



TITLE:

Pattern of RECK CpG methylation as a potential marker for predicting breast cancer prognosis and drug-sensitivity( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Shi, Gongping

---

CITATION:

Shi, Gongping. Pattern of RECK CpG methylation as a potential marker for predicting breast cancer prognosis and drug-sensitivity. 京都大学, 2016, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2016-07-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19927>

RIGHT:

京都大学	博士 (医学)	氏名	施 恭平
論文題目	Pattern of <i>RECK</i> CpG methylation as a potential marker for predicting breast cancer prognosis and drug-sensitivity ( <i>RECK</i> CpG メチレーションのパターンは乳がんの予後及び薬剤感受性の指標となりえる)		
(論文内容の要旨) <p>がん細胞における DNA メチル化の異常は古くから知られている。がん抑制遺伝子のエピジェネティック・サイレンシングが腫瘍形成に関わることも想定されている。マトリックス・メタプロテアーゼ制御活性を有する GPI アンカー型糖タンパク質 RECK は、多くの腫瘍で発現低下しており、その低下は予後不良性と相関する。大腸、胃、肝、肺などのがんでは、<i>RECK</i> CpG アイランドのメチル化と予後不良性の相関も見出されている。2011 年、Hi11 らは、乳がんの全ゲノム・メチル化解析を行い、がん組織で高度にメチル化されている 6 個の遺伝子座を見出し、これらが無再発生存期間と逆相関することを報告したが、その内の一つが <i>RECK</i> CpG アイランド中のイントロン 1 に含まれる領域のメチル化 (RIM と略称) だった。</p> <p>本研究では、<i>RECK</i> メチル化の生物学的意義を明らかにする目的で、まず、15 種の乳がん細胞株における RIM 解析を試みた。その結果、8 細胞株で RIM が検出され、殊にルミナル型細胞株 [エストロゲン受容体 (ER) 陽性] では 5 例全てが RIM 陽性だった。これは、臨床検体を用いた Hi11 らの結果ともよく一致しており、これらの細胞株の有用性が示唆された。次に、これらの細胞株に DNA メチル化酵素阻害剤 5-azadC および HDAC 阻害剤 MS275 を単独あるいは組み合わせて添加し、<i>RECK</i> 発現を見たところ、3 種の RIM 陽性ルミナル型細胞株 MCF7、T-47D、ZR-75-1 の間で薬剤応答性に差が見られた。すなわち、T-47D と ZR-75-1 では、5-azadC 処理後に MS275 を加えた際に顕著な <i>RECK</i> 発現上昇が見られるのに対し、MCF7 では MS275 単独で <i>RECK</i> 発現上昇が見られ、<i>RECK</i> 発現の薬剤応答性と RIM とは必ずしも相関しないことが分かった。そこで、CpG アイランド中、より上流側の、プロモーターとエクソン 1 を含む領域のメチル化 (RPM と略称) を検出する系を新たに樹立し、これを同じ細胞株に適用してみたところ、T-47D と ZR-75-1 は RPM 陽性、MCF7 は RPM 陰性であり、薬剤応答性と良く相関していた。</p> <p>次に、これらの知見の臨床的意義を探るために、62 例の乳がん組織および周辺正常組織について、RPM、RIM および <i>RECK</i> mRNA 量を調べた。その結果、RIM が <i>RECK</i> mRNA 量の低下およびがんの進行度と相関すること、特に予後不良とされるプロゲステロン受容体 (PR) 陰性ルミナル腫瘍 (ER+PR-) の大部分が RIM 陽性であること、また、ルミナル腫瘍や ER+PR-腫瘍の約半数が RPM 陰性であることなどが見出された。</p> <p>最後に乳癌における <i>RECK</i> 発現誘導の生物学的意義を探る目的で 3 つの実験を行い以下の知見を得た。第一に、T-47D 細胞 (RPM+RIM+) では、5-azadC 処理と MS275 処理を併用した時に最も強い増殖抑制効果が見られること、第二に、T-47D 細胞は RPM 陰性細胞株に比べ methotrexate 感受性が低い、<i>RECK</i> 強制発現によつ感受性が高まること、第三に、MDA-MB-231 細胞 (RPM-RIM-) のマトリゲル浸潤能は MS275 単独で抑制されるのに対し、T-47D 細胞のマトリゲル浸潤能は抑制されないこと、などが見出された。すなわち、RPM は、薬剤抵抗性と良く相関し、少なくともその一部は、<i>RECK</i> 発現の抑制によるものと考えられた。</p> <p>以上の結果より、RIM は乳がんの予後因子として、RPM は薬剤感受性の予測因子として共に有用であることが示唆された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

GPI アンカー型 MMP 制御因子 RECK は、多くの腫瘍で発現低下しており、その低下は予後不良性と相関する。乳癌では、網羅的メチル化解析により、無病生存率と逆相関する高度メチル化領域として *RECK* を含む 6 個の遺伝子座が同定された。この先行研究では、*RECK* CpG アイランド中のイントロン 1 に含まれる領域 (RIM と略称) が検出された。

今回、申請者らは、*RECK* CpG アイランド中、プロモーターおよびエクソン 1 を含む領域のメチル化 (RPM と略称) に注目し、その意義を、細胞株と臨床検体を用いて検討した。その結果、RIM 陽性例はルミナル・サブタイプの乳癌に多いが、その半数以上が RPM (プロモーター・メチル化) 陰性だった。培養系において、RPM 陰性細胞ではヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害薬 MS275 による *RECK* 発現誘導および浸潤抑制が見られたのに対し、RPM 陽性細胞では、MS275 と DNA 脱メチル化剤を併用した時に初めて顕著な *RECK* 発現誘導および細胞傷害が見られた。RPM 陽性細胞は、別の抗がん薬 methotrexate への感受性も低く、この傾向は *RECK* 強制発現によって改善された。これらの結果より、RIM は乳癌の予後予測因子として有用であるのに対し、RPM は、薬剤感受性予測因子として有用である可能性が示唆された。

以上の研究は、*RECK* 遺伝子メチル化の臨床的意義の解明に貢献し、分子腫瘍学の発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 28 年 5 月 25 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降