

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11511

研究課題名(和文) 突然変異抑制遺伝子MTH1の小児固形悪性腫瘍における発現解析と新規治療への応用

研究課題名(英文) MTH1 expression in pediatric malignant solid tumor: a new therapeutic target

研究代表者

武本 淳吉 (Takemoto, Junkichi)

九州大学・医学研究院・助教

研究者番号：60621711

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：神経芽腫67例でMTH1および酸化ストレスによる遺伝子変異の原因とされている8-OHdGの免疫組織化学的染色を行い発現解析した。MTH1高発現症例は低発現群に比較し、有意に8-OHdG高発現症例が多い傾向にあり、神経芽腫において酸化ストレスによる遺伝子変異が生じていることが示唆され、修復機構としてMTH1が発現している可能性が考えられた。

しかしながら、他の遺伝子修復酵素であるOGG1、MUTYHにおける免疫組織化学的染色による解析では、MTH1、8-OHdGとの有意な関連は認められず、「MTH1抑制による細胞死の誘導」という仮説の立証はできなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

「MTH1抑制による細胞死の誘導」という仮説の立証はできず、本研究の目的である、小児固形悪性腫瘍におけるMTH1を標的とした治療薬への応用に繋げるには至らなかった。

しかしながら、本研究により神経芽腫において酸化ストレスによる遺伝子変異が生じている可能性が示され、修復機構としてMTH1が発現している可能性が考えられた。この結果が神経芽腫の発生や自然退縮メカニズムの解明という点において可能性を秘めているものであり、本研究成果は意義あるものと思われる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we evaluated 67 neuroblastomas. Immunohistochemistry for MTH1, 8-OHdG, OGG1 and MUTYH was performed. There was a significant correlation between MTH1 and 8-OHdG expression. This result suggests that gene mutation was induced by oxidative stress and MTH1 may express as a repair protein in neuroblastoma.

However, there was no significant correlation of MTH1 and 8-OHdG expression with other DNA repair enzymes, such as OGG1 and MUTYH. These result could not demonstrate the hypothesis that inhibition of MTH1 expression induces cell death.

研究分野：医歯薬学

キーワード：神経芽腫 酸化ストレス MTH1 8-OHdG 免疫組織化学染色 OGG1 MUTYH

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

核酸の酸化は自然突然変異や細胞死の原因となることから、癌や神経変性疾患などの種々の疾病の発症に関わると考えられている。核酸の酸化損傷の中でも、プリン塩基の酸化によって生じる 8-オキソグアニン (8-oxoG) は AT CG 塩基置換を引き起こす高い変異原性を有し、自然突然変異の主要な原因であることが明らかにされている。

MTH1 は 8-oxoGTP を加水分解する活性を有しており 8-oxoGTP に起因する突然変異を抑制している修復酵素である (図 1)。また、一酸化窒素に暴露された静止期の MTH1 欠損細胞はミトコンドリアゲノムに 8-oxoG を選択的に蓄積し、ミトコンドリア変性を伴って細胞死に陥ることが分かっている。さらに、MTH1 によるエラーを回避する機構に加えて、OGG1 や MUTYH といった、DNA 中に蓄積した 8-oxoG やその誤塩基対合を取り除く塩基除去修復酵素系も存在している。

このように MTH1 は酸化ストレスによる遺伝子変異や細胞死から細胞を保護する酵素の一つであるが、MTH1 を抑制すると、正常細胞には大きな影響を及ぼさないが、癌細胞の DNA を損傷し細胞死を引き起こすという報告がなされている (Helge Gad, et al. Nature 2014)。

核酸の酸化は自然突然変異や細胞死の原因となることから、癌や神経変性疾患などの種々の疾病の発症に関わると考えられている。核酸の酸化損傷の中でも、プリン塩基の酸化によって生じる 8-オキソグアニン (8-oxoG) は AT CG 塩基置換を引き起こす高い変異原性を有し、自然突然変異の主要な原因であることが明らかにされている。

