

消化管癌におけるテロメラーゼとヒストンアセチル化との
相互作用とその意義

(研究課題番号:11670175)

平成11年度－平成12年度科学研究費補助金(基盤研究(C)(2))

研究成果報告書

平成13年3月

研究代表者:安 井 弥
(広島大学医学部教授)

消化管癌におけるテロメラーゼとヒストンアセチル化との相互作用とその意義

研究課題番号：11670175

平成11年度－平成12年度科学研究費補助金（基盤研究(C)(2)）

研究成果報告書

平成13年3月

研究代表者：安 井 弥
(広島大学医学部教授)

研究課題：

消化管癌におけるテロメラーゼとヒストンアセチル化との相互作用とその意義

課題番号：11670175

研究種目：平成11年度－平成12年度科学研究費補助金（基盤研究(C)(2)）

研究組織：

研究代表者：安井 弥（広島大学医学部教授）

研究分担者：なし

研究経費：

平成11年度 1,900千円

平成12年度 1,500千円

計 3,400千円

研究発表：

1. 学会誌等

Sato S, Yokozaki H, Yasui W, Nikai H and Tahara E

Silencing of the *CD44* gene by CpG methylation in a human gastric carcinoma cell line

Jpn J Cancer Res 90:485-489, 1999

Yasui W, Tahara Ej, Tahara H, Fujimoto J, Naka K, Nakayama J, Ishikawa F, Ide T and Tahara E

Immunohistochemical detection of human telomerase reverse transcriptase in normal mucosa and precancerous lesions of the stomach

Jpn J Cancer Res 90:589-595, 1999

Hiyama T, Yokozaki H, Kitadai Y, Haruma K, Yasui W, Kajiyama G and Tahara E

Overexpression of human telomerase RNA is an early event in oesophageal carcinogenesis

Virchow Archiv 434:483-487, 1999

Yasui W, Naka K, Suzuki T, Fujimoto J, Hayashi K, Matsutani N, Yokozaki H and Tahara E

Expression of p27^{Kip1}, cyclin E and E2F-1 in primary and metastatic tumors of gastric carcinoma

Oncology Reports 6:983-987, 1999

Yokozaki H, Shitara Y, Fujimoto J, Hiyama T, Yasui W and Tahara E

Alterations of *p73* preferentially occur in gastric adenocarcinomas with foveolar epithelial phenotype

Int J Cancer 83:192-196, 1999

Kitadai Y, Takahashi Y, Haruma K, Naka K, Sumii K, Yokozaki H, Yasui W, Ohmoto Y, Mukaida N, Kajiyama G, Fidler IJ and Tahara E

Evidence for the causal role of IL-8 in angiogenesis and tumorigenicity of human gastric carcinoma cells

Br J Cancer 81:647-653, 1999

Suzuki T, Yasui W, Yokozaki H, Naka K, Ishikawa T and Tahara E

Expression of the E2F family in human gastrointestinal carcinomas
Int J Cancer 81:535-538, 1999

Nakamura Y, Tahara Ej, Tahara H, Yasui W, Tahara E and Ide T

Quantitative reevaluation of telomerase activity in cancerous and non-cancerous gastrointestinal tissues

□ Mol Carcinogenesis 26:312-320, 1999

Yasui W, Yokozaki H, Shimamoto F, Tahara H and Tahara E

Molecular-pathological diagnosis of gastrointestinal tissues and its contribution to cancer histopathology

Pathol Int 49:763-774, 1999

Tahara H, Yasui W, Tahara E, Fujimoto J, Ito K, Tamai K, Nakayama J, Ishikawa F, Tahara E and Ide T

Immuno-histochemical detection of human telomerase catalytic component, hTERT, in human colorectal tumors and non-tumor tissue sections

Oncogene 18:1561-1568, 1999

Naka K, Yokozaki H, Yasui W, Tahara H, Tahara Ej and Tahara E

Effect of antisense human telomerase RNA transfection on the growth of human gastric cancer cell lines

Biochem Biophys Res Commun 255:753-758, 1999

Yasui W, Fujimoto J, Suzuki T, Ono S, Naka K, Yokozaki H and Tahara E

Expression of cell cycle regulating transcription factor E2F-1 in colorectal carcinomas

