

論文内容の要旨

Immunohistochemistry for histone H3 lysine 9 methyltransferase and demethylase proteins in human malignant melanomas

(悪性黒色腫における H3K9 メチル化および脱メチル化酵素発現の免疫組織学的検討)  
(三浦慎平, 前沢千早, 柴崎晶彦, 安平進士, 葛西秋宅, 角田加奈子, 前田文彦, 高橋和宏, 赤坂俊英, 増田友之)

(The Journal of Dermatology (投稿審査中))

I. 研究目的

悪性腫瘍の生物学的特性の形成に、遺伝子のエピジェネティックな発現調節機構が大きく関与している。中でもヒストンテールに生じる化学修飾の異常は、クロマチン構造の変化を誘導し、遺伝子の発現パターンを劇的に書き換えてしまうことが知られている。近年、ゼブラフィッシュの悪性黒色腫モデルに於いて、histone H3 lysine 9 (H3K9)のメチル化酵素 SETDB1 の過剰発現が、転移関連分子の発現異常を誘導し、腫瘍形成促進に寄与することが報告された。SETDB1 の存在する 1q21 の領域は、悪性黒色腫で高頻度に増幅している事が知られており、悪性黒色腫に関連する癌遺伝子の存在が示唆されていた。SETDB1 は、悪性黒色腫の転移予測バイオマーカーとして期待されている。

一方、H3K9 のメチル化は複数のメチル化/脱メチル化酵素の影響を受けることが知られており、さらにヒト悪性黒色腫の原発巣に於いてこれらのメチル化/脱メチル化酵素の発現異常を検討した報告はない。

本研究では H3K9 のメチル化酵素 EHMT2, SETDB1 および脱メチル化酵素 LSD1 の発現を、免疫組織学的に検討し、臨床病理学的事項、予後との関連を解析した。

II. 研究対象ならび方法

岩手医科大学皮膚科学講座で加療した 67 症例 (1997-2009 年) の悪性黒色腫患者について、EHMT2, SETDB1 および LSD1 の発現を Ventana 社 (Tucson, AZ, USA) 製の自動免疫染色装置を用いて、labeled streptavidin-biotin 法にて染色した。染色性の評価は Akasaka ら (J Invest Dermatol. 2009 129:1516-26) の方法に準じて、陽性細胞比率とその染色強度に関してスコアリングし判定した。対象症例の 25 例 (37%) が現病死した (2012 年 12 月現在)。臨床病理学的事項と染色性の相関解析には、Fisher's exact test を用いた。生存率は Kaplan-Meier 法にて計算し、log-rank test で有意差検定を行った。多変量解析には Cox regression analysis で検討した。

III. 研究結果

1. 悪性黒色腫において EHMT2, SETDB1 および LSD1 蛋白は核に陽性で、それぞれ 67 例中 14 例 (21%), 38 例 (57%), 53 例 (79%) が陽性であった。
2. 腫瘍の厚さが 2.01 mm 以上の症例、リンパ節転移例、遠隔転移例で EHMT2 陽性例が高頻度に認められた ( $p < 0.05$ )。

3. リンパ節転移例で SETDB1 陽性例が高頻度に認められた ( $p < 0.05$ ).
3. EHMT2 陽性例は陰性例に比較して予後不良であった ( $p < 0.001$ ).
4. 単変量解析の結果から患者の生存率に関連する因子は、腫瘍の厚さ 2.01 mm 以上 ( $p < 0.001$ ), リンパ節転移 ( $p < 0.001$ ), 遠隔転移 ( $p < 0.001$ ), EHMT2 過剰発現 ( $p < 0.001$ ) が抽出された.
5. 多変量解析では EHMT2 過剰発現は独立した予後予測因子とはならず, tumor thickness 2.01 mm 以上 ( $p < 0.01$ ), 遠隔転移 ( $p < 0.01$ ) が抽出された.

#### IV. 結 語

悪性黒色腫に於いて H3K9 メチル化酵素 EHMT2 および SETDB 1 の過剰発現は, リンパ節転移や遠隔転移などの臨床病理学的事項と相関し, 悪性黒色腫の悪性形質の獲得に何らかの影響をおよぼしていることが示唆された. 特に EHMT2 の過剰発現は, 患者の生命予後マーカーとなり得る可能性が示唆されたが, 多変量解析では独立した因子とはならず, さらなる検討を要すると考えられた.

## 論文審査の結果の要旨

### 論文審査担当者

主査 教授 澤井 高志 教授 (病理学講座：先新機能病理学分野)

副査 教授 赤坂 俊英 教授 (皮膚科学講座)

副査 教授 佐藤 孝 准教授 (病理学講座：病理病態学分野)

エピジェネティックな遺伝子発現の調節機構は、悪性腫瘍の生物学的特性の形成に大きく関与している。中でもヒストンテールに生じる化学修飾の異常は、クロマチン構造の変化を誘導し、遺伝子の発現パターンを劇的に書き換えてしまうことが知られている。本研究本論文は、histone H3 lysine 9 (H3K9)のメチル化酵素 EHMT2, SETDB1 および脱メチル化酵素 LSD1 に着目して、悪性黒色腫における発現について免疫組織学的に検討した論文である。悪性黒色腫に於いて H3K9 メチル化酵素 EHMT2 および SETDB1 の過剰発現は、リンパ節転移などの臨床病理学的事項と相関し、悪性形質の獲得に影響をおよぼしていることが示唆された。特に EHMT2 の過剰発現は、患者の予後予測因子となり得る事を示した論文である。

これまでにヒト悪性黒色腫に於いてこれらのメチル化/脱メチル化酵素の発現異常を検討した報告はない。本論文は悪性黒色腫の予後予測に貢献する有益な知見を示した研究といえる。学位に値する論文である。

## 試験・試問の結果の要旨

悪性黒色腫の診断・治療に係る基礎知識および実験手法について試問を行い、適切な解答を得た。学位に値する学識を有していると考ええる。

## 参考論文

- 1) Nucleus accumbens-associated 1 contributes to cortactin deacetylation and augments the migration of melanoma cells  
(nucleus accumbens-associated 1 はコルタクチンの脱アセチル化に寄与し、黒色腫細胞の運動能を増大させる) (角田加奈子, 他 11 名と共著)  
Journal of Investigative Dermatology, 131 巻, 8 号 (2011)
- 2) 良性対称性脂肪腫症の 1 例 (櫻井英一, 他 4 名と共著)  
臨床皮膚科, 66 巻, 4 号 (2012)
- 3) 脂漏性角化症内に生じたケラトアカントーマの 1 例 (中川倫代, 他 5 名と共著)  
臨床皮膚科, 66 巻, 4 号 (2012)