

論文の要約

報告番号	甲 第1081号	氏名	李 正皓
学位論文題目	ポリコム分子群の神経芽腫における機能解析		
<p>本論文では、小児がんである神経芽腫におけるポリコム分子群の機能を解析した。</p> <p>ポリコム抑制複合体2 (polycomb repressive complex2, PRC2) の構成タンパク質である EZH2 (enhancer of zeste homolog2) はヒストンH3K27をメチル化し、細胞の運命決定、細胞周期、細胞死、細胞の分化、がん化などの重要な細胞内プロセスに関与することが近年明らかにされた。様々ながんにおいてEZH2は高発現し、リンパ腫ではEZH2の機能獲得性変異が見られる。注目すべきことに、近年EZH2阻害剤が開発され、様々ながんに対する治療への応用が進められている。しかしながら、小児固形腫瘍のひとつである神経芽腫 (neuroblastoma, NB) においてEZH2の遺伝子変異は報告されていない。NBのEZH2による悪性化に関わる機能については若干の報告はされているが、まだ不明な点が多い。そこでNB形成におけるEZH2の機能解析を行った。レンチウイルスシステムを用いて、NB細胞でEZH2の過剰発現もしくは発現抑制を行った。EZH2の過剰発現によって、分化誘導剤であるall-trans retinoic acid (ATRA) が誘導するNB細胞の神経突起の伸長が抑えられ、軟寒天コロニー形成能とヌードマウスでの造腫瘍能が促進され、神経芽腫におけるEZH2のOncogenicな機能が確認された。一方で、shRNAによるEZH2の発現抑制は有意にNB細胞の神経突起の伸長を促進し、神経分化マーカーであるNF68とGAP43を発現誘導した。加えて、EZH2阻害剤処理によってNB細胞の神経突起の伸長が促進し、ATRAによる分化誘導を強める効果を示した。また、NB患者における生存率のKaplan-Meier解析によって、EZH2高発現は不良な予後と相関していることが示された。そして、EZH2を発現抑制したNB細胞を用いたマイクロアレイによるトランスクリプトーム解析から、細胞分化を制御するNTRK1 (neurotrophic receptor tyrosine kinase 1) がEZH2ノックダウンによって、その転写が有意に増加することが判明した。NTRK1は蛋白質レベルでも増加し、リガンドであるNGF投与で NB細胞分化誘導をもたらし、その機能が確認された。さらに、クロマチン免疫沈降実験によってEZH2がNTRK1バリエント1/2の転写開始点上流のP1プロモーターに直接結合し、ヒストンH3トリメチル化を介してNTRK1バリエント1/2の転写を抑制していることが明らかになった。この研究はMYCNがん遺伝子が増幅した悪性度の高いNBにおいて、EZH2が増加してNTRK1の転写を抑制し、NB細胞の分化抑制とNBの悪性化に関与することを初めて</p>			

明らかにした。

次にPRC1の構成分子であるBMI1の研究を行った。BMI1はポリコーム抑制複合体1 (PRC1)の重要なサブユニットである。BMI1は造血幹細胞や神経幹細胞など組織幹細胞の維持に必要であることが報告されている。がんにおいては、BMI1は抗がん剤耐性の原因とされるがん幹細胞の維持や増殖に重要な役割を持つと考えられている。またBMI1はMYCNによって転写制御され、NB細胞の分化を抑制して腫瘍細胞の悪性化に関わっている。一方で、BMI1のロックダウンはNB細胞のアポトーシスを誘導する。そして、そのアポトーシス誘導においてp53またはp73の発現誘導および活性化が観察される。その分子的な機構を調べるため、BMI1をロックダウンしたNB細胞を用いてマイクロアレイを用いたトランスクリプトーム解析を行った。その結果、BMI1ロックダウンによってSCN3BやCSRNP3といったアポトーシス誘導時に発現するタンパク質が誘導されることを明らかにした。それらの遺伝子の高発現はNBの良好な予後と相関することから、BMI1ロックダウンにおけるp53/p73依存的なアポトーシスの誘導を制御する重要な役割を担っていると考えられる。

小児がんである神経芽腫においては、予後良好な腫瘍タイプでは腫瘍の“自然退縮”が認められる。この自然退縮においてはNGFのレセプターであるNTRK1 (TrkA) が関与していることも判明していたが、予後不良なNBであるMYCNがん遺伝子増幅タイプのNBでは自然退縮は認められず、NTRK1の発現が認められないことも明らかにされていた。MYCNがん遺伝子増幅タイプのNBでのNTRK1の発現低下の分子機構は、これまでNTRK1プロモーターメチル化によるものとされていたが、この研究はこの機構がポリコーム分子群特にEZH2によるNTRK1プロモーター部分のヒストンコードの修飾 (H3K27トリメチル化) が主体であることを明らかにし、この分野のこれまでの知見に重要な進歩をもたらした。さらにEZH2阻害剤の開発が進行していることを考慮すると、難治性小児固形腫瘍であるMYCN増幅神経芽腫に新たな分子標的療法の創出を可能とするものと考えられた。