

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月11日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2009～2012

課題番号：21249042

研究課題名（和文）microRNA を標的とした新規癌予防法の開発

研究課題名（英文）Development of microRNA-targeting cancer prevention

研究代表者

酒井 敏行（SAKAI TOSHIYUKI）

京都府立医科大学・医学研究科・教授

研究者番号：20186993

研究成果の概要（和文）：前立腺癌細胞に対して癌予防効果が報告されているフラボンを添加したところ、増殖抑制とG1期停止を認め、G1期進行に關与するE2F1及びE2F3の発現が低下した。E2F1及びE2F3を標的とするmicroRNAであるmiR-34aは、フラボン添加により上昇した。miR-34aの阻害によりフラボンの効果は打ち消された。これらの結果は、食品成分によりmicroRNAの発現を誘導することで、癌細胞の増殖抑制の可能性を示す。

研究成果の概要（英文）：Flavone, which is known as a cancer preventive agent, induced growth inhibition, G1 arrest and the decrease of the E2F1 and E2F3, which act for G1/S progression, in prostate cancer cells. Flavone also induced miR-34a, which regulates the expression of E2F1 and E2F3. Furthermore, the inhibition of miR-34a suppressed the G1 arrest and decrease of the E2F1 and E2F3 by the treatment of flavone. These results raise a possibility that cancer preventive agents inhibit the cell proliferation through the induction of microRNAs.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	8,100,000	2,430,000	10,530,000
2010年度	7,700,000	2,310,000	10,010,000
2011年度	9,100,000	2,730,000	11,830,000
2012年度	9,100,000	2,730,000	11,830,000
総計	34,000,000	10,200,000	44,200,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・衛生学

キーワード：フラボン、miR-34a、G1期停止、E2F

1. 研究開始当初の背景

悪性腫瘍の撲滅が叫ばれ続けながら、実際の死亡率の減少の達成が困難である中で、斬新かつ有用な癌予防法の開発は急務である。その中で、私達の研究グループは、殆どの臓器の発癌の原因であるとされる「癌抑制遺伝子であるp53及びRBの失活」が、種々の発癌予防因子により再び活性化されることを見出してきた。

一方、最近の分子生物学の進歩により、発癌を制御する分子機構は、セントラルドグマ

（DNA→mRNA→タンパク質）だけでなく、小分子RNAであるmicroRNAが極めて重要な役割を示していることが明らかとなってきた（He L et al. Nature 447, 1130, 2007、Tazawa H et al. PNAS 104, 15472, 2007）。

しかしながら、現在のところ、分子を標的とした癌予防法において、発癌に密接に關与するmicroRNAを標的とした癌予防法に關する研究は皆無であった。

2. 研究の目的

近年、「microRNA」という全く新しい概念に属する分子群が、様々な生命現象や、疾患の発症において、極めて重要な役割を持つことが明らかとなった。しかし発癌制御に関しても重要な役割を持つことが、明らかになってきたにもかかわらず、癌予防の戦略の立場から、この microRNA を研究する試みは皆無であった。したがって、今回、癌予防食品成分がこの microRNA の発現調節により発癌抑制に寄与しているかについて検討した。

3. 研究の方法

当初、特定のがん抑制性 microRNA、すなわちアポトーシス誘導性 microRNA や細胞周期抑制性 microRNA に特化して、その発現制御機構を解析し、それを踏まえた、当該 microRNA を誘導する癌予防成分の検討を考え実施したが、今回の研究期間では報告すべき成果は得られなかった。しかしながら、研究期間終了後も、この手法を用いた研究は継続的に実施している。

そこで、既に癌予防効果が報告されている食品成分について、その予防効果として、癌細胞の増殖抑制作用における、microRNA の関与を評価するという手法を選択した。

