

授与機関名 順天堂大学

学位記番号 甲第 1496 号

Short hairpin RNA library-based functional screening identified ribosomal protein L31 (RPL31) that modulates prostate cancer cell growth via p53 pathway

(shRNA ライブラリーを用いた機能的スクリーニングにより同定された RPL31 は p53 経路を介して前立腺がん細胞増殖に関わる)

丸山 洋二郎 (まるやま ようじろう)

博士 (医学)

論文内容の要旨

前立腺がんは近年増加しており、初期にはホルモン療法が著効するが、しばしば再発し、治療抵抗性となることが多い。本研究では、前立腺がん細胞におけるホルモン療法に関わる遺伝子を明らかにするため、short hairpin RNA (shRNA)ライブラリーを用いた機能的スクリーニングを行い、ビカルタミドに対する反応性に関わる遺伝子を探索した。ヒト前立腺がん LNCaP 細胞にレンチウイルスベクターで構築された shRNA ライブラリーを感染させ、ビカルタミドまたは溶媒コントロール存在下で 1 か月間培養し、ゲノム DNA を調整し、導入された shRNA の量を解析した。ビカルタミド処理細胞において減少した 25 種の shRNA をビカルタミド耐性化の促進に関わる可能性を有する遺伝子を標的としていると想定した。それらの中で 13 種の候補遺伝子に対する siRNA を用い、細胞増殖に与える影響を測定し、前立腺がん細胞増殖に関わる RPL31 を同定した。RPL31 はリボソームの 60S サブユニットを構成するリボソーム蛋白の一つである。いくつかのリボソーム蛋白は MDM2 を阻害し腫瘍抑制因子 p53 を活性化させる報告がされているが、RPL31 の役割は未だ明らかでない。LNCaP 細胞およびビカルタミド耐性 LNCaP 細胞 (BicR 細胞) での RPL31 の mRNA 発現量を比較したところ BicR 細胞で高発現しており、ONCOMINE マイクロアレイデータベースを検索した結果、良性前立腺組織に比して前立腺がん組織で高発現を認めた。RPL31 のノックダウンは細胞周期進行を抑制し、p53 の発現上昇と、p21 ならびに p53 の抑制因子である MDM2 の発現を上昇させることを明らかにした。タンパク合成阻害剤であるシクロヘキサミドを用いた解析によって、RPL31 のノックダウンは p53 タンパク質を安定化させることを発見した。以上のことから、RPL31 をホルモン療法耐性前立腺がんの増殖に関わる遺伝子として同定し、その診断・治療に応用できる新しい分子標的となることが期待されるとともに p53 経路を介する制御因子として働く新しいメカニズムが見いだされた。