

5. 抗腫瘍効果を持つ E-box 認識 PI ポリアミドの開発

1) 背景

前癌遺伝子 MYC は多くのヒト悪性腫瘍においてゲノムレベルでの増幅や発現レベルの上昇を示すことが報告されている。MYC は basic-helix-loop-helix leucine zipper 型転写因子であり、MAX 蛋白質と二量体を形成し、DNA の E-box 配列に結合する。MYC により発現が制御されている遺伝子は 4 千以上にのぼり、それらの多くは細胞の成長、増殖、代謝、アポトーシス、分化に関与し、細胞の形質変化を促進している。

腫瘍の増殖抑制を目的として、MYC もしくは MYC 下流遺伝子の機能や発現量を効果的に制御するために様々なアプローチが試みられてきたが、手技の煩雑さ、生体内への輸送の難しさなどの問題があり実用化には至っていない。我々は、E-box 配列 CACGTG を完全にまたは部分的に認識する PI ポリアミドを複数作成し(図 1)、その抗腫瘍効果について検討を行った。

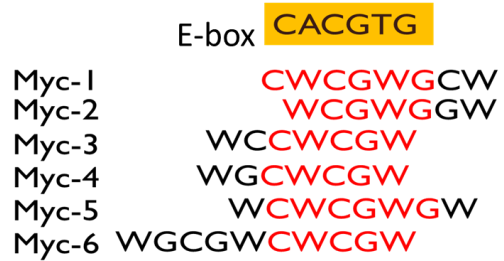


図 1 E-box 認識 PI ポリアミドの認識 DNA 配列 W はアデニンもしくはチミンを表す。

2) 結果

合成した 6 種類の E-box 認識ポリアミドのうち、Myc-6 がヒト骨肉腫細胞株、慢性骨髄性白血病細胞株に対し増殖抑制効果を示す事を確認した。骨肉腫細胞株 MG63 においては、 $1 \mu\text{M}$ より増殖能、コロニー形成能を有意に抑制し(図 2)、 $5 \mu\text{M}$ 以上で細胞移動能を低下させた。マウス皮下に MG63 を移植して作成した Xenograft の成長も Myc-6 の尾静脈投与により有意に抑制された。

Myc-6 投与により、初期アポトーシスのマーカーである phosphatidyl serine の細胞膜外側への露出が上昇したが、後期アポトーシスやネクローシスの誘導は観察されなかった。Myc-6 の詳細な作用機序を解明するために Myc-6 ポリアミドにより発現が変化する遺伝子について Affymetrix GeneChip U133 Plus を用いて調べたところ、18 の遺伝子が $10 \mu\text{M}$ の Myc-6 投与後有意に発現低下を示した。これらの中には collagen 3A1, 14A, Matrix metalloproteinase 1 など、細胞外基質およびその分解に関わる分子、MALAT1 や NEAT1 など、RNA の成熟に関わる長鎖 non-coding RNA が複数含まれていた。このうち、MALAT1 は siRNA でノック

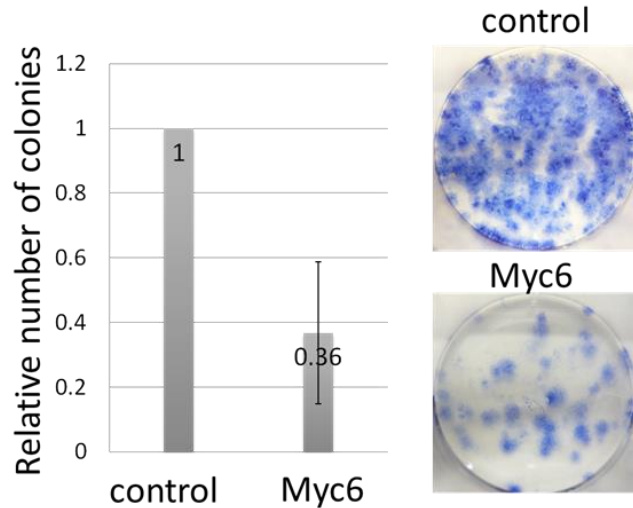


図 2 コロニー形成試験の結果 $5 \mu\text{M}$ の Myc-6 の投与により、顕著なコロニー形成の抑制が観察された。

ダウンすることにより、MG63 の増殖能が著しく低下したことから、Myc-6 の抗腫瘍効果の少なくとも一部は MALAT1 の発現抑制によって生じている可能性がある¹⁾。

3) 考察・今後の展望

本研究の結果より、E-box 認識 PI ポリアミド Myc-6 が骨肉腫細胞株に対して抗腫瘍効果を示すことが *in vitro* および *in vivo* にて確認できた。同ポリアミドを投与したマウスにおいては、特に健康被害は観察されず、新規の抗腫瘍薬として期待できる。なお、Myc-6 の投与により発現が変化する遺伝子の中には MYC により発現制御を受けることが知られている遺伝子は含まれておらず、当初の目的とは異なっている。今後再度ポリアミドの設計を見直し、MYC 下流遺伝子の発現を抑制する分子の開発も進めていきたい。

引用文献

- 1) Taniguchi M, Fujiwara K, Nakai Y, Ozaki T, Koshikawa N, Toshio K, Kataba M, Oguni A, Matsuda H, Yoshida Y, Tokuhashi Y, Fukuda N, Ueno T, Soma M, Nagase H. Inhibition of malignant phenotypes of human osteosarcoma cells by a gene silencer, a pyrrole-imidazole polyamide, which targets an E-box motif Original Research Article. FEBS Open Bio 2014 Mar 13 (4): 328-334