

# ヒストンデアセチラーゼの阻害と制がん効果

阿部 達也

秋田県立大学生物資源科学部応用生物科学科

(平成 21 年 4 月 6 日掲載決定)

## Histone Deacetylase Inhibition and Anticancer Effects

Tatsuya Abe

*Akita Prefectural University, Faculty of Bioresource Sciences Nakano, Shimoshinjo, Akita 010-0195, Japan*

### Abstract

Histone deacetylase (HDAC) is an enzyme that catalyzes the deacetylation of lysine residues in histone proteins. The HDAC plays important roles in realizing the histone code, changing the epigenetic condition and regulating the gene expression in eukaryote. Inhibition of HDAC induces anticancer effects such as induction of apoptosis or cell-cycle arrest in many cancer cells. Therefore, HDAC inhibition is one of the new prospective treatments of cancer. This review describes about the basic and clinical information of the HDAC inhibition focused on anticancer effects.

**Key words :** histone deacetylase, inhibition, anticancer

### はじめに

ヒストンデアセチラーゼ (HDAC) はヒストンの N 末端領域のアセチル化されたリジン残基の脱アセチルを触媒する酵素である。しかし、HDAC は単なる脱アセチル化酵素としてだけでなく、細胞内で転写調節に関わるタンパク質と複合体を形成することにより、真核生物の遺伝子発現調節に深く関わることで、明らかになってきた。図 1 に PubMed 検索で histone deacetylase というキーワードでヒットする年間の論文数を示した。1995 年以前は毎年 10 報以下であったが、1998 年に 100 報を越えると年々その数は増加し、2008 年には年間 1,000 報を越えた。HDAC がいかに研究者の注目を集めているかが分かる。本総説は HDAC に関する最近の論文から、HDAC の阻害によ

る制がん効果に焦点を当て、その基礎と応用についてまとめた。

### クロマチンリモデリング

HDAC の阻害について述べる前に、関連する基本的な事項について簡単に触れる。真核生物の染色体クロマチンは二本鎖 DNA がヒストンに巻きついたヌクレオソームの繰り返し構造からなる。一つのヌクレオソームはヒストン H2A, H2B, H3, H4 の 8 量体に DNA が巻きついたものである。多数のヌクレオソームがコンパクトに折りたたまれ、30 nm のクロマチン繊維が形成され、それがさらに折りたたまれて染色体が形成される<sup>1)</sup>。ゲノムの遺伝子が転写される時には、遺伝子のプロモーター領域に、基本転写因子と RNA ポリメラーゼなどからなるタンパク質複合体が集合する。そのためにはコンパクトに折りたたまれたクロマチンのヌクレオソーム構造の変化が必須となる。

これまで、メチル化、アセチル化などによるヒストンの修飾がなければヌクレオソーム構造は変化しないと考えられていた。しかしヒストンの修飾とは独立に、

---

Correspondence : Tatsuya Abe  
Akita Prefectural University, Faculty of Bioresource Sciences, Nakano, Shimoshinjo, Akita 010-0195, Japan  
Tel : 81-18-872-1572  
Fax : 81-18-872-1676  
E-mail : abetats@akita-pu.ac.jp

(10)

HDAC 阻害と制がん効果

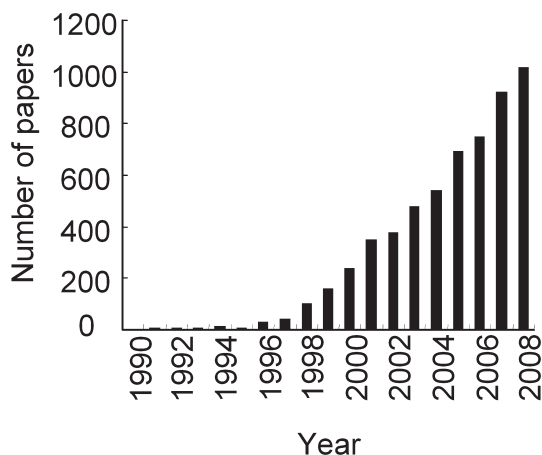


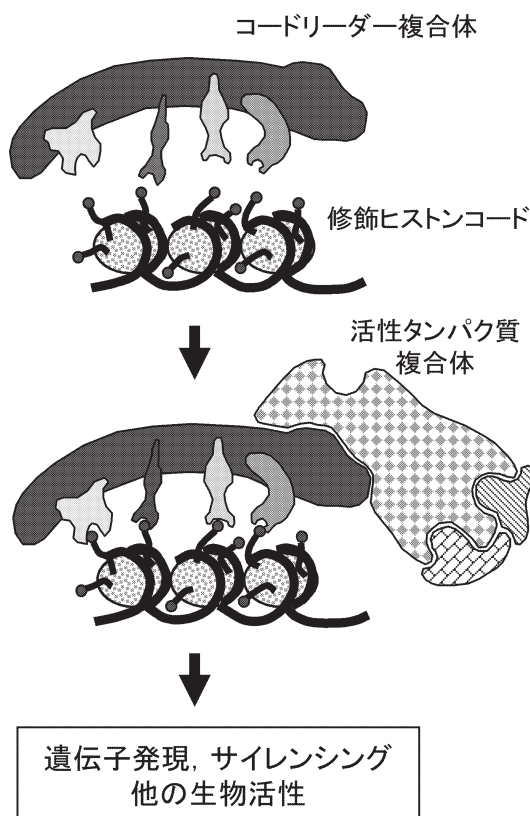
図1. ヒストンデアセチラーゼに関する論文数の推移  
キーワード histone deacetylase により PubMed 検索でヒットする年間論文数を示す。

