

学位審査結果報告書

学位申請者氏名 小川 昌洋

学位論文題目 **Transducin-like Enhancer of Split 3 regulates proliferation of melanoma cells via histone deacetylase activity**

審査委員 (主査) 竹 内 弘



(副査) 吉 賀 大 午



(副査) 有 吉 渉



学位審査結果の要旨

悪性黒色腫は口腔粘膜にも発生する悪性度の高い悪性腫瘍であり、増殖能が高く容易に遠隔転移するために予後が悪い。近年、抗 PD-1 抗体 nivolumab などの免疫チェックポイント阻害剤の登場により、悪性黒色腫の治療成績が著しく向上してきた。しかし、免疫チェックポイント阻害剤は間質性肺炎や大腸炎など様々な臓器に対して免疫関連有害事象をもたらすことも明らかとなってきた。そのため、悪性黒色腫の病態の理解を深め、新たな治療法確立の必要性は依然として残っている。

メラノサイトの悪性転化や悪性黒色腫の悪性度の亢進は、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) の活性化による脱アセチル化ヒストンの増加と相関することが知られており、HDAC 阻害剤の悪性黒色腫治療への応用が期待されている。申請者の小川氏らは、転写調節の場 HDAC を誘導する転写コファクター TLE3 に着目し、本研究において悪性黒色細胞の増殖における TLE3 の役割を検討した。

データベース Gene Expression Omnibus を用いた解析からヒトの健常皮膚、良性母斑、悪性黒色腫への変化に伴い TLE3 の発現が上昇すること、そして human protein atlas を用いた解析から TLE3 の発現量が高いほど生存率が低い傾向にあることがわかった。抗 TLE3 抗体を用いた免疫染色を行うと、TLE3 はヒト悪性黒色腫細胞 HMV-II や、BL57BL/6 マウスのメラノサイト、マウス悪性黒色腫細胞 B16 細胞の核に存在していた。

そこで外来性 TLE3 を恒常的に過剰発現する B16 細胞を作製したところ、増殖能の亢進と、cyclinD1 など細胞周期関連遺伝子の発現量上昇を認めた。この細胞を 12 週齢雄 BALB/cA Jcl-nu/nu マウス背部皮下に接種するとコントロール細胞に比べて大きな腫瘍を形成した。一方、shRNA や siRNA の導入で内在性の TLE3 をノックダウンした B16 細胞や HMV-II 細胞では細胞増殖能が低下し、cyclinD1 や Ki67 などの細胞周期関連タンパク質の発現量が低下した。さらに TLE3 を恒常的にノックダウンした B16 細胞をマウス皮下に摂取するとコントロール細胞に比べて、形成された腫瘍は小さかった。

最後に B16 細胞に TLE3 の種々の欠失変異体を過剰発現させる実験を行ったところ、HDAC と会合する領域を欠失した TLE3 変異体は B16 細胞の増殖を亢進せず、*in vivo* においてもこの変異体を発現する細胞はコントロールよりも大きな腫瘍を形成することはなかった。また trichostatin A や apicidin などの HDAC 阻害剤は TLE3 の細胞増殖促進効果を解消した。

これらの結果は、TLE3 の発現量が悪性黒色腫の悪性度と相関し、TLE3 は HDAC 活性を介して悪性黒色腫の増殖を制御することを示唆している。高い増殖能を特徴とする悪性黒色腫において、TLE3 の発現量調節を介した増殖の制御など、悪性黒色腫の新たな治療法への応用を期待させる。本研究内容について申請者の小川氏に対し、主査と 2 名の副査による試問を行い、実験手法や結果の解釈および当該分野における意義と臨床応用への展望や今後の課題等について概ね適切な回答を得た。本研究の成果は、悪性黒色腫の発症機序を理解し、より有効な治療法の開発に寄与するものが多いことから、審査委員会では本論文を学位論文として価値あるものと判断した。