

ジャミルディン モハマド ライド 氏の学位論文審査の要旨

論文題目

Regulation of PML Bodies by Histone deacetylase 9 in Alternative Lengthening of Telomeres Pathway

(テロメア維持の組換え依存的経路におけるヒストン脱アセチル化酵素9による PML 構造体の形成制御)

染色体末端のテロメア長は細胞分裂能を決定づけており、テロメア長の消失は細胞の老化を招く。一方、がん細胞はテロメア維持機構 (TMM) を活性化させることによって無限の増殖能を獲得している。TMM は逆転写酵素であるテロメラーゼを介した経路とテロメア DNA の相同組換えを介した経路 (alternative lengthening of telomere: ALT) により制御される。多くのがん細胞はテロメラーゼを介した機構を有しているが、肉腫や星状細胞腫など一部のがんでは ALT 経路を駆動している。従ってテロメラーゼのみを標的とした抗がん剤では全てのがん細胞を死滅させることは困難であり、分子レベルでの ALT 機構の解明および ALT 経路を標的とした抗がん剤の開発が望まれている。

申請者は ALT 経路に関与する分子を探索するために脱アセチル化酵素 (HDAC) ファミリーに着目した。テロメラーゼ陽性の細胞株である HeLa と T24 また ALT 陽性の細胞株である U2OS と Saos-2 を用いて HDAC ファミリー遺伝子の発現量を比較した結果、HDAC9 が ALT 細胞株で高発現していることを見出した。C-サークルは ALT 細胞に特異的に検出される一本鎖のテロメア反復配列 (CCCTAA) を含んだ環状 DNA であり、ALT 細胞でのテロメア伸長活性を示す。そこで siRNA による HDAC9 のノックダウンを行い、C-サークルの測定による ALT 活性評価や ALT に特異的な核内構造体である ALT-associated promyelocytic leukemia nuclear body (APB) の形成について検討を行った。その結果、HDAC9 をノックダウンした細胞で C-サークルの量が有意に減少した。また HDAC9 をノックダウンした細胞で APB 構造体の有意な減少が認められた。APB の主要成分である PML タンパク質の蛍光強度が有意に減少していたことから、HDAC9 は PML の核内移行を調節している可能性が示唆された。PML のスモ化は PML の核内移行および APB の形成に重要な翻訳後修飾であることが知られているが、HDAC9 をノックダウンした細胞における PML のスモ化はコントロール細胞と比べて有意な差を認めなかった。本研究により、HDAC9 が ALT 細胞において高発現しており、ALT 経路に重要な構造体 APB の形成に関わること、またテロメア伸長活性に影響することが明らかになった。

審査において、HDAC9 の脱アセチル化活性の関与、C-サークルの役割、C-サークル生成のメカニズム、HDAC9 と PML の結合様式とその局在、HDAC9 アイソフォームの構造的・機能的相違点、PML スモ化を制御する分子に関する既報、PML スモ化の解析方法、免疫染色における APB と PML の定量方法、HDAC9 ノックダウン細胞の増殖能などに関して質疑が行われ、申請者からは概ね適切な回答が得られた。

本論文は、HDAC9 がテロメア伸長のテロメラーゼに依存しない経路である ALT 経路の活性に関与することを示し、そのメカニズムの一端を示唆したものである。本研究結果は ALT 細胞を標的とした新たな治療戦略の開発に貢献するものと考えられ、学位論文に相応しいと評価された。

審査委員長 病態生化学担当教授

山縣 和也