

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 5 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K20128

研究課題名(和文) 卵巣癌・子宮体癌におけるタンパク質メチル化を標的とした新規分子標的治療薬の開発

研究課題名(英文) A Project Developing a New Cancer Therapy Targeting Histone Methyltransferase and Demethylase in ovarian cancer and endometrial cancer

研究代表者

曾根 献文 (Sone, Kenbun)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：90598872

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の最終目標は卵巣癌、子宮体癌を中心とした婦人科癌におけるタンパク質メチル化を標的とした新規分子標的治療薬の開発である。まず子宮体癌について検討を行った所、細胞株、臨床検体においてヒストンメチル化酵素EZH2の発現の亢進が認められた。またEZH2のノックダウンを行うと子宮体癌細胞株の増殖抑制、及びアポトーシス作用が認められ、EZH2選択的阻害剤を使用すると、ノックダウン時と同様な結果が得られた。以上の結果から、子宮体癌においてヒストンメチル化EZH2高発現は増殖促進に深く関与しており、同阻害剤が新たな分子標的薬となる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：We investigated the involvement of histone methyltransferase and demethylase in ovarian cancer and endometrial cancer and evaluated its therapeutic potential. At first, we investigated the expression and function of histone methyltransferase EZH2 in endometrial cancer. In a quantitative real-time PCR analysis of 11 endometrial cancer cell lines and 52 clinical endometrial cancer specimens, EZH2 was significantly overexpressed in cancer cells and tissues compared to that in normal control cells and tissues. In addition, knockdown of EZH2 using specific siRNAs resulted in growth suppression and apoptosis induction of endometrial cancer cells. Consistent with these results, treatment with a specific EZH2 inhibitor, suppressed endometrial cancer cell growth. Further studies should explore the therapeutic potential of inhibiting EZH2 in patients with endometrial cancer.

研究分野：婦人科悪性腫瘍

キーワード：エピジェネティクス 子宮体癌 卵巣癌 メチル化 脱メチル化

## 1. 研究開始当初の背景

メチル化はタンパク質翻訳後修飾の1つであるが、大きく分けてヒストンメチル化と非ヒストンメチル化の2つに分けられる。ヒストンメチル化はヒストンメチル化酵素によってなされ、**エピジェネティクスを制御する主要因子**であると考えられている。ヒストンメチル化酵素はヒストンタンパク質のみならず、**非ヒストンタンパク質をメチル化**することも報告され、その生物学的意義も解明されつつある。また長い間タンパク質メチル化は安定な修飾で不可逆的な反応であると考えられてきたが、2004年にY. Shiのチームは世界で初めてヒストン脱メチル化酵素 LSD1 を発表し、タンパク質メチル化はダイナミックに制御されている現象であることが明らかになった。

また乳癌や白血病、膀胱癌、食道癌等の様々な癌において様々なヒストンメチル化酵素、脱メチル化酵素が過剰発現されていることが報告され、**メチル化、脱メチル化の亢進および、その均衡の破綻が癌化と関連**することが明らかとなった。これまではタンパク質リン酸化阻害剤が癌の分子標的治療薬において中心的に開発されてきたが、タンパク質メチル化も分子標的治療薬のよい標的になる可能性が示された。実際、低分子化合物を用いた様々なヒストンメチル化酵素、脱メチル化酵素の特異的阻害剤の臨床試験が進行中である。例えば M. T. McCabe らによりヒストンメチル化酵素 EZH2 阻害剤による、悪性リンパ腫に対する治療法の有効性が報告されている (Nature, 2012)。一方、

脱メチル化酵素阻害剤としてはヒストン脱メチル化酵素 LSD1 阻害剤の開発が最も進んでおり、肺癌や白血病等で臨床試験が行われている。

## 2. 研究の目的

ヒストンメチル化と癌化についてのメカニズムを調べた報告が多数ある中、**卵巣癌・子宮体癌**などの婦人科癌とヒストンメチル化について調べた報告はほとんど無い。そこで申請者らは卵巣癌・子宮体癌におけるタンパク質メチル化の意義を調べ、**新たな分子標的治療薬**の開発を目指した研究を計画した。

