

# メチルトランスフェラーゼ SET8 による TGF- $\beta$ シグナル制御を介したがん悪性化メカニズムの解明

名古屋市立大学大学院  
薬学研究科 准教授 井上靖道

名古屋市立大学大学院  
薬学研究科 教授 林 秀敏

## 1. 研究の背景・目的

TGF- $\beta$  (Transforming growth factor- $\beta$ ) は増殖抑制因子として知られ、早期のがんでは細胞増殖を抑制して、がんの進展を抑える作用を持つ。しかし、多くのがんでは TGF- $\beta$ による増殖抑制作用を受けなくなっており、一方で腫瘍組織では TGF- $\beta$ を豊富に産生している場合が多い。注目すべきことに、TGF- $\beta$ による増殖抑制から回避したがん細胞においても TGF- $\beta$ による上皮間葉転換 (epithelial-mesenchymal transition: EMT) 促進作用は見られることが多く、TGF- $\beta$ はがんの浸潤・転移を促すなどがんの悪性化に寄与している<sup>1,2)</sup>。それら TGF- $\beta$ の相反する生理作用がどのように制御されているかについては未だ不明なままであり、TGF- $\beta$ の腫瘍悪性化作用を選択的に抑制するがん治療法の確立に向け解明されることが急務である。

筆者らは、がんにおける相反した TGF- $\beta$ の細胞応答は、核内での TGF- $\beta$ 標的遺伝子の転写制御領域上における選択的な Smad 及び Smad と協調的に機能するコファクターの組み合わせに起因していると想定し研究を進めたところ、ヒストンメチルトランスフェラーゼとして知られる SET8 が新たな細胞応答選択的な TGF- $\beta$ シグナルの抑制因子であることを見いだした。そこで本研究では、SET8 によるエピジェネティック制御を介した TGF- $\beta$ シグナル制御機構を明らかにし、新たな視点からの分子標的薬の開発につながる分子基盤の構築を目指した。

## 2. 実験方法・結果

- SET8 による TGF- $\beta$  の増殖抑制作用の遮断

p21 の発現による細胞周期進行の阻害と PAI-1 による細胞老化の誘導は、TGF- $\beta$  による細胞増殖抑制作用の中心的な作用として知られている。TGF- $\beta$  により誘導される PAI-1 や p21 の発現上昇は、SET8 のノックダウンによって増強されていた。そこで、SET8 が TGF- $\beta$  による細胞周期停止に対する影響について、BrdU の取り込みを利用した実験により検討した。HaCaT 細胞に TGF- $\beta$  を処理すると BrdU の取り込みが低下したことから、TGF- $\beta$  は S 期への進行を阻害することが確認された。HaCaT 細胞で SET8 をノックダウンさせると、TGF- $\beta$  による G1 期停止を著しく増強していた。これらの結果から、SET8 は TGF- $\beta$  による増殖抑制作用を遮断する作用を持つと考えられた。

- ・ SET8 は TGF- $\beta$  誘導性 EMT に影響を与えない

ヒト肺がん細胞株である A549 は、TGF- $\beta$  により EMT が誘導されることが報告されている。そこで A549 細胞において SET8 をノックダウンさせ、TGF- $\beta$  の作用に与える影響について検討した。HepG2 細胞や HaCaT 細胞で見られたのと同様に、TGF- $\beta$  により誘導される PAI-1 mRNA の発現は、SET8 のノックダウンにより増強された。ところが、TGF- $\beta$  による Snail mRNA の発現上昇、及び E-cadherin mRNA の発現低下は、SET8 をノックダウンしても変化しなかった。これらの結果から、TGF- $\beta$  による EMT 誘導のように、がんの悪性を示す作用に対して、SET8 はほとんど作用しないことが考えられた。

- ・ SET8 は、TGF- $\beta$  刺激により PAI-1 プロモーター上から解離する

SET8 による PAI-1 mRNA 発現制御機構をより詳細に解析するために、PAI-1 のプロモーター上における SET8 の結合について、ChIP assay により解析した。A549 細胞を TGF- $\beta$  で処理すると Smad2/3 は PAI-1 プロモーター上の SBE 領域にリクルートしていた。一方、SET8 は TGF- $\beta$  未刺激の状態でも PAI-1 プロモーター上の SBE 領域に結合していた。更に興味深いことに、TGF- $\beta$  処理により SET8 は PAI-1 プロモーター上から解離することが分かった。これらの結果から、おそらく SET8 は TGF- $\beta$  の刺激がない状態では PAI-1 のプロモーター上を占拠することで転写を OFF に調節しており、TGF- $\beta$  の刺激が入ると DNA 上から解離することで、コアクチベーターを含んだ Smads 複合体による転写活性化が引き起こされていると示唆された。

### 3. 考察

本研究では、TGF- $\beta$  の作用の二面性を引き出す分子機構の解明を目指し、特に Smad 分子を介してエピジェネティックな作用を持つ分子に焦点を絞って解析を行った。その結果、ヒストンメチルトランスフェラーゼの一つとして知られる SET8 が、新たな細胞応答選択的な TGF- $\beta$  シグナルの抑制分子であることを見出した。SET8 は TGF- $\beta$  の増殖抑制作用を

遮断するが、悪性化促進作用に対してはほとんど阻害作用を示さないことが本解析により明らかとなった。そのため進行したがんで、SET8 が過剰発現していることは、TGF- $\beta$  による増殖抑制からの回避を促し、TGF- $\beta$  による悪性化作用がより積極的に亢進され、がんの転移や浸潤が上昇すると推察される。そこで、悪性化したがんにおいては、SET8 の作用を遮断することで、TGF- $\beta$  の増殖抑制作用を回復させ、がんの増殖を抑えることができると考えられた。本研究結果から、がんの創薬の分子標的として SET8 は有用となることが期待され、より詳細な SET8 の機能解析が治療薬開発の上で望まれる。

#### 4. 参考文献

1. Inoue Y, Imamura T. Regulation of TGF-beta family signaling by E3 ubiquitin ligases. *Cancer Sci.* 2008, 99, 2107-2112.
2. Ikushima H, Miyazono K. TGFbeta signalling: a complex web in cancer progression. *Nat. Rev. Cancer* 2010, 10, 415-424.