

審査の結果の要旨

山本 恵介

近年、エピジェネティックな異常は発癌のみならず癌の進展にも寄与することが明らかとなってきた。本研究では、癌におけるヒストン脱メチル化酵素 JMJD3 の発現低下が癌の進展に関与する可能性を検討するために、shRNA 発現ベクターを用いて癌細胞株の安定ノックダウン株を作成し、その表現型の解析、ならびに分子生物学的機序の解析を試みたものである。以下の結果が得られている。

1. 高分化型膵癌細胞株である BxPC-3 を用いて JMJD3 の安定ノックダウン株を作成した。浸潤能、腫瘍形成能が上昇することを *in vitro* の実験系で見出し、これを *nude mouse* を用いた脾臓内移植ならびに膵内移植実験において *in vivo* での確認を行った。
2. cDNA マイクロアレイ解析の結果から、JMJD3 のノックダウンによって発現が増加する表面マーカーとして CD47 を同定した。複数の膵癌細胞株でも、JMJD3 のノックダウンにより CD47 の発現が増加することを確認した。Cell sorter を用いた解析により、JMJD3 のノックダウン細胞において認めた腫瘍形成能の増加は、新たに出現した CD47 高発現分画によるものであることを明らかとした。
3. cDNA マイクロアレイ解析の結果から、癌抑制遺伝子 CEBPA が JMJD3 の標的遺伝子であることを同定し、複数の癌細胞株において、JMJD3 のノックダウ

ンによって C/EBP α の発現が低下することを確認した。さらにクロマチン免疫沈降法により、CEBPA が JMJD3 による H3K27me3 の脱メチル化を介した転写活性化を受けることを明らかとした。また、C/EBP α の発現低下が、JMJD3 ノックダウン細胞における表現型変化の責任遺伝子であることを、強制発現実験にて確認した。

4. ヒト膀胱癌臨床検体を用いた免疫組織化学により、JMJD3 の発現量は分化度と正の相関、CD47 発現量と負の相関を示すことを見出した。

以上、本研究からヒストン脱メチル化酵素 JMJD3 の発現低下が癌の進展に寄与する可能性ならびにその主要な機序の一つが示されたと考えられ、これは学位の授与に値するものと考えられる。