

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	総合医療・健康科学領域放射線診断学教育研究分野 清野 浩子
<p>(論文題目)</p> <p>Basic helix-loop-helix transcription factor DEC1 regulates the cisplatin-induced apoptotic pathway of human esophageal cancer cells (DEC1 は食道癌細胞においてシスプラチン誘導アポトーシスを制御する)</p>	
<p>[背景]</p> <p>Differentiated embryonic chondrocyte gene (DEC) 1 (BHLHE40/Stra13/Sharp2) および DEC2 (BHLHE41/Sharp1) はいずれも basic helix-loop-helix (bHLH) 型転写因子であり、当初は軟骨分化促進因子として同定された。DEC1 および DEC2 は、概日リズムを形成する時計遺伝子として機能する一方で、免疫応答系や種々の組織分化の制御、アポトーシス制御など、生体における様々な生理現象に関与することが報告されている。しかし、食道癌における DEC1 および DEC2 発現の意義は未だ明らかにされていない。Cisplatin は、食道癌細胞の増殖抑制、アポトーシスを誘導する代表的な抗癌剤の一種である。</p> <p>本研究では、ヒト食道癌細胞株 TE-10 (高分化癌)、TE-5 (低分化癌) における DEC1 および DEC2 の cisplatin を介したアポトーシスに関連した機能解析を目的とする。</p> <p>[方法]</p> <p>2 種類のヒト食道癌細胞株 (TE-10、TE-5) を別々に RPMI で培養したのち、抗癌剤 cisplatin を 50 μM あるいは 100 μM 添加し 24・48・72 時間の処理を行い、細胞増殖 (MTS-Assay) を観察した。また、細胞の形態学的変化を観察する為に、Mayer's hematoxylin 染色を行った。その後、2 種の食道癌細胞を cisplatin で濃度依存的に 24 時間処理し、アポトーシスを誘導した後に Western blot によって、DEC1 と DEC2 の発現変化を検討した。また DEC1 または DEC2 の過剰発現や RNA 干渉法 (siRNA) による発現抑制を行い、2 種類の食道癌細胞株におけるアポトーシスに対する影響について検討を行った。</p> <p>[結果]</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. cisplatin 処理により、TE-10・TE-5 細胞ともに MTS-Assay で時間依存性・濃度依存性に細胞数の低下が認められた。Mayer's hematoxylin 染色では、TE-10・TE-5 細胞ともに cisplatin 処理による細胞数の低下と細胞径の縮小が認められた。cisplatin 処理によるこれらの変化は、TE-5 よりも TE-10 でより強く認められた。 2. TE-10 で cisplatin を 24 時間処理することにより、アポトーシス関連因子 (cleaved PARP・cleaved caspase-3・cleaved caspase-8・Bax・Bad・Bcl-2・Bcl-xL) が誘導され、また DEC1 の発現は上昇し、DEC2 の発現は変化が認められなかった。一方、TE-5 では cisplatin を 24 時間処理することにより、アポトーシス関連因子 (cleaved PARP・cleaved caspase-3・cleaved caspase-8・Bad・Bcl-xL) が誘導され、また DEC1 と DEC2 の発現は減少した。 3. TE-10 において DEC siRNA と cisplatin の combination 処理により、アポトーシスが抑制された (cleaved PARP・cleaved caspase-3・cleaved caspase-8・Bax・ 	

Bad の発現が低下し、Bcl-2 と Bcl-xL の発現が増加した)。また、TE-10 において DEC1 を過剰発現し cisplatin 処理を行ったところ、アポトーシスが促進された (cleaved PARP・cleaved caspase-3・cleaved caspase-8・Bax・Bad の発現が増加し、Bcl-2 と Bcl-xL の発現が低下した)。

4. TE-5 でも、DEC1 と DEC2 それぞれの抑制および過剰発現下で cisplatin 処理を行ったが、アポトーシス関連因子への明らかな影響は認められなかった。

[考察]

今回我々は、2 種類のヒト食道癌細胞株 TE-10 (高分化癌) と TE-5 細胞 (低分化癌) に、抗癌剤 cisplatin を処理してアポトーシスを誘導した時の DEC1 や DEC2 の発現および機能を比較検討した。TE-10 において、DEC1 は Cisplatin 処理で発現が上昇し pro-apoptotic 機能を示したが、DEC2 は cisplatin 処理で発現に変化が認められず明らかなアポトーシス作用も認められなかった。一方 TE-5 では、Cisplatin 処理で DEC1 と DEC2 の発現量に変化が認められたが、DEC1・DEC2 ともに明らかなアポトーシス作用は認められなかった。これらの機能の違いは、食道癌細胞における分化度の違い、DEC1 と DEC2 の構造の違いに起因するものと考えられる。

[結論]

ヒト食道癌細胞 TE-10 (高分化癌) において DEC1 遺伝子は cisplatin によるアポトーシスに対して、pro-apoptotic effect として重要な機能を担っていることが示された、一方で、DEC2 には明らかなアポトーシス作用は認められなかった。また、TE-5 (低分化癌) では DEC1、DEC2 両者ともに明らかな cisplatin によるアポトーシス作用は認められなかった。