

今日の医学

大腸癌における癌抑制遺伝子の過剰メチル化

山口大学医学部情報解析医学系・臨床検査医学講座

日野田裕治, 末廣 寛

Key words : 大腸癌, 癌抑制遺伝子, メチル化

大腸癌はその分子発生メカニズムから, 現在大きく2つに分けられている。1つは85%を占める主要な遺伝子経路であるCIN (chromosomal instability) 経路であり, アレル欠失, 染色体の増幅および転座で特徴付けられる。大腸癌では1p, 8pの欠失, 17p, 18qのLOH (loss of heterozygosity) が高頻度に見られるが, 遺伝子レベルではK-ras, APC, p53の変異がよく知られている。臨床像は左側結腸・直腸に多い通常の大腸癌である。もう1つは残りの15%を占めるMSI (microsatellite instability) 経路であり, マイクロサテライトと呼ばれる1-数塩基の繰り返し配列に欠失/挿入変異が生じてフレームシフト変異をきたす。DNAミスマッチ修復遺伝子の機能低下が原因となっている。通常型大腸癌に比べると次のような際立った特徴を有する: 1) 女性に多い, 2) 右側結腸に多い, 3) 低分化で粘液産生細胞型が多い, 5) リンパ球浸潤が多い, 6) 予後が良い。

癌の発生・進展におけるDNAメチル化の役割で, 最も良く解析されているのが癌抑制遺伝子の不活性化である。過剰なメチル化を受けるのは, プロモーター領域を中心とする0.5-2 kb (kilobase) の領域で, CpG islandと呼ばれ, シトシンとグアニンのジヌクレオチドに富む。CpG islandの多数のシトシンにメチル化が起ると, ヒストン蛋白の修飾を介してクロマチンの高次構造が変化し, その遺伝子の転写が抑制される。実際の例について, 次に最近の我々の成績を紹介したい。

K-rasの変異は通常型大腸癌の45%に見出される

代表的な癌遺伝子の活性化であるが, 最近, rasエフェクター分子群の1つで細胞増殖抑制に関するRASSF1が癌抑制遺伝子候補であることが明らかにされた。そこで我々は大腸癌におけるRASSFファミリーの過剰メチル化について検討を行った¹⁾。10種類の大腸癌細胞株において, 5つのファミリーメンバーのうちRASSF2が最も高頻度に遺伝子発現の低下とメチル化を認めたため, RASSF2に着目した。大腸癌細胞株にRASSF2遺伝子を過剰発現させると, 細胞増殖が抑制されアポトーシスが誘導された。臨床的検討では, 大腸癌の51% (67/122) でRASSF2の過剰メチル化が検出され, K-ras変異との有意な関連を認めた。これらの結果から, RASSF2が大腸癌の癌抑制遺伝子候補の1つであり, K-ras変異とRASSF2の過剰メチル化が相俟って大腸癌の進展に寄与することが示唆された¹⁾。

大腸癌の癌抑制遺伝子の中で最も高率に異常が見出されるのはAPCであり, 我々の検討でもAPCの変異は62% (129/208) に見出された²⁾。一方, APCの過剰メチル化は70.2% (146/208) で検出された。APCの変異とメチル化とは関連傾向を認めたが, APC変異の中でG to A transition (グアニンからアデニンへの変異) に注目すると, メチル化との強い関連が見出され ($P < 0.001$), メチル化が特定の変異の誘導に関与することが示唆された²⁾。G to A transitionにはO⁶-methylguanine DNA methyltransferase (MGMT) の関与が知られている。MGMTはグアニンのO⁶位からアルキルグループや付加物を除去する修復酵素であるが, これまで大腸癌において本酵素遺伝子のメチル化とK-rasやp53のG to A transitionとの関連が報告されてきた。我々もMGMTのメチル化とAPCのG to A transitionが強い関連を示す ($P < 0.001$) ことを明らかにした²⁾。このように, 過剰メチル化は癌抑制遺伝子の不活性化に加えて, DNA修復酵素の発現低下にも関与して癌化を促進すると考えられる。

APCを含むWnt/ β -catenin/Tcfシグナル経路は大腸癌の発生・進展に中心的役割を担うと目されている。我々はWntのインヒビターであるSFRPが大腸癌の約90%で過剰メチル化により発現が抑制されていることを明らかにした³⁾。APCや β -cateninに変異のある大腸癌細胞株にSFRPを過剰発現させると増殖を抑制しアポトーシスを誘導できることか

ら、Wntシグナルの遮断が大腸癌治療として有効である可能性を示した³⁾。さらに最近、WntのレセプターであるFrizzled (FZD) は10の遺伝子ファミリーメンバーから成るが、このうちFZD7が大腸癌細胞株で高頻度に発現することを見出した。FZD7をsiRNAで抑制するとTcf活性が抑制されアポトーシスが誘導されることから、現在大腸癌治療のための分子標的として検討を進めている。

大腸癌の発生・進展における従来の癌遺伝子と癌抑制遺伝子に加えて、癌抑制遺伝子の過剰メチル化による不活性化の役割が明らかにされつつある。このような研究による大腸癌の新しい診断および治療法の開発が期待される。

引用文献

- 1) Akino K, Toyota M, Suzuki H, Mita H, Sasaki Y, Ohe-Toyota M, Issa JP, Hinoda Y, Imai K, Tokino T. The Ras effector RASSF2 is a novel tumor-suppressor gene in human colorectal cancer. *Gastroenterology* 2005 ; 129 : 156-169.
- 2) Suehiro Y, Wong CW, Chirieac LR, Kondo Y, Shen L, Webb CR, Chan YW, Chan ASY, Chan TL, Wu T, Rashid A, Issa JP, Hamanaka Y, Hinoda Y, Shannon RL, Yuen ST, Leung SY, Hamilton SR. Epigenetic-genetic interactions in colorectal carcinoma: Association of G-to-A transition mutations in the APC gene with concurrent promoter hypermethylation of APC and the MGMT or hMLH1 gene. Submitting.
- 3) Suzuki H, Watkins DN, Jair K-W, Schuebel KE, Markowitz SD, Chen W-D, Pretlow TP, Yang B, Akiyama Y, van Engeland M, Toyota M, Tokino T, Hinoda Y, Imai K, Herman JG, Baylin SB. Epigenetic inactivation of the SFRP's complements genetic alterations to allow constitutive WNT pathway signaling in human colorectal cancer. *Nat Genet* 2004 ; 36 : 417-422.