

論文の内容の要旨

論文題目

子宮体癌におけるヒストンメチル化酵素の新規機能解析および新規分子治療薬の探索

氏名 大木 慎也

婦人科悪性腫瘍の中で、子宮体癌の罹患率は近年世界中で上昇しており、肥満と未経産の女性の割合が増加していることが原因と考えられている。早期子宮体癌の予後は良好であるが、進行・再発癌においては、既存の化学療法や放射線療法では治療抵抗性を示すことが多く、新たな治療戦略が必要とされている。真核生物の染色体は、DNA とヒストンが結合しクロマチン構造をなすことで成り立っている。主に4つのヒストンタンパク質（H2A, H2B, H3, H4）が8両体を形成し、DNA と結合することで、ヌクレオソームと呼ばれる規則正しく折りたたまれた構造となっている。また、ヒストンタンパク質は、アセチル化、メチル化、ユビチキン化、スモリレーション化、リン酸化といった様々な化学修飾（タンパク質翻訳後修飾）を受けることが知られており、これらの修飾反応が遺伝子発現や複製などの細胞内プロセスの制御をしている。こうしたタンパク質翻訳後修飾の中で、メチル化は近年エピジェネティックの分野を中心にその重要性が注目されている。2004年に Hamamoto らは世界に先駆けてヒストンメチル化酵素 SMYD3 がヒストンメチル化異常を介してヒト癌化に寄与していることを報告した。この研究を端緒に、乳癌、白血病、膀胱癌、食道癌等の様々な癌において、様々なヒストンメチル化酵素が過剰発現していることが報告され、ヒストンメチル化の亢進、およびその均衡の破綻が癌化と関連しているのではないかと考えられてきている。これまでは、タンパク質リン酸化阻害薬が癌の分子治療薬において中心的に開発されてきたが、近年ヒストンメチル化酵素 EZH2 を標的とした新規分子治療薬の臨床試験が白血病を中心として国内外で進行中であり、ヒストンメチル化も分子治療薬のよい標的になる可能性がある。このようにヒストンメチル化を標的にした癌治療は最近のトピックスであるにも関わらず、婦人科癌の分野では殆ど報告が少ない。そこで我々のグループでは、婦人科癌において発現が亢進しているヒストンメチル化酵素を同定し、機能解析を行うことにより子宮体癌における新たな分子治療薬の開発を目指すことを目的とした。候補遺伝子はこれまでに報告のある遺伝子、未報告であるが研究中の遺伝子、計 10 種類のヒストンメチル化酵素とした。子宮体癌細胞株 11 株、コントロールとして子宮内膜不死化細胞株 1 株を用い、定量的リアルタイム PCR 法で 10 種

類の遺伝子発現量を解析した。その結果、7 遺伝子の発現が亢進していることが明らかとなった。続いて子宮体癌臨床検体 52 例、正常子宮内膜 4 例を用いて上記 7 遺伝子を対象に定量的リアルタイム PCR 法で発現量を比較したところ 5 遺伝子が正常内膜と比較して発現が亢進していることが明らかとなった。さらにこれら 5 遺伝子のうち、現在選択的阻害剤が利用可能な EZH2 を最終的に新規分子治療薬の候補遺伝子とした。EZH2 は、EED, SUZ12, RbAp46, RbAp48 と PCR2 複合体を形成し、ヒストン H3K27 をメチル化することで遺伝子発現を抑制し、非ヒストンタンパク質をメチル化することで様々な遺伝子活性に寄与していることが明らかとなっている。そこでまず、子宮体癌における EZH2 の発現と予後を TCGA の RNA sequencing data (N = 540) を用い、 Kaplan-Meier 法を用いて解析を行ったところ、EZH2 高発現群では明らかに全生存期間と無病再発期間が短縮していることが明らかとなった。また、子宮体癌 104 例の Tissue Micro Array を用いた EZH2 の免疫染色検体を用いた予後解析でも無病生存期間は EZH2 高発現群で明らかに短縮していた。続いて、子宮体癌細胞株 (HEC1B, HEC50B, HEC180, HEC151A) を用いて siRNA 法による EZH2 のノックダウンを行ったところ、約 40% の細胞増殖抑制効果が認められ、アポトーシスを介した細胞死が誘導されていた。さらに、EZH2 の選択的阻害剤である GSK126 は子宮体癌細胞株に対し 2.3 μ M - 4.0 μ M の IC₅₀ を示し、siRNA を用いたノックダウン後と同様、アポトーシスを介した細胞死が誘導されることも明らかとなった。また、GSK126 は子宮体癌のキードラッグであるアドリアマイシン、シスプラチンと併用することで上乗せ効果があることも明らかとなった。以上の実験結果より、子宮体癌において EZH2 の高発現は増殖促進に深く関与し、同阻害が新規分子治療薬のとなる可能性が示された。