

平成23年9月

門脇光俊 学位論文審査要旨

主 査 中 島 健 二
副主査 大 野 耕 策
同 渡 辺 高 志

主論文

DNA methylation-mediated silencing of nonsteroidal anti-inflammatory drug-activated gene (NAG-1/GDF 15) in glioma cell lines

(神経膠腫細胞のNAG-1/GDF 15遺伝子は、DNAメチル化により活性が抑制される)

(著者：門脇光俊、吉岡裕樹、紙谷秀規、渡辺高志、Paul A. Wade、Thomas E. Eling)

平成23年 International Journal of Cancer 掲載予定

学 位 論 文 要 旨

DNA methylation-mediated silencing of nonsteroidal anti-inflammatory drug-activated gene (NAG-1/GDF 15) in glioma cell lines

(神経膠腫細胞のNAG-1/GDF 15遺伝子は、DNAメチル化により活性が抑制される)

非ステロイド系抗炎症剤により活性化される遺伝子であるNAG-1/ GDF15 (以下NAG-1) は、腫瘍の発達や進行に関与している。しかし、神経膠腫の発達・進行とNAG-1の発現との関係は、いまだ明確にされていない。一方、プロモーター遺伝子の過剰メチル化は、癌細胞における癌抑制遺伝子を抑制する。本研究では、神経膠芽腫においてNAG-1の発現がNAG-1プロモーターのメチル化により制御されているかどうか、また、NAG-1プロモーターDNAがメチル化されているとするなら、プロモーターの過剰メチル化が腫瘍細胞において薬剤によるNAG-1誘導を阻害しているか否かについて検討した。

方 法

神経膠腫細胞株、神経膠芽腫細胞株と正常星状細胞のNAG-1基礎発現をWestern blot、ELISA、PCRを用いて検討し、また、DNAのメチル化状態をbisulfite sequencingを用いて検討した。異なるDNAメチル化レベルの神経膠芽腫を用い、薬剤投与によるNAG-1発現の差異、および、NAG-1発現の阻害機序をWestern blot、ELISA、PCR、Chromatin immunoprecipitation assay等により検討した。

結 果

神経膠芽腫細胞は他の神経膠腫細胞や正常星状細胞と比較しNAG-1の基礎発現が低く、また、DNAメチル化頻度が高いことが判明した。さらに、DNAのメチル化とNAG-1の基礎発現には逆相関が認められた。NAG-1プロモーターのEgr-1 binding siteが過剰メチル化されることにより、NAG-1プロモーターへのEgr-1 bindingが阻害された。神経膠芽腫細胞におけるNAG-1の基礎発現や、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤であるトリコスタチンA (TSA) 、COX阻害剤であるサリンドラックサルファイド (SS) の投与によるNAG-1の発現が、阻害されていることが判明した。脱メチル化薬剤を前投与することにより過剰メチル化DNAを有す神経膠芽腫細胞において、NAG-1の基礎発現の上昇および薬剤に対する反応性の改善が認められた。

考 察

神経膠芽腫は治療抵抗性が高く、有効な治療法が確立されていない。NAG-1は癌予防活性を有すると考えられている。本研究により神経膠芽腫細胞DNAの過剰メチル化がNAG-1の基礎発現およびTSAやSSによるNAG-1誘導を阻害していることが解明された。本研究の結果から、NAG-1プロモーターが過剰メチル化されており、化学療法に抵抗性の神経膠芽腫に対し、脱メチル化薬剤とNAG-1のような腫瘍抑制タンパクを誘導するTSA、SSなどの薬剤を複合的に使用することにより、化学療法に対する感受性を改善させられる可能性が示された。本研究の結果は、薬物治療抵抗性の神経膠芽腫に対する今後の治療戦略の重要な糸口になると思われる。

結 論

神経膠芽腫細胞のNAG-1/GDF 15は、DNAメチル化により活性が抑制されることが証明された。脱メチル化薬剤と他の抗腫瘍薬の併用は神経膠芽腫の有効な治療法となる可能性がある。