

平成 26 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

研究区分		一般共同研究
研究課題		がん抑制遺伝子と概日リズムの関連に関する研究
研究代表者	所属・職名・氏名	京都大学・特定助教・三木貴雄
研究分担者	所属・職名・氏名	京都大学・教授・野田亮
受入担当教員	職名・氏名	教授・高橋智聡
【研究目的】	概日リズムは、日々の睡眠サイクルや代謝等、生体の一日約 24 時間のリズムを制御している生物の基本的な機構である。長期的なリズムの欠失は、がんや糖尿病等の疾患と関連することが疫学研究において報告されている。一方、がん患者では、睡眠リズム障害が見られることや、糖尿病患者では、インスリン代謝リズム障害等が見られ、がんの罹患率も高いことが報告されている。上記の知見は、がん概日リズムには、緊密な関連性があることを示唆しているが、詳細な機構は不明である。そこで我々は、がん概日リズムの関連を、がん抑制遺伝子による概日リズムの分子レベルでの制御という視点から解明しようと試みている。	
【研究内容・成果】	pRb の概日リズムにおける役割を in vivo で検討するために、成体マウスの脳視交叉上核において、pRb を欠損するマウスの作製を試みた。pRb 欠損マウスは胎生致死のため、視交叉上核において、多く存在すると報告されている GABA 作動性神経において特異的に pRb を欠損する Vgat-Cre;Rbflx/flox マウスを作製した。しかし、このマウスは生後まもなく死亡してしまい、概日リズムの解析には不向きであった。そこで次に、タモキシフェン依存的 ubiquitin C-Cre プロモーターによる成体での pRb 欠損マウスの作製を行い、解析を行った。しかしながら、タモキシフェン投与依存的な Cre の活性化は、視交叉上核では軽微なものに留まり、pRb を完全に欠損することは出来なかった。そのため現在は Albumin-Cre ; Rbflx/flox マウスを用いて、肝臓特異的に pRb を欠損させ、pRb による概日リズム遺伝子への影響を検討するため、マウスの交配に取り掛かっている。 また、pRb による概日リズム制御機構の解析のため、培養細胞（野生型マウス胎児線維芽細胞）を用いて pRb を発現させ、Per2 プロモーターへの影響を検討した。その結果、pRb の存在下で約 20 % の Per2 プロモーター活性の上昇が見られたため、そのメカニズムの解析を試みた。pRb の主要なパートナーである E2F や、PML は、pRb の細胞周期制御の機能に非常に重要である。そのためこれらの蛋白質を培養細胞に発現させ、Per2 プロモーター活性を測定した。しかし、Per2 プロモーター活性に関して、pRb との関連を示唆するデータは得られなかった。 実験が当初の計画どおりに進まなかったため、代替案として pRb を発現させた時の他の概日リズム遺伝子の発現量を qPCR 法により定量した結果、転写抑制因子の発現が減少していることにより、Per2 プロモーター活性が上昇しているのではないかという知見が得られた。今後はこの得られた知見を、そのプロモーター解析等と組合せ、詳細に解明していく予定である。	
【成果等】	【主な論文発表】 なし	
	【学会発表】 三木貴雄 「がん抑制遺伝子 p53、PML と概日リズムの関連」日本解剖学会、日本生理学会合同大会（招待講演）2015 年 3 月 21-23 日 神戸国際会議場	
	【その他特筆事項】 なし	