

Title	Gene expression associated with the decrease in malignant phenotype of human liver cancer cells following stimulation with a histone deacetylase inhibitor.
Sub Title	ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤刺激によるヒト肝癌細胞の悪性度低下に伴う遺伝子発現
Author	若林, 寛二(Wakabayashi, Kanji)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.2 (2005. 6) ,p.11-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050602-0011">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050602-0011</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

# Gene expression associated with the decrease in malignant phenotype of human liver cancer cells following stimulation with a histone deacetylase inhibitor.

(ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤刺激によるヒト肝癌細胞の悪性度低下に伴う遺伝子発現)

若 林 寛 二

## 内容の要旨

酪酸は短鎖脂肪酸の一つであり、生体内では消化管内で自然に形成されることが知られている。酪酸は各種癌細胞に対しアポトーシスや分化誘導作用を有することが報告されている。酪酸はヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の一つであり、クロマチンのかたまりを解除し、転写活性を高めることが考えられている。酪酸は肝癌細胞に対して高濃度では一部の細胞にアポトーシスを、低濃度では悪性度低下を生じることを報告してきた。低濃度ではアルブミンの産生が亢進し、 $\alpha$ -feto proteinの産生が低下し、ソフトアガー内での足場非依存性増殖は抑制される。しかし、その機序についてはいまだ不明な点が多い。そこで、ヒト肝癌細胞株HCC-Tを用いてアポトーシスが生じない低濃度（2 mM）で酪酸を添加培養し、早期の段階での遺伝子発現変化につき検討した。

酪酸刺激によりHCC-Tは細胞周期においてG0/G1期での停止し、p21<sup>WAF-1</sup>の発現がみられた。アポトーシス抑制蛋白であるBcl-2、Bcl-XLは分化誘導早期において発現は増加し、Bcl-2ファミリー蛋白で発生分化初期に発現するMcl-1/EATも発現は上昇した。一方アポトーシス促進蛋白であるBAXは変化がみられなかった。こうしたアポトーシス抑制蛋白の発現が増加することにより、アポトーシスを抑制しながら細胞周期をG0/G1期において停止し、悪性度低下へと進んでいくもので、細胞分化の誘導の一種とも考えられる。

どのような遺伝子発現が変化し、悪性度低下に関わっているのかを追求することが、今後遺伝子を標的とした肝癌治療に有用となる可能性がある。そこで、differential displayとcDNA expression arrayにて誘導初期の段階での遺伝子変化を検討した。Differential display法ではラミニニン、ケラチン18といった細胞骨格にかかわる遺伝子の発現上昇がみられた。cDNA expression arrayでは、Western blotでの解析に一致して、Mcl-1/EATとp21<sup>WAF-1</sup>の発現増加がみられ、p21<sup>WAF-1</sup>の上流にて変化するIRF-1の発現も上昇が確認された。

生体内での酪酸の産生増加や、悪性度低下誘導課程でみられた遺伝子を操作することにより、肝癌治療への応用が期待される。

## 論文審査の要旨

酪酸は肝癌細胞に対して高濃度では一部の細胞にアポトーシスを誘導し、低濃度では悪性度を低下させる。酪酸刺激によりどのような遺伝子発現が変化し、どのような蛋白が誘導され、悪性度低下に関わっているのかを追求することは、将来新たな肝細胞癌の発生予防法や治療方法につながる可能性がある。本研究では肝癌細胞株を酪酸で刺激し、早期の段階での遺伝子発現変化をdifferential display法とcDNA expression arrayにて検討した。Differential display法ではラミニニン、ケラチン18の2つの細胞骨格に関わる遺伝子発現が上昇し、細胞の形態変化が悪性度の低下に関わる一つの重要な因子であることが示唆された。cDNA expression arrayでは細胞周期に関わるp21<sup>WAF-1</sup>遺伝子や細胞骨格に関わるRho E遺伝子の発現変化がみられた。また、分化マーカーであるELF-1やMcl-1/EATの発現が上昇し、インターフェロン関連遺伝子IRF-1、STAT2、STAT3の発現上昇が認められ、酪酸がインターフェロンと類似した作用を有することが示唆された。

審査では、まず何故肝癌細胞株としてHCC-Tを用いたのか、他の細胞株についても検討しなかったのか、より強力な分化誘導剤であるトリコスタチンAによる作用については検討されているのか、との質問があった。これに対してHCC-Tは当研究室で樹立された細胞株で、これまで酪酸刺激による悪性度の低下に関するデータがあり、肝癌細胞株の中ではもっとも酪酸刺激による細胞増殖抑制効果がはっきりしているため、今回の研究に適していると回答された。トリコスタチンAによる肝癌細胞株の増殖抑制作用については確認しているが、これまで酪酸でのデータの方が多いため、differential displayとcDNA expression arrayは酪酸による刺激で検討したと回答された。

また、differential displayとcDNA expression arrayの結果についてはRT-PCRやNorthern blotでの検討、Western blotによる蛋白レベルでの発現確認がなされているかなど、再現性の有無を指摘された。これに対して、今回特に注目された遺伝子発現についてWestern blotにより確認したと回答された。

さらに、differential displayとcDNA expression arrayで発現変化がみられた個々の遺伝子について、より深く現象との関連について検討されるべきであると指摘があった。

本研究は今後検討されるべき課題を残しているが、酪酸による肝癌細胞の悪性度低下に伴う変化を蛋白、遺伝子のレベルで検討した点が有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 日比 紀文

外科学 北島 政樹 病理学 坂元 亨字

先端医科学 河上 裕

学力確認担当者：

審査委員長：北島 政樹

試問日：平成17年 3月 2日