われわれが行った予備実験では、神経芽腫において、免疫組織化学染色で 8-oxoGTP 発現細胞の割合が高いという結果を得ている (未発表)。また、神経芽腫において C A 変異の頻度が有意に高く、OGG1、MUTYH の欠損が関連しているという報告もなされており、このことから「MTH1 を抑制することで腫瘍の遺伝子修復機構が完全に破綻し、細胞死が誘導される」という仮説を立てている。

小児悪性腫瘍のうち神経芽腫、腎芽腫といった固形悪性腫瘍は全体の 20%程度を占めており年間 500 例程度の新規患児が発生している。治療強度を強める工夫によって生存率が改善してきた歴史があるが、大量化学療法を複数回行うことによる生存率向上は頭打ちとなり、晩期合併症を増やす結果をもたらした。固形悪性腫瘍のうち最も頻度の高い進行期神経芽腫は外科療法、放射線療法、大量化学療法併用自家末梢血細胞移植などの集学的治療によっても長期無病生存率は 40%台にとどまっているのが現状であり、治療法の改善が強く望まれている小児悪性腫瘍といえる。このため、これまでの治療の基本骨格である化学療法、手術療法、放射線療法に加わる、異なる作用機序の治療の開発が期待されている。

2. 研究の目的

上記の背景より、小児固形悪性腫瘍における MTH1 を標的とした治療薬への応用に繋げるための研究を行った。

3. 研究の方法

神経芽腫のパラフィンで包埋ブロックを用いて免疫組織学的評価を行い MTH1、OGG1、MUTYH、8-oxodGTP の発現を調べた。

4. 研究成果

まず、神経芽腫 67 例で MTH1 および酸化ストレスによる遺伝子変異の原因とされている 8-OHdG の免疫組織化学的染色を行い発現解析した。MTH1 高発現症例は低発現群に比較し、有意に 8-OHdG 高発現症例が多い傾向にあり、神経芽腫において酸化ストレスによる遺伝子変異が生じていることが示唆され、修復機構として MTH1 が発現している可能性が考えられた。

しかしながら、他の遺伝子修復酵素である OGG1 おける免疫組織化学的染色による解析では、MTH1、8-OHd との有意な関連は認められなかった。さらにもう一つの遺伝子修復酵素である MUTYH の発現解析を行ったが、OGG1 と同様、MTH1、8-OHdG との有意な関連は認められなかった (表)。

これらの結果からは本研究では OGG1、MUTYH と 8-OHdG との関連を示すことができず、「MTH1 抑制による細胞死の誘導」という仮説の立証はできなかった。

表 免疫染色結果

		MTH1					MTH1			
		陽性	陰性	合計			陽性	陰性	合計	
8OH-dG	陽性	15	9	24	OGG1	陽性	5	3	8 p = 0.41	
	陰性	13	30	43		陰性	23	26		59
	合計	28	39	67		合計	28	39		67
		OGG1					MUTYH			
		陽性	陰性	合計			陽性	陰性	合計	
8OH-dG	陽性	5	19	24	OGG1	陽性	4	4	8 p = 0.616	
	陰性	3	40	43		陰性	24	35		59
	合計	8	59	67		合計	28	39		67
		MUTYH					MTH1			
		陽性	陰性	合計			陽性	陰性	合計	
8OH-dG	陽性	13	11	24	MUTYH	陽性	14	14	28 p = 0.248	
	陰性	15	28	43		陰性	14	25		39
	合計	28	39	67		合計	28	39		67

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6 . 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	孝橋 賢一 (Kohashi Kenichi) (10529879)	九州大学・医学研究院・准教授 (17102)	
研究分担者	田口 智章 (Taguchi Tomoaki) (20197247)	九州大学・医学研究院・教授 (17102)	
研究分担者	木下 義晶 (Kinoshita Yoshiaki) (80345529)	新潟大学・医歯学系・教授 (13101)	