

別紙 1 - 1

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 坪田 庄真

論 文 題 目

PRC2-mediated transcriptomic alterations at the embryonic stage
govern tumorigenesis and clinical outcome in MYCN-driven
neuroblastoma

(胎生期における PRC2 を介した遺伝子発現変化が MYCN による神経芽
腫の発生と臨床結果を規定する)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 委員

岡島 徹也



名古屋大学教授

委員

高橋 雅実



名古屋大学教授

委員

高橋 隆



名古屋大学教授

指導教授

門松 健治



論文審査の結果の要旨

別紙1-2

本研究は、神経芽腫モデルの TH-MYCN マウスと新規なスフェア培養法を用い、がん化初期異常の解明に取り組んだ。MYCN の発現パターンとスフェア培養の結果から、胎生期 13.5 日にはがん化がスタートしていることが分かった。網羅的な遺伝子発現解析の結果、予想通りに MYC ターゲット遺伝子の発現が増加していた。興味深いことに、エピゲノム制御分子の一つである Polycomb repressive complex 2 (PRC2) のターゲット遺伝子の発現が顕著に低下していた。また、それらターゲットのゲノム領域は PRC2 によるエピゲノム修飾 H3K27me3 の増加を伴っていた。PRC2 の構成分子である Ezh2 の機能を阻害すると、スフェアの増殖や TH-MYCN マウスでの腫瘍形成が著しく抑制された。約 500 例のヒト神経芽腫の発現解析結果から、PRC2 ターゲット遺伝子群の発現パターンが、神経芽腫の悪性度（ステージや予後）と大きく関連していた。MYCN による神経芽腫のがん化に PRC2 を介したエピゲノム異常が関与していることが分かり、PRC2 をターゲットにした新たな治療標的の可能性を示唆した。本研究に対し、以下の点を議論した。

1. 129 系マウスで TH-MYCN マウスを維持していると、理論的には副腎髄質やその他の神経節から腫瘍が出来るはずだが、交感神経節の一つである上腸間膜神経節から腫瘍が出来る。MYCN の発現はラット由来チロシン水酸化酵素 (TH) のプロモーターにより制御されている。おそらく、プロモーター活性が組織毎に異なっていて、結果的に MYCN の発現が誘導されるのが上腸間膜神経節であり、そのため腫瘍形成がこの組織に限局しているのだと考えられる。
2. 文献上では MYC や MYCN が直接 Ezh2 の転写を制御するという報告がある。本研究で、野生型スフェアに MYCN を過剰発現させると、Ezh2 の発現が僅かに増加することが分かったため、神経芽腫においても Ezh2 の発現が MYCN により直接制御されている可能性が示唆された。
3. PRC2 構成分子の発現量の変化は僅かで、PRC2 ターゲット遺伝子の発現は大きく変動しているが、どのように PRC2 ターゲットの発現変動が制御されているかは分かっていない。過去の文献や本研究により MYCN と Ezh2 が直接結合することが分かった。おそらく、転写因子である MYCN がゲノム上の特定の領域に結合し、そこへ Ezh2 が呼び寄せられその近傍のエピゲノム修飾状態を制御し、その結果ターゲット遺伝子の発現が減少しているのではないかと想定される。今後、クロマチン免疫沈降などにより MYCN と Ezh2 のゲノム上の局在や、エピゲノム修飾状態を調べることでこれらの間に答えられるだろう。

以上の理由により、本研究は博士（医学）の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

別紙 2

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※甲第	号	氏 名	坪田 庄真
試験担当者	主 査	岡島 徹也	高橋 雅典	高橋 隆
	指導教授	門 松 健一		

(試験の結果の要旨)

主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。

1. TH-MYCINにおけるMYCNの発現量について
2. Ezh2がMYCNの直接的なターゲットなのか
3. PRC2ターゲット遺伝子の発現変動について

以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、分子生物学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。