4. 研究成果

前立腺癌細胞 DU145 に対してフラボノイドの一種でありがん予防効果が報告されているフラボンを追加したところ、顕著な増殖抑制が認められた(図1)。

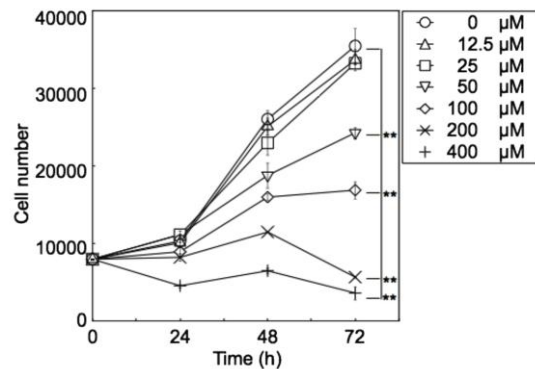


図1:フラボンによる増殖増殖への影響

また、その効果は細胞周期の G1 期における停止であった(図2)。

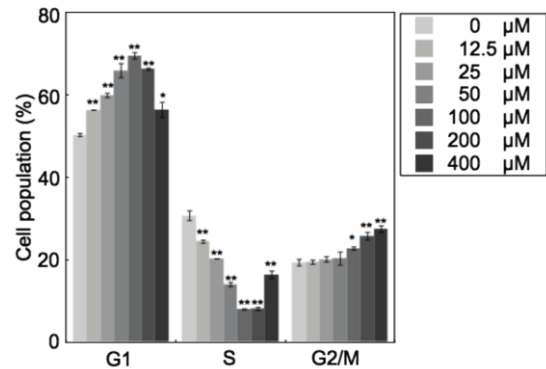
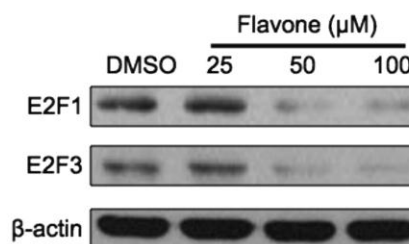


図2:フラボンによる細胞周期への影響

DU145 細胞は癌抑制遺伝子 RB を欠失している細胞であることから、このフラボンによる G1 期停止は RB に非依存性であると考えられた。そこで G1 期停止に関与する分子の発現を検討したところ、RB に制御される転写因子 E2F1 および E2F3 の発現が低下していた(図3a)。

(a)



(b)

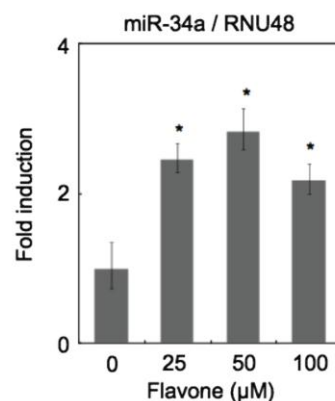


図3:(a)フラボンによる E2F1、E2F3 への影響、(b) フラボンによる miR-34a への影響

E2F1 および E2F3 を標的とする microRNA としては代表的ながん抑制性 microRNA である miR-34a が知られていたことから、フラボンによる miR-34a の発現への影響を検討したところ、フラボン添加により miR-34a の発現が誘導されることが認められた(図3b)。

さらにフラボン添加時に、miR-34a の機能を阻害することで、G1 期誘導(図 4a)や E2F1 および E2F3 の発現低下(図 4b)が解除された。

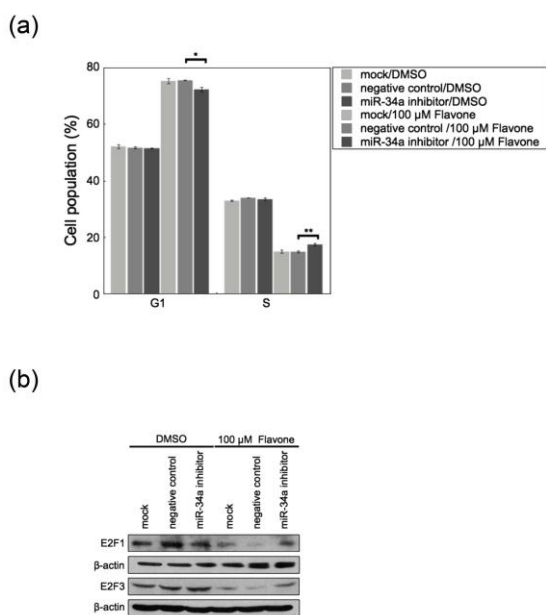


図3:(a)miR-34a 阻害による G1 期誘導への影響、(b) miR-34a 阻害による E2F1、E2F3 発現低下への影響

これらの結果は、フラボンによる miR-34a の発現誘導が、RB 非依存的に、E2F1 および E2F3 の低下と G1 期誘導に寄与していることを示すものである。これらの結果は、食品成分により microRNA の発現を誘導することで、癌細胞の増殖抑制の可能性を示す。

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 8 件)

Oishi M, Iizumi Y, Taniguchi T, Goi W, Miki T, Sakai T

Apigenin sensitizes prostate cancer cells to Apo2L/TRAIL by targeting adenine nucleotide translocase-2.

PLoS One., 査読有、Vol. 8、No. 2、2013、e55922.

doi: 10.1371/journal.pone.0055922.

