

論文内容要旨

Achaete-scute family bHLH transcription factor 2
activation promotes hepatoblastoma progression
(Achaete-scute family bHLH transcription factor
2 の活性化は肝芽腫の進行を促進する)
Cancer Science, in press.

主指導教員：岡田 賢教授

(医系科学研究科 小児科学)

副指導教員：檜山 英三特任教授

(自然科学研究支援開発センター)

副指導教員：川口 浩史准教授

(医系科学研究科 小児科学)

加藤 豊

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

背景

肝芽腫は小児において最も一般的な肝臓の癌であるが、その病態は未だに不明な点も多い。

Achaete-scute family bHLH transcription factor 2 (ASCL2)は肝芽腫で高発現している。また肝芽腫において特異的な低メチル化が維持されており、ASCL2はその低メチル化部位に結合することが判明していることから、ASCL2は肝芽腫の病態形成において何らかの役割を果たしている可能性がある。ASCL2はすでにいくつかの癌で重要な役割を果たしていることが報告されているが、肝芽腫においてはその役割は不明である。本研究では、肝芽腫におけるASCL2の役割を明らかにすることを目的として、肝芽腫の細胞株にASCL2の発現を誘導して、その生物学的機能の変化を検討した。

方法

肝芽腫の細胞株 HepG2 と Tet-On system を用いて、doxycycline をトリガーとして ASCL2 の発現を誘導できる HepG2 Tet-On ASCL2 という細胞を作製した。この HepG2 Tet-On ASCL2 を用い、細胞機能解析実験と遺伝子発現解析実験を行った。細胞機能解析実験としては、増殖性を評価するため 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT)-アッセイとコロニー形成アッセイ、移動性を評価するため遊走アッセイと浸潤アッセイ、幹細胞性を評価するため球体形成アッセイを行った。遺伝子発現解析としては定量的逆転写 PCR 法を用いて、増殖性マーカー (*CCND1*, *MYC*)、上皮-間葉転換マーカー (*SNAI1*, *TWIST1*, *ZEB1*)、間葉-上皮転換マーカー (*CDH1*)、幹細胞性マーカー (*KLF4*, *POU5F1*, *SOX9*) を解析した。

結果

ASCL2 を誘導していない HepG2 と比較して、ASCL2 を誘導した HepG2 はバイアビリティー、コロニー数、遊走域 (%), 球体数, 浸潤域 (%) が細胞機能解析実験を開始してからそれぞれ 7, 14, 2, 7 日, 90 時間後に有意に増加した。ASCL2 の誘導は doxycycline を添加してから、*CCND1*, *MYC*, *POU5F1*, *SOX9*, *KLF4* 発現をそれぞれ 2, 2, 3, 3, 5 日後、*SNAI1*, *TWIST1*, *ZEB1* と *CDH1* の発現比を 5 日後に有意に上方制御した。

考察

ASCL2 は HepG2 において、Wnt シグナリング経路、上皮-間葉転換、幹細胞性に関連する遺伝子発現を上方制御することで悪性形質の形成を促進していることが示唆された。従って、ASCL2 の活性化は肝芽腫の進行に関係している可能性がある。ASCL2 の研究は肝芽腫の進行に関する病態解明や新たな治療標的の発見につながる可能性がある。