Pathobiol 67:174-179, 1999

Arber N, Hibshoosh H, Yasui W, Neugut AI, Hibshoosh A, Yao Y, Sgambato A, Yamamoto H, Shapira I, Rosenman D, Fabian I, Weinstein B, Tahara E and Holt PR

Abnormalities in the expression cell cycle related proteins in tumors of the small bowel

Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 8:1101-1105, 1999

Ito R, Yasui W, Ogawa Y, Tahara E and Ijuin N

Reduced expression of cyclin-dependent kinase inhibitor p27^{Kip1} in oral malignant tumors

Pathobiol 67:169-173, 1999

Fujimoto J, Yasui W, Tahara H, Tahara Ej, Kudo Y, Yokozaki H and Tahara E
DNA hypermethylation at the pS2 promoter region is associated with early stage
of stomach carcinogenesis
Cancer Lett 149:125-134, 2000

*Kawakami Y, Kitamoto M, Nakanishi T, Yasui W, Tahara E, Nakayama J, Ishikawa F,
Tahara H, Ide T and Kajiyama G*
Immuno-histochemical detection of human telomerase reverse transcriptase in
human liver tissues
Oncogene 19:3888-3893, 2000

*Kitadai Y, Haruma K, Mukaida N, Ohmoto Y, Matsutani N, Yasui W, Yamamoto S,
Sumii K, Kajiyama G, Fidler IJ and Tahara E*
Regulation of disease-progression genes in human gastric carcinoma cells by
interleukin 8
Clin Cancer Res 6:2735-2740, 2000

*Kuniyasu H, Yasui W, Shinohara H, Yano S, Ellis LM, Wilson MR, Bucana CD, Rikita
T, Tahara E and Fidler IJ*
Induction of angiogenesis by hyperplastic colonic mucosa adjacent to colon cancer
Am J Pathol 157:1523-1535, 2000

*Suzuki T, Kuniyasu H, Hayashi K, Naka K, Yokozaki H, Ono S, Ishikawa T, Tahara E
and Yasui W*
Trichostatin A inhibits cell growth and modulate expression of cell cycle- and
apoptosis-related molecules in human gastric and oral cancer cell lines
Int J Cancer 88:992-997, 2000

Yasui W, Yokozaki H, Fujimoto J, Naka K, Kuniyasu H and Tahara E
Genetic and epigenetic alterations in multistep carcinogenesis of the stomach
J Gastroenterol 35XII:111-115, 2000

Kuniyasu H, Yasui W, Yokozaki H, Tahara E
Helicobacter pylori infection and carcinogenesis of the stomach
Langenbeck's Arch Surg 385:69-74, 2000

Hayashi K, Yokozaki H, Naka K, Yasui W, Yajin K, Lotan R and Tahara E
Effect of 9-*cis*-retinoic acid on oral squamous cell carcinoma cell lines
Cancer Lett 151:199-208, 2000

Haruma K, Ito M, Kohmoto K, Kamada T, Kitadai Y, Yasui W, Tahara E and Kajiya G

Expression of cell cycle regulators and growth factor/receptor systems in gastric carcinoma in young adults: Association with *Helicobacter pylori*
Int J Mol Med 5:185-190, 2000

Hayashi K, Yokozaki H, Naka K, Yasui W, Lotan R and Tahara E

Overexpression of retinoic acid receptor beta induces growth arrest and apoptosis in oral cancer cell lines
Jpn J Cancer Res 92:42-50, 2001

2. 口頭発表

1) 国際学会

Kitadai Y, Haruma K, Matsutani, N, Yasui W, Yokozaki H, Mukaida N, Ohmoto Y, Kajiya G, Fidler IJ and Tahara E

Expression of interleukin-8/receptor system in human gastric carcinomas
The 90th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research,
Philadelphia (USA), April 10-14, 1999

Yoshida K, Nishimoto N, Kagawa Y, Hirai T, Toge T, Yasui W, Yokozaki H, Yoshida T and Terada M

Amplification and overexpression of *K-sam* gene and its clinical significance in gastric carcinomas
The 8th Taisho International Symposium on Gastroenterology, Shimoda (Japan),
April 16-17, 1999

