

平成21年1月

# 吉岡裕樹 学位論文審査要旨

主査 大濱 榮作  
副主査 大野 耕策  
同 渡辺 高志

## 主論文

Nonsteroidal anti-inflammatory drug-activated gene (NAG-1/GDF15) expression is increased by the histone deacetylase inhibitor trichostatin A

(非ステロイド系抗炎症薬により活性化される遺伝子 (NAG-1/GDF15) 発現はヒストン脱アセチル化酵素阻害剤trichostatin Aにて亢進する)

(著者：吉岡裕樹、紙谷秀規、渡辺高志、Eling Thomas E.)

平成20年 Journal of Biological Chemistry 283巻 33129頁～33137頁

# 学 位 論 文 要 旨

**Nonsteroidal anti-inflammatory drug-activated gene (NAG-1/GDF15) expression is increased by the histone deacetylase inhibitor trichostatin A**

**(非ステロイド系抗炎症薬により活性化される遺伝子 (NAG-1/GDF15) 発現はヒストン脱アセチル化酵素阻害剤trichostatin Aにて亢進する)**

腫瘍抑制遺伝子nonsteroidal anti-inflammatory drug-activated gene(NAG-1)は、非ステロイド系抗炎症薬投与による腫瘍細胞のアポトーシスの過程で誘導される分子として単離され、ヒト大腸癌培養細胞株やトランスジェニックマウスを用いた実験からも、腫瘍抑制遺伝子としての働きが報告されてきた。しかし、脳腫瘍におけるNAG-1遺伝子の働きを記した報告は極めて少ない。著者らは、近年抗腫瘍作用が注目されているヒストン脱アセチル化酵素阻害剤を用いて、脳腫瘍におけるNAG-1発現を検討した。

## 方 法

ヒト膠芽腫培養細胞T98Gを用いて、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤であるtrichostatin A(TSA)投与によるNAG-1の発現を検討した。アポトーシス誘導をFlow cytometryとWestern blotにより、NAG-1遺伝子の発現機序をWestern blot、Quantitative-PCR、Promoter assay、siRNA assay、ChIP assay、mRNA stability assayにより解析した。

## 結 果

T98G細胞における、TSAによるNAG-1発現誘導は用量時間依存性であり、異なるヒストン脱アセチル化酵素阻害剤であるsodium butyrateでも同様の結果を示した。6種類の他の膠芽腫細胞株、2種類の膠腫細胞株と正常アストロサイトの細胞株を用い、それぞれのNAG-1遺伝子発現を検討した結果、膠芽腫細胞においてはより低いNAG-1発現レベルを示した。T98G細胞のTSA投与後の細胞周期解析で、アポトーシスが示され、NAG-1 siRNA導入によるNAG-1遺伝子発現抑制により、TSAの誘導するアポトーシスが強く抑制された。Cycloheximide処理の結果より、TSAはNAG-1遺伝子を直接的に発現させるのではなく、Egr-1、Sp-1などの転写因子の発現を介していることが明らかになった。そしてPromoter assay、ChIP assayにより、誘導されたEgr-1 やSp-1がNAG-1遺伝子promoterの特異的な領域Sp-1

binding site AとBCに作用していることが明らかになった。これによりTSAによるNAG-1遺伝子発現が転写レベルで調整を受けていることが証明された。さらに、actinomycin D 処理の実験から、TSAはNAG-1 mRNAのstabilityも増強させていることが示され、TSAのNAG-1誘導は転写後レベルでもその発現調整に寄与していることがわかった。

## 考 察

ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤であるTSAはヒストンアセチル化作用により様々なアポトーシス関連遺伝子の発現を誘導しており、その抗腫瘍効果が注目されるようになった。著者らのヒト膠芽腫培養細胞株T98Gを用いた検討においても、同様にTSAのアポトーシス誘導作用を認め、そのアポトーシス誘導にNAG-1遺伝子発現が大きな役割を持つことが示された。TSAはヒストンのアセチル化により直接的にNAG-1遺伝子の転写を誘導するのではなく、転写因子Sp-1/Egr-1を発現誘導することで間接的にNAG-1遺伝子の転写誘導をしていた。加えて、転写されたNAG-1mRNAの半減率を減少させることで、より多くのNAG-1蛋白の発現を誘導していた。著者らは数種のヒト膠腫培養細胞株におけるNAG-1遺伝子発現を検討したところ、腫瘍の分化度によってNAG-1発現が異なる傾向が見られ、細胞の悪性化に伴うNAG-1遺伝子の発現抑制の可能性が示唆された。本研究はヒト膠芽腫細胞を用い、TSA処理により生じたアポトーシスのメカニズムをNAG-1経路から解明した最初の報告である。

## 結 論

ヒト膠芽腫培養細胞株T98Gにおいて、TSAはNAG-1遺伝子発現を、転写因子Sp-1/Egr-1を介するtranscriptionレベル、およびpost-transcriptionレベルにおいて誘導しており、そのNAG-1遺伝子の発現が、TSAのアポトーシス誘導に大きな役割を果たしている。