

290-am02S

PARP1 ノックダウンによる PTEN 欠損ヒト乳がん細胞における合成致死性の誘導
○磯村 秀樹¹, 横田 将史¹, 浅井 知浩¹, 清水 広介¹, 出羽 毅久², 奥 直人¹
(¹静岡県大薬, ²名工大工)

【目的】 Synthetic lethality (合成致死) とは、単独変異では致死性を示さない複数種類の遺伝子が同時に機能を失うことで初めて致死性を示す現象であり、これを応用した新規がん治療薬の開発が近年活発に行われている。本研究では、合成致死遺伝子の組合せとして PTEN と PARP1 に着目した。両者は DNA 修復に関与するとされ、PTEN は多くのがんで欠損が認められている。そこで PTEN 欠損がん細胞を用い、PARP1 を標的とした siRNA (siPARP1) の合成致死誘導能を検討した。

【方法】 PTEN 欠損細胞として MDA-MB-468 ヒト乳がん細胞、対照の PTEN 陽性細胞として MDA-MB-231 ヒト乳がん細胞を用いた。siPARP1 のベクターには当研究室が開発した dicetyl phosphate-tetraethylenepentamine-based polycation liposomes を使用した。まず、siPARP1 導入による PARP1 ノックダウンをリアルタイム RT-PCR 法及び Western blotting 法にて評価した。次に、PARP1 ノックダウンの DNA 損傷に与える影響を Comet assay により検討し、アポトーシス誘導能をフローサイトメトリーで評価した。さらに、WST-8 assay によって siPARP1 導入による細胞増殖抑制効果を評価した。

【結果・考察】 siPARP1 導入により、MDA-MB-231、MDA-MB-468 の両細胞で PARP1 の発現抑制効果が確認された。PTEN 陽性細胞の MDA-MB-231 と比較して、PTEN 欠損細胞である MDA-MB-468 では、顕著な断片化 DNA の増加とアポトーシス細胞の増加が観察された。また、両細胞で PARP1 ノックダウンによる増殖抑制効果が認められたが、MDA-MB-468 では増殖抑制効果に加え、殺細胞効果も認められた。以上の結果より、PARP1 ノックダウンは PTEN 欠損細胞において DNA 修復機構の破綻を介した合成致死を引き起こすことが示唆された。