



Title	Histone methyltransferase EZH2阻害剤による非小細胞肺癌細胞に対する抗腫瘍効果、及びhistone deacetylase (HDAC) 阻害剤との併用効果の検討 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	高階, 太一
Description	配架番号 : 2157
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11675号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/58989
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Taichi_Takashina_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 高階 太一

主査	教 授	松野	吉宏
審査担当者	副査	教 授	秋田 弘俊
	副査	教 授	西村 正治
	副査	准教授	濱田 淳一

学 位 論 文 題 名

Histone methyltransferase EZH2 阻害剤による非小細胞肺癌細胞に対する抗腫瘍効果、
及び histone deacetylase (HDAC) 阻害剤との併用効果の検討
(The analysis of effects of the combined epigenetic therapy
with EZH2 and HDAC inhibitors on NSCLC cells)

近年の分子生物学の進歩に伴い、癌細胞にはジェネティックな遺伝子異常に加えて、様々なエピジェネティック異常が関与していることが判明した。申請者は、代表的なエピジェネティック異常の一つであるヒストン修飾異常を標的とした薬剤である EZH2 阻害剤(DZNep)単剤療法、及び同剤と histone deacetylase (HDAC)阻害剤 (SAHA) の併用療法の非小細胞肺癌細胞株に対する抗腫瘍効果について検討した。

EZH2はポリコーム蛋白複合体PRC2中のメチルトランスフェラーゼ活性を担う蛋白質であり、ヒストンコア蛋白 H3 のリジン 27 のトリメチル化 (H3K27me3) を介して様々な腫瘍抑制遺伝子の転写を抑制している。EZH2 は正常組織にはほとんど発現しておらず、様々な癌腫で過剰発現し発現レベルが予後不良と関係していることが、非小細胞肺癌を含めた様々な癌腫で報告された。アデノシルホモシステインヒドラーゼ阻害剤として発見された小分子化合物 DZNep が EZH2 の発現及びヒストンメチルトランスフェラーゼ活性を抑制することが乳癌細胞株で報告され、本研究ではまず DZNep の 4 種類の非小細胞肺癌細胞株に対する抗腫瘍効果について検討を行った。DZNep は濃度依存性に足場依存性、非依存性の細胞増殖を抑制し、各癌細胞株における DZNep の感受性は非癌細胞より有意に高かった。DZNep によって G1 期細胞停止と subG1 fraction の増加を認めた。DZNep は濃度依存性にアポトーシスも誘導し、特に EGFR 遺伝子変異陽性株でその効果は顕著であった。DZNep は EZH2 を含む PRC2 蛋白群の発現と、H3K27me3 を低下させた。以上の結果から、DZNep は EZH2 を阻害し、

G1 期細胞周期停止やアポトーシスの誘導を介して、非小細胞肺癌細胞株の増殖を抑制することが示唆された。

続いて、DZNep と SAHA の併用療法の非小細胞肺癌細胞株に対する抗腫瘍効果について検討した。併用療法は相乗的に細胞増殖を抑制し、EZH2 の発現と H3K27me3 を各々単剤よりも低下させた。また、p27 上昇と cyclin A 低下を強く認め、単剤より強くアポトーシスを誘導し、その機序には Bim の発現が一部関与していた。特に EGFR 遺伝子変異陽性株においてその効果は顕著であり、EGFR の発現及び、EGFR リン酸化と EGFR 下流シグナルの抑制を認めた。一部の細胞においては EGFR 発現低下の機序として、Wnt/ β -カテニン経路の関与が考えられ、併用療法によって同経路の抑制因子である NKD1 の発現の誘導と、EGFR の転写誘導因子である β -カテニンの発現抑制を認めた。EGFR-TKI 抵抗性の H1975 で *in vivo* 抗腫瘍効果を検討したところ、併用による高い抗腫瘍効果を認めた。以上の結果から、EZH2 阻害剤と HDAC 阻害剤の併用療法が、*in vitro* 及び *in vivo* で非小細胞肺癌に対して高い抗腫瘍効果を発揮し、EGFR-TKI 抵抗性肺癌を含む非小細胞肺癌に対するより有効なエピジェネティック治療となる可能性があると考えられた。

発表後、副査の秋田教授から、EGH2 が標的とする癌抑制遺伝子の種類、他臓器の正常組織における EZH2 の発現の有無、併用療法の EGFR リン酸化を抑制する機序について質問があり、申請者は、p16、p19、p27、E-cadherin 等が代表的であること、他臓器においても正常組織では EZH2 はほとんど発現していないこと、EGFR リン酸化の抑制の機序は現時点では不明であると回答した。副査の濱田准教授からは、DNA メチル化が亢進している癌に対する併用療法の有効性について質問があり、申請者は有効ではない可能性があるとは回答した。副査の西村教授からは、今回用いた細胞株における EZH2 の発現の程度、併用療法の正常細胞に与える影響とエピジェネティック治療で想定される有害事象、本研究の一番の新知見について質問があり、申請者は、今回用いた細胞株では EZH2 は中等度～高度発現していること、併用療法は正常細胞での発現にも影響を与え、SAHA の臨床試験では下痢や皮疹が著明であったこと、本研究の新知見として併用療法が EGFR 遺伝子変異陽性株に特に有効であったことと回答した。主査の松野教授からは、扁平上皮癌など腺癌以外の非小細胞肺癌に対する併用療法の効果、Bim と EGFR 経路の関係、本治療の有効性を予測するバイオマーカーについて質問があり、扁平上皮癌に対しては十分な検討をしていないこと、Bim の発現と EGFR 経路の関係については不明であること、バイオマーカーの探索についてはこれからの課題であることを回答した。

審査員一同は、これらの結果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。