

平成 21 年 5 月 18 日現在

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2006～2009

課題番号：18390114

研究課題名 (和文) 腫瘍発生・進展における非定型的メチル化シトシンの病態学的意義についての網羅的解析

研究課題名 (英文) A Comprehensive Study of Pathological Significance of Atypical Cytosine Methylation during Tumorigenesis and Progression

研究代表者

前田 盛 (MAEDA SAKAN)

神戸大学・大学院医学研究科・客員教授

研究者番号：50030911

研究分野：病理学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：エピジェネティクス、in situ hybridization

## 1. 研究計画の概要

種々の遺伝子の転写調節領域に存在する CpG-island のメチル化は、遺伝子発現を抑制的に制御するが、私どもは、非 CpG-island のシトシンメチル化による転写制御について病理組織学的観察、つまり、形態学に即したエピジェネティクスの病的意義につき検討することを目的として計画を行った。特に、顕微鏡的に認識される「特定の形態的变化を示す病変部分」における遺伝子発現制御の解析を、遺伝子プロモータ領域の非定型的なメチル化シトシンの解析を中心に行うことを目標として、病理組織標本上で mRNA や蛋白発現の評価をするとともに、形態学的特徴に基づいて特定部位から微小組織を選択的に採取して、対象遺伝子に関するメチル化シトシンの検出を行う。

## 2. 研究の進捗状況

(1) 神経成長因子 (NGF) の高親和性受容体 TrkA 遺伝子プロモータ領域には、非 CpG-island に AP-1 類似配列 (TGAGCGA) が存在する。この AP-1 類似配列への c-Jun 蛋白結合は転写抑制機能を有するため、膀胱癌の解析では、高度メチル化の細胞株や組織検体では TrkA が高発現となり、神経周囲浸潤とも相関していた。

(2) TGFβ は腫瘍細胞の増殖を促進するが、偽受容体 BAMBI は TGFβ /BMP シグナルを遮断して、細胞増殖や骨形成を抑制する。膀胱癌、大腸癌、前立腺癌で、CpG メチル化による BAMBI 発現低下に関して、病理組織検体を用いて解析した。ミャンマーと本邦の検体を解析して、組織型が high grade 群では low grade 群よりも CpG メチル化が高度で BAMBI 発現が低く、ミャンマーの症例では本邦よりもメチル

化が高頻度であった。平成 20 年度は、各種膀胱癌培養細胞株を用いて、TGFβ シグナルの細胞増殖、アポトーシス、細胞遊走能への効果を検討し、BAMBI の強制発現、siRNA の効果を解析した。BAMBI 強制発現は、膀胱癌細胞株のアポトーシスを増加させ、TGFβ による細胞遊走を抑制することを明らかにした。

## 3. 現在までの達成度

② おおむね順調に進展している。

代表者は客員教授として計画に参加し、また、神戸大学病理学分野の研究室の教員や大学院生が献身的に研究を遂行し、当初の計画を達成することが出来た。

## 4. 今後の研究の推進方策

標本上でメチル化 DNA を検出するための標識核酸を用いたハイブリダイゼーション法、特殊な分子雑種を検出するモノクローナル抗体の作成 (北澤 莊平) に着手する予定である。特に、副甲状腺、膀胱癌組織に関して、組織標本の固定条件やマイクロウェーブ処理の効果などを検討し、標本上で in situ でメチル化を検出する方法論の基礎検討を行う。

## 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 51 件)

① Kitazawa R, Mori K, Yamaguchi A, Kondo T, Kitazawa S, Modulation of Mouse RANKL Gene Expression by