ATP-依存的クロマチンリモデリング複合体が関与して、クロマチンのヌクレオソーム構造は局所的に、ダイナミックにリモデリングされていることが分かった<sup>2)</sup>。クロマチンのダイナミックな変化により、ゲノムの活性化遺伝子が速やかに転写されると考えられる。

### ヒストンの修飾

8量体ヒストンコアを形成する各ヒストンのN末端領域はアセチル化、メチル化、リン酸化、ユビキチン化を受ける。ヒストンの修飾位置とその組合せにより、遺伝子発現、サイレンシング、細胞分裂などが調節されることが知られている。一般に、ヒストンがアセチル化された領域では遺伝子の活性化があり、ヒストンが脱アセチル化されると遺伝子が不活性される。これは、ヒストンの修飾によりクロマチン構造の変換が起きるためと考えられてきた。しかし、上記のように局所的なクロマチン構造はATP依存的なリモデリング因子が関与し、ダイナミックに変換されていることから、ヒストンの修飾にはクロマチンの構造変化以外の意味があると考えられる。

ヒストン修飾の意味として、現在最も支持されているのはヒストンコード仮説である<sup>3)</sup>。これは、修飾状態の異なるヒストンからなるヌクレオソームをコード情報として認識するタンパク質が存在するというもの



(Ref.: Alberts et al., 2008)

図2. ヒストンコード仮説の模式図  
図の活性タンパク質複合体はHDACを結合している。Albertsら<sup>1)</sup>の図を参考に改変した。

である。つまり、隣接するヌクレオソームを認識する複数のタンパク質が足場タンパク質を介してコードリーダー複合体を形成し、特定のヒストン修飾を受けたクロマチン領域だけに結合する。このコードリーダー複合体に機能をもつタンパク質複合体がさらに結合することにより、遺伝子発現やサイレンシングなどが生じると考えられている<sup>4,5)</sup>(図2)。ヒストンコードが生物活性の調節に関係するとなると、短時間で起きる可逆的なヒストンの修飾が遺伝子発現に影響を与えることは容易に想像できる。その中で、ヒストンの脱アセチル化を触媒するHDACが遺伝子発現変化に深く関わることが知られてきた。

## ヒストンデアセチラーゼ (HDAC)

ヒストンコアを形成するヒストン H2A は N 末端領域の 4 個の Lys 残基がアセチル化される。ヒストン H2B, H3, H4 ではそれぞれ 5 個の Lys 残基がアセチル化される (表 1)。ヒストンのアセチル化はヒストンアセチルトランスフェラーゼ (HAT) により行われ

表 1. ヒストン N 末端のアセチル化される Lys 残基

ヒストン	Lys (K) 残基番号
H2A	K5, -9, -13, -15
H2B	K5, -12, -15, -20, -24
H3	K9, -14, -18, -23, -27
H4	K5, -8, -12, -16, -20

る。HAT には複数のタイプが存在し、その多くは HAT 以外のタンパク質と大きな複合体を形成して機能する<sup>6)</sup>。ここでは HAT の説明は省略する。

1996 年に、ヒトの HDAC がクローニングされ、それが酵母の転写調節因子 RPD3 の類似体であることが分かり、HDAC が転写調節に働くことが示された<sup>7)</sup>。現在、ヒトでは 18 種類の HDAC が知られている。それらは分裂酵母の RPD3, HDA1, SIR2 に対応するものとして、クラス I, クラス II, クラス III の 3 グループに分類される。その後、新しくクラス IV が加わり 4 つのグループがある<sup>8-10)</sup> (図 3)。それぞれの HDAC の特徴は以下のようである。

## 1) クラス I HDAC

ヒトクラス I HDAC には HDAC1, -2, -3, -8 が含まれ

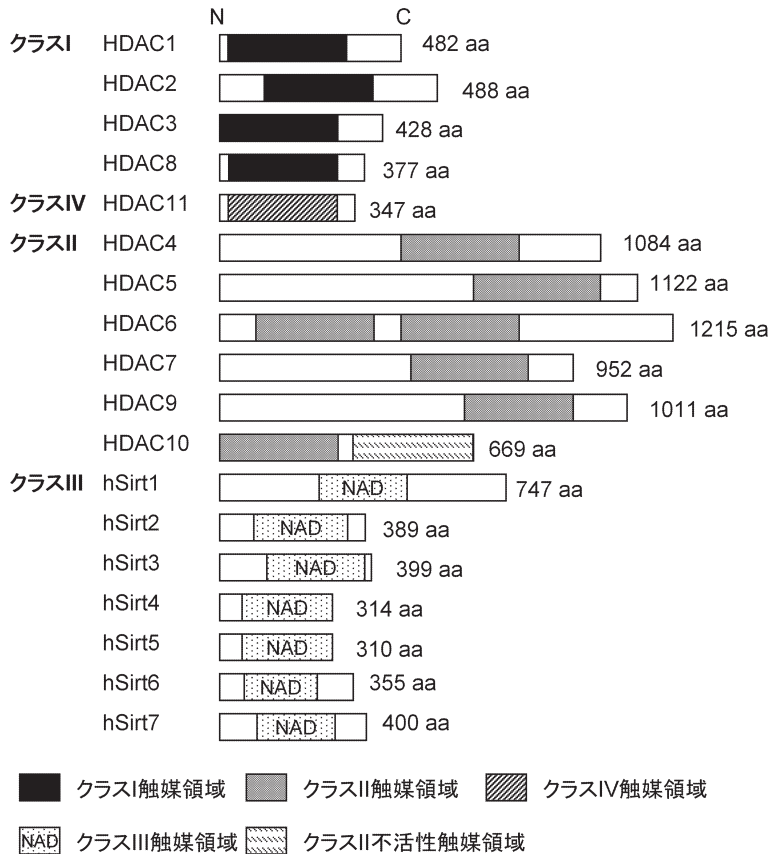


図 3. ヒトヒストンデアセチラーゼの分類

HDAC9 などいくつかの HDAC には異型が存在するが、代表的なものに限定した。de Ruijter ら, Kim ら, Hess-Stumpp らの文献<sup>8-10)</sup> および OBGET Databases, swissprot を参考にした。

