

## 機関リポジトリ登録用論文の要約

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 氏名 劉 強 (りゅう きょう)
<p>(論文題目) Basic helix-loop-helix transcription factor DEC2 functions as an anti-apoptotic factor during paclitaxel-induced apoptosis in human prostate cancer cells</p> <p>(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>	
<p>(内容の要約)</p> <p><b>【背景目的】</b></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差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>前立腺癌は米国人に多くみられる癌ですが、最近、日本でも増えてきています。これは、高齢化社会になり、食事が欧米化したことなどが原因の一つとも考えられる。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><b>【対象と方法】</b></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 <math>\mu</math> 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>	

### 【結 果】

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子 (cleaved PARP, cleaved caspase-8, Bcl-2, Bcl-xL) が誘導された。PC-3 細胞における DEC 1 と DEC 2 はパクリタキセル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。ノックダウンでの結果と違い、DEC の過剰発現による影響なし。
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する。

### 【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。さらに、paclitaxel 処理で PC-3 細胞における DEC 1 と DEC 2 の発現が亢進し、DU145 細胞は発現が低下した。これは DEC1 および DEC2 の promoter 上に存在する特異的配列に結合することでこれら遺伝子の転写が影響されていることが示唆された。DEC1 は、pro-apoptotic、一方、DEC2 は anti-apoptotic の機能を示した。これらの機能の違いは前立腺癌における、DEC1 と DEC2 との発現の差、および DEC1 と DEC2 との構造の違いなどが考えられる。

### 【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。

※ 論文題目が英文の場合は、()内に和訳を付記

※ 医共様式1「学位請求論文の内容の要旨」を引用でも可