

28L-am03

P-糖タンパク質の発現を制御する遺伝子の探索

○依 夕奈¹, 河村 容子¹, 片山 和浩¹, 三橋 純子^{1,2}, 野口 耕司¹, 杉本 芳一^{1,2}
(¹慶應大院薬, ²癌研癌化療セ)

【背景・目的】我々はこれまで、estrogenがER α 陽性ヒト乳がん細胞 MCF-7/MDR の P-糖タンパク質 (P-gp) の発現を低下させること、およびこの発現低下にタンパク質の生合成あるいは分解の系路が関与していることを報告してきた。本研究では、estrogenによる P-gp の発現低下に関与する候補遺伝子群を抽出することを目的とした。

【方法】100 pM の estradiol (E2) の存在下あるいは非存在下で培養した MCF-7 細胞より RNA を抽出し、Affymetrix 社の GeneChip Human Genome U133 Plus 2.0 Array を用いて遺伝子発現を調べた。候補遺伝子の siRNA を MCF-7/MDR 細胞に導入し、3日後の P-gp 発現の変動を FACS により解析した。P-gp の発現量の指標としては FACS の median channel を用い、siRNA 導入の有無による median channel の比を算出して発現変化率 (%) とした。

【結果】Microarray 解析の結果、MCF-7 細胞で E2 処理により発現が変動した遺伝子は 4756 個だった。これらの遺伝子を推定遺伝子機能により分類し、この中からタンパク質の生合成あるいは分解に関与する 402 の候補遺伝子を抽出した。候補遺伝子の siRNA を MCF-7/MDR 細胞に導入し、FACS を用いて P-gp 発現の変動を調べた結果、siRNA 導入により P-gp の発現を低下させる遺伝子が 8 個同定された。これらのうちで、最も P-gp の発現量が低下したものでは、FACS の median channel でみた P-gp の発現量が siRNA 非導入細胞の 20% にまで低下した。この 8 遺伝子を推定機能により分類すると、細胞内小胞輸送制御関連遺伝子が 1 個、ユビキチン・プロテアソーム系関連遺伝子が 2 個、リン酸化酵素の遺伝子が 2 個、脱リン酸化酵素の遺伝子が 3 個であった。今後、これらの遺伝子の産物が P-gp の発現低下にどのように関与するのかについて検討していく予定である。