

神澤医学賞受賞講演

女性ホルモン応答機構の解明に基づく癌治療新規分子標的の発見

東京大学大学院医学系研究科加齢医学講座 講師 井上 聡

女性ホルモンは、ホルモン依存性転写因子である核内受容体と結合してその作用を発揮する。特にエストロゲンは、乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌などのホルモン依存性癌の発癌、予後、診断、治療に深く関わっている。たとえば、乳癌においては、エストロゲン受容体の有無が予後に直接影響するため、診断に応用されており、さらに抗エストロゲン製剤は治療薬として使われている。われわれは、ホルモン依存性癌の発癌、増殖の分子機構、女性ホルモン応答機構の解明とその診断・治療への臨床応用をめざし、女性ホルモン受容体の癌における発現調節、転写制御機構、情報伝達機構、標的因子カスケードの機能的解析を行っている。

女性ホルモン受容体標的遺伝子を、独自の方法である Genomic binding-site cloning (GBS) 法(1, 4, 7)、クロマチン免疫沈降法、マイクロアレイ法にて複数同定した。また、ゲノムインフォマティクスを用いてゲノムデータベース上で新しい性ホルモン応答配列を明らかにし、それら近傍に複数の新規応答遺伝子を同定した。なかでもエストロゲン標的遺伝子の機能解析として、RING フィンガーを有する Efp(2, 3) と、チトクロームオキシダーゼ VIIa サブユニットと相同性のある COX7RP(4)、一回膜貫通蛋白である EBAG9(4)に注目した。RING フィンガーファミリーは、家族性乳癌、卵巣癌の原因遺伝子である BRCA1、転座によって急性前骨髄性白血病の原因遺伝子となる PML を含んでいる。Efp のノックアウトマウスでは、子宮のエストロゲン依存性増殖が損なわれていた(8)。乳癌における Efp の分子作用メカニズムとして、細胞周期のブレーキ役で G2 期チェックポイントの 14-3-3 σ に対するユビキチンリガーゼとして働き、その分解から細胞増殖を引き起こすことを解明した(9)。ホルモン依存性癌における Efp ならびにその基質である 14-3-3 σ の発現を検討し、特に Efp の発現の増強が癌の予後予測因子として有用である可能性を示した。とりわけ、予後不良と考えられる悪性度の高い癌の一群においても、Efp の発現は予後と関連していた(12)。COX7RP はエネルギー代謝と子宮内膜癌の増殖を結びつける新しい因子として注目される。また、EBAG9 に関して各種癌臨床検体での発現の免疫組織化学法により調べた結果、EBAG9 の高発現は、癌の悪性度・進行度と関連していた(10, 14)。EBAG9 は、癌細胞自身の増殖に直接作用するのではなく、*in vivo* 環境における腫瘍増殖に影響を与え、腫瘍増殖に有利な環境を作り出す分子であることを明らかにし、またその抑制により腫瘍サイズを小さくし、生存を延長できることを示した(14)。一方、エストロゲン受容体の転写活性化能を制御する分子として、酵母 2 ハイブリッド法によりプロテインフォスファターゼ 5(PP5)を同定し、MCF7 乳癌細胞において PP5 の発現調節によりエストロゲン応答遺伝子の発現量を変化できることを明らかにした(11)。

われわれはこれらの研究により、独自の GBS 法等の手法を用いて、Efp、COX7RP、EBAG9、PP5 をはじめとする女性ホルモン受容体標的遺伝子・制御因子を同定し、エストロゲン応答の新しいメカニズムを明らかにした。それら遺伝子は、性ホルモン依存性癌の新しい作用点として注目され、その癌における役割の解明を今後進展させていく。これら女性ホルモン応答機構の解明に基づき、癌診断・治療の新規分子標的が発見されその応用が期待される。