- Runx2 and Vitamin D3, *J Cellular Biochem*, 105,1289-1297, 2008, 査読あり
- ② Darwanto A, Kitazawa R, Kondo T, Kitazawa S, MeCP2 Expression and Promoter Methylation of Cyclin D1 Gene are Associated with Cyclin D1 Expression in Developing Rat Epididymal Duct, *Acta Histochem Cytochem*, 41, 135-142, 2008, 査読あり
- ③ Ishii J, Kitazawa R, Mori K, McHugh K. P., Morii E, Kondo T, Kitazawa S, Lipopolysaccharide Suppresses RANK Gene Expression in Macrophages by Down-Regulating PU.1 and MITF, *J Cellular Biochem*, 105, 896-904, 2008, 査読あり
- ④ Nishino N, Tamori Y, Tateya S, Kawaguchi T, Shibakusa T, Mizunoya W, Inoue K, Kitazawa R, Kitazawa S, Matsuki Y, Hiramatsu R, Masubuchi S, Omachi A, Kimura K, Saito M, Amo T, Ohta S, Yamaguchi T, Osumi T, Cheng J, Fujimoto T, Nakao H, Nakao K, Aiba A, Okamura H, Fushiki T, Kasuga M, FSP27 Contributes to Efficient Energy Storage in Murine White Adipocytes by Promoting the Formation of Unilocular Lipid Droplets, *J Clin Invest*, 118, 2808-2821, 2008, 査読あり
- ⑤ Niemhom S, Kitazawa S, Kitazawa R, Maeda S, Leopairat J, Hypermethylation of Epithelial-cadherin Gene Promoter is Associated with Epstein-Barr Virus in Nasopharyngeal Carcinoma, *Cancer Detect Prev*, 32, 127-134, 2008, 査読あり
- ⑥ Kondo T, Kitazawa R, Yamaguchi A, Kitazawa S, Dexamethasone Promotes Osteoclastogenesis by Inhibiting Osteoprotegerin through Multiple Levels, *J Cell Biochem*, 103, 335-345, 2008, 査読あり
- ⑦ Kitazawa R, Kitazawa S, Methylation Status of a Single CpG Locus 3 Bases Upstream of TATA-box of RANKL Gene Promoter Modulates Cell- and Tissue-specific RANKL Expression and Osteoclastogenesis, *Mol Endocrinology*, 21, 148-158, 2007, 査読あり
- ⑧ Kitazawa S, Takenaka A, Kondo T, Mizoguchi A, Kitazawa R, Protruding Disordered Loop of gC1qR is Specifically Exposed and Related to Antiapoptotic Property in Germ Cell Lineage, *Histochem Cell Biol*, 126, 665-677, 2006, 査読あり
- ⑨ Kanda H, Tateya S, Tamori Y, Kotani K, Hiasa K, Kitazawa R, Kitazawa S, Miyachi H, Maeda S, Egashira K, Kasuga M, MCP-1 Contributes to Macrophage Infiltration into Adipose Tissue, Insulin Resistance, and Hepatic Steatosis in Obesity, *J Clin Invest*, 116, 1494-1505, 2006, 査読あり
- ⑩ Mori K, Kitazawa R, Kondo T, Maeda S, Yamaguchi A, Kitazawa S, Modulation of Mouse RANKL Gene Expression by Runx2 and PKA Pathway, *J Cell Biochem*, 98, 1629-1644, 2006, 査読あり
- ⑪ Peng DF, Kanai Y, Sawada M, Ushijima S, Hiraoka N, Kitazawa S, Hirohashi S, DNA Methylation of Multiple Tumor-related Genes in Association with Overexpression of DNA Methyltransferase 1 (DNMT1) during Multistage Carcinogenesis of the Pancreas, *Carcinogenesis*, 27, 1160-1168, 2006, 査読あり
- ⑫ Kishimoto K, Kitazawa R, Kurosaka M, Maeda S, Kitazawa S, Expression Profiles of Genes Related to Osteoclastogenesis in Mouse Growth Plate and Articular Cartilage, *Histochem Cell Biol*, 125, 592-602, 2006, 査読あり
- ⑬ Kitazawa S, Kitazawa R, In situ Detection of Specific Gene Expression During and Immediately After Transcription at Electron Microscopic Level, *J Struct Biol*, 153, 64-72, 2006, 査読あり
- [学会発表] (計 62 件)
- ① サン サンダキン, 北澤理子, 近藤武史, 森清, タイタンエイ, ネウイン, 北澤荘平, 日本とミャンマーにおける膀胱腫瘍進展過程における BAMBI 遺伝子のエピジェネティクス制御の変化, 第 66 回日本癌学会学術総会, 2007.10.3-5 (横浜)
- [図書] (計 1 件)
- ① Kitazawa S, Mori K, kondo T, Fujimoto M, Kitazawa R, *DNA Methylation Research Trends*, Epigenetic roles of CpG methylation at non-CpG-islands revealed by morphology-oriented epigenetic research (Editor: Kobayashi TB), pp43-pp66, Nova Science Publishers, New York, 2007