

論文審査の要旨

報告番号	総研第 503 号	学位申請者	齋藤 嘉信
審査委員	主査	中川 昌之	学位
	副査	橋口 照人	副査
	副査	佐藤 雅美	副査
			博士 (医学)
			堀内 正久
			河原 康一

The histone deacetylase inhibitor LBH589 inhibits undifferentiated pleomorphic sarcoma growth via downregulation of FOS-like antigen 1

(ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤である LBH589 は *FOS-like antigen 1* の発現減少を介して未分化多型肉腫細胞の増殖を阻害する)

未分化多型肉腫 (undifferentiated pleomorphic sarcoma; UPS) は 50 歳代以降の四肢に好発する悪性軟部腫瘍であり、治療は外科的切除と補助的な放射線療法が原則とされる。標準的な化学療法は確立されておらず、切除不能例や転移例は治療困難となるため有効な化学療法の開発が望まれる。今回学位申請者らは、エピジェネティックに遺伝子発現を制御することで抗腫瘍活性を呈する histone deacetylase (HDAC) 阻害剤である LBH589 の UPS に対する抗腫瘍効果を *in vitro* 及び *in vivo* で評価し、またその作用メカニズムを検討した。4 種の UPS 細胞株 (GBS-1, TNMY-1, Nara-F, Nara-H) を使用し、LBH589 の作用を WST-1 assay, flow cytometry, mouse xenograft model で評価した。LBH589 が遺伝子発現に与える影響を評価するため、LBH589 処理後の GBS-1 細胞に対し RNA microarray を行い、発現が変動した遺伝子の細胞増殖に与える影響を siRNA によるノックダウン及びレンチウイルスを使用した過剰発現実験で評価した。

その結果、本研究で以下の知見が明らかにされた。

- 1) LBH589 は濃度・時間依存性に細胞増殖を抑制し、 IC_{50} は 6-13 nM と高い有効性を示した。
- 2) LBH589 処理により UPS 細胞にアポトーシスを誘発することが確認された。アポトーシス関連タンパク質のうち抗アポトーシス Bcl-2 ファミリーである Bcl-2, Bcl-xL の発現を低下させた一方でアポトーシス促進に働く Bak, Bim, Bad を増加させた。
- 3) LBH589 処理により G2/M 期細胞群の増加を認め、LBH589 が G2 細胞周期停止を引き起こすことが示された。細胞周期関連タンパク質のうち G2 期の進行を制御する CDK1, cyclin B 及び分裂期キナーゼである Aurora A, B は低下した。
- 4) mouse xenograft model では LBH589 投与群ではコントロール群と比較し有意に腫瘍増大抑制効果を認めたが、LBH589 5 mg/kg 群と 10 mg/kg 群では有意差を認めなかった。
- 5) RNA microarray では LBH589 は *FOS-like antigen 1* (*FOSL1*) の発現を低下させた。
- 6) siRNA を使用した *FOSL1* のノックダウンでは細胞増殖能は有意に低下し、逆にレンチウイルスを使用した過剰発現実験では細胞増殖能は増加した。
- 7) *FOSL1* をノックダウンすることで p21 の発現上昇が生じることが確認された。

本研究は化学療法抵抗性の悪性軟部腫瘍である UPS に対し HDAC 阻害剤の有効性を示した初めての報告である。また、HDAC 阻害剤の作用メカニズムとして、*FOSL1* の発現低下を介した p21 の発現上昇を報告しており、これは HDAC 阻害剤による p21 の発現上昇を部分的に説明するものとして興味深い。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。