

## 論 文 要 旨

|                |   |
|----------------|---|
| 氏名             | 小川 昌洋   |
| タイトル<br>(日英併記) | TLE3 はヒストン脱アセチル化酵素活性を介して悪性黒色腫細胞の増殖を制御する(Transducin-like Enhancer of Split 3 regulates proliferation of melanoma cells via histone deacetylase activity) |

## 論文の要旨 (日本語で記載)

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。昨年のノーベル生理学・医学賞受賞で話題となった抗 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、近年、悪性黒色腫の治療成績が著しく向上してきた。しかしながら、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、悪性黒色腫の病態を正解に理解し、新たな治療法を確立する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に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が相関する。そのため、HDAC 阻害剤は悪性黒色腫の新規治療薬として注目されている。そこで本研究では転写調節の場に HDAC を誘導することが知られる転写コファクターの TLE3 に着目し、悪性黒色細胞の増殖における TLE3 の役割を検討した。

Gene Expression Omnibus (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)の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が明らかとなった。また、human protein atlas (<https://www.proteinatlas.com/>)の解析から 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。ヒト悪性黒色腫細胞 HMV-II を TLE3 抗体で染色すると TLE3 が核に局在することがわかった。さらに TLE3 は BL57BL/6 マウスのメラノサイトやマウス悪性黒色腫細胞 B16 細胞の核にも存在すること明らかとなった。

次に B16 細胞にマウス TLE3 の発現ベクターをトランスフェクションし G418 処理を行うことで TLE3 が恒常的に過剰発現する B16 細胞を作製した。TLE3 を過剰発現した B16 細胞は増殖能が亢進し、CyclinD1 などの細胞周期関連遺伝子の発現量が上昇した。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小さな腫瘍を形成した。

最後に B16 細胞に TLE3 の欠失変異体を過剰発現させ実験を行ったところ、HDAC と会合する領域が欠失した TLE3 の変異体は B16 細胞の増殖に影響を与えず、in vivo においてもこの変異体はコントロールに比べ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。

以上より、TLE3 の発現量と悪性黒色腫の悪性度は相関し、TLE3 は HDAC 活性を介して悪性黒色腫の増殖を制御することが示唆された。悪性黒色腫は高い増殖能を有することが特徴であり、TLE3 の発現量を調節し、増殖を制御することができれば新たな悪性黒色腫の治療法に発展できる可能性がある。