147 神経内分泌前立腺癌におけるDNAメチル化異常の解明

千葉大学 医学部附属病院 泌尿器科　　山田　康隆

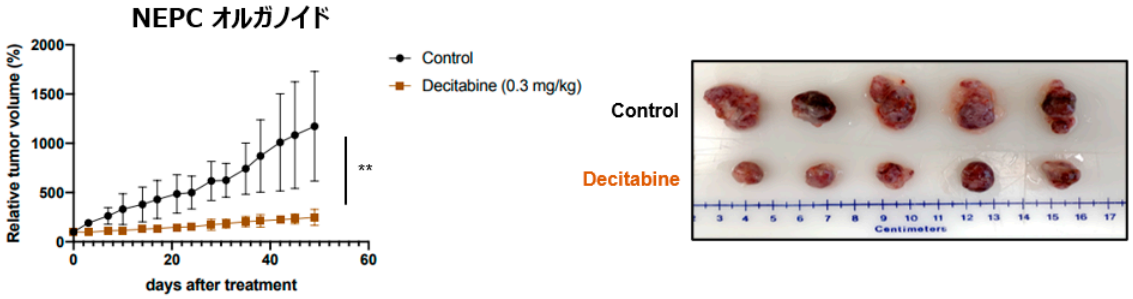
【背景】神経内分泌前立腺癌（Neuroendocrine Prostate Cancer（NEPC））はアンドロゲン受容体（AR）に対する依存性が失われた状態で細胞増殖能を有する病態であり、去勢抵抗性前立腺癌（Castration Resistant Prostate Cancer（CRPC））の治療過程の中で強力な抗アンドロゲン剤の使用により約20%の頻度で引き起こされると考えられている。NEPCは肝転移を主体とする臓器転移を臨床的特徴とし、有効なバイオマーカーや治療法が確立されていない為、その予後は極めて不良である。こういった背景を踏まえ、バイオマーカーや治療標的の同定を目指し、CRPCからNEPCへ神経内分泌分化を来す過程においてどういったゲノム変異・エピゲノム修飾が関与するかに関して、現在盛んに研究が進められている。

【目的】前立腺癌においては病勢の進行とともにDNAメチル化レベルが亢進しており、メチル化触媒酵素であるDNMT遺伝子（DNMT1/3A/3B）の発現レベルが上昇する事が既に示されている。一方で、進行前立腺癌の中でも特にNEPCにおけるDNAメチル化異常に関する研究・報告は未だに限られており、本研究対象とした。

【方法】CRPC細胞株（22Rv1/PC3/DU145）、NEPCオルガノイド（WCM154/155/1078/1262）を用いて、globalなDNAメチル化レベルを検討した。また、DNMT遺伝子（DNMT1/3A/3B）の中で特にDNMT1/3A発現が高い事が分かっており、両遺伝子をCRISPR-Cas9 systemを用いてNEPCオルガノイドでknock-outを行い、細胞増殖・遺伝子発現に与える影響を検証した。さらにDNAメチル化阻害剤であるdecitabineを用いてCRPC・NEPCにおける抗腫瘍効果を検討した。

【結果】NEPCにおけるメチル化レベルはCRPC細胞株と比較し、RRBS解析において有意に上昇している事を見出した（β value : $P<0.0001$）。また、NEPCモデル（WCM154）を用いてDNMT1/3A両遺伝子をそれぞれknock-outしたモデルを樹立し細胞増殖能を検討した所、コントール群と比較し両遺伝子共に有意に低下していた。RNA-seqを用いた網羅的遺伝子発現解析により、DNMT遺伝子ノックアウト群で神経内分泌マーカーと呼ばれる遺伝子群（CHGA、SYP、INSM1、NeuroD1）の遺伝子発現が有意に低下していた。さらにこの遺伝子発現低下はタンパクレベルでも示された。さらに、DNMT1/3A遺伝子の過剰発現によるrescue実験で、これら神経内分泌関連遺伝子の発現が回復する事が示された。decitabineを用いた抗腫瘍効果の検討では、*in vivo*において有意に腫瘍形成を低下させる事を見出した（図）。

【考察】DNAのメチル化がNEPCにおいて新規治療標的となるだけでなく、神経内分泌分化を促進するエピゲノム修飾の一つである事が示唆された。



NEPCにおけるDNAメチル化阻害剤の抗腫瘍効果