Yogosawa S, Yamada Y, Yasuda S, Sun Q, Takizawa K, Sakai T

Dehydrozingerone, a structural analogue of curcumin, induces cell-cycle arrest at the G2/M phase and accumulates intracellular ROS in HT-29 human colon cancer cells.

J Nat Prod., 査読有、Vol. 75、No. 12、2013、pp2088-2093.

doi: 10.1021/np300465f.

Koyama M, Sowa Y, Hitomi T, Iizumi Y, Watanabe M, Taniguchi T, Ichikawa M, Sakai T

Perillyl alcohol causes G1 arrest through p15^{INK4b} and p21^{WAF1/Cip1} induction.

Oncol Rep., 査読有、Vol. 29、No. 2、2013、pp779-784.

doi: 10.3892/or.2012.2167.

Tomosugi M, Sowa Y, Yasuda S, Tanaka R, te Riele H, Ikawa H, Koyama M, Sakai T Retinoblastoma gene-independent G1 phase arrest by flavone, phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor, and histone deacetylase inhibitor.

Cancer Sci., 査読有、Vol. 103、No. 12、2012、pp2139-2143.

doi: 10.1111/cas.12012.

Izutani Y, Yogosawa S, Sowa Y, Sakai T

Brassinin induces G1 phase arrest through increase of p21 and p27 by inhibition of the phosphatidylinositol 3-kinase signaling pathway in human colon cancer cells.

Int J Oncol., 査読有、Vol. 40、No. 3、2012、pp816-824.

doi: 10.3892/ijo.2011.1246.

Koyama M, Izutani Y, Goda AE, Matsui TA, Horinaka M, Tomosugi M, Fujiwara J, Nakamura Y, Wakada M, Yogosawa S, Sowa Y, Sakai T

Histone deacetylase inhibitors and 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J₂ synergistically induce apoptosis.

Clin Cancer Res., 査読有、Vol. 16、No. 8、2010、pp2320-2332.

doi: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2301.

Horinaka M, Yoshida T, Kishi A, Akatani K, Yasuda T, Kouhara J, Wakada M, Sakai T

Lactobacillus strains induce TRAIL production and facilitate natural killer activity against cancer cells.

FEBS Lett., 査読有、Vol. 584、No. 3、2010、pp577-82.

doi: 10.1016/j.febslet.2009.12.004.

Yasuda S, Yogosawa S, Izutani Y, Nakamura Y, Watanabe H, Sakai T

Cucurbitacin B induces G₂ arrest and apoptosis via a reactive oxygen species-dependent mechanism in human colon adenocarcinoma SW480 cells.

Mol Nutr Food Res., 査読有、Vol. 54、No. 4、2010、pp559-565.

doi: 10.1002/mnfr.200900165.

〔学会発表〕(計4件)

友杉充宏、曾和義広、酒井敏行

フラボンや分子標的薬による RB 非依存的な G1 期停止の誘導、日本衛生学会学術総会、2013 年 03 月 25 日、金沢大学鶴間キャンパス(金沢)

友杉充宏、曾和義広、安田周祐、小山真、酒井敏行

フラボンや分子標的薬による RB 非依存的な G1 期停止の誘導、日本癌学会学術総会、2012 年 09 月 20 日、ロイトン札幌(北海道)

友杉充宏、曾和義広、酒井敏行

フラボンによる RB 非依存的 G1 期停止の誘導、がん予防大会 2011 京都、2011 年 6 月 11 日、京都府立医科大学図書館ホール(京都)

友杉充宏、曾和義広、酒井敏行

フラボンによる RB 非依存的な G1 期における細胞周期停止の誘導、第 81 回日本衛生学会学術総会、2011 年 3 月 27 日、昭和大学(誌上開催)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況(計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.f.kpu-m.ac.jp/k/pubmed/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

酒井 敏行 (SAKAI TOSHIYUKI)

京都府立医科大学・医学研究科・教授
研究者番号：20186993

(2) 研究分担者

曾和 義広 (SOWA YOSHIHIRO)

京都府立医科大学・医学研究科・准教授
研究者番号：70315935

与五沢 真吾 (YOGOSAWA SHINGO)

京都府立医科大学・医学研究科・助教
研究者番号：70381936

友杉 真野(堀中 真野)

(TOMOSUGI MANO (HORINAKA MANO))

京都府立医科大学・医学研究科・助教
研究者番号：80512037

友杉 充宏 (TOMOSUGI MITSUHIRO)

京都府立医科大学・医学部・研究員
研究者番号：60533429

(H24 より)