Tahara E, Yokozaki H, Fujimoto J and Yasui W

Molecular mechanism of human stomach carcinogenesis
Japan/US Cancer Therapy Symposium in Hiroshima, Plenary Lecture IV,
Hiroshima (Japan), April 24-25, 1999

Suzuki T, Yasui W, Hayashi K, Naka K, Yokozaki H, Ono S, Ishikawa T and Tahara E
The effect of trichostatin A on the growth of human gastric and oral carcinoma cell lines
Japan/US Cancer Therapy Symposium in Hiroshima, Hiroshima (Japan), April 24-25, 1999

Tahara E, Yokozaki H and Yasui W
Molecular mechanism of gastric carcinogenesis and molecular diagnosis
The 3rd International Gastric Cancer Congress, Symposium-3 "Molecular Biology", Seoul (Korea), April 27-30, 1999

Yasui W, Hayashi K, Suzuki T, Naka K, Fujimoto J, Yokozaki H and Tahara E
Growth inhibition by retinoic acid and its molecular mechanism in oral carcinoma cells
The 4th International Conference of the Asian Clinical Oncology Society, Symposium-12 on "Head and Neck Cancer", August 4-7, Bali (Indonesia), 1999

Kuniyasu H, Yasui W, Kitadai Y, Fidler IJ and Tahara E
Hyperplastic mucosa adjacent to human colon cancer predicts metastatic potential
The 52nd Annual Symposium on Fundamental Cancer Research (Cancer Research at the Millennium), Houston (USA), January 9-12, 2000

Yasui W, Ono S, Suzuki T and Tahara E
Status of histone acetylation and effect of histone deacetylase inhibitor in human gastric carcinomas
The 91st Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, San Francisco (USA), April 1-5, 2000

Hayashi K, Yokozaki H, Naka K, Yasui W, Yajin K, Kozak H, Wan R, Lotan R and Tahara E
The effect of transfection of RAR β into oral cancer cell line
The 91st Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, San Francisco (USA), April 1-5, 2000

Tahara M, Fujimoto J, Boku N, Ohtsu A, Ochiai A, Yasui W, Tahara E and Yoshida S
Expression of thymidylate synthase (TS), Thymidine phosphorylase (TP), E2F-1, BAK and clinical outcomes of gastric cancer patients treated with methorexate (MTX)/5-fluorouracil (5-FU)

The 91st Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, San Francisco (USA), April 1-5, 2000

Kuniyasu H, Yasui W, Fidler IJ and Tahara E

Hyperplastic mucosa adjacent to human colon cancer predicts metastatic potential
The 91st Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, San Francisco (USA), April 1-5, 2000

Ito R, Yasui W, Ogawa Y, Toyosawa S, Tarin D, Tahara E and Ijuin N

Reduced expression of cyclin-dependent kinase inhibitor p27^{Kip1} in oral malignant tumors
The 91st Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, San Francisco (USA), April 1-5, 2000

Yokozaki H and Yasui W

Molecular diagnosis of gastrointestinal tumors
The 22nd International Congress of the International Academy of Pathology, Symposium-14 "Molecular Pathological Diagnosis", October 15-20, Nagoya (Japan), 2000

Yasui W, Kuniyasu H and Yokozaki H

Molecular-pathological aspects of stomach carcinogenesis and its application to molecular diagnosis
The 22nd International Congress of the International Academy of Pathology, Symposium-30 "Recent Topics of Gastrointestinal Tumors: Molecular and Pathological Aspects", October 15-20, Nagoya (Japan), 2000

Yasui W, Ono S, Suzuki T, Oue N, Fujimoto J, Kuniyasu H and Yokozaki H

Role of histone acetylation in human gastric carcinoma
The 22nd International Congress of the International Academy of Pathology, October 15-20, Nagoya (Japan), 2000

Yokozaki H, Oue N, Kuraoka K, Yasui W and Tahara E

Molecular pathological characterization of gastric tumors with high frequency of microsatellite instability
The 22nd International Congress of the International Academy of Pathology, October 15-20, Nagoya (Japan), 2000

Yasui W, Oue N, Fujimoto J, Kuniyasu H and Yokozaki H

Practical molecular-pathological diagnosis of gastrointestinal tumors
The 7th International Symposium of the Aichi Cancer Center, Symposium
"Molecular Approach to Diagnostic Pathology", January 27, Nagoya (Japan), 2001