る。クラス I HDAC はすべての細胞に存在し、局在はほぼ核内に限定される。その理由は、HDAC3 以外のクラス I HDAC は核内移行シグナルをもつが、核外輸送シグナルを欠くためと思われる。HDAC3 は核内移行シグナルと核外輸送シグナルの両方をもつため、核と細胞質を移動する。クラス I HDAC の活性は  $Zn^{2+}$  依存性であり、酵素活性部位には  $Zn^{2+}$  が存在する。クラス I HDAC は DNA に直接結合せず、他のタンパク質複合体を介して作用するコリプレッサーであると考えられる。HDAC1 と HDAC2 は転写抑制因子 Sin3 複合体の主要な成分である<sup>11)</sup>。HDAC1, -2, -3, -8 は 400 前後のアミノ酸残基からなる (図 3)。HDAC1 と HDAC2 の間には 82% の相同性がある。HDAC3 は HDAC1, -2 と 68% しか相同性がない。HDAC8 はクラス I HDAC の中では最も相同性が低い。

## 2) クラス IIHDAC

ヒトクラス IIHDAC には HDAC4, -5, -6, -7, -9, -10 が含まれる。クラス IIHDAC の活性も  $Zn^{2+}$  依存性である。すべてのクラス IIHDAC は核内移行シグナルと核外輸送シグナルの両方を持つために、核と細胞質を移動できる。

クラス IIHDAC はクラス IHDAC の 2~3 倍の分子量をもつ (図 3)。HDAC4 は HDAC5, -7 とそれぞれ 70%, 58% の相同性がある。HDAC9 も HDAC4, -5, -7 と構造がよく似ている。HDAC9 には全長分子の他に、それより短いスプライシング変異体が存在する。クラス IIHDAC の中で HDAC6 と HDAC10 は酵素触媒部位を二つもつことから、HDAC4, -5, -7, -9 をクラス IIa, HDAC6, -10 をクラス IIb と分類することがある。HDAC6 と HDAC10 の相同性は 37% であるが、HDAC10 の C 末端側の触媒相当部位には機能がなく、HDAC6 は tubulin-deacetylase として発見されたものであり、正確にはノンヒストンデアセチラーゼである。

## 3) クラス IIIHDAC

クラス III の HDAC は酵母 Sir2 のホモログである。Sir2 はバクテリアからヒトまで幅広い種で保存されている。クラス I, II, IVHDAC の活性はすべて  $Zn^{2+}$  依存性であるのに対し、クラス III の HDAC 活性はニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NAD) 依存性である点が異なっている。ヒトクラス IIIHDAC には SIRT1~SIRT7 が知られており、300~400 アミノ酸残基からなるものがほとんどである (図 3)。クラス III-

HDAC は触媒部位が一つであり、細胞質と核に分布する。酵母 Sir2 と哺乳類類似体はエピジェネティックな遺伝子サイレンシング、DNA 修復と組換え、細胞周期、微小管構成、エイジングの調節などに重要な役割を果たすことが知られている<sup>12)</sup>。

## 4) クラス IV HDAC

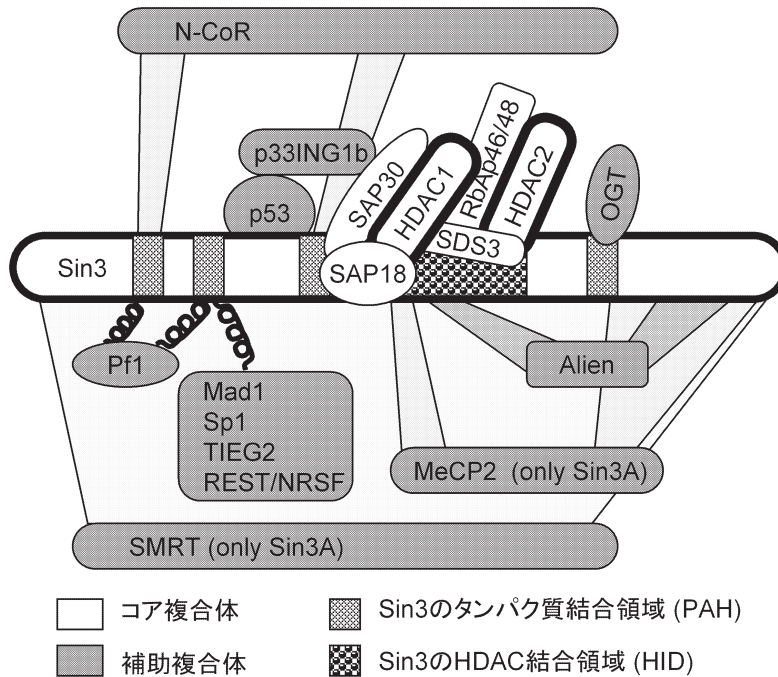
HDAC11 は他の HDAC のどれとも相同性が異なるため、単独でクラス IV に分類される。HDAC11 の活性は  $Zn^{2+}$  依存性であり、主に核に局在する。HDAC11 は腎臓、心臓、脳、骨格筋、精巣など組織特異的に分布している<sup>13)</sup>。

