

平成 22 年 6 月 8 日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2008 ～ 2009

課題番号：20014015

研究課題名（和文） 染色体末端テロメア G テール測定によるがんのリスク評価

研究課題名（英文） Risk assessment of cancer using telomere G-tail length measurement

研究代表者

田原 栄俊 （TAHARA HIDETOSHI）

広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：00271065

研究成果の概要（和文）：

我々が開発した G-tail telomere HPA 法を臨床検体に適応できるように改良した方法の検討を行い、多量検体を用いた場合のアッセイ間の補正方法を確立し、胃がん、大腸がん、リンパ腫の患者の末梢血を採取し DNA を精製し 96 ウエルプレート用いて検討を行った。胃がん、大腸がん、リンパ腫などのがん患者においては、年齢を考慮に入れたどう年齢層で比較した場合、全テロメア長の短縮がみられ、さらに顕著にテロメア G-tail の短縮がみられた。以上の結果から、がん患者の末梢血を用いたテロメア G-tail 長の測定方法及び評価方法の確立に成功し、実際に胃がん、大腸がんなどの消化器がんの患者においてテロメア G-tail が顕著に短縮し、テロメア G-tail 長を指標としてがんのリスク診断を行える可能性が考えられた。

研究成果の概要（英文）：

We have previously developed the assay to measure the G-tail length, so-called G-tail telomere hybridization protection assay (HPA). We also developed the kit and the high-throughput automated machine for G-tail measurement. We applied these technologies for not only basic research but also for the clinical research, and found that peripheral blood from gastrointestinal cancer patients exhibited significant shorter average G-tail lengths than non-cancerous control group. Whereas total telomere length also reduced in cancer patients, G-tail lengths are markedly reduced in gastrointestinal cancer patients. These findings suggest that G-tail length can be a useful marker for the cancer risk assessment.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	8,000,000	0	8,000,000
2009 年度	8,000,000	0	8,000,000
総計	16,000,000	0	16,000,000

研究分野：細胞分子生物学

科研費の分科・細目：生物系・医歯薬学・生物系薬学

キーワード：G テール、テロメア、がん、リスク診断

1. 研究開始当初の背景

染色体の末端にあるテロメアは、染色体の安定性に重要であることはよく知られている。テロメアDNAの最末端部分は、3'一本鎖突出テロメアDNAであるG-tailが存在するが、この50~300塩基(nt)の一本鎖突出末端が、癌化におけるDNA傷害、放射線、ストレスなどが関わる染色体異常の引き金として注目されている。全テロメア長においては、がん患者での末梢血のDNAにおいて短縮がみられることが報告されているが、テロメアG-tailに関しては、多量の臨床検体を用いたG-tailの長さを評価できる方法がなかった。

2. 研究の目的

(1) 癌化における染色体異常の引き金であるテロメアG-tail長をG-tail telomere HPAにより測定し、がん発症前のリスク評価法に結びつけるため、G-tail長の変化とがん化の関係を明らかにすること

(2) がん患者におけるテロメアG-tailの短縮と健常人のテロメアG-tailを比較検討して、がん患者におけるテロメアの不安定性の指標としてG-tail長が有用であるかどうか評価すること。

3. 研究の方法

(1) 血液サンプル中のリンパ球のG-tailを測定することにより、種々がんより発生する可能性のあるがんのリスク評価を行う。

① G-tail telomere HPA法を用いて、健常人およびがん患者より血液を採取し、全血よりゲノムDNAを精製して全テロメア長およびテロメアG-tail長を測定する。健常人の年齢補正平均を算出して、がん患者において全テロメア長、テロメアG-tail長の短縮などの変化がみられるかどうかを検討する。

(2) 種々の固形がん組織、非癌部の組織、前がん病変の組織をにおいてG-tail長の測定のためのサンプル収集、サンプルからゲノムDNAを精製を行いG-tail telomere HPA法を用いてG-tail長を測定しリスク評価を行う。

① G-tail telomere HPA法を用いて、同一患者のがん部位と非がん部における全テロメア長およびテロメアG-tail長を測定する。

以上の成果をデータベース化し、テロメアG-tail長とがん疾患におけるリスク評価法を確立する。

4. 研究成果

我々が開発したG-tail telomere HPA法を臨床検体に適応できるように改良した方法の検討を行い、多量検体を用いた場合のアクセイ間の補正方法を確立し、96ウェルプレート用いて検討を行った。また、がん腫としては、胃がん、大腸がん、リンパ腫の患者の末梢血を採取した。対照として、採血時に慢性的な疾患でない健常人20歳から80歳までの年齢分布で、20歳から5歳間隔で最低30例以上になるように末梢血を採取してゲノムDNAを精製し、合計約1000人分のテロメア長、G-tail長の解析を行った。その結果、健常人においては年齢増加に伴うG-tail長の短縮がみられた。短縮の傾向は、全テロメア長と相関している傾向であるが、G-tailのみ極端に短いグループも存在した。さらに、胃がん、大腸がん、リンパ腫などのがん患者においては、年齢を考慮に入れた同年齢層で比較した場合、顕著にテロメアG-tailの短縮がみられた。以上の結果から、がん患者の末梢血を用いたテロメアG-tail長の測定方法及び評価法の確立に成功し、実際に胃がん、大腸がんなどの消化器がんの患者においてテロメアG-tailが顕著に短縮し、テロメアG-tail長を指標としてがんのリスク診断を行える可能性が考えられた。

5. 主な発表論文等

(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 4 件)

(1) Shinohara K, Sannohe Y, Kaieda S, Tanaka K, Osuga H, Tahara H, Xu Y, Kawase T, Bando T, Sugiyama H. A chiral wedge molecule inhibits telomerase activity. Journal of the American Chemical Society, 査読有、VOL. 132, 2010, 3778 - 3782