Oue N, Kuniyasu H, Yokizaki H, Fujimoto J, Kuraoka K and Yasui W

CpG island methylation of *hMLH1*, *p16*, E-cadherin and *MGMT* and the
expression of DNA methyltransferase and demethylase in gastric carcinomas
The Fifth Joint Conference of the American Association for Cancer Research and
the Japanese Cancer Association "Molecular Biology and New Therapeutic
Strategies: Cancer Research in the 21st Century", February 12-16, Maui, Hawaii
(USA), 2001

Hayashi K, Yokizaki H, Oue N, Lotan R, Tahara E and Yasui W

Inactivation of retinoic acid receptor beta by epigenetic changes in gastric cancer
cells
The Fifth Joint Conference of the American Association for Cancer Research and
the Japanese Cancer Association "Molecular Biology and New Therapeutic
Strategies: Cancer Research in the 21st Century", February 12-16, Maui, Hawaii
(USA), 2001

Kuniyasu H, Oue N, Fujimoto J, Yokozaki H and Yasui W

Interleukin-15 expression is associated with malignant potential in colon cancer
cells
The 92nd Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, New
Orleans (USA), March 24-28, 2001

Hayashi K, Yokizaki H, Oue N, Lotan R, Yasui W and Tahara E

Inactivation of retinoic acid receptor beta by CpG island methylation in gastric
cancer cells
The 92nd Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, New
Orleans (USA), March 24-28, 2001

Matsutani N, Yokizaki H, Tahara E, Kuniyasu H, Kitadai Y, Haruma K, Chayama K,
Tahara E and Yasui W

Expression of TRFs (telomeric binding factor 1 and 2) and TIN2 (TRF1-interacting
nuclear protein 2) in human gastric carcinoma
The 92nd Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, New

Orleans (USA), March 24-28, 2001

2) シンポジウム他 (国内学会)

