

Differentiation - inducing factor - 1 suppresses cyclin D1 - induced cell proliferation of MCF - 7 breast cancer cells by inhibiting S6K - mediated signal transducer and activator of transcription 3 synthesis

哲翁, ふみ

<https://doi.org/10.15017/4060082>

出版情報 : 九州大学, 2019, 博士 (歯学), 課程博士

バージョン :

権利関係 : © 2019 The Authors. Cancer Science published by John Wiley & Sons Australia, Ltd on behalf of Japanese Cancer Association. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution - NonCommercial License.

(様式 3)

氏 名 : 哲翁 ふみ

論 文 名 : Differentiation - inducing factor - 1 suppresses cyclin D1 - induced cell proliferation of MCF - 7 breast cancer cells by inhibiting S6K - mediated signal transducer and activator of transcription 3 synthesis
(DIF-1はS6Kを介したSTAT3の翻訳抑制によってcyclin D1の発現を減弱し、MCF-7細胞の増殖を抑制する)

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

乳癌は女性の悪性新生物罹患数第一位であり、罹患率・死亡率ともに一貫して増加傾向にある。本研究で使用したヒト乳癌細胞株である MCF-7 細胞は、ホルモン受容体陽性、Human Epidermal Receptor 2 の過剰発現を認めない乳癌細胞株で、ホルモン療法が第一選択となる。しかし、既存の治療に対する耐性の獲得により、がんの再発が起こる懸念は常にあり、新しい治療戦略を開発することが必要とされている。

Differentiation-inducing factor (DIF) は、細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* が分泌し、柄細胞への分化を誘導する物質として単離・精製された低分子化合物である。我々はこれまでに、様々ながん細胞において、DIF-1 はグリコーゲン合成酵素キナーゼ 3 (GSK-3) の活性化を介し増殖抑制作用を示すことを報告してきたが、DIF-1 のターゲット解明には至っていない。本研究では、DIF-1 は、これまで報告してきた GSK-3 の活性化を介さない未知の機序で cyclin D1 の発現を抑制し、細胞増殖抑制作用を示すことを明らかにした。

はじめに *in vivo* 実験系で、BALB/c ノードマウスの乳腺に MCF-7 細胞を接種し、担癌マウスを作成し、DIF-1 による増殖抑制効果の検討を行った。DIF-1 の経口投与は、明らかな副作用なしに、MCF-7 細胞の増殖を有意に抑制した。次に、その機序を解明するために、*in vitro* 実験系で検討を行った。DIF-1 は、濃度依存的に増殖を抑制した。フローサイトメトリーを用いた細胞周期解析により、DIF-1 によって G₀/G₁ 期の細胞数が上昇し S 期の細胞数が減少していたことから、G₀/G₁ 期で細胞周期を停止したことが示された。また、ウエスタンブロット法を用いてタンパク質発現を調べたところ、G₀/G₁ 期の重要な制御因子である cyclin D1 の発現が有意に減少していた。しかしこれまで報告してきた他のがん種と異なり、DIF-1 は GSK-3 の活性化を介することなく cyclin D1 の発現抑制を引き起こした。よって、DIF-1 による cyclin D1 の発現抑制の新しい機序を探索した。

Signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) は、様々ながんにおいて恒常的に活性化しており、乳癌においてはその 40%以上で活性亢進がみられる。MCF-7 細胞において、DIF-1 が発現を抑制する cyclin D1 も STAT3 の標的遺伝子であることから、DIF-1 のターゲット

が STAT 経路にあるのではないかと予測した。DIF-1 は STAT3 の発現そのものを強力に抑制した。さらに、転写阻害剤のアクチノマイシン D や翻訳阻害剤のシクロヘキシミドを用いた実験から、DIF-1 は、STAT3 mRNA のタンパク質への翻訳を阻害することが示唆された。そこで、ribosomal protein S6 kinase (p70^{S6K}/p85^{S6K}) を活性化し、タンパク質翻訳を調整することが知られている、mammalian target of rapamycin (mTOR) シグナルに着目した。MCF-7 細胞において、DIF-1 はわずか30分で p70^{S6K} (Thr389) と p85^{S6K} (Thr412) のリン酸化レベルを強力に減少させた。mTOR 阻害剤のラパマイシンにより、STAT3、cyclin D1 のタンパク質発現はともに減少したことから、DIF-1 は、S6K を介した STAT3 の翻訳抑制によって cyclin D1 の発現を減弱させ、増殖を抑制することが示唆された。