

# 巨大核の出現に着目した 短期腎発がん性予測指標の確立

東京農工大学農学部共同獣医学科 長谷川 也須子

化学物質の発がん性評価手法であるげっ歯類を用いた発がん性試験は、コスト、評価の効率性や動物愛護の面で課題があり、短期検出系の確立が求められている。特に評価上問題となることの多い非遺伝毒性発がん物質に関しては、多数の発がん標的に共通する検出手法がなく、有効な手法開発への要望は大きい。

実験動物に腎発がん物質を投与すると、初期から尿細管上皮細胞に腫瘍性病変とは異なる巨大核の出現という特徴的な変化が、増殖性病変が出現する以前から観察され、それは遺伝子に直接的に傷害を及ぼす遺伝毒性腎発がん物質のみならず、直接的な遺伝子傷害を示さない非遺伝毒性腎発がん物質によっても生じることから、巨大核の誘発が化学物質による腎発がん性の背景にあるものと考えられている。核の巨大化は発がん好発部位に一致して出現し、その数は発がん物質の投与期間と共に増加することから、巨大核の出現に至る細胞内の分子過程に発がんの鍵を与えるものが存在する可能性が示唆されている。

遺伝子の転写・翻訳調節に寄与するエピジェネティック制御には DNA メチル化やヒストン修飾などがあり、これらの異常は多様な疾患に深く関与することが知られるようになってきた。特に遺伝子発現調節（プロモーター）領域における CG 配列が密集した領域である CpG アイランドのメチル化はコードする遺伝子の転写を抑制することが知られており、有糸分裂後の娘細胞に維持、伝達される。そのため動物への発がん物質投与早期に発がんの標的細胞にメチル化異常を生じる遺伝子があった場合、その分子の発現異常は不可逆的な病態進行に寄与し、発がん性の短期予測指標となる可能性がある。よって、巨大核が出現した組織内におけるメチル化異常を示す遺伝子に着目して発がん性に関わる分子を網羅的に検索・同定する意義は高い。

本研究では発がんの初期過程に関与する可能性の高い巨大核の出現に着目し、腎発がん物質であるオクラトキシン A (OTA) を投与した実験動物より得られた腎臓試料から巨大核の形成がみられる髄質外帯外層を用いた網羅的分子解析により、プロモーター領域の過メチル化と mRNA 発現の下方制御を示した遺伝子群をスクリーニングしたところ、2 遺伝子 (*Rad51c*, *Rbm38*) を候補遺伝子として選定した。さらに免疫組織化学的解析により、*Rbm38* の翻訳産物である RBM38 に陽性を示す尿細管上皮細胞数が OTA 曝露群において有意に低下していることを見出した。続いて OTA とは異なる腎発がん物質の他、非発がん腎毒性物質に対する反応性を検証したところ、腎発

がん物質であるニトロフランチン (NFT) 曝露群において *Rad51c*、*Rbm38* 遺伝子の mRNA 発現の低下及び翻訳産物である RBM38 に陽性を示す尿細管上皮細胞数の低下が観察された。一方、他の腎発がん物質である 1-アミノ-2,4-ジブromoアントラキノン、1,2,3-トリクロロプロパン、非発がん腎毒性物質であるカルボキシシン曝露群では OTA と NFT でみられた mRNA 発現や免疫組織化学的な陽性細胞数の変動は認められなかった。

本研究で発現変動が観察された *Rad51c* は DNA 修復、*Rbm38* はがん抑制遺伝子である *Tp53* 及びがん遺伝子である *Myc* の発現調節を担うことが知られており、OTA による腎発がん過程の早期にプロモーター領域の過メチル化による遺伝子発現の下方制御を介した DNA 修復やがん関連遺伝子発現の破綻を生じることが考えられ、特に *Rbm38* のエピゲノム遺伝子発現制御の変化は他の腎発がん物質である NFT においても共通して認められ、短期腎発がん性予測指標の候補となる可能性が示唆された。