

発がん初期に発現上昇するヒストンメチル化酵素が細胞がん化に与える影響の解析

名古屋市立大学 大学院薬学研究科
分子生物薬学分野 准教授 長田 茂宏

【背景】

がん化機構の解明のためには、遺伝子の変異に加えて、DNA 配列変化を伴わないエピジェネティクスを考慮した解析が必要とされている (1,2)。さらに、遺伝子異常とエピジェネティクス異常の相互作用の検討も重要である。がんの早期発見、早期治療のためには、発がん初期に変化する因子の解析が必要である。しかし、発がん初期におけるエピジェネティクス変化およびそれに関する分子機構は不明な点が多い。

【目的】

我々は発がん初期におけるヒストン修飾因子の役割を明らかにすることを目的に、肝前がん病変において発現上昇しているクロマチン関連因子の解析を進めている。そして、これまでにヒストンメチル化酵素 coactivator-associated arginine methyltransferase 1 (CARM1)、および PR/SET domain containing protein 07 (PR-SET7)が発現上昇していることを明らかにしている (3,4)。また、CARM1 が腫瘍マーカー陽性領域で発現上昇していることも明らかにしている (5)。本研究では、これらヒストンメチル化酵素のがん細胞における役割を明らかにすることを目的に、ヒストンメチル化酵素の相互作用と CARM1 の細胞内局在に与える影響を検討した。

【結果・考察】

・ CARM1、PR-SET7 の相互作用に関する解析

CARM1、PR-SET7 とともに Wnt シグナルの転写制御因子である β -カテニンと相互作用することが知られている。実際に HeLa 細胞において、CARM1、PR-SET7 とともに β -カテニンと相互作用することが示されたが、CARM1 と PR-SET7 の相互作用は、免疫沈降法において検出されなかった。CARM1 は β -カテニンを介したプロモーター活性を上昇させたが、PR-SET7 はその効果を示さなかった。glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β)

の阻害により、 β -カテニンの核における蓄積が促進される。**GSK-3 β** の阻害剤である塩化リチウム添加により、 β -カテニンを介したプロモーター活性は上昇し、さらに **CARM1**により、活性化された。しかし、**PR-SET7**はその活性に影響を与えなかった。また、**CARM1**と **PR-SET7**による協調作用も検出されなかった。これらの結果から、発がん過程で発現上昇するこれらのヒストンメチル化酵素に機能的な相互作用は無いと考えられた。

・ **CARM1** 発現および局在に関する解析

CARM1 過剰発現により、ポリユビキチン様のラダーバンドが検出されることを明らかにしていた。最近、糸球体上皮細胞の高グルコース培養条件下において、**CARM1** がポリユビキチン系を介して分解されることが報告された。そこで、ヒト子宮頸がん由来 **HeLa** 細胞を高グルコース条件において培養したが、**CARM1** 発現量およびポリユビキチン様のシグナルに顕著な変化は現れなかった。しかし、**GSK-3 β** の阻害剤である塩化リチウム添加により、このポリユビキチン様のシグナルが増強する傾向が観察された。今後は、**CARM1** 分解系に関わるユビキチン化酵素の同定およびその制御系について、解明する必要がある。

肝化学発がん過程における **CARM1** 発現状態の解析により、**CARM1** は核で発現上昇するだけでなく、細胞質においても発現上昇することが明らかになった。類似の現象は前立腺がんなどのがん部位においても観察されることから、細胞質における発現はがんの進行、悪性化と関連する可能性が考えられている。そこで、**CARM1** 局在に影響を与える因子を検討した。**HeLa** 細胞において、プロテアソーム阻害剤 **MG132**、高グルコース、酸化ストレスとしての過酸化水素、**GSK-3 β** 阻害剤塩化リチウムによる処理は **CARM1** の局在に顕著な影響を与えなかった。同様にラット線維芽細胞由来 **3Y1** 細胞を用いた解析を行った。**MG132**、過酸化水素、塩化リチウム処理に加え、**TGF- β** 、DNA 損傷誘発薬剤、**CARM1** が修飾するヒストン **H3R17** メチル化阻害剤エラグ酸処理を行い、**CARM1** の局在を検討した。その結果、一部の DNA 損傷誘発薬剤処理により、**CARM1** の細胞質における発現が増加する可能性が見出された。今後、**CARM1** の局在変化に与える条件の詳細を検討するとともにその分子機構を明らかにする。

がんとエピジェネティクス制御の関係が明らかにされ、クロマチン修飾酵素の阻害剤が抗がん剤として開発されつつある。しかし、クロマチン修飾酵素の標的タンパク質はヒストンだけではなく、細胞質に発現しているタンパク質も含まれる。今後、**CARM1** の細胞質における役割、標的分子の同定・解析により、がん細胞における **CARM1** の機能解明をすすめる。

【引用文献】

1. Rodríguez-Paredes, M., Esteller, M. Cancer epigenetics reaches mainstream oncology. *Nat Med.*, 17(3): 330-339, 2011.
2. Morgan, MA., Shilatifard, A. Chromatin signatures of cancer. *Genes Dev.*, 29(3): 238-249, 2015.
3. Osada, S., Naganawa, A., Misonou, M., Tsuchiya, S., Tamba, S., Okuno, Y., Nishikawa, J., Satoh, K., Imagawa, M., Tsujimoto, G., Sugimoto, Y., Nishihara, T. Altered gene expression of transcriptional regulatory factors in tumor marker-positive cells during chemically induced hepatocarcinogenesis. *Toxicol. Lett.*, 167(2): 106-113, 2006.
4. Hashizume, H., Gomita, U., Imagawa, M., Osada, S. Histone methyltransferase PR-Set7 and histone variant H2A.Z, induced during hepatocarcinogenesis, repress the promoter activity of the tumor marker gene and the Ras-induced colony formation activity. *J. Health Sci.*, 57(3): 264-273, 2011.
5. Osada, S., Suzuki, S., Yoshimi, C., Matsumoto, M., Shirai, T., Takahashi, S., Imagawa, M. Elevated expression of coactivator-associated arginine methyltransferase 1 is associated with early hepatocarcinogenesis. *Oncol. Rep.*, 30(4): 1669-1674, 2013.