

23J-pm17S

DNA/RNA 脱メチル化酵素 ALKBH3 を分子標的とした難治性癌に対する革新的創薬

○浦 美弥¹, 小垣 孝弘¹, 長谷 拓明¹, 上田 裕子¹, 北恵 郁緒里¹, 神宮寺 健太郎¹, 田中 明人², 馬淵 美幸², 藤井 晋太郎³, 東 雅之³, 辻川 和丈¹ (¹阪大院薬, ²兵庫医療大薬, ³薬学研究科構造展開ユニット)

【目的】我々は癌の新規治療標的分子の探索を行い、前立腺癌術後組織の正常部と比較し癌部で高発現する新規遺伝子 ALKBH3 を見出した。ALKBH3 は酸化的脱メチル化という新しい機序により、DNA や RNA の 1-methyladenine, 3-methylcytosine (m3C), N6-methyladenine (m6A) を脱メチル化する酵素である。siRNA を用いた ALKBH3 の発現抑制は、癌細胞に対して in vitro、in vivo とともに増殖抑制効果を示した。これらの知見より、本研究では革新的な難治性癌治療創薬研究を進めるために、ALKBH3 酵素活性阻害剤の開発と評価を行うことを目的とした。

【方法】ALKBH3 の脱メチル化酵素活性に対する阻害作用はメチル化オリゴヌクレオチドを基質として開発した real-time PCR 法を用いた。修飾ヌクレオチドの検出、定量は、癌細胞株に ALKBH3 酵素活性阻害剤を添加 24, 48, 72 時間後に RNA を回収し、200 ヌクレオチド以上の large RNA 画分と 200 ヌクレオチド以下の small RNA 画分に分けて精製し、ヌクレオチドにまで酵素分解した後に、UPLC-MS/MS を用いて実施した。また、阻害剤添加時の癌細胞株の増殖評価は WST-8 により、細胞周期とアポトーシスの解析は propidium iodide (PI) および Annexin V 染色後にフローサイトメータにより行った。

【結果・考察】ALKBH3 酵素活性阻害剤は ALKBH3 siRNA と同様の癌細胞株の増殖抑制、アポトーシス誘導作用を示した。また阻害剤添加後に得た RNA において、small RNA 画分の m6A と large RNA 画分の m3C の増加が見られた。ウシ tRNA を用いた解析において、tRNA の m6A の脱メチル化はタンパク質の翻訳効率の上昇をもたらすことを認めている。ゆえに、ALKBH3 酵素活性阻害剤は tRNA の m6A 蓄積によるタンパク質翻訳効率の低下により癌細胞の増殖抑制を示す作用機序が示唆された。