## 3. 研究の方法

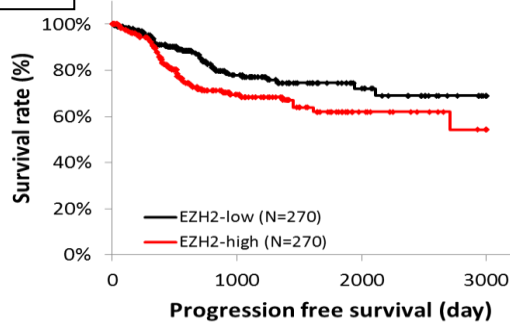
本研究の最終目標は卵巣癌、子宮体癌を中心とした婦人科癌における**タンパク質メチル化を標的とした新規分子標的治療薬の開発**である。まず子宮体癌について下記のような研究計画で研究を進めた。

- ① 子宮体癌検体・細胞株におけるヒストンメチル化酵素・脱メチル化酵素の発現解析
- ② 標的遺伝子ノックダウン後の子宮体癌細胞株を用いた細胞増殖試験
- ③ ヒストンメチル化酵素・脱メチル化酵素阻害剤の婦人科癌細胞株における抗腫瘍効果の検討
- ④ 新規非ヒストンメチル化タンパク質の探索

## 4. 研究成果

子宮体癌（細胞株 11 株、臨床検体 52 例）を用い、定量的 real-time PCR 法により解析したところ、細胞株・臨床検体いずれにおいても、8 種類のヒストンメチル化酵素・脱メチル化酵素の発現の亢進が認められた（各々  $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$  by t-test）。その中で、まずヒストンメチル化酵素 EZH2 の解析を行

図 1



った。TCGA (The Cancer Genome Atlas) の micro array database (n=540)、および TMA (Tissue micro array) を用いて EZH2 の発現とその予後を解析したところ、EZH2 の高発現群では予後不良である事が認められた (図 1)。

そこで EZH2 阻害による抗腫瘍効果を、siRNA または EZH2 選択的阻害剤 GSK126 添加条件下において、MTT アッセイ法および Annexin V 法にて解析したところ、siRNA によるノックダウン後に有意な細胞増殖抑制効果およびアポトーシス誘導作用が認められ、さらに GSK126 添加により濃度依存的な増殖抑制効果が確認された (図 2, 3)。

また抗癌剤による併用効果を検討した所、GSK126 とアドリマイシン、シスプラチンとの併用効果が認められた (図 4)。

図 2

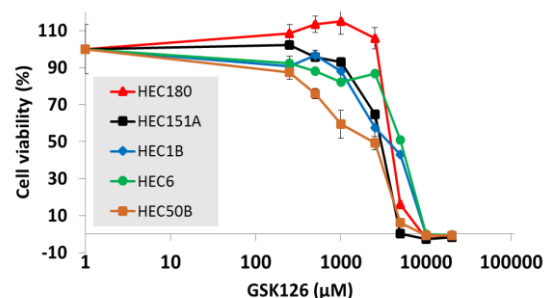


図 3

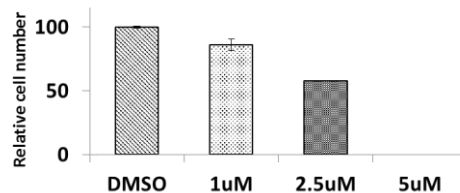
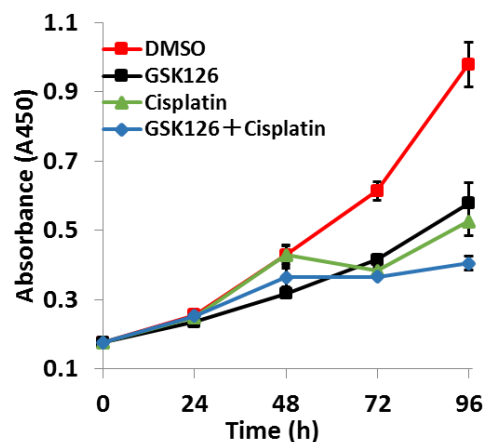
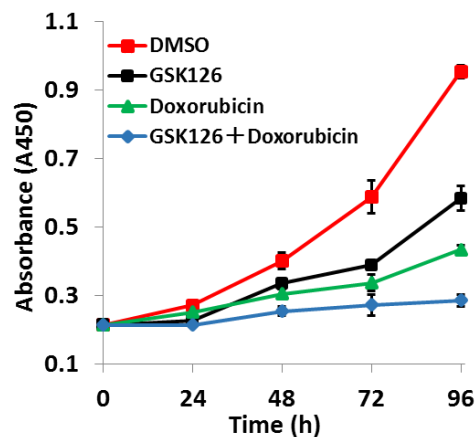