## ヒストンデアセチラーゼの複合体形成

HDAC1 と HDAC2 が Sin3 と複合体を形成することはよく知られている<sup>11)</sup> (図 4)。Sin3 は広範囲の細胞機能調節に関与するタンパク質である。Sin3 と HDAC の複合体形成は酵母からヒトまで真核生物で広く保存されており、哺乳動物の Sin3 には類似した mSin3A と mSin3B が存在する。Sin3/HDAC 複合体は DNA に直接結合しないが、Sin3 が足場となり多数の DNA 結合性の転写因子と会合することにより、コリプレッサーとして多彩な転写調節に関与する<sup>14)</sup>。Sin3 以外にも HDAC の複合体形成が知られている。Mi-2/MuRD 複合体は HDAC-1 と HDAC-2 を含む。コリプレッサー SMRT/N-CoR 複合体は HDAC-3 だけを含み、分子量 1.5-2 MDa と巨大である<sup>15)</sup>。

このような HDAC を含む巨大複合体がヒストンコードの認識に関与し、遺伝子発現の調節に関わることが知られてきた。例えば、Sin3/HDAC 複合体がクロマチン上に集合すると、ヒストン H3 と H4 の両方が脱アセチル化させるが、N-CoR/SMRT 複合体が集合した場合にはヒストン H3 だけが脱アセチル化される<sup>16)</sup>。甲状腺ホルモン受容体に関わる遺伝子サイレンシングでは、SMRT/N-CoR 複合体の HDAC3 によりヒストン H2B, H4 が脱アセチル化され、それにより SMRT/N-CoR 複合体が安定にクロマチン上に集合することができる。それによりヒストンのさらなる脱アセチル化が進み、遺伝子が抑制されるという feed-forward 機構が提唱されている<sup>17)</sup>。

ヒストンコードがどのように認識され、特定遺伝子の発現がどのように調節されるのかに関して、まだ全容は明らかになっていない。図 2 のヒストンコード仮



(Ref.: Siverstein &amp; Ekwall, 2005)

図4. ヒストンデアセチラーゼ複合体モデル

Sin3はHDAC1とHDAC2を含む複合体を形成する。Sin3を足場タンパク質として多くの転写因子などが結合する。Silversteinら<sup>11)</sup>による酵母の研究から分かったモデルを参考に、哺乳類用に改変した。複合体構成タンパク質の名称などは種により異なるものがある。

説モデルに示した活性タンパク質複合体はSin3/HDAC, SMRT/N-CoRなどに相当するものであろう。

### ヒストンデアセチラーゼの阻害

HDACは転写調節をはじめ、多様な細胞機能に関与する。したがって、HDACを阻害することにより、遺伝子発現や細胞機能が変化することが予想できる。実際、真核細胞をHDAC阻害剤で処理すると、多数の遺伝子の発現が変化する。しかし、HDAC阻害の影響を受ける遺伝子はゲノムの中で限られていて、全遺伝子の10%以下であるともいわれている<sup>18)</sup>。HDAC阻害の影響は細胞の種類や阻害剤の種類によって異なるが、一般的に言えることは、Cdk2インヒビターであるp21<sup>Waf1/Cip1</sup>が活性化されることである。そして、細胞周期の停止やアポトーシスが起きることが多い<sup>19,20)</sup>。HDACが複合体を形成して機能することから、HDAC阻害剤には酵素活性を阻害するものと、複合

体形成を阻害するものがある<sup>9)</sup>。酵素活性が阻害されると、ヒストンや非ヒストンタンパク質の脱アセチル化が抑制される。HDACの複合体形成が抑制されると、会合するコリプレッサーや転写因子などが影響を受け、さまざまな核内因子の活性が変化する。

現在、HDACを阻害する多くの化合物が知られており、脂肪酸、ヒドロキサム酸、環状ペプチド、ベンズアミドの4種類に大別される<sup>9,21,22)</sup>。

#### 1) 脂肪酸HDAC阻害剤

短鎖脂肪酸ブチラート ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^-$ ) にはHDAC阻害作用がある<sup>23)</sup>。ブチラートは大腸内で可溶性食物繊維がグラム陰性細菌によって代謝されて生じ、腸管内に50mM近い濃度で存在する。ブチラートは多くのHDACを阻害するが、クラスIIのHDAC6, -10とクラスIIIのHDACは阻害しない。ブチラートはin vitroでmM単位で阻害作用を示す<sup>24)</sup>。他に、脂肪酸HDAC阻害剤にはphenyl butyrate, valproic acid



(VPA) などがある。VPA はクラス IHDAC に特異的な阻害剤である。

## 2) ヒドロキサム酸 HDAC 阻害剤

ヒドロキサム酸 (R-CONHOH) 阻害剤は広く使用されている HDAC 阻害剤である。ヒドロキサム酸は HDAC 触媒部位の  $Zn^{2+}$  とキレートを形成し、基質のアセチル化リジンに拮抗して活性を阻害する。ヒドロキサム酸 HDAC 阻害剤の 50% 阻害濃度は  $nM \sim \mu M$  の範囲で、強い作用を示す。ヒドロキサム酸阻害剤の多くはクラス I, II 全ての HDAC を阻害する。代表的なものは、trichostatin A (TSA, 放線菌由来), suberoyl anilide bishydroxamide (SAHA), scriptaid, pyroxamide, oxamflatin などである。