横崎 宏、安井 弥、塩見 達司、田原 榮一

病理診断における遺伝子診断と新技術の応用：胃腫瘍多発の分子マーカーとしてのマイクロサテライト不安定性の意義

第88回日本病理学会総会、ワークショップ-8、4月6-8日、東京、1999

安井 弥

がんの遺伝子診断・治療の最前線：がんの遺伝子診断

第48回日本臨床衛生検査学会、特別企画「がんセミナー」、5月12-14日、広島、1999

横崎 宏、安井 弥、田原 榮一

分子生物学的知見と胃癌治療：胃腫瘍多発の分子マーカーとしてのマイクロサテライト

第71回日本胃癌学会、シンポジウム、6月23-25日、東京、1999

安井 弥、横崎 宏、田原 榮一

胃癌—基礎と臨床の最前線：胃癌の発生・進展の分子機構

第58回日本癌学会総会、ワークショップ-11、9月29日-10月1日、広島、1999

横崎 宏、安井 弥、嶋本文雄、田原 榮一

遺伝子診断：病理検体を用いた遺伝子診断システム

第58回日本癌学会総会、ワークショップ-07、9月29日-10月1日、広島、1999

安井 弥

大腸癌の臨床分子病理学

第16回広島早期大腸癌研究会、ミニレクチャー、11月9日、広島、1999

安井 弥

胃癌のEMR後の遺残再発をめぐって—遺伝子学的見地から—

第180回兵庫県消化管研究会、特別講演、11月25日、神戸、1999

安井 弥、田原 榮一

日本における胃癌病理学研究の歩みと業績：胃癌の遺伝子研究。客観的に表現し

てもらうには

第72回日本胃癌学会、特別企画、2月17-19日、新潟、2000

国安弘基、安井 弥、横崎 宏、Fidler IJ、田原榮一

血管新生：大腸癌周囲過形成性粘膜炎の血管新生及び転移に果たす役割
第9回がん転移研究会、ワークショップ、6月29-30日、大阪、2000

安井 弥

遺伝子解析を用いた早期胃癌の悪性度診断

神戸消化管第59回土曜会、特別講演、7月29日、神戸、2000

大上直秀、国安弘基、横崎 宏、藤本淳也、倉岡和矢、安井 弥

消化器癌の遺伝子変異とその修飾：胃癌におけるDNA

demethylase/methyltransferaseの発現とMLH1/p16/E-cadherinのメチル化

第11回日本消化器癌発生学会、シンポジウム1、9月7-8日、米子、2000

安井 弥、小野重弘、鈴木哲夫、大上直秀、倉岡和矢、国安弘基、横崎 宏、田原榮一

消化器癌の遺伝子変異とその修飾：胃及び大腸腫瘍におけるヒストン脱アセチル化とその意義

第11回日本消化器癌発生学会、シンポジウム1、9月7-8日、米子、2000

横崎 宏、安井 弥、大上直秀、倉岡和矢、田原榮一

消化器癌の遺伝子診断と形態診断：マイクロサテライト不安定性胃腫瘍の分子病理学的解析

第11回日本消化器癌発生学会、シンポジウム2、9月7-8日、米子、2000

安井 弥

分子病理学の消化管癌診断への応用

第2回腫瘍分子生物学セミナー、特別講演、9月8日、大阪、2000

横崎 宏、安井 弥、田原榮一

TNMと分子腫瘍マーカー：消化器癌に対する分子病理診断の実践

第20回日本分子腫瘍マーカー研究会、ワークショップ、10月3日、横浜、2000

安井 弥、横崎 宏、国安弘基

難治性がん What Why How：スキルス胃癌の病理学的特性

第59回日本癌学会総会、パネルディスカッション-3、10月4-6日、横浜、2000

松谷憲政、横崎 宏、田原栄治、国安弘基、田原榮一、安井 弥

テロメアとテロメラーゼ研究の新展開：ヒト胃癌組織におけるTRFs (telomeric-repeat binding factors)の発現解析

第59回日本癌学会総会、ミニシンポジウム-16、10月4-6日、横浜、2000

国安弘基、大上直秀、横崎 宏、田原榮一、安井 弥

、がん進展におけるサイトカインの作用メカニズムとその制御：ヒト大腸癌におけるIL-15の浸潤・転移に果たす役割

第59回日本癌学会総会、ミニシンポジウム-20、10月4-6日、横浜、2000

小野重弘、大上直秀、鈴木哲夫、石川武憲、田原榮一、安井 弥

がんとエピジェネティクス：胃癌および胃腺腫におけるヒストンH4のアセチル化状態

第59回日本癌学会総会、ミニシンポジウム-28、10月4-6日、横浜、2000

横崎 宏、大上直秀、倉岡和矢、湧川温子、安井 弥、田原榮一

DNA修復と発がん：胃癌におけるMBD4遺伝子異常の解析

第59回日本癌学会総会、ミニシンポジウム-30、10月4-6日、横浜、2000

菅野雅元、木村まり、石原浩人、藤崎成至、田原栄治、福原信一、田原榮一、安井 弥、神安雅哉

がん抑制遺伝子の新展開：ポリコム遺伝子群のHaplo-insufficiencyによる発がん機構の解析

第59回日本癌学会総会、ミニシンポジウム-36、10月4-6日、横浜、2000

藤本淳也、国安弘基、横崎 宏、大上直秀、田原榮一、安井 弥

ヒトがんへの分子生物学的アプローチ：胃癌におけるFHIT遺伝子の発現異常の解析

第59回日本癌学会総会、ミニシンポジウム-43、10月4-6日、横浜、2000

安井 弥

消化管癌の悪性度に関する分子病理と分子診断

第4回九州がんフォーラム「がんの悪性度を特徴づける分子標的と病態」、特別講演、2月3日、福岡、2001

3. 出版物

Tahara E, Yokozaki H and Yasui W

Stomach - Genetic and epigenetic alterations of preneoplastic and neoplastic lesions
Molecular Pathology of Early Cancer, ed.: Srivastava S, Henson DE and Gazdar A,
IOS Press, Amsterdam, pp341-361, 1999

Tahara E, Yasui W, Yokozaki H and Tahara H

Molecular basis of multistage stomach carcinogenesis
Gastritis, ed.: Graham DY, Genta RM, Dixon MF, Lippincott Williams & Wilkins,
Philadelphia, pp217-223, 1999

