

論文の内容の要旨

論文題目 高異型度卵巣漿液性癌における SMYD2 の機能解析および

SMYD2 選択的阻害剤の治療効果の検討

氏名 久木田 麻子

<序文>

卵巣癌の維持療法として、PARP(Poly(ADP-ribose) polymerase)阻害剤（オラパリブ）が BRCA 遺伝子変異および相同修飾組換え異常を有する卵巣癌およびプラチナ製剤感受性再発卵巣癌に対して承認されている。オラパリブは、PARP1 に結合し、PARP1 活性を低下させることにより DNA 損傷を蓄積させ合成致死を誘導する。また、PARP1 の阻害が癌細胞に対して DNA 傷害性薬剤や放射線治療への感受性を増強する可能性が報告されている。

本研究では、リシンメチル化酵素 SMYD2 が PARP1 の 528 番目のリシン基をメチル化して PARP1 を活性化することによりオラパリブによる合成致死の誘導を減弱させる可能性に着目し、高異型度卵巣漿液性癌（HGSOC）に対して、SMYD2 が新規治療標的になり得るか、SMYD2 選択的阻害剤（LLY-507）の単剤療法および LLY-507 とオラパリブの併用療法が新規治療戦略となり得るか検証した。

<方法>

まず、9 種類のリシンメチル化酵素について、新鮮凍結検体（HGSOC：35 症例、正常卵巣：6 症例）を使用しリアルタイム PCR 法による発現解析を行った。その中で、PARP1 をメチル化する SMYD2 に着目し、FFPE 切片（HGSOC：30 症例、正常卵巣：6 症例）を使用し免疫組織化学染色を行った。

次に、2 種類の HGSOC 細胞株（JHOS3 細胞、KURAMOCHI 細胞）を使用し、siRNA による SMYD2 のノックダウンおよび LLY-507 単剤療法により、細胞生存アッセイ、細胞周期解析、ウェスタンブロット法、コロニー形成試験を行った。また、LLY-507 とオラパリブの併用療法による細胞生存アッセイおよびコロニー形成試験を行った。

<結果>

新鮮凍結検体を使用したリアルタイム PCR 法の結果、HGSOC において 6 種類のリシンメチル化酵素（SMYD2、EZH2、WHSC1、SUV39H2、SETD7、SETD1A）の有意な発現亢進が認められた（ $p < 0.01$ ）。FFPE 切片を使用した免疫組織化学染色を行った結果、SMYD2 の有意な発現亢進が認められた（ $p < 0.0001$ ）。臨床検体における SMYD2 の発現量と stage および生存期間に有意な相関は認められなかった。HGSOC 細胞株に対して、

SMYD2 のノックダウンおよび LLY-507 単剤療法を行った結果、有意な細胞増殖抑制、コロニー形成抑制およびアポトーシス誘導が認められた($p<0.05$)。また、LLY-507 とオラパリブを併用療法による細胞生存アッセイおよびコロニー形成試験にて、相加効果が認められた($p<0.01$)。

<考察>

本研究では、HGSOC 臨床検体において SMYD2 の有意な発現亢進が認められた。

SMYD2 の発現が亢進している細胞の方が DNA 傷害に伴う酸化ストレスに対してより PARP が活性化することが報告されており、HGSOC において、SMYD2 の発現亢進により PARP1 が活性化されやすい状態にあることが示唆された。

p53 変異と BRCA 変異を有する HGSOC 細胞を使用して、SMYD2 のノックダウンおよび LLY-507 単剤療法を行った結果、抗腫瘍効果が認められ、この抗腫瘍効果は p53 や BRCA の経路を介さないメカニズムが示唆された。

また、LLY-507 とオラパリブの併用療法により相加効果が認められ、LLY-507 単剤療法の抗腫瘍効果に加えて、LLY-507 により PARP1 のメチル化を抑制したことがオラパリブによる PARP1 活性の抑制を増強させたと示唆された。

以上の結果より、LLY-507 単剤もしくはオラパリブとの併用療法が、卵巣癌に対する新規治療薬となり得る可能性、既存の化学療法・維持療法の効果を上乘せする可能性、薬剤・放射線感受性を高める可能性が示唆された。