

6. LIT1 プロモーター結合ポリアミドによる腎芽腫細胞株の増殖抑制

1) 背景

Beckwith-Wiedemann 症候群 (以下, BWS) は臍帯脱出、巨舌、巨体を三主徴とする先天性過形成症候群で 5~10% に胎児性腫瘍 (腎芽腫、肝芽腫、膵芽腫) を合併する。染色体 11p15.5 の刷り込み現象調整領域 (KvDMR, H19DMR) の異常 (メチル化異常や欠失、父型対立遺伝子の獲得など) によって母型片親発現調整遺伝子群の相対的絶対的な発現低下が発生に関与しているとされる。KvDMR 領域では、母方対立遺伝子の脱メチル化で LIT1 遺伝子が過剰発現し、腫瘍抑制遺伝子 p57KIP2 を含む周辺遺伝子を抑制しているとされる。そこで我々は、LIT1 遺伝子を標的とした PIP を設計・合成し、その抗腫瘍効果について検討を行った。

2) 結果

LIT1 遺伝子プロモーター領域に存在する

CCAAT box を認識するポリアミド (h-CCAAT1, h-CCAAT3, 以下 PI1, 3) を設計・合成し (図 1)、HPLC による

精製および質量分析による分子量の確認後、機能解析を行った。PI1、

PI3 をヒト BWS 線維芽細胞株 (BWS6, BWS9) および腎芽腫細胞株 G401 に投与したところ、いずれにおいても LIT1 の有意な発現低下を認めた。G401 細胞株を用いて詳細な検討を行い、PI1 と PI3 の同時投与により、細胞増殖率の低下が起こることを WST8 アッセイにて確認した (図 2A)。さらに、PI1, PI3 の投与によりアポトーシスが誘導されることが FACS 解析により明らかとなった (図 2B)¹⁾。一方、*in vivo* における効果を調べるために、免疫不全マウスに G401 を皮下注射し、腫瘍が一定サイズに達した時点で、PI1 と PI3 を経尾静脈投与したが、明確な抗腫瘍効果は確認できなかった。

3) 考察・今後の展望

培養系においては PI1 と PI3 の同時投与により LIT1 の発現が有意に低下し、また腎芽腫細胞株のアポトーシスを誘導することが確認できたが、動物実験においては PI1 と PI3 の抗腫瘍効果が確認できなかった。現時点では、この二つの PI ポリアミドの動物体内での動態について調べ

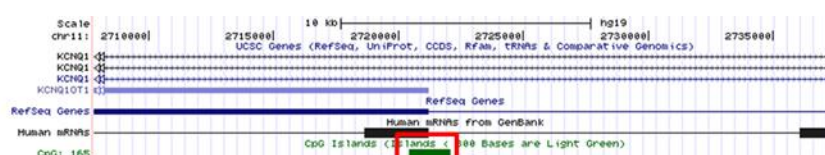


図 1 LIT1 抑制ポリアミドのデザイン

LIT1 プロモーター上のポリアミド認識部位を示す。太字; CCAAT 配列、下線; ポリアミドの標的配列、斜字+矢印; 転写開始点

ていないため、腫瘍部に到達していたかどうかなどについて再検討する必要がある。腫瘍部に
取り込まれていなかった場合は、リポソームを用いた投与方法などについても検討する。

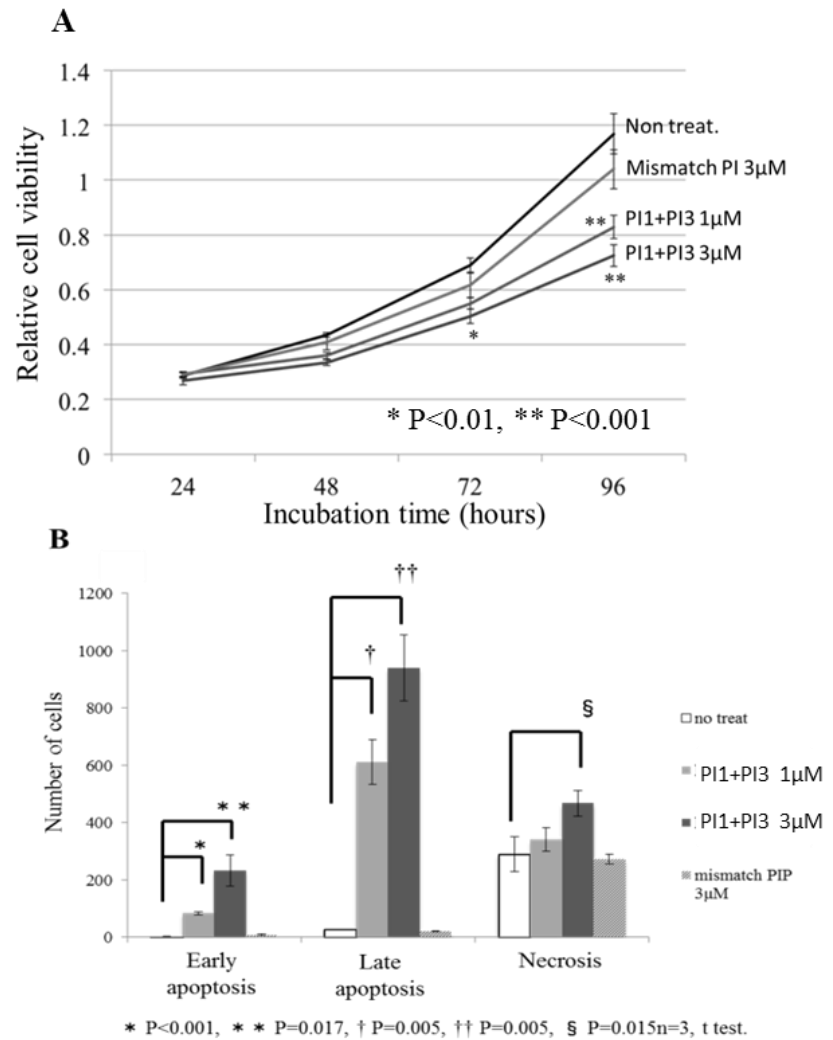


図 2 LIT1 抑制ポリアミドによる抗腫瘍効果(A)LIT1 抑制ポリアミドによる細胞増殖抑制 (B)LIT1 抑制ポリアミドによるアポトーシスの誘導

引用文献

- 1) Yoshizawa S, Fujiwara K, Sugito K, Uekusa S, Kawashima H, Hoshi R, Watanabe Y, Hirano T, Furuya T, Masuko T, Ueno T, Fukuda N, Soma M, Ozaki T, Koshinaga T, Nagase H. Pyrrole-imidazole polyamide-mediated silencing of KCNQ1OT1 expression induces cell death in Wilms' tumor cells. Int J Oncol. 2015 Jul;47(1):115-21