## 3) 環状ペプチド HDAC 阻害剤

環状ペプチド HDAC 阻害剤は機能部位にエポキシケトンカチオール基を持つ。Trapoxin は菌類由来の環状テトラペプチドである。Trapoxin のエポキシケトン は HDAC 触媒部位のアミノ酸残基に不可逆的に結合する<sup>25)</sup>。他の環状ペプチド HDAC 阻害として apicidine, depsipeptide, depudesin, chlamydoccin などが知られている。Apicidin は HDAC2, -3 を選択的に阻害する。

## 4) ベンズアミド HDAC 阻害剤

ベンズアミド HDAC 阻害剤の多くは化学合成されたものである。MS-275 はクラス IHDAC を選択的に阻害し、脳領域選択的阻害剤として知られている<sup>26)</sup>。他に、MGCD0103, CI-994 などがある。MGCD0103 は HDAC1, -2 を選択的に阻害する。

HDAC 阻害剤の開発は年々進んでおり、新しい薬剤が登場している。最近、10 種類の HDAC 阻害剤について、ヒトリコンビナント HDAC-1, -2, -3, -4, -6, -7, -8, -9 に対する阻害効果が報告された。それによると、ベンズアミド MS-275 はクラス I の中でも HDAC-1 を特異的に阻害し、ヒドロキサム酸系 TSA, NVP-LAQ824 はほとんどの HDAC を阻害する<sup>22)</sup>。

## ヒストンデアセチラーゼ阻害による制がん効果

多くのがんは遺伝子の変異によって生じる。現在では、がんの発症には遺伝子変異と同様にエピジェネティックな変化が関連していると考えられている<sup>27)</sup>。エピジェネティック変化は、DNA 塩基配列の変化を

伴わずにクロマチン構造の変化によって遺伝子発現の状態が変わることである。エピジェネティック変化で最も重要なものは DNA のメチル化である。通常、プロモーターの CpG 領域が DNA メチルトランスフェラーゼによりメチル化を受けると遺伝子発現は抑制される。それ以外にも、エピジェネティックな遺伝子発現変化には、ヒストン N 末端のアセチル化、メチル化、リン酸化、ユビキチン化などが重要な役割を果たす。

最初のエピジェネティック変化と発がんの関係は、正常状態でプロモーターのメチル化により休止しているはずの遺伝子 IGF2 がメチル化されないために、異常に活性化することから示された。その後、ヒストンのアセチル化と脱アセチル化のバランス異常が遺伝子発現を変化させ、がんの発症につながることも知られてきた<sup>28)</sup>。したがって、エピジェネティックに抑制されているがん抑制遺伝子を活性化するか、あるいはエピジェネティックに活性化されている発がん遺伝子を抑制することにより、がんの治療が可能になると思われる<sup>27,28)</sup>。その方法の一つとして、HDAC の阻害が注目されている。

HDAC 阻害剤による制がん効果に関する最近の論文の中から、主に生体内効果に関連する報告をがん種別にまとめてみた (表 2)。白血病に関して HDAC 阻害剤の効果がよく研究されている。成人急性白血病に HDAC 阻害剤 MS-275 が有効であることが示され<sup>29)</sup>、その後 SAHA, depsipeptide などでも phase I 臨床試験が行われている<sup>30-33)</sup>。大腸がんに関しては、ヒトがん細胞株をヌードマウスに移植する実験で HDAC 阻害剤の制がん作用が示された<sup>34,35)</sup>。最近の報告で、多数の大腸がん患者のクラス IHDAC 発現量を調べたところ、未分化の増殖性腫瘍ほど HDAC3, -2, -1 の発現が高く、HDAC 発現の高い患者は生存率が低いことが示された。したがって、HDAC の発現状態によって阻害剤を選択することが治療に有効であると指摘された<sup>36)</sup>。肺がんやメラノーマに関しても、HDAC 阻害剤による phase II 臨床試験が行われている<sup>37,38)</sup>。ヒトの乳がん、前立腺がん細胞を用いた *in vitro* 実験で HDAC 阻害の制がん作用が確認された<sup>39,40)</sup>。特定のがん種に限定しない研究で、ヒト固形腫瘍細胞株を移植したヌードマウスにおいて、KD5170, R306465 などの HDAC 阻害剤に制がん効果があることが示された<sup>41-43)</sup>。

ごく最近の論文からは、白血病、大腸がん、メラノーマなどで HDAC 阻害剤と通常の抗がん剤を併用した

表2. HDAC 阻害剤の制がん効果に関する報告

がん種類	HDAC 阻害剤	概要	文献
白血病	SAHA, 併用	細胞 HL-60, K562	51)
	Depsipeptide	ヒト, phase I	30)
	Belinostat	ヒト, phase I	31)
	SAHA	ヒト, phase I	32)
	MGCD0103	ヒト, phase I	33)
	MS-275	ヒト, phase I	29)
大腸がん	Vorinostat, 併用	細胞	52)
	A-423378.0	細胞 HCT116, マウス	34)
	Belinostat, 併用	細胞 HT-29, HCT116, マウス	35)
肺がん	Depsipeptide	ヒト, phase II	37)
乳がん	VPA	細胞 ZR-75-1, MCF-7	39)
前立腺がん	Belinostat	細胞, マウス	40)
固形腫瘍	VAP, 併用	ヒト, phase I/II	44)
	Vorinostat	ヒト, phase II	45)
	KD5170, 併用	細胞 NCI-60, HCT-116, NCI-H460, PC-3, マウス	41)
	MGCD0103	細胞, マウス	42)
	R306465	細胞 A2780, H460, HCT116, マウス	43)
メラノーマ	VAP, 併用	ヒト, phase I/II	53)
	MS-275	ヒト, phase II	38)

