

Title	Transcriptional control of sialyltransferases required for the production of gangliosides in prostate cancer cells
Author(s)	波多野, 浩士
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59716
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	波多野 浩 士
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 25668 号
学位授与年月日	平成24年9月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系臨床医学専攻
学位論文名	Transcriptional control of sialyltransferases required for the production of gangliosides in prostate cancer cells (前立腺癌におけるガングリオシド合成に関与するシアル酸転移酵素の発現制御機構)
論文審査委員	(主査) 教授 野々村 祝夫 (副査) 教授 木村 正 教授 土岐 祐一郎

論文内容の要旨

〔目的(Purpose)〕

我々は、不活化センダイウイルス粒子 (Hemagglutinating virus of Japan envelope; HVJ-E) が retinoic acid-inducible gene-1 (RIG-I) 経路の活性化を介して前立腺癌に対して細胞死を誘導することを見出ししてきた。さらに、HVJ-Eによる細胞死誘導にはHVJ-Eの受容体となるガングリオシド(GD1aおよびsialyl paragloboside; SPG) の癌細胞における発現が必須であるが、アンドロゲン非依存性前立腺癌細胞株(PC3およびDU145)において、アンドロゲン感受性前立腺癌細胞株(LNCaP)や正常前立腺上皮細胞株(PNT2)と比較して、GD1aおよびSPGが高発現することも明らかにした。HVJ受容体であるSPGの機能は明らかではないが、GD1aは癌の増殖や転移に関与すると報告されている。さらにガングリオシドの合成に関与するシアル酸転移酵素は癌との関連が注目されてきているが、シアル酸転移酵素のうち、GD1aの発現には α 2,3 sialyltransferase (ST3Gal) IおよびII(主にST3Gal II)が、SPGの発現にはST3Gal VIが、それぞれ関与する。しかしながら、これらのST3Galの転写制御については明らかにされていなかった。今回、ST3Galの転写を制御する転写因子の同定と前立腺癌におけるST3Galの転写制御機構を解明することを目的として本研究を行った。

〔方法(Methods)〕

ガングリオシドの発現解析にはHPLC法を用いた。ST3Galの発現量は定量RT-PCR法にて測定した。AP-1およびNF- κ Bの発現をwestern blotを用いて検討した。ST3Galのプロモーター領域のCpGメチル化状態をmethylation-specific PCR法にて解析した。前立腺癌臨床検体の使用にあたっては大阪大学医学部付属病院の臨床研究倫理審査委員会の承認手続き及び患者に説明し同意を得た。

〔成績(Results)〕

アンドロゲン非依存性のPC3およびDU145において、LNCaPやPNT2と比較してST3Gal IIおよびVIが高発現しており、PC3およびDU145におけるGD1aおよびSPGの発現亢進と相関した。PC3においてST3Galの発現は、AP-1あるいはNF- κ Bを活性化することが知られているphorbol-12-myristate-13-acetate (PMA)を投与することにより上昇したことから、ST3Galの転写にAP-1あるいはNF- κ Bが関与することが示唆された。AP-1 (c-Junおよびc-Fos)の発現およびNF- κ B (RelA

およびRelB)の核内での発現はともに前立腺癌細胞株において上昇していた。PC3においてPMA投与で上昇したST3Galの発現はAP-1デコイ核酸では抑制されずNF- κ Bデコイ核酸により抑制された。さらに、NF- κ Bの5つのホモログ (RelA、RelB、c-Rel、NF- κ B1、NF- κ B2)のうちRelBのsiRNAによりST3Gal I、IIおよびVIの転写が最も抑制され、RelBのsiRNAによりGD1aおよびSPGの発現も低下した。

一方、アンドロゲン感受性のLNCaPにおいてはRelBが核内に高発現するにもかかわらずGD1aの発現が低く、ST3Gal IIの発現も低かった。しかしながら前立腺癌臨床検体(アンドロゲン非依存性癌2例、アンドロゲン感受性癌6例)について検討したところ、アンドロゲン非依存性癌、アンドロゲン感受性癌ともにGD1aが高発現していた。ST3Gal IIのプロモーター領域のCpGメチル化状態は、PC3およびDU145では低メチルであったが、LNCaPでは高メチルであった。LNCaPにDNAメチル化阻害剤(5-aza-2'-deoxycytidine)を投与することによりST3Gal IIのプロモーター領域のCpGが脱メチル化され、ST3Gal IIの発現が上昇することを確認した。また、LNCaPにアンドロゲンを投与するとST3Gal IIのプロモーター領域のCpGが脱メチル化され、ST3Gal IIの発現が上昇した。さらに、アンドロゲンによるST3Gal IIの発現上昇はRelBのsiRNAにより抑制されたことから、アンドロゲンによりST3Gal IIのプロモーター領域のCpGが脱メチル化されることによりRelBがST3Galの転写を制御できる事が示された。

〔総括(Conclusion)〕

ST3Galの転写はNF- κ Bのうち主にRelBにより制御されることが明らかになった。また、アンドロゲン感受性前立腺癌においてはST3Galの発現はアンドロゲンによるCpG脱メチル化により制御されていた。RelBは前立腺癌の悪性度とアンドロゲン非依存性癌の進展に強く相関することが報告されており、今回の結果は、RelBによるST3Galの転写制御を介したGD1aの発現と前立腺癌の進展との関わりを強く示唆するものである。

論文審査の結果の要旨

ガングリオシドとその合成に関与するシアル酸転移酵素は癌の進展に関与する。前立腺癌においては増殖や転移に関与するとされるガングリオシド、GD1aが高発現することが明らかになった。GD1aの合成にはシアル酸転移酵素である α 2,3 sialyltransferase (ST3Gal)が関与する。今回申請者は、これまで明らかにされていなかったST3Galの転写を制御する転写因子について検討し前立腺癌におけるST3Galの転写制御機構を解明した。ST3Galの転写はNF- κ Bのうち主にRelBにより制御されることが明らかになり、さらにアンドロゲン感受性前立腺癌においてはST3Galの転写はアンドロゲンによるCpG脱メチル化により制御されていた。RelBは前立腺癌の進展と強く相関するため、今回の結果は、RelBによるST3Galの転写制御を介したGD1aの発現と前立腺癌の進展との関わりを強く示唆するものであり、学位の授与に値すると思われる。