

口腔癌細胞のサイレンサー領域に存在する 3 か所の CREB1 結合サイトを介した *KLF5* 遺伝子の発現抑制

勝海 怜一

論文内容の要旨

Krüppel-like factor 5 (KLF5) は様々な癌組織で過剰発現しており、癌細胞の分化形質を阻害することで脱分化を誘導する。KLF5 は癌の高度悪性形質獲得に寄与するが、その発現制御メカニズムは不明である。本研究では、*KLF5* 遺伝子上流に存在するサイレンサー領域 (425 bps 領域) の 3 か所の cAMP responsive element binding protein 1 (CREB1) 結合サイトに着目し、425 bps 領域による *KLF5* 遺伝子の発現抑制機構の解明を目的とした。425 bps 領域の転写活性と、425 bps 領域が *KLF5* 遺伝子発現に与える影響をレポーターアッセイで解析し、425 bps 領域に存在する 3 か所の CREB1 結合サイトへの CREB1 の結合を DNA プルダウンアッセイ、定量的 ChIP アッセイで解析した。さらに、CREB1 に対する siRNA あるいは cDNA を導入した口腔癌細胞を用いて、425 bps 領域の CREB1 結合サイトが *KLF5* 遺伝子の発現に与える影響を検討し、以下の結果を得た。

1. 425 bps 領域には転写活性はなく、*KLF5* 遺伝子の発現を抑制した。
2. 425 bps 領域に存在する 3 か所の CREB1 結合サイトには CREB1 が結合しており、各結合サイトを欠失させることで *KLF5* 遺伝子の発現が増加した。
3. 425 bps 領域の CREB1 結合サイトがインタクトである場合、CREB1 ノックダウンは *KLF5* 遺伝子の発現を増加させ、CREB1 過剰発現は減少させた。
4. 425 bps 領域の各 CREB1 結合サイト欠失下では、CREB1 ノックダウンは *KLF5* 遺伝子の発現を減少させた。

論文審査の結果の要旨

本研究は、口腔癌細胞における 425 bps 領域による *KLF5* 遺伝子の発現抑制メカニズムの一端を解明したものである。CREB1 を介した発現制御において、425 bps 領域による *KLF5* 遺伝子の発現抑制には 425 bps 領域に存在する 3 か所の CREB1 結合サイトがインタクトである必要があり、いずれかのサイトが欠失することにより、425 bps 領域による *KLF5* 遺伝子の発現抑制が解除されることが示唆された。これらの知見は、口腔癌の新たな分子生物学的背景を明らかにしたものであり、歯学に寄与するところが多く、博士（歯学）の学位に値するものと審査する。

主 査	春原 正隆	教授
副 査	里見 貴史	教授
副 査	櫻井 健一	教授

最終試験の結果の要旨

勝海怜一に対する最終試験は、主査 春原正隆 教授、副査 里見貴史 教授、副査 櫻井健一 教授によって、主論文を中心とする諸事項について口頭試問が行われ、優秀な成績で合格した。