

平成22年12月

國本泰臣 学位論文審査要旨

主 査 久 留 一 郎
副主査 池 口 正 英
同 北 野 博 也

主論文

Deleted in esophageal cancer 1 (DEC1) is down-regulated and contributes to migration in head and neck squamous cell carcinoma cell lines

(DEC1は頭頸部扁平上皮癌細胞株において発現が抑制され、細胞の遊走能に影響する)

(著者：國本泰臣、中野星児、片岡英幸、嶋田裕、押村光雄、北野博也)

平成22年 Journal for Oto-Rhino-Laryngology, Head and Neck Surgery

73巻 17頁～23頁

学 位 論 文 要 旨

Deleted in esophageal cancer 1 (DEC1) is down-regulated and contributes to migration in head and neck squamous cell carcinoma cell lines

(DEC1は頭頸部扁平上皮癌細胞株において発現が抑制され、細胞の遊走能に影響する)

頭頸部扁平上皮癌は全扁平上皮癌の約5%を占め、いまだに5年生存率は低い。肺癌や大腸癌、乳癌、前立腺癌などと異なり、頭頸部癌の分子生物学的な研究はあまり進んでいない。頭頸部癌は食道癌と同様に扁平上皮から発生するため、頭頸部癌患者は食道癌を合併することが多い。これらから、喫煙や飲酒などの環境因子がこれらの癌発生に影響していると考えられている。また、癌抑制遺伝子の発現低下が様々な癌において共通して認められ、これが癌発生に関与している。Deleted in esophageal cancer 1 (DEC1)は9番染色体に存在する癌抑制遺伝子候補の一つであり、食道扁平上皮癌ではこの遺伝子の発現が抑制されていることや、DEC1発現により腫瘍細胞増殖が抑制されることが判明している。本研究では、頭頸部扁平上皮癌細胞株を用いてDEC1遺伝子の発現解析や発現調節機構などについて解析を行い、DEC1の頭頸部癌における癌抑制遺伝子としての可能性を検討した。

方 法

実験には18種類の頭頸部扁平上皮癌細胞株を用いた。培養細胞からRNAを抽出しcDNAを合成した。これを鋳型としてリアルタイムPCRを施行し、各細胞株におけるDEC1発現を定量的に解析した。各細胞株のDEC1発現レベルを、ハウスキーピング遺伝子であるG6PDとの発現比率で表現し、食道正常細胞株のそれと比較した。次に、クロマチン免疫沈降(Chromatin immunoprecipitation;ChIP)を施行し、ヒストン修飾による遺伝子発現の調節機構について調査した。本研究ではヒストンH3のリシン4ジメチル化、リシン9ジメチル化、リシン27トリメチル化それぞれの抗体を使用した。発現解析と同様にリアルタイムPCRを施行して定量的解析を行った。また、DEC1発現と細胞の遊走能・浸潤能との関係についてCytoSelect Migration and Invasion Assay Kitを用いて蛍光強度を測定し解析した。

結 果

リアルタイムPCRより、頭頸部扁平上皮癌細胞株18株中12株(66.7%)において、食道正常細胞株と比較してDEC1の発現低下を認めた。DEC1の発現レベルと癌の原発巣との間に因果

関係は認められなかった。ChIPの結果、DEC1発現細胞株では発現低下細胞株と比較してヒストンH3のリシン27トリメチル化が低い傾向にあった。リシン4ジメチル化とリシン9ジメチル化については差を認めなかった。また、DEC1発現細胞株では発現低下株と比較して細胞遊走能が有意に抑制されていた。細胞浸潤能については、DEC1発現に関わらず有意差は認めなかった。

考 察

頭頸部扁平上皮癌細胞株18株中12株(66.7%)において、DEC1の発現低下が認められた。DEC1発現にばらつきがみられた理由としては、各癌細胞株の進展度や分化度の差が影響していたと考えられる。遺伝子の発現抑制はプロモーター領域のメチル化やヒストン修飾(リシンのメチル化など)によって行われている。DEC1については、発現の低下している食道扁平上皮癌においてもプロモーター領域のメチル化は認められなかったとの報告があり、ヒストン修飾による抑制の可能性を考えChIPを施行したところ、ヒストンH3のリシン27トリメチル化が低下していた。よって、ヒストンH3のリシン27トリメチル化が頭頸部癌におけるDEC1発現抑制に影響しているのではないかと推測された。過去の論文では食道扁平上皮癌において、DEC1発現と細胞遊走能・浸潤能との間に関係はなかったと報告されている。本研究では、頭頸部扁平上皮癌細胞株において、DEC1発現と細胞遊走能との間には因果関係が認められた。このように過去の論文と結果が異なった理由としては、食道扁平上皮癌と頭頸部扁平上皮癌の違い、他の遺伝子が影響している可能性、DEC1発現を人為的に操作したかしていないかの違いなどが考えられた。

結 論

頭頸部扁平上皮癌細胞株の66.7%においてDEC1の発現低下が認められ、ヒストンH3のリシン27トリメチル化がその発現調節に重要な役割を担っている可能性がある。また、DEC1の発現低下は頭頸部扁平上皮癌細胞株の遊走能に影響すると考えられる。