 2017)。本共同研究では、細胞分化と概日時計の共役関係がもつ細胞生物学的意義について明らかにすることを目的とした。

本共同研究では、これまで申請者が進めてきた、概日時計と細胞分化の共役関係を担う遺伝子群に注目した (Umemura ら、PNAS, 2017)。この遺伝子セットは、驚くべきことに、ヒトの様々なガンの予後と相関することがわかった (投稿準備中)。さらに、興味深いことに、GSEA 解析から、これらの遺伝子群を up-regulate するマスター遺伝子が存在することがわかった。これらのことから、このマスター遺伝子について、概日時計形成の破綻と腫瘍形成を引き起こすのか解析を進めた。

まず、このマスター遺伝子をドキシサイクリン依存的に発現誘導できる ES 細胞を樹立した。In vitro で、この ES 細胞を分化誘導し、概日時計を形成させた。その結果、マスター遺伝子の発現依存的に、概日時計の形成破綻が引き起こされることがわかった。さらに、in vivo で、こ

これらのマスター遺伝子が、概日時計形成の破綻と同時に、腫瘍形成を引き起こすのか解析を進めた。そのために、近藤玄教授との本共同研究で、このマスター遺伝子をドキシサイクリン依存的に発現誘導する ES 細胞を用いて、キメラマウスの作製をした。ドキシサイクリンによって、生体内でこれらマスター遺伝子の発現誘導を行った。腫瘍形成を中心とした病理学的な解析と、概日時計については、時計遺伝子の発現をリアルタイムにモニターできるルシフェラーゼレポーターを導入しておき、概日時計の機能的評価を行った。腎臓を主に解析した結果、これらのマスター遺伝子の発現誘導をした時にのみ、概日時計形成の破綻と、腫瘍形成が引き起こされる可能性があることが示唆された（投稿準備中）。さらに、これらの網羅的な遺伝子発現解析も含めて、進める予定である。これにより、時間情報の創出にとどまらない、概日時計の細胞生物学的意義の新たな側面を明らかにする。

5. 研究成果の公表

※発表論文リスト（掲載予定、プレプリントを含む。準備中も可）、学会発表、特許取得等

1. Tsuchiya Y, Umemura Y, **Yagita K***. Circadian clock and cancer: From a viewpoint of cellular differentiation. *Int J Urol*. 2020 Mar 28.
2. Inokawa H, Umemura Y, Shimba A, Kawakami E, Koike N, Tsuchiya Y, Ohashi M, Minami Y, Cui G, Asahi T, Ono R, Sasawaki Y, Konishi E, Yoo SH, Chen Z, Teramukai S, Ikuta K, **Yagita K***. Chronic circadian misalignment accelerates immune senescence and abbreviates lifespan in mice. *Sci Rep*. 2020 Feb 13;10(1):2569.
3. Ono R, Koike N, Inokawa H, Tsuchiya Y, Umemura Y, Yamamoto T, Kanamura N, **Yagita K**. Incremental Growth Lines in Mouse Molar Dentin Represent 8-hr Ultradian Rhythm. *Acta Histochem Cytochem*. 2019 Dec 27;52(6):93-99. doi: 10.1267/ahc.19017. Epub 2019 Dec 20.
4. Umemura Y, **Yagita K***. Development of the Circadian Core Machinery in Mammals. *J Mol Biol*. 2020 Jan 10. pii: S0022-2836(20)30035-8.
5. Inoue M, Tsuchiya Y, Koike N, Umemura Y, Inokawa H, Togashi Y, Maniwa J, Higashi M, Fumino S, Tajiri T, **Yagita K**. Enhanced metastatic growth after local tumor resection in the presence of synchronous metastasis in a mouse allograft model of neuroblastoma. *Pediatr Surg Int*. 2019 Dec;35(12):1403-1411.
6. Umemura Y, Maki I, Tsuchiya Y, Koike N, **Yagita K***. Human Circadian Molecular Oscillation Development Using Induced Pluripotent Stem Cells. *J Biol Rhythms*. 2019 Aug 1:748730419865436.
7. Ikeda R, Tsuchiya Y, Koike N, Umemura Y, Inokawa H, Ono R, Inoue M, Sasawaki Y, Grieten T, Okubo N, Ikoma K, Fujiwara H, Kubo T, **Yagita K***. REV-ERB α and REV-ERB β function as key factors regulating Mammalian Circadian Output. *Sci Rep*. 2019 Jul 15;9(1):10171.
8. Doi M, Shimatani H, Atobe Y, Murai I, Hayashi H, Takahashi Y, Fustin JM, Yamaguchi Y, Kiyonari H, Koike N, **Yagita K**, Lee C, Abe M, Sakimura K, Okamura H. Non-coding cis-element of Period2 is essential for maintaining organismal circadian behaviour and body temperature rhythmicity. *Nat Commun*. 2019 Jun 12;10(1):2563.
9. Oshima T, Niwa Y, Kuwata K, Srivastava A, Hyoda T, Tsuchiya Y, Kumagai M, Tsuyuguchi M, Tamaru T, Sugiyama A, Ono N, Zolboot N, Aikawa Y, Oishi S, Nonami A, Arai F, Hagihara S, Yamaguchi J, Tama F, Kunisaki Y, **Yagita K**, Ikeda M, Kinoshita T, Kay SA, Itami K, Hirota T. Cell-based screen identifies a new potent and highly selective CK2 inhibitor for modulation of circadian rhythms and cancer cell growth. *Sci Adv*. 2019 Jan 23;5(1):eaau9060.

学会発表

1) 国際学会

[招待講演・シンポジウム・ワークショップ]

- 1: Yagita K., Developmental Program and Environmental Reprogram of Mammalian Circadian Regulation System., *European Biological Rhythms Society Congress 2019*, Lyon, Aug 28, 2019
- 2: Yagita K., Developmental Program and Environmental Reprogramming of the Mammalian Circadian System., *Advance in Sleep and Circadian Science*, Clearwater Beach Florida, Feb. 2, 2019

2) 国内学会

[特別講演・シンポジウム, ワークショップ]

1. 八木田和弘 : 「体内時計はいつ形成されるか?」, 第7回新胎児学研究会, 高松, Nov. 2, 2019 (特別講演)
2. 八木田和弘 : 「概日リズムと老化」, 第34回老化促進モデルマウス(SAM)学会学術集会, 高松, July 13, 2019 (特別講演)
3. 八木田和弘 : 「長期にわたる概日リズム攪乱による免疫恒常性破綻」, 第44回日本睡眠学会学術集会, 名古屋, Jun. 28, 2019 (シンポジスト)
4. 八木田和弘 : 「体内時計はいつ形成されるか?」, 第61回日本小児神経学会学術集会, 名古屋, Jun. 1, 2019 (教育講演)