安井 弥、田原榮一

分子病理学

日本臨床腫瘍研究会（有吉 寛、西條長宏、福岡正博、佐々木康綱、渡辺 亨）
編、臨床腫瘍学、pp254-261、癌と化学療法社、東京、1999

安井 弥、田原榮一

がん遺伝子／がん抑制遺伝子の臨床応用：病理診断への応用例

新津洋司郎、横田 淳・編、臨床家のためのがん遺伝子／がん抑制遺伝子、南江
堂、東京、pp136-139, 1999

安井 弥、田原榮一

胃癌のメインルートー遺伝子の立場からー

加藤 洋・編、消化管癌の発生と自然史、pp131-137、金原出版、東京、2000

研究成果：

1. 消化管癌におけるヒストンのアセチル化

ヒストンのアセチル化は、クロマチン構造の変化を介して、様々な遺伝子の発現を制御することが明らかになりつつあり、消化管癌においてしばしば認められるエピジェネティックな異常の原因となっている可能性がある。ヒストンのアセチル化によるクロマチン構造の「ゆるみ」がE2F-1などの転写因子のDNAへの結合を容易にし、転写を促進するものと考えられている。このヒストンのアセチル化は、p300/CBPなどのhistone acetylase (HAT)とhistone deacetylase (HDAC)とによって制御されている。この制御の異常を消化管癌について検討した。

1) 胃および大腸の腺腫/腺癌におけるヒストンH4のアセチル化

胃癌および正常粘膜におけるHDAC1、2、3の発現は、癌部と正常粘膜とで一定の傾向はなかった。しかし、ヒストンのアセチル化状態をアセチル化ヒストンH4の抗体を用いたWestern blot法で検討すると、約70%の症例で明らかに癌部においてその発現が減弱していた、即ち、低アセチル化状態であった。同じ抗体を用いた免疫染色でも、正常粘膜ではアセチル化ヒストンが強く核に染色されていたが、胃癌では明らかにアセチル化状態が低下していた。検索した胃癌57例では、38例(66%)においてアセチル化ヒストンの発現は低下し、特に15例(26%)では著しい低アセチル化状態が認められ、ステージや深達度と相関する傾向があった。尚、癌においても、間質に存在するリンパ球や線維芽細胞は明瞭に染色され、高アセチル化状態であった。前癌性病変と考えられている胃腺腫では、13例中7例(54%)で高アセチル化状態であったが、6例(46%)においてアセチル化状態の低下が認められた。さらに重要なことに、癌に近傍の腸上皮化生でも低アセチル化を示す部分が存在していた。従って、アセチル化状態の変化とそれに伴うクロマチン構造の変化が癌化の極めて早期に起こっているものと考えられた。

大腸癌および大腸腺腫についても同様の検討を行った。大腸癌では78%、大腸腺

腫では30%において、アセチル化の低下が認められた。さらに、大腸癌では、ステージの進行、深部への浸潤とアセチル化の低下は、有意に相関していた。従って、ヒストンのアセチル化の低下は、胃癌と大腸癌に共通した変化であると見なされた。

2) HDAC阻害剤トリコスタチンAの胃癌細胞株に及ぼす影響

HDACの阻害剤であるトリコスタチンA (tricostatin A : TSA) を用いて胃癌細胞株に対するヒストン脱アセチル化の影響を検討した。TSA処理によって、検索した胃癌細胞株3株 (TMK-1, MKN-7, MKN-28) すべてにおいて、細胞増殖が抑制され、アポトーシスが惹起された。次に、TSA処理をした胃癌細胞株における細胞周期因子、転写因子、アポトーシス関連分子の発現の変化を経時的に検討した。CDKインヒビターp21、histone acetylaseのCBP、アポトーシスに関連するBAKの発現誘導が認められ、MKN-7ではサイクリンEの発現も誘導された。一方、リン酸化RBは減少し、E2F-1、-4およびHDAC1の発現は抑制された。これらのことは、癌細胞において低アセチル化状態になっていたヒストンが、高アセチル化状態になることによってクロマチン構造が変化し、様々な遺伝子の発現を誘導あるいは抑制した結果、増殖が抑えられた可能性を示唆するものである。

