

論文審査の要旨

報告番号	総研第 506 号		学位申請者	本庄 希江
審査委員	主査	杉浦 剛	学位	博士 (医学・ <u>歯学</u> ・学術)
	副査	岸田 昭	副査	松口 徹也
	副査	小松澤 埜	副査	野添 悦郎

PCP4/PEP19 Upregulates Aromatase Gene Expression via CYP19A1 Promoter I.1 in Human Breast Cancer SK-BR-3 Cells

(ヒト乳癌細胞株 SK-BR-3 において、PCP4/PEP19 は CYP19A1 Promoter I.1 を介して aromatase 遺伝子発現を亢進する。)

aromatase は、estrogen(estron, estradiol)を供給し乳癌細胞の浸潤と再発における重要な役割を果たしている。また Purkinje cell protein 4 / peptide 19 (以下 PEP19) は小脳での発現が報告されているが、ヒト乳癌細胞でも発現し、抗アポトーシス作用を示し、遊走と浸潤の活性を高めることなどが報告されている。また PEP19 は、さらに PEP19 は副腎皮質に発現し、CYP11B2 遺伝子をコードするアルドステロン合成酵素の発現を促進することが報告された。aromatase とアルドステロン合成酵素は、共にステロイドホルモン生合成を行う CYP ファミリーの一つなので、PEP19 が CYP11B2 だけでなく aromatase の発現調節にも関わる可能性があるという仮説を立てた。そこで学位申請者らは、PEP19 のヒト乳癌細胞内における aromatase の発現への関与を検討するため、estrogen 受容体- α (以下 ER- α)(-)である乳癌細胞株 SK-BR-3 と、ER- α (+)である乳癌細胞株 MCF-7 を用いて、PEP19 を knockdown(以下 KD)又は overexpression(以下 OE)し、実験を行った。

その結果、本研究では以下の知見が明らかにされた。

- 1) Western Blot, Real-time PCR, ELISA にて、MCF-7 では PEP19 の KD または OE を行っても、aromatase の遺伝子、蛋白発現と Estron の産生は変化しなかった。
- 2) Real-time PCR にて、MCF-7 では ER- α の KD により aromatase の遺伝子発現は増加したが、さらに PEP19 の KD または OE を行っても、aromatase の遺伝子発現は変化しなかった。
- 3) Western Blot, Real-time PCR にて、SK-BR-3 では PEP19 を KD すると aromatase の遺伝子と蛋白発現は減少し、OE すると増加した。
- 4) ELISA にて、SK-BR-3 では PEP19 を KD すると細胞内外の estrogen 量は減少し、OE すると増加した。
- 5) SK-BR-3 では、PEP19 により aromatase 遺伝子と蛋白の発現、estrogen 生合成が促進されることが示された。
- 6) Promoter specific RT-qPCR, luciferase assay にて、SK-BR-3 では PEP19 による aromatase の遺伝子発現は主に P I.1 プロモーターを介していることが示された。
- 7) 免疫染色にて、乳癌症例では ER- α の発現状態と、PEP19, aromatase 発現に相関は認められなかった。
- 8) PEP19 と aromatase の double positive 症例では、ER- α (+)症例で ER- α (-)症例よりも、有意に PEP19 が高発現していた。

本研究において、PEP19 は SK-BR-3 において P I.1 プロモーターを介して aromatase 遺伝子発現を促進することが明らかになった。このことから、PEP19 の抗アポトーシス、癌細胞の遊走・浸潤の促進という機能に加えて、aromatase 発現を介した estrogen のパラクリンによる乳癌細胞の増殖、浸潤、転移の促進という新しい機能が示唆された。

本研究は、PEP19 が aromatase を介して乳癌の増殖、浸潤、転移を抑制するような分子標的薬の標的として利用できる可能性があることを示唆した点で非常に興味深い。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。