



TITLE:

# Bmal1 Regulates Prostate Growth via Cell-Cycle Modulation( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Ueda, Masakatsu

---

CITATION:

Ueda, Masakatsu. Bmal1 Regulates Prostate Growth via Cell-Cycle Modulation. 京都大学, 2023, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2023-09-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.r13572>

RIGHT:

Published 24 September 2022 International Journal of Molecular Sciences, Volume 23, Issue 19 (October-1 2022), 11272;  
<https://doi.org/10.3390/ijms231911272>

京都大学	博士（医学）	氏名	上田政克
論文題目	Bmal1 Regulates Prostate Growth via Cell-Cycle Modulation (Bmal1 は細胞周期の調節を介して前立腺の増殖を制御する)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>概日時計は中枢時計のみならず、末梢の個々の細胞にも存在する。時計遺伝子群の転写翻訳フィードバック機構により、概日リズムが産み出され、末梢臓器・器官の機能に重要な役割を果たすことが明らかになってきている。その中で、時計遺伝子は細胞周期と関連し細胞増殖に影響を与えることが報告されている。一方前立腺においては、テストステロン・エストロゲンといったホルモンや炎症、酸化ストレス、インスリン抵抗性が前立腺の増殖のメカニズムに関与することが知られているが、時計遺伝子の影響については依然不明である。マウスの前立腺において時計遺伝子が日内変動することが報告されていることから、本研究では、前立腺特異的 <i>Bmal1</i> ノックアウトマウス(p<i>Bmal1</i> KO マウス) を解析することにより前立腺における時計遺伝子の役割を解明することを目的とした。</p> <p>前立腺特異的に発現する <i>Pbsn</i> をプロモーターとする Cre ドライバーマウスと <i>Bmal1</i>(flox/flox)マウスを交配することで p<i>Bmal1</i>KO マウスを作成した。p<i>Bmal1</i>KO マウスの前立腺重量を測定したところ、ventral prostate および dorsolateral prostate においてコントロールと比べて前立腺が縮小していた。一方、細胞死や萎縮などの組織学的な変化はみられず、また血清テストステロン値の差も見られなかった。マウス前立腺の Ki-67 染色では、p<i>Bmal1</i>KO マウスの前立腺上皮では Ki-67 陽性細胞数が有意に少なく、増殖が低下していることが示唆された。</p> <p>次に <i>Bmal1</i> が前立腺増殖に関連するメカニズムを探索するため、CAGE(Cap Analysis of Gene Expression) 解析を行った。DEG (differentially expressed genes)解析により 42 の上方制御される遺伝子および 24 の下方制御される遺伝子が同定された。また、メタスケープを用いたエンリッチメント解析により細胞周期関連遺伝子が有意に発現変動していることが明らかとなった。p21 をコードする <i>Cdkn1a</i> が p<i>Bmal1</i>KO マウスでは発現亢進していることが確認された。</p> <p>続いてマウス前立腺における遺伝子発現の日内変動を調べた。コントロールでは <i>Bmal1</i> の日内変動を認め、p<i>Bmal1</i>KO マウスでは定常的に発現が低下し、日内変動が消失していた。また、コントロールにおいて <i>Cdkn1a</i> の発現は日内変動しており、p<i>Bmal1</i>KO マウスでは <i>Cdkn1a</i> の発現はどの時間帯でも亢進し、日内変動は消失していた。これにより <i>Cdkn1a</i> は前立腺において時計遺伝子の制御下にあることが示唆された。次に p<i>Bmal1</i>KO マウスにおいて p21 のタンパク発現が実際に亢進しているか、ウェスタンブロットおよび免疫染色により確認した。間質における p21 陽性細胞は p<i>Bmal1</i>KO マウスにおいてのみ認め、<i>Bmal1</i> のノックアウトが細胞周期に影響を及ぼし、ひいては前立腺体積の縮小につながることを示唆された。</p> <p>さらに、<i>Bmal1</i> をノックダウンしたヒト前立腺不死化細胞株において増殖アッセイを行った。上皮細胞・間質細胞両方において <i>Bmal1</i> ノックダウンにより細胞増殖速度は低下した。また、この <i>Bmal1</i> ノックダウン細胞株でフローサイ</p>			

トメトリ解析を行ったところ、G0/G1 期にある細胞の割合が増え、S 期の細胞の割合が減少した。これらの所見は *Bmal1* が細胞周期を調節することにより前立腺の増殖を制御していることを支持する結果である。

(論文審査の結果の要旨)

概日時計は中枢時計のみならず、末梢の個々の細胞にも存在する。時計遺伝子群の転写翻訳フィードバック機構により概日リズムが産み出される中で、時計遺伝子は細胞周期と関連し細胞増殖に影響を与えることが報告されている。一方、前立腺増殖における時計遺伝子の影響については依然不明である。本研究では、主要時計遺伝子 *Bmal1* の前立腺における役割を解明することを目的とした。

最初に前立腺特異的 *Bmal1* ノックアウトマウス(p*Bmal1*KO)を作製し、前立腺重量を評価したところ、コントロールに比べて重量が低下しており、前立腺上皮の Ki-67 染色では増殖低下が示唆された。Cap Analysis of Gene Expression 解析により p*Bmal1*KO の前立腺では細胞周期関連遺伝子が有意に発現変動しており、p21 をコードする *Cdkn1a* の発現が亢進していた。Wild-type マウスの前立腺を経時的に採取した結果、*Cdkn1a* の発現は日内変動していることが示された。一方、p*Bmal1*KO では昼夜を通して発現が亢進していた。さらに、p*Bmal1*KO においては p21 タンパクの発現も亢進していた。ヒト前立腺細胞株を用いた培養実験では、*BMAL1* ノックダウンにより細胞増殖速度が低下し、細胞周期解析で G0/G1 期細胞の増加と S 期細胞の低下がみられた。これらの結果から *Bmal1* は細胞周期を調節することにより前立腺の増殖を制御している可能性が示唆された。

以上の研究は前立腺の増殖に関わる疾患のメカニズムの解明に貢献すると思われる。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 5 年 8 月 30 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公表可能日 年 月 日