Efp: ESTROGEN-RESPONSIVE FINGER PROTEIN

COX7RP: CYTOCHROME C OXIDASE SUBUNIT VII-RELATED PROTEIN

EBAG9: ESTROGEN RECEPTOR-BINDING SITE-ASSOCIATED ANTIGEN 9

BRCA1: BREAST CANCER 1 GENE

参考文献

1. Inoue S, Kondo S, Hashimoto M, Kondo T, Muramatsu M: Isolation of estrogen receptor-binding sites in human genomic DNA. *Nucleic Acids Res* 19(15), 4091-4096 (1991)
2. Inoue S, Orimo A, Hosoi T, Kondo S, Toyoshima H, Kondo T, Ikegami A, Ouchi Y, Orimo H, Muramatsu M: Genomic binding-site cloning reveals an estrogen-responsive gene that encodes a RING finger protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 90, 11117-11121 (1993)
3. Orimo A, Inoue S, Ikeda K, Noji S, Muramatsu M: Molecular cloning, structure, and expression of mouse estrogen-responsive finger protein Efp. Co-localization with estrogen receptor mRNA in target organs. *J Biol Chem* 270, 24406-24413 (1995)
4. Watanabe T, Inoue S, Hiroi H, Orimo A, Kawashima H, Muramatsu M: Isolation of estrogen-responsive genes with a CpG island library. *Mol Cell Biol* 18, 442-449 (1998)
5. Lin RJ, Nagy L, Inoue S, Shao W, Miller WH Jr, Evans RM: Role of the histone deacetylase complex in acute promyelocytic leukaemia. *Nature* 391(6669), 811-814 (1998)
6. Hiroi H, Inoue S, Watanabe T, Goto W, Orimo A, Momoeda M, Tsutsumi O, Taketani Y, Muramatsu M: Differential immunolocalization of estrogen receptor alpha and beta in rat ovary and uterus. *J Mol Endocrinol* 22(1), 37-44 (1999)
7. Inoue S, Kondo S, Muramatsu M: Identification of target genes for a transcription factor by genomic binding site (GBS) cloning (1999) *Transcription Factors - A Practical Approach, 2nd Edition* (Edited by Latchman, D. S.) Oxford University Press, New York, (pp 165-178)
8. Orimo A, Inoue S, Minowa O, Tominaga N, Tomioka Y, Sato M, Kuno J, Hiroi H, Shimizu Y, Suzuki M, Noda T, Muramatsu M: Underdeveloped uterus and reduced estrogen responsiveness in mice with disruption of the estrogen-responsive finger protein gene, which is a direct target of estrogen receptor alpha. *Proc Natl Acad Sci USA* 96, 12027-12032 (1999)
9. Urano T, Saito T, Tsukui T, Fujita M, Hosoi T, Muramatsu M, Ouchi Y, Inoue S: Efp targets 14-3-3sigma for proteolysis and promotes breast tumour growth. *Nature* 417, 871-875 (2002)
10. Takahashi S, Urano T, Tsuchiya F, Fujimura T, Kitamura T, Ouchi Y, Muramatsu M, Inoue S: EBAG9/RCAS1 expression and its prognostic significance in prostatic cancer. *Int J Cancer* 106, 310-315 (2003)
11. Ikeda K, Ogawa S, Tsukui T, Horie-Inoue K, Ouchi Y, Kato S, Muramatsu M, Inoue S: Protein phosphatase 5 is a negative regulator of estrogen receptor-mediated transcription. *Mol Endocrinol* 18, 1131-1143 (2004)
12. Suzuki T, Urano T, Tsukui T, Horie-Inoue K, Moriya T, Ishida T, Muramatsu M, Ouchi Y, Sasano H, Inoue S: Estrogen-responsive finger protein as a new potential biomarker for breast cancer. *Clin Cancer Res* 11, 6148-6154. (2005)

13. Ito K, Suzuki T, Akahira J, Sakuma M, Saitou S, Okamoto S, Niikura H, Okamura K, Yaegashi N, Sasano H, Inoue S: 14-3-3 Sigma in Endometrial Cancer - A Possible Prognostic Marker in Early Stage Cancer. *Clin Cancer Res* 11, 7384-7391 (2005)
14. Ogushi T, Takahashi S, Takeuchi T, Urano T, Horie-Inoue K, Kumagai J, Kitamura T, Ouchi Y, Muramatsu M, Inoue S: Estrogen receptor-binding fragment-associated antigen 9 is a tumor-promoting and prognostic factor for renal cell carcinoma. *Cancer Res* 65, 3700-3706 (2005)