

佐々木 大介 論文内容の要旨

主 論 文

Overexpression of enhancer of zeste homolog 2 with trimethylation of lysine 27 on histone H3 in adult T-cell leukemia/lymphoma as a target for epigenetic therapy

成人 T 細胞白血病における EZH2 の過剰発現は
エピジェネティック治療の標的となる

佐々木 大介, 今泉 芳孝, 長谷川 寛雄, 尾坂 明美, 塚崎 邦弘, Young Lim Choi, 間野 博行, Victor E. Marquez, 林 徳眞吉, 柳原 克紀, 森脇 裕司, 宮崎 泰司, 上平 憲, 山田 恭暉

Haematologica • Epub ahead of print

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻
(主任指導教員：上平 憲教授)

緒 言

腫瘍細胞では点突然変異などの genetic な異常と DNA メチル化やクロマチン修飾などによる塩基配列の変化を伴わない epigenetic な異常があり、その両異常によって腫瘍が発生すると考えられている。

Epigenetic な制御に関与する Polycomb group protein(PcG)は、クロマチン構造を変化させ遺伝子発現を抑制するタンパク群であり、複数の PcG タンパクによる複合体(Polycomb repressive complex : PRC) を形成して機能を発揮する。その複合体のキーコンポーネントがヒストンメチルトランスフェラーゼ(HMT)活性を有する Enhancer of zeste homolog 2(EZH2)であり、ヒストン H3 のリジン 27(H3K27)のメチル化を促進し、遺伝子の発現を抑制すると考えられている。

そこで本研究では、まず最初に cDNA マイクロアレイ解析にて高発現を確認していた EZH2 と ATL 細胞の相互関係について検討し、HMT 阻害剤 3-deazaneplanocin A (DZNep)と EZH2 を抑制するとの報告がある HDAC 阻害剤 LBH589 の ATL に対する epigenetic therapy としての有用性について検討した。

対象と方法

対象

ATL 患者、HTLV-1 キャリアおよび健常人由来の単核細胞およびリンパ節。ATL 株細胞(ST1, SO4, KK1, KOB, LM-Y1, MT2, Hut102)および非 HTLV-1 感染 T 細胞株 (Jurkat, MOLT4)を用いた。

1. 単核細胞より Total RNA を抽出し cDNA マイクロアレイよりスクリーニングした EZH2 を含む各種ポリコームグループ遺伝子の mRNA を Real-time RT-qPCR により測定した。
2. EZH2 のタンパク発現および H3K27 メチル化状態はウェスタンブロットおよび免疫組織染色により確認した。
3. miRNA の発現量は Total RNA を抽出し Real-time RT-qPCR を用いて測定した。
4. DZNep および LBH589 の単剤および併用による ATL 細胞株に対する抗腫瘍効果について調べた。

結 果

1. Real-time RT-qPCR で測定した結果、EZH2 mRNA の発現量はマイクロアレイの結果と同様、患者 ATL 細胞で有意に高い発現を示した。
2. WB および免疫組織染色によって蛋白レベルでも同じ結果が得られ、ATL 症例のリンパ節において EZH2 は強陽性であった。EZH2 の過剰発現に伴い患者 ATL 細胞では H3K27 のトリメチル化が観察された。
3. EZH2 の発現を抑制する micro RNA として miR-101 の関与が報告されているため、miR-101 発現量を ATL 患者細胞で確認した結果、miR-101 の発現抑制が確認され、EZH2 発現量と負の相関性が認められた。
4. HMT 阻害剤 DZNep は濃度依存的に ATL 株細胞に対し抗腫瘍効果を示す一方、健常人由来の CD4+T 細胞に対しての影響は認められなかった。DZNep により EZH2 タンパクの発現は ATL 細胞株である KK1, LMY1 で抑制されたが KOB では EZH2 の発現増加が認められ細胞株のタイプにより作用機序が異なる可能性が示唆された。また LBH589 では EZH2 を転写レベルで抑制し、同様にタンパク発現の抑制も認められた。DZNep と LBH589 との併用効果を KOB および LM-Y1 を用いて検討した結果、相乗的併用効果が認められた。

考 察

従来固形癌において EZH2 発現と予後や悪性度との関連を調べた報告が多かったが、造血器悪性腫瘍に関しては限られている。本研究では ATL における EZH2 の過剰発現を証明し、その inhibitor は治療の候補として有用である可能性を示した。本 EZH2 は正常 T 細胞には発現せず、患者 ATL 細胞に比較的特異的に過剰発現しているために、副作用のない治療標的分子の候補として優位性がある。実際 EZH2 を抑制すると報告のある DZNep と LBH589 は ATL 細胞株に対し抗腫瘍活性を示し、ATL の今後新しい治療薬の候補として有望視された。

また EZH2 過剰発現の機序としては microRNA (miR-101, miR-128a) の発現異常に起因することが明らかとなった。miR-101 は以前より EZH2 の発現を抑制することが報告されているが、miR-128a に関しては他の報告はなく、本研究が初めての報告である。