図 4



以上の結果から、子宮体癌においてヒストンメチル化酵素 EZH2 高発現は増殖促進に深く関与しており、同阻害剤が新たな分子標的薬となる可能性が示された。この研究成果は 2017 年 *Oncotarget* 誌に掲載された。

また他の研究として、癌細胞においてヒストンメチル化酵素 SUV420H1 が ERK1 タンパク質をメチル化し、ERK1 タンパク質のリン酸化を増強する事を発見した (図 5, 6)。この研究成

果は 2016 年 *Oncotarget* 誌に掲載された。

図 5

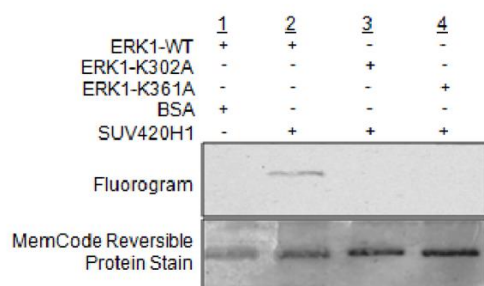
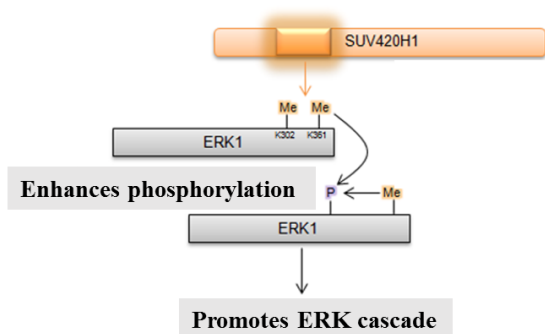


図 6



現在、残りのヒストンメチル化酵素・脱メチル化酵素の子宮体癌における解析、卵巣癌における解析を始めている。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

1. SUV420H1 enhances the phosphorylation and transcription of ERK1 in cancer cells.

Vougiouklakis T, Sone K, Saloura V, Cho HS, Suzuki T, Dohmae N, Alachkar H, Nakamura Y, Hamamoto R.

*Oncotarget*. 2015 (Open access)

2. Oncogenic histone methyltransferase EZH2: A novel prognostic marker with therapeutic potential in endometrial cancer.

Oki S, Sone K, Oda K, Hamamoto R, Ikemura M, Maeda D, Takeuchi M, Tanikawa M, Mori-Uchino M, Nagasaka K, Miyasaka A, Kashiya T, Ikeda Y, Arimoto T, Kuramoto H, Wada-Hiraike O, Kawana K, Fukayama M,

Osuga Y, Fujii T.

*Oncotarget*. 2017 (Open access)

[学会発表] (計 2 件)

### 1. Kenbun Sone

The histone methyltransferase SUV39H2 is a novel target of anti-cancer therapy

第 67 回日本産科婦人科学会学術講演会  
2015/4/10 パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)

### 2. Kenbun Sone et al.

The histone methyltransferase, SUV39H2, is a potent target of anti-cancer therapy in endometrial cancer

第 68 回日本産科婦人科学会学術講演会  
2016/4/22 東京国際フォーラム (東京都・千代田区)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

曾根 献文 (Sone, Kenbun)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：90598872