

平成 21 年 6 月 16 日現在

研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19599024
 研究課題名（和文）microRNAのエピジェネティック制御を介した胃がんの新規予防・治療法の開発
 研究課題名（英文）Development of a novel strategy for the prevention and treatment of gastric cancer through epigenetic regulation of microRNAs
 研究代表者
 斎藤 義正（SAITO YOSHIMASA）
 慶應義塾大学・医学部・助教
 研究者番号：90360114

研究成果の概要：

DNAやヒストン(DNAが巻き付いている蛋白質)がメチル化やアセチル化などの修飾を受けると遺伝子の発現が変化することが知られており、これをエピジェネティクスと呼んでいます。本研究ではDNAメチル化阻害薬やヒストン脱アセチル化酵素阻害薬を用いたエピジェネティック治療が胃がん細胞においてmicroRNAという小さなRNAである*miR-512-5p*を誘導し、その標的であるがん遺伝子*Mcl-1*を不活性化することで細胞死を引き起こすことが示されました。microRNAを介したエピジェネティック治療が胃がんの新たな予防・治療戦略となることが期待されます。

交付額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2007年度 | 1,900,000 | 0 | 1,900,000 |
| 2008年度 | 1,400,000 | 420,000 | 1,820,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,300,000 | 420,000 | 3,720,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：病態医化学・

キーワード：microRNA、DNAメチル化、ヒストン修飾、エピジェネティック治療、胃がん

1. 研究開始当初の背景

DNAメチル化阻害薬やヒストン脱アセチル化酵素阻害薬を用いたエピジェネティック治

療は欧米を中心に臨床の場でがん患者に投与され効果をあげている。DNAメチル化阻害薬であるシチジン類似体の5-Azacytidine (5-Aza-CR) が骨髄異形成症候群の治療薬と

して米国Food and Drug Administration (FDA)に承認され、臨床の現場でがん患者に投与され効果をあげている(図1)。

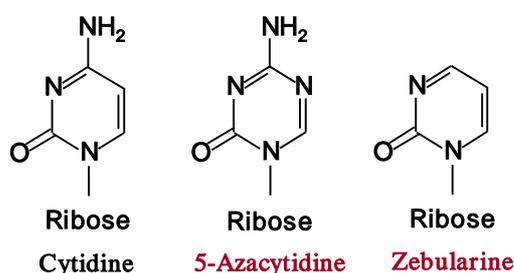


図1

シチジンおよびその類似体の化学構造

5-AzacytidineとZebularineはDNAメチル化阻害薬として機能する。

一方、microRNA (miRNA) は21-25塩基程度の小さなRNAであり、複数の標的遺伝子を抑制的に制御し、がんをはじめとする多くの疾患の発生・進展に重要な役割を果たしている。

研究代表者らは一部のmiRNAがエピジェネティック機序によって制御されていることを発見し、DNAメチル化阻害薬やヒストン脱アセチル化酵素阻害薬によるがん抑制miRNAの誘導がターゲットがん遺伝子の発現低下を介して抗がん効果を有することを報告している(Saito Y et al. Cancer Cell. 2006; 9: 435-443)。

2. 研究の目的

本研究では胃がんに対するエピジェネティック治療の抗腫瘍効果を特にmiRNAの役割に注目して分子生物学的に解明し、エピジェネティック機序によるmiRNAの発現制御に基づいた胃がんの新たな予防・治療戦略を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

胃がんにおけるmiRNAの発現プロファイルを解析し、胃発がんに必要な役割を果たすmiRNAの候補を絞り込む。

胃がん細胞株AGSおよび膀胱がん細胞株T24をDNAメチル化阻害薬(5-aza-2'-deoxycytidine)およびヒストン脱アセチル化酵素阻害薬(4-phenylbutyric acid)で処理し、miRNAの発現変化をマイクロアレイによって網羅的に解析する。マイクロアレイ解析で発現に有意差が認められたmiRNAに関しては、その発現を定量的RT-PCR法にて確認する。

miRNAの候補のエピジェネティックな機序による制御について検討するため、DNAメチル化の状態やヒストン修飾を解析する。

miRNAの候補がエピジェネティック機序によって制御されている場合、それらの標的遺伝子を同定して機能解析を行い、エピジェネティック治療がmiRNAを介した胃がんの新たな治療戦略となるか検討する。

4. 研究成果

興味深いことに、エピジェネティック治療によって最も大きな発現変化を認めた上位15のmiRNAのうち、14(93%)が染色体19番上の反復配列であるAlu配列近傍に位置していた。この変化は他臓器のがんには認められない変化であり、胃がんに対するエピジェネティック治療によってAlu配列に関連したmiRNAが優先的に活性化されることが示された(図2)。

