

学位論文内容要旨

論文題目

Molecular targeting of Bcl-2 overcomes prostate cancer cell adaptation to XIAP gene downregulation

(Bcl-2 発現の抑制は、XIAP 遺伝子のダウンレギュレーションに順応した前立腺癌細胞の抗癌剤感受性を回復させる)

指導 (紹介) 教授： 富田 善彦

氏 名： 中野 裕子

【内容要旨】

【背景】前立腺癌は日本では男性で6番目に多い癌となった。日本における癌関連死の3.5%を占め、今後も増えることが予想される。転移性前立腺癌は多くの場合ホルモン療法が奏功する。しかしその効果は永続的でなく、最終的にはホルモン抵抗性前立腺癌(HRPC)となり、その生存期間の中央値はほぼ1.5年である。HRPCの標準治療はドセタキセルによる化学療法であるがその効果は十分とは言えず、より有効な治療薬が望まれている。X染色体関連アポトーシス阻害タンパク質(XIAP)は前立腺癌で高発現しており、癌細胞のアポトーシスを抑制し、抗癌剤抵抗性の出現に関与していると報告されている。本研究ではこのXIAP発現の抑制により前立腺癌細胞の抗癌剤感受性を増強できるか否かについて検討を行った。

【方法】一般的に実験に用いられている前立腺癌細胞株DU145、PC3、LNCapのうちXIAPが特に高発現していたDU145を実験に用いた。XIAP遺伝子のknockdown手段として①合成siRNAの導入による一過性(24時間)のknockdownと、②shRNA発現ベクターを用いた安定的(1ヶ月以上)knockdownの2種類の方法を用い、それぞれの細胞のシスプラチンの感受性やアポトーシス関連タンパクの発現を調べた。mRNAの評価には定量的RT-PCRを用いた。タンパク発現の評価にはimmunoblottingを、細胞毒性の評価にはMTSアッセイおよびヘキスト染色による形態学的観察を行った。またマイクロアレイ解析を用いて、XIAPの安定的knockdownを行った細胞におけるアポトーシス関連遺伝子の発現を網羅的に調べた。

【結果】XIAPの一過性発現抑制はDU145のアポトーシスを引き起こし、シスプラチンへの感受性が増加した。同時にBcl-2やIAPの転写因子であるNF- κ Bの発現も減少していた。一方、XIAPの安定的発現抑制では、Bcl-2の高発現が生じ、シスプラチンへの抵抗性が有意に増加していた。Bcl-2が特に高発現していたクローンは、Bcl-2阻害薬で処理すると、この抵抗性がキャンセルされた。マイクロアレイ解析では安定的発現抑制株でBcl-2以外に抗アポトーシス作用のあるCullin 4Aが2倍以上の発現を示し、逆にアポトーシス誘導に重要なFasが2分の1以下に低下しておりこれら分子の関与も考えられた。

【結論】前立腺癌細胞は安定的なXIAP抑制状態へ順応し、Bcl-2など抗アポトーシス作用のある分子の高発現を引き起こし、XIAP低下による抗癌剤感受性の上昇効果を打ち消す可能性があることが示唆された。

(1, 200字以内)




平成 21 年 2 月 2 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 中野 裕子

論文題目： Molecular targeting of Bcl-2 overcomes prostate cancer cell adaptation to XIAP gene downregulation
(Bcl-2 発現の抑制は、XIAP 遺伝子のダウンレギュレーションに順応した前立腺癌細胞の抗癌剤感受性を回復させる)

審査委員： 主審査委員 本山 侑一 
副審査委員 比 中 千 史 
副審査委員 鈴 本 民 夫 

審査終了日： 平成 21 年 1 月 29 日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

前立腺癌の再発や転移に対しては、ホルモン療法や抗癌剤治療が行われるが、これらに対して不応性あるいは耐性の前立腺癌は、アポトーシス阻害蛋白 (IAP) ファミリーや Bcl-2 を高発現していることが特徴とされる。中野君は、IAP ファミリーの1つである X 染色体関連 IAP (XIAP) に着目し、この発現を抑えることがアポトーシスの誘導や抗癌剤シスプラチンの感受性上昇に結びつくかどうかを研究目的とした。

まず、XIAP 高発現前立腺癌培養細胞株 DU145 に対して、XIAP の短時間一過性の発現抑制を siRNA を用いて行ったところ、アポトーシスが引き起こされ、シスプラチン感受性も上昇した。ところが、XIAP の持続的な発現抑制の影響を shRNA 発現ベクター導入クローンを用いて調べたところ、Bcl-2 の発現が上昇し、シスプラチンに対する感受性は低下していた。Bcl-2 高発現クローンは Bcl-2 阻害剤 HA14-1 で処理すると活性がほとんど無くなった。これにより、XIAP 欠乏状態に順応して Bcl-2 を高発現するようになった細胞に対しても Bcl-2 は分子標的と成りえることが示唆された。

XIAP の一時的な抑制と持続的な抑制とで抗癌剤感受性が異なってくることを見出し、その対策にも触れた研究であり、審査委員会は学位論文として相応しいものと評価した。

(1,200 字以内)