固形腫瘍は複数のがん種を対象にしたもの、併用は HDAC 阻害剤と他の抗がん剤を併用したもの、細胞 (株名) は *in vitro* の実験、マウスはヒトがん細胞をヌードマウスに移植した実験を示す。がん種ごとに発表年代の新しい順に記載した。

研究の増加傾向が見られる。HDAC 阻害剤 VAP と抗がん剤 5-fluorouracil などの併用による臨床試験では、種々の固形腫瘍患者に有効性が認められた<sup>44)</sup>。しかし、臨床的には HDAC 阻害剤の副作用も見過ぎにできない。HDAC 阻害剤と抗がん剤の併用研究が増加傾向にある理由の一つには、HDAC 阻害剤単独でがんを治療することの難しさがあるのかもしれない。

HDAC 阻害剤がヒトがん細胞の増殖を *in vitro* および *in vivo* で抑制することは間違いのない事実である。しかし、HDAC 阻害剤 vorinostat 単独での phase II 臨床試験のように、明確な臨床効果が見られなかったとする報告もある<sup>45)</sup>。HDAC 阻害剤により臨床的に十分な制がん効果を得るためには、標的がん細胞の種類による阻害剤の選択、副作用を軽減するための一般抗がん剤との併用など、さらなる臨床試験が必要と思われる。また、HDAC 阻害によるがん細胞抑制に関して、標的遺伝子を決め、関与する HDAC 分子を確認し、

特異的作用を誘導するメカニズムを解明する基礎研究が重要になるであろう。

## おわりに

本総説を書くに至るきっかけは、われわれが数年前に HDAC 阻害分子を用いたことである。われわれはブチラートでヒト大腸がん細胞株 LS174T を処理すると、MUC2 ムチン産生が増加することを見出した<sup>46)</sup>。また、ブチラートと TSA による HDAC 阻害によって、マウスメラノーマ細胞株 B16BL6 の細胞接着分子の発現が変化し、細胞浸潤能が減少すること<sup>47)</sup>、メラノーマ細胞が神経細胞様に形態変化し、成熟神経細胞マーカー MAP2 を強く発現することを示した<sup>48)</sup>。

HDAC は Sin3/HDAC 複合体などの構成分子として、遺伝子の発現調節とエピジェネティック変化に深く関わっている。最近、HDAC 阻害剤 desipeptide が DNA

の脱メチル化を起こすことが分かったことから、エピジェネティック変化に重要な DNA メチル化と、ヒストンの修飾が機構的にリンクしている可能性が指摘されている<sup>49)</sup>。遺伝子の発現調節における HDAC の役割はこれからも興味深い展開を見せるに違いない。

がん遺伝子 *ras* が発見された当時<sup>50)</sup>、人類はがんを征圧できるだろうという考えが生まれた。しかし、その夢は現在も達成されていない。むしろ、遺伝子変異によって生じるがんの制圧に「魔法の杖」は存在しないことが分かってきた。その点では、HDAC 阻害も魔法の杖とはなり得ないであろう。しかし、がんを生じる遺伝子変異を塩基配列として正常に戻すことは難しいとしても、エピジェネティック変化によりその発現を調節することは可能かもしれない。HDAC に関連した遺伝子発現調節のメカニズムがさらに解明されることにより、がん克服への道が進展することが望まれる。

### 引用文献

- 1) Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. and Walter, P. (2008) *Molecular Biology of the Cell, 5th Ed.* Garland Science, New York, NY.
- 2) Mellor, J. (2006) Dynamic nucleosomes and gene transcription. *Trends Genet.*, **22**, 320-329.
- 3) Fischle, W., Wang, Y. and Allis, C.D. (2003) Binary switches and modification cassettes in histone biology and beyond. *Nature*, **425**, 475-479.
- 4) Cosgrove, M.S. and Wolberger, C. (2005) How does the histone code work? *Biochem. Cell Biol.*, **83**, 468-476.
- 5) Berger, S.L. (2007) The complex language of chromatin regulation during transcription. *Nature*, **447**, 407-412.
- 6) Barnes, P.J., Adcock, I.M. and Ito, K. (2005) Histone acetylation and deacetylation, importance in inflammatory lung diseases. *Eur. Respir. J.*, **25**, 552-563.
- 7) Taunton, J., Hassig, C.A. and Schreiber, S.L. (1996) A mammalian histone deacetylase related to the yeast transcriptional regulator Rpd3p. *Science*, **272**, 408-411.
- 8) de Ruijter, A.J., van Gennip, A.H., Caron, H.N., Kemp, S. and van Kuilenburg, A.B. (2003) Histone deacetylases (HDACs), characterization of the classical HDAC family. *Biochem. J.*, **370**, 737-749.
- 9) Kim, D.H., Kim, M. and Kwon, H.J. (2003) Histone deacetylase in carcinogenesis and its inhibitors as anti-cancer agents. *J. Biochem. Mol. Biol.*, **36**, 110-119.
- 10) Hess-Stumpp, H., Bracker, T.U., Henderson, D. and Politz, O. (2007) MS-275, a potent orally available inhibitor of histone deacetylases — the development of an anticancer agent. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **39**, 1388-1405.
- 11) Silverstein, R.A. and Ekwall, K. (2005) Sin3, a flexible regulator of global gene expression and genome stability. *Curr. Genet.*, **47**, 1-17.
- 12) Voelter-Mahlknecht, S. and Mahlkecht, U. (2006) Cloning, chromosomal characterization and mapping of the NAD-dependent histone deacetylases gene *sirtuin 1*. *Int. J. Mol. Med.*, **17**, 59-67.
- 13) Gao, L., Cueto, M.A., Asselbergs, F. and Atadja, P. (2002) Cloning and functional characterization of HDAC11, a novel member of the human histone deacetylase family. *J. Biol. Chem.*, **277**, 25748-25755.
- 14) Peinado, H., Ballestar, E., Esteller, M. and Cano, A. (2004) Snail mediates E-cadherin repression by the recruitment of the Sin3A/histone deacetylase 1 (HDAC1)/HDAC2 complex. *Mol. Cell Biol.*, **24**, 306-319.
- 15) Li, J., Wang, J., Nawaz, Z., Liu, J.M., Qin, J. and Wong, J. (2000) Both corepressor proteins SMRT and N-CoR exist in large protein complexes containing HDAC3. *Embo. J.*, **19**, 4342-4350.
- 16) Vermeulen, M., Carrozza, M.J., Lasonder, E., Workman, J.L., Logie, C. and Stunnenberg, H.G. (2004) In vitro targeting reveals intrinsic histone tail specificity of the Sin3/histone deacetylase and N-CoR/SMRT corepressor complexes. *Mol. Cell Biol.*, **24**, 2364-2372.
- 17) Yoon, H.G., Choi, Y., Cole, P.A. and Wong, J. (2005) Reading and function of a histone code involved in targeting corepressor complexes for repression. *Mol. Cell Biol.*, **25**, 324-335.
- 18) Hildmann, C., Riester, D. and Schwienhorst, A. (2007) Histone deacetylases — an important class of cellular regulators with a variety of functions. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **75**, 487-497.
- 19) Archer, S.Y., Meng, S., Shei, A. and Hodin, R.A. (1998) p21 (WAF1) is required for butyrate-mediated