AGS Gastric Cancer Cells T24 Bladder Cancer Cells

| No. | microRNA | Ratio | Locus | Alu |
|-----|------------|-------|-------|-----|
| 1 | miR-512-5p | 136 | 19q13 | |
| 2 | miR-517b | 84 | 19q13 | |
| 3 | miR-517a | 79 | 19q13 | |
| 4 | miR-526b | 42 | 19q13 | |
| 5 | miR-518b | 55 | 19q13 | |
| 6 | miR-515-5p | 45 | 19q13 | |
| 7 | miR-512-3p | 50 | 19q13 | |
| 8 | miR-516-5p | 50 | 19q13 | |
| 9 | miR-520h | 29 | 19q13 | |
| 10 | miR-524* | 26 | 19q13 | |
| 11 | miR-127 | 23 | 14q32 | |
| 12 | miR-520g | 23 | 19q13 | |
| 13 | miR-526a | 22 | 19q13 | |
| 14 | miR-520a* | 21 | 19q13 | |
| 15 | miR-525 | 20 | 19q13 | |

| No. | microRNA | Ratio | Locus | Alu |
|-----|------------|-------|-------|-----|
| 1 | miR-127 | 49 | 14q32 | |
| 2 | miR-377 | 44 | 14q32 | |
| 3 | miR-494 | 36 | 14q32 | |
| 4 | miR-495 | 31 | 14q32 | |
| 5 | miR-517a | 27 | 19q13 | |
| 6 | miR-516-5p | 26 | 19q13 | |
| 7 | miR-517b | 10 | 19q13 | |
| 8 | miR-512-3p | 8 | 19q13 | |
| 9 | miR-192 | 6 | 11q13 | |
| 10 | miR-193b | 6 | 16p13 | |
| 11 | miR-134 | 4 | 14q32 | |
| 12 | miR-182 | 4 | 7q32 | |
| 13 | miR-368 | 4 | 14q32 | |
| 14 | miR-498 | 4 | 19q13 | |
| 15 | miR-126 | 3 | 9q34 | |

図 2

AGS および T24 細胞に対するエピジェネティック治療後の miRNA 発現プロファイル

これらの miRNA の Alu 配列を含むプロモーター領域は高度にメチル化され、ヒストン修飾も不活性化されていたが、エピジェネティック治療によって脱メチル化され、ヒストン修飾も活性化されることを確認した。特に最も高い発現上昇を認めた *miR-512-5p* は抗アポトーシス因子である *MCL1* 癌遺伝子を標的にすることが示され、エピジェネティック治療による *miR-512-5p* の誘導が *MCL1* の抑制を介してアポトーシスを引き起こすことが示された。以上から、エピジェネティック治療や特異的な miRNA の導入・不活化などが標的がん遺伝子の抑制を介した胃がんの新たな予防・治療戦略となることが示唆された (図 3)。

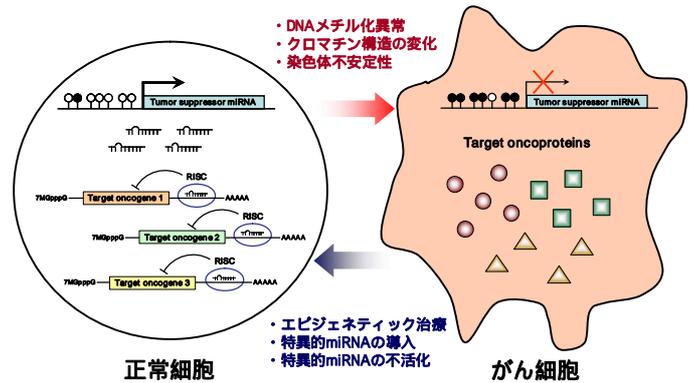


図 3

miRNAを介したがんに対するエピジェネティック治療の原理

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 3 件)

Saito Y, Suzuki H, Tsugawa H, Nakagawa I, Matsuzaki J, Kanai Y, Hibi T. Chromatin remodeling at Alu repeats by epigenetic treatment activates silenced *microRNA -512-5p* with downregulation of *Mcl-1* in human gastric cancer cells. *Oncogene* (2009 in press)

Saito Y, Friedman JM, Chihara Y, Egger G, Chuang JC, Liang G. Epigenetic therapy upregulates the tumor suppressor *microRNA -126* and its host gene *EGFL7* in human cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009; 379(3):726-731.

Saito Y, Suzuki H, Hibi T. The role of *microRNAs* in gastrointestinal cancers. *J Gastroenterol*. 44 Suppl 19:18-22, 2009.

[学会発表](計 2 件)

齋藤義正、鈴木秀和、日比紀文
マイクロRNAを標的とした胃がんに対するエピジェネティック治療
第16回浜名湖シンポジウム
静岡県浜名湖, 2008年12月20日

Saito Y, Suzuki H, Hibi T.
Activation of Alu-associated *microRNAs* by epigenetic therapy of human gastric cancer cells (Oral presentation)
Digestive Disease Week
米国 San Diego, 2008年5月19日

[図書](計 0 件)

[産業財産権]
出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

[その他]

6. 研究組織

(1)研究代表者

齋藤 義正 (SAITO YOSHIMASA)
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号: 90360114

(2)研究分担者

鈴木 秀和 (SUZUKI HIDEKAZU)
慶應義塾大学・医学部・講師
研究者番号: 70255454

(3)連携研究者