# 学位論文審査結果の要旨

| 所　属 | 三重大学大学院医学系研究科<br>甲　生命医科学専攻　病態制御医学講座<br>消化器内科学分野 | 氏　名 | 稲垣　悠二 |
|---|---|---|---|
| 審　査　委　員 | 主　査　片山　直之<br>副　査　伊佐地秀司<br>副　査　山崎　英俊 | | |

（学位論文審査結果の要旨）

Epigenetic regulation of proliferation and invasion in hepatocellular carcinoma cells by CBP/p300 histone acetyltransferase activity.

【主論文審査結果の要旨】

著者らは論文において下記の内容を述べている。

【背景】CBP/p300はヒストンアセチルトランスフェラーゼ(HAT)活性をもっており、多くの転写因子と相互作用することでDNA修復、細胞の成長・分化、アポトーシスなど多くの遺伝子制御に関与している。様々な癌においてCBP/p300の遺伝子変異が報告されており、発癌や癌の進展との関連が示唆されている。
肝細胞癌はその罹患率の増加が著しくまた予後が悪いため、世界的にも治療の発展に関心が寄せられている。肝細胞癌治療のターゲットとしてエピジェネティクスの変化に注目はされてきているが、CBP/p300によるHAT活性の重要性についての報告はほとんどない。
【目的】肝細胞癌におけるCBP/p300の発現とHATの機能を明らかにすることを目的とした。
【方法】まず、肝細胞癌におけるCBP/p300の発現を調べるために、肝細胞癌関連組織のtissue arrayサンプルを用いて免疫染色法により解析した。次に、肝細胞癌におけるCBP/p300の生物学的機能を検討するために、そのHAT活性に対する特異的阻害剤として低分子化合物であるC646を用い以下の検討を行った。各種肝癌細胞株を用い、C646によるヒストンアセチル化、細胞の増殖、浸潤への影響を検討した。C646のtumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand(TRAIL)感受性への影響も検討した。また現象の分子学的・遺伝子学的メカニズムを検討するために、Western blotting、quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction

(qRT-PCR)を用いて解析した。
【結果】免疫染色による CBP の発現陽性率は正常肝、肝細胞癌原発病変、肝細胞癌転移巣の順で統計学的に有意に高かった(P<0.01)。分化度と CBP の発現陽性率の間に相関関係はなかった。免疫染色による p300 の発現陽性率は正常肝、肝細胞癌原発病変、肝細胞癌転移巣の順で統計学的に有意に高かった(P<0.01)。分化度と p300 の発現陽性率の間には有意差があり、低分化になるほど陽性率は高かった(P<0.05)。CBP と p300 は肝細胞癌において強く発現しており、また CBP より p300 の方が肝細胞癌の悪性度との関連が強かった。ヒストン H3 のアセチル化に対する影響を肝癌細胞株で検討したところ、全ての細胞株で C646 は濃度依存的にヒストン H3 のアセチル化を抑制した。次に、C646 の肝細胞癌の増殖に対する影響を検討するために MTT アッセイを施行した。全ての細胞株で C646 は濃度依存的に肝癌細胞株の生存率を抑制した。一般に肝細胞癌では TRAIL に対するアポトーシス感受性が低いが、CBP/p300 が TRAIL に対するアポトーシス感受性に関与するか評価した。C646 は HepG2、HLE、SK-HEP1 に対して TRAIL の細胞障害性を相乗的に増加させた。TRAIL に対するアポトーシス抑制分子の発現を検討したところ、HepG2、HLE、SK-HEP1 において、C646 は XIAP、Bcl-xL の発現を変化させなかったが、survivin の発現を低下させ、survivin が TRAIL に対するアポトーシス感受性を増強する機序に関与する可能性が示された。最後に浸潤に対する影響を Boyden chamber を用いて検討したところ、Huh7、HLE、SK-HEP1 では C646 は有意に浸潤を低下させた。浸潤を低下させる機序を推定するために浸潤関連遺伝子の発現について検討したところ、C646 は MMP15 の発現を低下(P<0.01)させ、LAMA3(P<0.05)、SPP1(P<0.01)の発現を増加させた。

本研究において稲垣は、肝細胞癌では CBP/p300 は肝細胞癌の悪性形質、細胞増殖、浸潤、TRAIL によるアポトーシスの感受性の制御において重要な役割を果たしていることを示した。CBP/p300 は肝細胞癌に対して有用な分子標的となりうると考えられ、学術上極めて有益であり、学位論文として価値あるものと認めた。

【掲載雑誌名及び著者名】

掲載雑誌名
International Journal of Oncology. 2016; 48(2):533-40.
DOI: 10.3892/ijo.2015.3288. Epub 2015 Dec 11.

著者名
Inagaki Y, Shiraki K, Sugimoto K, Yada T, Tameda M, Ogura S, Yamamoto N, Takei Y, Ito M.