- ated growth inhibition of human colon cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 6791-6796.
- 20) Wilson, A.J., Byun, D.S., Popova, N. *et al.* (2006) Histone deacetylase 3 (HDAC3) and other class I HDACs regulate colon cell maturation and p21 expression and are deregulated in human colon cancer. *J. Biol. Chem.*, **281**, 13548-13558.
  - 21) Riestler, D., Hildmann, C. and Schwienhorst, A. (2007) Histone deacetylase inhibitors—turning epigenetic mechanisms of gene regulation into tools of therapeutic intervention in malignant and other diseases. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **75**, 499-514.
  - 22) Khan, N., Jeffers, M., Kumar, S. *et al.* (2008) Determination of the class and isoform selectivity of small-molecule histone deacetylase inhibitors. *Biochem. J.*, **409**, 581-589.
  - 23) Candido, E.P., Reeves, R. and Davie, J.R. (1978) Sodium butyrate inhibits histone deacetylation in cultured cells. *Cell*, **14**, 105-113.
  - 24) Davie, J.R. (2003) Inhibition of histone deacetylase activity by butyrate. *J. Nutr.*, **133**, 2485S-2493S.
  - 25) Yoshida, M., Furumai, R., Nishiyama, M., Komatsu, Y., Nishino, N. and Horinouchi, S. (2001) Histone deacetylase as a new target for cancer chemotherapy. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **48**, Suppl 1, S20-S26.
  - 26) Simonini, M.V., Camargo, L.M., Dong, E., Maloku, E., Veldic, M., Costa, E. and Guidotti, A. (2006) The benzamide MS-275 is a potent, long-lasting brain region-selective inhibitor of histone deacetylases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 1587-1592.
  - 27) Feinberg, A.P. (2007) Phenotypic plasticity and the epigenetics of human disease. *Nature*, **447**, 433-440.
  - 28) Lohrum, M., Stunnenberg, H.G. and Logie, C. (2007) The new frontier in cancer research, deciphering cancer epigenetics. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **39**, 1450-1461.
  - 29) Gojo, I., Jienjit, A., Trepel, J.B. *et al.* (2007) Phase I and pharmacologic study of MS-275, a histone deacetylase inhibitor, in adults with refractory and relapsed acute leukemias. *Blood*, **109**, 2781-2790.
  - 30) Klimek, V.M., Fircanis, S., Maslak, P. *et al.* (2008) Tolerability, pharmacodynamics, and pharmacokinetics studies of depsipeptide (romidepsin) in patients with acute myelogenous leukemia or advanced myelodysplastic syndromes. *Clin. Cancer Res.*, **14**, 826-832.
  - 31) Gimsing, P., Hansen, M., Knudsen, L.M., Knoblauch, P., Christensen, I.J., Ooi, C.E. and Buhl-Jensen, P. (2008) A phase I clinical trial of the histone deacetylase inhibitor belinostat in patients with advanced hematological neoplasia. *Eur. J. Haematol.*, **81**, 170-176.
  - 32) Garcia-Manero, G., Yang, H., Bueso-Ramos, C. *et al.* (2008) Phase I study of the histone deacetylase inhibitor vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid [SAHA]) in patients with advanced leukemias and myelodysplastic syndromes. *Blood*, **111**, 1060-1066.
  - 33) Garcia-Manero, G., Assouline, S., Cortes, J. *et al.* (2008) Phase I study of the oral isotype specific histone deacetylase inhibitor MGCD0103 in leukemia. *Blood*, **112**, 981-989.
  - 34) Zopf, S., Neureiter, D., Bouralexis, S. *et al.* (2007) Differential response of p53 and p21 on HDAC inhibitor-mediated apoptosis in HCT116 colon cancer cells in vitro and in vivo. *Int. J. Oncol.*, **31**, 1391-1402.
  - 35) Tumber, A., Collins, L.S., Petersen, K.D., Thougard, A., Christiansen, S.J., Dejligbjerg, M., Jensen, P.B., Sehested, M. and Ritchie, J.W. (2007) The histone deacetylase inhibitor PXD101 synergises with 5-fluorouracil to inhibit colon cancer cell growth in vitro and in vivo. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **60**, 275-283.
  - 36) Weichert, W., Roske, A., Niesporek, S. *et al.* (2008) Class I histone deacetylase expression has independent prognostic impact in human colorectal cancer: specific role of class I histone deacetylases in vitro and in vivo. *Clin. Cancer Res.*, **14**, 1669-1677.
  - 37) Schrump, D.S., Fischette, M.R., Nguyen, D.M. *et al.* (2008) Clinical and molecular responses in lung cancer patients receiving Romidepsin. *Clin. Cancer Res.*, **14**, 188-198.
  - 38) Hauschild, A., Trefzer, U., Garbe, C. *et al.* (2008) Multicenter phase II trial of the histone deacetylase inhibitor pyridylmethyl-N-[4-[(2-aminophenyl)-carbamoyl]-benzyl]-carbamate in pretreated metastatic melanoma. *Melanoma Res.*, **18**, 274-278.
  - 39) Fortunati, N., Bertino, S., Costantino, L., Bosco, O., Vercellinato, I., Catalano, M.G. and Boccuzzi, G. (2008) Valproic acid is a selective antiproliferative agent in estrogen-sensitive breast cancer cells.

