

論文要旨

区 分	①・乙	氏名	永沼 香織	
-----	-----	----	-------	---

Epigenetic alterations of the keratin 13 gene in oral squamous cell carcinoma

<研究目的>

DNA 塩基配列を変化させることなく、DNA やヒストンから成るクロマチンの化学修飾により遺伝子発現を調節する機構 — エピジェネティック制御機構 — は、細胞の表現型を決定する遺伝子発現パターンは勿論のこと、癌等の様々な病態の形成に重要な役割を担っている。細胞骨格タンパク keratin13 (KRT13) は口腔上皮細胞の悪性形質転換に関連して発現が抑制されるとの報告があるが、その分子メカニズムは不明である。本研究は KRT13 遺伝子発現抑制における口腔扁平上皮癌のエピジェネティック制御異常を明らかにすることを目的としている。

<材料及び方法>

細胞株は正常上皮細胞株 HaCaT と 3 種類の舌癌細胞株 (高分化型: HSC4, 低分化型: HSC3, SAS) を用い、KRT13 の発現レベルと KRT13 プロモーター領域のクロマチン修飾を調べた。KRT13 タンパクと mRNA の発現レベルはそれぞれ western blot と qPCR にて定量解析し、KRT13 タンパクの細胞内局在を免疫染色にて検出した。KRT13 遺伝子領域の DNA メチル化とヒストン修飾はバイサルファイト・シーケンス解析、クロマチン免疫沈降法によって各々解析した。3-deazaneplanocin A (DZNep) を用いてヒストンメチル化酵素複合体である Polycomb repressive complex 2 (PRC2) の機能を阻害した。

<結果>

- ① KRT13 では、全ての舌癌細胞においてタンパクレベルが低下しており、低分化型舌癌細胞の HSC3 と SAS においては mRNA の発現抑制が認められた。
- ② KRT13 遺伝子プロモーター領域の DNA メチル化を比較した。プロモーター DNA の CpG 部位は 3 種類の舌癌細胞株全てにおいて高度にメチル化されていた。
- ③ KRT13 遺伝子プロモーター領域のヒストン H3 Lys メチル化パターンを解析したところ、HaCaT と HSC4 においては遺伝子発現活性化に関連するヒストン H3 Lys4 トリメチル化 (H3K4me3) の方が H3K27me3 に比べ有意に高かった。また、HSC3 と SAS では抑制の H3K27me3 の方が H3K4me3 と比較し有意に高いことが明らかになった。このことから、低分化型舌癌細胞では H3K27me3 のメチル化を担う PRC2 により抑制修飾パターンが形成されると考えられた。
- ④ KRT13 発現が抑制されている SAS を DZNep 処理することで KRT13 遺伝子の転写が再活性化することを明らかにし、その効果は可逆的であった。

<考察>

口腔扁平上皮癌細胞における KRT13 抑制には複数のメカニズムが存在することが明らかになった。低分化型舌癌細胞での KRT13 遺伝子サイレンシングには、KRT13 プロモーターにおける DNA メチル化が転写抑制に直接関与しているのではなく、H3K27me3 のようなヒストン修飾の変化が必要であることが示唆された。また、KRT13 は舌癌細胞において PRC2 が抑制する標的遺伝子の一つであり、KRT13 と PRC2 の発現パターンは舌癌細胞の表現型の特徴づけに有用なバイオマーカーとして役立つと考えられた。

<結論>

本研究は口腔扁平上皮癌における KRT13 遺伝子のエピジェネティック制御異常の分子メカニズムを明らかにした。更にこの知見から口腔扁平上皮癌に対する診断マーカーや新しい治療法開発に寄与する可能性が示唆された。