

膀胱癌の進展、転移におけるエピジェネティックな病態解析と治療応用

慶應義塾大学医学部 泌尿器科学教室

助教 松本 一宏

(共同研究者)

慶應義塾大学医学部 泌尿器科学教室 准教授 宮嶋 哲

慶應義塾大学医学部 泌尿器科学教室 講師 菊地 栄次

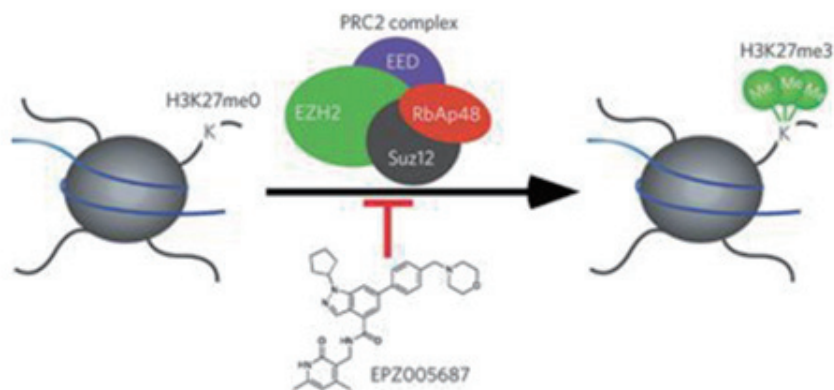
慶應義塾大学医学部 泌尿器科学教室 講師 小坂 威雄

慶應義塾大学医学部 泌尿器科学教室 助教 早川 望

はじめに

翻訳後修飾であるヒストンのメチル化は、DNAの塩基配列に依存せずに遺伝子の発現を制御するエピジェネティクス機構の一部であることが知られている。このエピジェネティクス機構に異常を生じることが細胞癌化の機序の一つとして注目されている。EZH2はポリコームタンパク質と呼ばれる遺伝子発現調節タンパク質複合体の一員としてこのエピジェネティックな遺伝子発現調節に関与している。EZH2 geneは、PcGタンパク質複合体を構成し、H3K27をメチル化することにより負の遺伝子制御に関与する。正常細胞ではEZH2がmicroRNAによる発現抑制を受け、癌細胞ではそのmicroRNAコード領域の欠失とEZH2の高発現化が相関していることが示されている。当教室では以前より前立腺癌および尿路上皮癌におけるH3K27me3およびEZH2発現の研究を行っている。尿路上皮癌においては、腎尿管全摘術を施行した上部尿路癌の173例を後方視的に解析した結果、EZH2とH3K27me3の正の相関およびEZH2の高発現が5年非再発率および癌特異的生存率において独立した負の予測因子であることを認めた(2015年 American urology association annual meetingにて発表)。今回EZH2の選択的メチル化抑制因子であるGSK126(図1)を用いて抗腫瘍効果の検討を行った。

(図1)

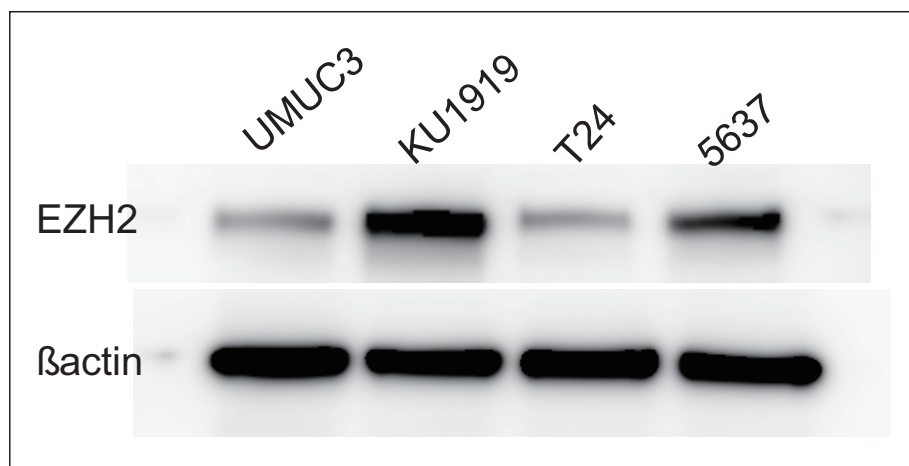


<GSK126>

結 果

まず*in vitro*で、EZH2の発現を確認した。Western blottingにて、当教室で保有してある各種ヒト膀胱癌細胞株 (UMUC3、KU19-19、T24、5637) でのEZH2の発現を確認した (図2)。結果、KU19-19および5637で発現が強いことが分かった。よって、特にこの2つの細胞株が*in vivo*実験の候補と考えられた。