3) ヒストンのアセチル化とDNAのメチル化との関連

癌におけるエピジェネティックな変化として、ヒストンのアセチル化とともにDNAのメチル化による遺伝子発現制御の異常が重要である。事実、胃癌の20-30%には、hMLH1、MGMT、p16、E-cadherinなどの転写調節領域にメチル化がみられ、それは発現減弱とよく相関する。そこで、胃癌細胞株MKN-28にdemethylase (MBD2)を遺伝子導入すると、メチル化によって抑制されていたCD44及びp16の発現が誘導された。しかし、この時、メチル化状態に変化はなく、histone deacetylase (HDAC1)の発現が明らかに抑制されていた。同様の発現誘導は、TSAの処理によっても認められた。従って、胃癌における遺伝子発現は、ヒストンのアセチル化とDNAのメチル化の相互作用によって制御されているものと考えられた。

2. 消化管癌におけるテロメラーゼとテロメア関連蛋白

テロメアDNAは染色体の安定性を規定しており、テロメラーゼはそれを合成できる唯一の酵素である。従って、テロメラーゼは、染色体の構造保持・安定性を介して細胞の不死化を惹起し、多くの悪性腫瘍の発生に関与するものと考えられている。胃癌および大腸癌の殆どは、極めて強いテロメラーゼ活性を示し、TERTおよびhTRの過剰発現も70-90%の症例で見い出される。また、多くの症例ではTERTの発現とテロメラーゼ活性は比較的良好に相関する。さらに、TERTの発現は、胃の前癌性病変である腺腫や腸上皮化生においても認められ、発現の亢進はテロメラーゼ活性に先行する。

1) 消化管癌におけるテロメア結合蛋白の発現

テロメアDNA結合蛋白の内、TRF1はテロメア長を負に調節し、TRF2は染色体をEnd-to-end fusionから守る可能性が指摘されている。一方、TankyraseはTRF1をADP-リボシル化して不活化することから、テロメア長の正の制御因子と考えられる。20症例の胃癌および非癌部粘膜について、TRF1、TRF2、Tankyraseの発現を検討したところ、それぞれ50%、65%、55%において過剰発現が認められた。個々の症例について相関をみると、TRF1の発現が低いがんではTankyraseの発現が低く、さらにテロメラーゼ活性も低かった。従って、テロメラーゼ活性の低い癌では、TRF1の不活化によってテロメア長が保たれている可能性が考えられた。

次に、テロメア長との関連について検討した。まず、胃癌組織についてテロメア長を測定、テロメア長が保たれている群と短縮した群とに分け、TRF1の発現、Tankyraseの発現、テロメラーゼ活性とを比較した。その結果、テロメア長の保たれている症例では、TRF1の発現レベルは低く、逆にTankyraseの発現は高いレベルであり、テロメラーゼ活性は低い傾向にあった。このことは、テロメラーゼ活性の低い癌では、TRF1の不活化によってテロメア長が保たれているという考えを支持するものである。

2) 消化管癌におけるテロメアDNA作用蛋白の発現

DNA修復酵素であるMRE11 complex (MRE11、RAD50、NBS1)は、テロメア末端のループ構造およびテロメア伸長反応に関与する。胃癌において非癌部粘膜組織より過剰発現する症例は、MRE11で65%、RAD50で70%、NBS1で80%であり、胃癌におけるテロメア維持に関与しているものと考えられた。また、TRF1を活性化するTIN2は、胃癌の30%で過剰発現し、TRF2を介してテロメアに局在するhRAP1は65%において発現が亢進しており、TRF2の発現と相関していた。

3. ヒストンのアセチル化とテロメラーゼとの関係

胃癌・大腸癌のみならずその前癌性病変である腺腫や胃の腸上皮化生においても、ヒストンの低アセチル化とTERTの発現がみられ、一部ではテロメラーゼ活性もともなっていたことより、テロメラーゼによって規定される染色体の安定性とクロマチン構造の変化による転写制御との間に重要な相互関係が存在する可能性が考えられた。これらの相互作用が、癌の初期発生に重要な役割を担っているものと見なされる。

今後、消化管癌培養株の系で、アンチセンスTERT処理、HAT遺伝子導入やHDAC阻害剤処理を組み合わせることにより、テロメアDNAとクロマチン構造の変化の癌の生物学における重要性を遺伝子発現制御の面から明らかにする必要がある。