

【要約】

Polycomb molecule EZH1 regulates cell cycle/  
cell death/drug resistance of neuroblastoma cells  
in concert with MYCN

(ポリコーム EZH1 は MYCN と協調して神経芽腫細胞の  
細胞周期・細胞死・薬剤耐性を制御する)

千葉大学大学院医学薬学府

先端医学薬学専攻

(主任：吉田英生教授)

秦 佳孝

## 【目的】

神経芽腫（NB）は体細胞変異の頻度が少なく、その発生にエピジェネティック制御の異常が関わっていると推察される。ポリコーム複合体 PRC2 は、典型的には EZH2 による H3K27 メチル化を介して遺伝子発現に抑制的に働くが、非典型的な EZH1-PRC2 の働きは明らかでない。本研究は、EZH1 の神経芽腫における機能を明らかにし、新規治療標的としての知見を得ることを目的とした。

## 【方法】

複数の MYCN 増幅・非増幅 NB 細胞株を用いて、定量的 PCR・ウェスタンブロットで EZH1 発現量を比較した。また、293T 細胞に EZH1 と MYCN を導入し、免疫沈降／ウェスタンブロットにより両者の interaction を調べた。

次に、MYCN 増幅 NB 細胞株に対して shRNA による EZH1 ノックダウンを行い、*in vitro/in vivo* で腫瘍増殖に対する影響を検討した。マイクロアレイを用いた網羅的発現解析を用いて EZH1 のターゲット遺伝子を検索し、その転写制御機構をルシフェラーゼレポーターアッセイやクロマチン免疫沈降を行って解析した。

最後に、EZH1/EZH2 阻害薬の NB 細胞株に対する効果を検討した。

### 【結果・考察】

EZH1 タンパク発現は、MYCN 増幅株で有意に高く、NB 腫瘍免疫染色においても高発現であった。しかし mRNA レベルでは有意差はなかった。免疫沈降/ウェスタンブロットにより EZH1-MYCN タンパク複合体を検出し、両者の interaction によりタンパクが蓄積することが示唆された。

複数の MYCN 増幅 NB 細胞株に対する EZH1 ノックダウン実験により、*in vitro/in vivo* でアポトーシスによる細胞死が誘導された。マイクロアレイによる網羅的発現解析を行い、*TYMS* (thymidylate synthase をコードする遺伝子) などを含む DNA 複製に関わる経路が抑制されていることが示された。ルシフェラーゼレポーターアッセイでは、MYCN が *TYMS* プロモーター活性を上昇させることが分かった。さらに、クロマチン免疫沈降では、EZH1 が *TYMS* プロモーター領域への MYCN 結合を調整し、遺伝子発現を制御していることが示唆された。EZH1 と MYCN が協調して NB における *TYMS*

等の proto-oncogene の転写促進に寄与していると推察された。

EZH1/EZH2 阻害剤である UNC1999 は thymidylate synthase 阻害剤である 5-FU との併用によって NB 細胞株に対する相乗的な腫瘍抑制効果を示した。

#### 【結論】

神経芽腫において EZH1 は MYCN と協調して *TYMS* 等の癌原遺伝子発現を制御し、細胞周期・細胞死・薬剤耐性を制御していることが示唆された。EZH1 は神経芽腫の新規治療標的として有用であると考えられる。