

学位論文抄録

RUNX3の腫瘍増殖抑制に対するサイクリンD1の阻害作用
(Cyclin D1 blocks RUNX3-dependent inhibition of cancer cell
proliferation)

岩谷 和法

指導教員

野守 裕明 前教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻呼吸器外科学

鈴木 実 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻呼吸器外科学

伊藤 隆明 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻機能病理学

学位論文抄録

[目的] 転写制御因子 RUNX3 は胃癌をはじめとする多くの癌で癌抑制遺伝子として機能することが示されており、また、サイクリン D1 は癌化に最も関係が深く、肺癌を含めた様々な癌で過剰発現が認められている。サイクリン D3 は RUNX1 と相互作用し、RUNX1 の活性を負に制御することが報告されていることから、我々は「サイクリン D1 は RUNX3 の活性を抑えることで癌細胞の増殖を促進する」という仮説を立てた。そこで、本研究では、RUNX3 が肺癌細胞の増殖を抑制するのか、抑制するのであればそれはいかなる分子機構によるのか、そしてサイクリン D1 はこの RUNX3 による増殖抑制機構を破綻させることが可能なのか、という一連の課題を明らかにすることを目的とした。

[方法] RUNX3 を発現していない肺腺癌細胞株 Calu6 に RUNX3 を過剰発現させ、細胞増殖が抑制されるのかを観察し、RT-PCR 法にて RUNX3 の下流遺伝子を同定し、さらにサイクリン D1 を導入した際の RUNX3 への影響、下流遺伝子の発現の変化について解析した。

[結果] Calu6 に RUNX3 を過剰発現させると内因性のサイクリン依存性キナーゼ (cdk) インヒビター *p21* の発現が促進され、細胞の増殖が抑制された。RUNX3 が *p21* の転写制御領域に直接結合していることをクロマチン免疫沈降にて確認した。shRNA にて *p21* をノックダウンすると RUNX3 による増殖抑制効果が解除された。また、RUNX3 に加えサイクリン D1 を過剰発現させると、RUNX3 による *p21* の発現誘導が阻害され、増殖抑制効果が解除された。クロマチン免疫沈降を行うと、サイクリン D1 は RUNX3 の DNA 結合能を阻害していなかった。免疫共沈降解析、ウエスタンブロット解析にて、サイクリン D1 は RUNX3 と複合体を形成することで、p300 による RUNX3 のアセチル化を阻害し、それによって RUNX3 の機能を抑制することがわかった。このサイクリン D1 の作用は、cdk4/6 のキナーゼ活性を必要としなかった。

[考察] RUNX3 による転写制御は様々な因子との相互作用を介するものであることが報告されていることから、本研究で認められた RUNX3 による *p21* の発現誘導は、肺上皮細胞固有の転写調節因子との相互作用を介して起こっている可能性も考えられる。また、サイクリン D1 と RUNX3 の相互作用は、癌細胞において、さまざまな活性化補因子と RUNX3 との相互作用を阻害する可能性もある。RUNX が腫瘍抑制に重要な役割を担っている悪性腫瘍でも、サイクリン D1 の異常な発現が観察されていることから、多くの細胞でサイクリン D1 と RUNX の相互作用が RUNX の腫瘍抑制作用の阻害に関与している可能性も示唆される。

[結論] RUNX3 は p300 と相互作用することで *p21* の発現を亢進し、肺癌細胞の増殖を抑制する。また、サイクリン D1 は RUNX3 と複合体を形成することで RUNX3-p300 相互作用を阻害し、RUNX3 による *p21* の発現を抑制し、癌細胞における RUNX3 の腫瘍抑制機構を減弱させる。