- Cancer Lett.*, **259**, 156-164.
- 40) Qian, X., Ara, G., Mills, E., LaRochelle, W.J., Lichtenstein, H.S. and Jeffers, M. (2008) Activity of the histone deacetylase inhibitor belinostat (PXD101) in preclinical models of prostate cancer. *Int. J. Cancer*, **122**, 1400-1410.
- 41) Hassig, C.A., Symons, K.T., Guo, X. *et al.* (2008) KD5170, a novel mercaptoketone-based histone deacetylase inhibitor that exhibits broad spectrum antitumor activity in vitro and in vivo. *Mol. Cancer Ther.*, **7**, 1054-1065.
- 42) Fournel, M., Bonfils, C., Hou, Y. *et al.* (2008) MGCD0103, a novel isotype-selective histone deacetylase inhibitor, has broad spectrum antitumor activity in vitro and in vivo. *Mol. Cancer Ther.*, **7**, 759-768.
- 43) Arts, J., Angibaud, P., Marien, A. *et al.* (2007) R306465 is a novel potent inhibitor of class I histone deacetylases with broad-spectrum antitumoral activity against solid and haematological malignancies. *Br. J. Cancer*, **97**, 1344-1353.
- 44) Munster, P., Marchion, D., Bicaku, E. *et al.* (2009) Clinical and Biological Effects of Valproic Acid as a Histone Deacetylase Inhibitor on Tumor and Surrogate Tissues : Phase I/II Trial of Valproic acid and Epirubicin/FEC. *Clin. Cancer Res.*, Epub ahead of print.
- 45) Vansteenkiste, J., Van Cutsem, E., Dumez, H., Chen, C., Ricker, J.L., Randolph, S.S. and Schoffski, P. (2008) Early phase II trial of oral vorinostat in relapsed or refractory breast, colorectal, or non-small cell lung cancer. *Invest. New Drugs*, **26**, 483-488.
- 46) Hatayama, H., Iwashita, J., Kuwajima, A. and Abe, T. (2007) The short chain fatty acid, butyrate, stimulates MUC2 mucin production in the human colon cancer cell line, LS174T. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **356**, 599-603.
- 47) Kuwajima, A., Iwashita, J., Murata, J. and Abe, T. (2007) The histone deacetylase inhibitor butyrate inhibits melanoma cell invasion of Matrigel. *Anti-cancer Res.*, **27**, 4163-4169.
- 48) Kuwajima, A., Sakai, M., Iwashita, J. and Abe, T. (2009) Differentiation of B16-BL6 melanoma cells into microtubule-associated protein 2-positive cells on treatment with the histone deacetylase inhibitors butyrate and trichostatin A. *J. Health Science*, **55**, 138-142.
- 49) Wu, L.P., Wang, X., Li, L. *et al.* (2008) Histone deacetylase inhibitor depsipeptide activates silenced genes through decreasing both CpG and H3K9 methylation on the promoter. *Mol. Cell Biol.*, **28**, 3219-3235.
- 50) Parada, L.F., Tabin, C.J., Shih, C. and Weinberg, R.A. (1982) Human EJ bladder carcinoma oncogene is homologue of Harvey sarcoma virus ras gene. *Nature*, **297**, 474-478.
- 51) Shiozawa, K., Nakanishi, T., Tan, M. *et al.* (2009) Preclinical studies of vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid) combined with cytosine arabinoside and etoposide for treatment of acute leukemias. *Clin. Cancer Res.*, **15**, 1698-1707.
- 52) Pitts, T.M., Morrow, M., Kaufman, S.A., Tentler, J.J. and Eckhardt, S.G. (2009) Vorinostat and bortezomib exert synergistic antiproliferative and proapoptotic effects in colon cancer cell models. *Mol. Cancer Ther.*, **8**, 342-349.
- 53) Rocca, A., Minucci, S., Tosti, G. *et al.* (2009) A phase I-II study of the histone deacetylase inhibitor valproic acid plus chemoimmunotherapy in patients with advanced melanoma. *Br. J. Cancer*, **100**, 28-36.