(2) Waki K, Anno K, Ono T, Ide T, Chayama K, Tahara H. Establishment of functional telomerase immortalized human hepatocytes and a hepatic stellate cell line for telomere-targeting anti-cancer drug

development. *Cancer Science*, 査読有、2010、Mar 23. [Epub ahead of print]

(3) Muramatsu Yukiko, Tahara H., et al. Telomere elongation by a mutant tankyrase 1 without TRF1 poly(ADP-ribosyl)ation. *Experimental Cell Research*, 査読有、314(5)、2008、1115-1124

(4) Hashimoto Manabu, Tahara H., et al. Role of menin in the regulation of telomerase activity in normal and cancer cells. *International Journal of Oncology*, 査読有、33(2)、2008、333-340

[学会発表] (計 16 件)

(1) 喜々津彩、宮城徹、田原栄俊. 鎖交換反応を用いたテロメア結合タンパク質の結合を評価する新規測定法の確立. 日本薬学会、平成22年3月28日、就実大学(岡山市)

(2) 平田直之、平塩秀磨、青木絵里子、鳩岡未沙子、頼岡徳在、田原栄俊. G-tail telomere HPA 測定法のハイスループット化. 日本薬学会、平成22年3月28日、就実大学(岡山市)

(3) 松永純子、徐丹、須藤優樹、嶋本頭、田原栄俊. Down-regulation of PRPF-19 involves cellular senescence in human fibroblasts. 第32回日本分子生物学会年会、2009年12月10日、パシフィコ横浜(横浜市)

(4) 嶋本頭、世良行寛、禅正和真、日野由美子、田原栄俊. テロメラーゼ遺伝子TERTは人工多能性幹(iPS)細胞の誘導を抑制する. 第32回日本分子生物学会年会、2009年12月10日、パシフィコ横浜(横浜市)

(5) Nakamura A, Yamanaka Y, Hoshikawa Y, Shimamoto A, Noda T, Tahara H. Identification of transcriptional regulators binding to minimum suppressive region in HDAC2 promoter in human senescent fibroblasts. 第32回日本分子生物学会年会、2009年12月9日、パシフィコ横浜(横浜市)

(6) 中村亜由美、田原栄俊. 細胞老化におけるp21発現上昇におけるHDAC2の関与. 日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会、平成21年11月7日、アスティとくしま(徳島市)

(7) 須藤優樹、田原栄俊. ヒトがん細胞におけるスプライシングファクターSF3B3のsiRNA創薬の可能性. 日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会、平成21年11月7日、アスティとくしま(徳島市)

(8) 松永純子、徐丹、嶋本頭、田原栄俊. MicroRNA10a regulates cellular senescence

through CDK6 down-regulation. 広島がんセミナー、2009年11月1日、広島国際会議場(広島市)

(9) Aoki Eriko, Shimamoto Akira, Tahara Hidetoshi. High-throughput screening of telomere G-tail length in normal and cancer patients. 第68回日本癌学会学術総会、2009年10月1日、パシフィコ横浜(横浜市)

(10) Hidetoshi Tahara, The importance of telomere G-tail length in normal and cancer cells. 2009年日独がんワークショップ、2009年9月17日~19日、Elsa-Brandstrom(ハンブルグ市、ドイツ)

(11) 小島安由里、喜々津彩、嶋本頭、田原栄俊. テロメアG-tailを短縮させる薬剤の抗がん剤としての可能性. 第13回日本がん分子治療学会学術集会、2009年6月25日、アスティとくしま(徳島市)

(12) Yusuke Yamanaka and Hidetoshi Tahara. Down regulation of HDAC2 in senescent fibroblasts involves cellular senescence through induction of p53 independent p21cip1/sdi1 trans-activation. The American Association for Cancer Research, AACR 100th Annual Meeting 2009、2009年4月18-22日、Colorado Convention Center(Denver, CO, USA)

(13) Angie Sera, Tahara H., et al. G-tail telomere HPA法を用いたMRN complexのテロメア維持における機能解析. 第31回日本分子生物学会年会、2008年12月11日、神戸市

(14) Seimiya Hiroyuki, Tahara H., et al. Construction of the Telomere Fingerprint Database, a novel platform for telomere dynamics and drug sensitivity studies. 第67回日本癌学会学術総会、2008年10月28日、名古屋市

(15) Ohishi Tomokazu, Tahara H., et al. TRF1 mediates mitotic abnormalities induced by Aurora A overexpression. 第67回日本癌学会学術総会、2008年10月28日、名古屋市

(16) 小島安由里、田原栄俊、他. V-ATPase阻害剤によるテロメラーゼhTERTの転写抑制による抗がん効果. 第12回がん分子標的治療研究会総会、2008年6月27日、東京都

[図書] (計 1 件)

(1) Keiko Hiyama, Tahara H., et al. *Telomeres and Telomerase in Cancer*. Springer, 2009, pp380

〔産業財産権〕

○ 出願状況（計 1 件）

（1）

名称：「老化の診断方法、老化の診断キット、老化抑制物質のスクリーニング方法、および、癌抑制剤」

発明者：田原 栄俊

権利者：広島大学

種類：特許

番号：特願 2010-049928

（国内優先）権主張出願

出願年月日：平成 22 年 3 月 5 日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://cell.pharm.hiroshima-u.ac.jp/TaharaLAB/Welcome.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田原 栄俊（TAHARA HIDETOSHI）

広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：00271065

(2) 研究分担者

（ ）

研究者番号：

(3) 連携研究者

阿武 久美子（ANNO KUMIKO）

広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：30452585