(図2)



次に、上記4種のヒト膀胱癌細胞株においてWST assay法とセルカウンターによる細胞数変化を確認することで、GSK126の殺細胞効果を確認した。結果、濃度依存 (5-1000 μ M) および時間依存 (24-96時間) のいずれにおいても、有効な殺細胞効果は認められなかった。

また、EZH2を強発現しているKU19-19および5637において、GSK126投与後のH3K27me3の発現をWestern blotting法で確認したが、control群と比して変化は認められなかった。

考 察

他癌腫において*in vitro*にて選択的EZH2 阻害剤であるGSK126 投与の有用性の報告^{1,2)}は散見される。また、膀胱癌においてEZH2の発現が増強されているとの報告³⁾はあるが、いまだEZH2を阻害することによる抗腫瘍効果に関する報告はない。以上から今回、膀胱癌におけるGSK126の有用性の検討を行ったが、GSK126による癌細胞の増殖抑制効果は認められなかった。

ヒト膀胱癌細胞株であるT24においてEZH2geneに対するsiRNAによって抗腫瘍効果が確認された報告⁴⁾があることから、EZH2の阻害は膀胱癌において一定の抗腫瘍効果が期待できると考えられる。今回、結果が出なかった要因の一つとして、検討した時間が考えられる。GSK126は直接的な殺細胞効果を有するわけではないため効果発現までには時間を要する。今までの報告から本研究ではGSK126の抗腫瘍効果の確認を96時間までとしていたが、最近120時間の報告⁵⁾もありさらに時間をおいての確認が必要と考えられた。また、今回他剤と

の併用に関しては検討していないが、近年、他癌腫においてEZH2を阻害することで抗癌剤に対する感受性を増強するとの報告^{6,7)}をいくつか認める。今後シスプラチンを始め膀胱癌に使用されている抗癌剤との相乗効果につき検討をしていきたい。

さらに、ヒストンメチル化酵素にはEZH1もあり、EZH2と同様にH3K27のメチル化に関与している。今回使用したGSK126は、EZH2の選択的阻害薬であるためEZH1に関しては作用していない。最近、EZH1/2をともに選択的に阻害するUNC1999が開発された。今後、膀胱癌におけるEZH1の発現の確認およびUNC1999を使用した抗腫瘍効果の検討を考えている。

要 約

細胞の癌化の機序の一つとして、エピジェネティクス制御機構が注目されているが、EZH2はヒストンH3をメチル化 (H3K27me3) することにより、このエピジェネティックな遺伝子発現調節に関与していることが知られている。膀胱癌においてもEZH2の強発現を確認することができた。しかし、EZH2の選択的メチル化抑制因子であるGSK126を用いて膀胱癌に対する抗腫瘍効果の検討を行ったが、本研究ではGSK126による癌細胞の増殖抑制効果は認められなかった。分子レベルでの膀胱癌の進展、転移におけるエピジェネティクス制御機構を見直した上で、実験系の再検討、他治療薬との併用効果の検討等が必要であると考える。

文 献

- 1) McCabe MT, Ott HM, Ganji G, et al. EZH2 inhibition as a therapeutic strategy for lymphoma with EZH2-activating mutations. *Nature*. 2012; 492 (7427) : 108-12.
- 2) Sato T, Kaneda A, Tsuji S, et al. PRC2 overexpression and PRC2-target gene repression relating to poorer prognosis in small cell lung cancer. *Sci Rep*. 2013; 3: 1911.
- 3) Raman JD, Mongan NP, Tickoo SK, et al. Increased expression of the polycomb group gene, EZH2, in transitional cell carcinoma of the bladder. *Clin Cancer Res*. 2005; 11 (24 Pt 1) : 8570-6.
- 4) Wang HF, Yang H, Hu LB, et al. Effect of siRNA targeting EZH2 on cell viability and apoptosis of bladder cancer T24 cells. *Genet Mol Res*. 2014; 13 (4) : 9939-50.
- 5) Cardenas H, Zhao J, Vieth E, et al. EZH2 inhibition promotes epithelial-to-mesenchymal transition in ovarian cancer cells. *Oncotarget*. 2016. [Epub ahead of print]
- 6) Wu C, Jin X, Yang J, Yang Y, et al.. Inhibition of EZH2 by chemo- and radiotherapy agents and small molecule inhibitors induces cell death in castration-resistant prostate cancer. *Oncotarget*. 2016; 7(3) : 3440-52.
- 7) Cai L, Wang Z, Liu D. Interference with endogenous EZH2 reverses the chemotherapy drug resistance in cervical cancer cells partly by up-regulating Dicer expression. *Tumour Biol*. 2016; 37(5) : 6359-69.