

論文提出者氏名	分子遺伝情報科学領域生体情報病態学教育研究分野 3 年 劉 強
(論文題目)	
<p>Basic helix-loop-helix transcription factors DEC2 functions as an anti-apoptotic factor during paclitaxel-induced apoptosis in human prostate cancer cells (BHLH 型転写因子 DEC2 はヒト前立腺癌細胞においてパクリタキセルを介したアポトーシスに抑制する)</p>	
(内容の要旨)	
<p>【背景目的】</p> <p>Differentiated embryonic chondrocyte gene 1 (DEC1, BHLHE40/Stra13/Sharp2) および DEC2 (BHLHE41/Sharp1) は、いずれも bHLH (basic helix-loop-helix) 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、時計中枢である視交叉上核から末梢至る全身の組織および細胞で、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、低酸素応答、アポトーシスの制御など、生体内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。</p> <p>前立腺癌は、米国で多く認められる悪性腫瘍であるが、近年、日本でも増加傾向にある。これは、日本においても高齢化社会をむかえ、食生活も欧米化したことなどが原因として考えられる。前立腺癌患者では初診後 3 年以内に骨転移が認められ、遠隔転移を伴う患者の生存期間は約 1-2 年との報告がある。このため、前立腺癌細胞の増殖進展・抗アポトーシスの機序解明は、医学・医療における大きな課題である。パクリタキセル (paclitaxel) は、前立腺癌治療における代表的抗癌剤の 1 つであるが、癌細胞のアポトーシスとの関連性は十分に解明されていない。また、前立腺癌細胞における DEC1 および DEC2 の発現の意義も、未だ明らかにされていない。</p> <p>本研究では、paclitaxel を投与してヒト前立腺癌細胞株 PC-3 と DU145 細胞における、DEC1 および DEC2 の細胞増殖や抗アポトーシスに関連した機能解析を目的とする。</p> <p>【対象と方法】</p> <p>ヒト前立腺癌細胞株 PC-3 と DU145 細胞を RPMI 1640 で培養して、抗癌剤 paclitaxel を濃度依存的 (10, 20, 50 and 100 μ M) に 24h 処理し、アポトーシスを誘導した後、RT-PCR 及び Western blot によって、DEC1 と DEC2 の発現変化を検討した。また RNA 干渉法 (siRNA) により DEC1 または DEC2 の発現制御 (knockdown) と DEC1 または DEC2 の過剰発現 (overexpression) を行い、アポトーシスに対する影響や、Bcl-2 の発現変化について検討を行った。さらに、DEC2 を過剰発現した状態で PTX 処理により、細胞増殖を MTS assay 法により検討した。</p> <p>【結 果】</p> <p>1. ヒト前立腺癌細胞で、paclitaxel を 24h 処理することによりアポトーシス関連因</p>	

子 (cleaved PARP, cleaved caspase-8, Bcl-2, Bcl-xL) が誘導された。PC-3 細胞における DEC1 と DEC2 は paclitaxel 濃度依存的に発現が亢進し、DU145 細胞は発現が低下した。

2. 両細胞において DEC1 siRNA と paclitaxel の combination 処理により、アポトーシスが抑制し、Bcl-2 の発現が上昇した。一方、DEC2 siRNA と paclitaxel の combination 処理によって、アポトーシスが誘導され、Bcl-2 の発現が低下した。DEC1/DEC2 siRNA の結果と違い、DEC の過剰発現による影響は明らかでなかった。
3. MTS assay では、DEC2 の過剰発現により PTX 処理によって減弱していた細胞活性が増強した。

【考 察】

これまで DEC 遺伝子については、癌との関係の報告が散見されており、大腸癌や肺癌では、正常よりも癌組織で DEC1 発現が高いことが示されている。一方、癌の発育・進展における DEC2 遺伝子の機能は未だに明らかにされていない。また、癌組織において DEC1 と DEC2 とを比較して機能解析を行った論文も極めて限られている。

今回、我々はヒト前立腺癌細胞株 PC-3 と DU145 細胞に、抗癌剤 paclitaxel 処理してアポトーシスを誘導した場合の DEC1/DEC2 の発現および機能を比較検討した。Paclitaxel 処理により cleaved PARP, caspase-8 発現が上昇し、両細胞のアポトーシスが誘導され、増殖が抑制された。また、paclitaxel 処理で PC-3 細胞における DEC1 と DEC2 の発現が亢進したが、DU145 細胞では DEC1/DEC2 いずれも発現が低下した。これらの結果をまとめると、前立腺癌において、DEC1 は pro-apoptotic, DEC2 は anti-apoptotic の機能を有しており、両者の発現バランスがアポトーシスに影響すると考察された。

【結 論】

ヒト前立腺癌細胞株において、抗癌剤 paclitaxel 処理によるアポトーシス誘導に対して DEC1 遺伝子は pro-apoptotic effect として重要な機能を担っている、一方で、DEC2 は anti-apoptotic effect として機能を有している。