

がん細胞のシスプラチン耐性獲得機構の解明

[1] 組織

代表者：松本 英樹
(福井大学・高エネルギー医学研究センター)
対応者：福本 学
(東北大学・加齢医学研究所)
分担者：成田 憲彦
(福井大学・医学部)
藤枝 重治
(福井大学・医学部)

研究費：物件費116,600円

[2] 研究経過

(2-1) 研究目的

がん治療研究において新たながん治療戦略の開発は、近年益々その重要性を増している。本共同研究は、その様な社会的背景に鑑み、がん細胞のシスプラチン耐性獲得機構を明らかにすることを目的とする。

(2-2) 研究の概要

がん細胞の放射線照射後の遺伝子発現の網羅的解析

- (1) 福本先生(東北大学)が樹立された臨床的放射線耐性細胞株(SAS-R1)とその親株(SAS)にX線(2 Gy)を照射し、その後の遺伝子発現動態をPCRアレイにより網羅的に解析し、シスプラチン処理後の遺伝子発現の変化を明らかにした。
- (2) (1)の遺伝子発現プロファイルを解析し、放射線耐性能獲得に関与していると思われる遺伝子の発現動態をRT-PCR、ウェスタンブロット、siRNA干渉アッセイ等により精査した。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

1. X線照射後の臨床的放射線耐性細胞の遺伝子発現変化

臨床的放射線耐性細胞(SAS-R1)にX線(2 Gy)を照射し、6時間後に全RNAを抽出し、RT-PCR array(Qiagen社のDNA Damage signaling pathway)を用いて、遺伝子発現動態を再度解析し、昨年度に見出した

細胞周期調節に関連する4遺伝子の内、X線照射により発現誘導され、そのタンパク質はG2/M arrestを誘導することが知られているZAK遺伝子に着目して、遺伝子発現、タンパク質発現、細胞周期動態等を精査した(具体的な遺伝子の名称は伏せさせて戴きます)。

- (1) PCRアレイによる網羅的遺伝子発現解析
細胞周期の調節に関与している数種の遺伝子が、非照射のものと比較して2倍以上に発現量が上昇していた(表1)。
- (2) RT-PCR解析において、ZAK遺伝子はX線照射(2 Gy)6時間後に有意に発現誘導されていることが確認された(図1)。
- (3) MTTアッセイによる放射線感受性試験において、siRNAによりX線によるZAK遺伝子の発現誘導を抑制すると、放射線感受性が高められることが認められた(図2)。
- (4) ウェスタンブロットによりsiRNA処理によるZAKタンパク質の発現抑制を確認した(図3)

表1. SAS-R1におけるX線照射後の遺伝子発現動態。

Genes	Rations of Up (+)-Regulation
A gene	+ 31.56
ZAK	+ 20.68
C gene	+ 7.94
D gene	+ 2.71
XRCC3	+ 2.30
RAD1	+ 2.19

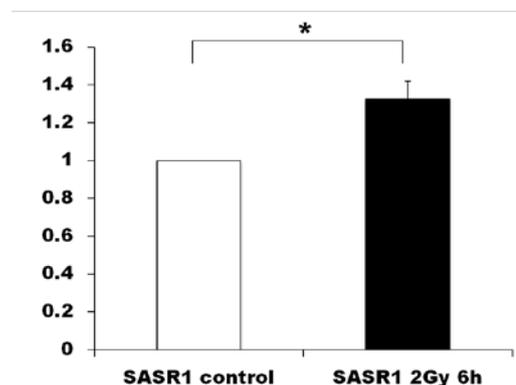


図1. SAS-R1におけるZAK遺伝子のX線照射後の遺伝子発現動態。

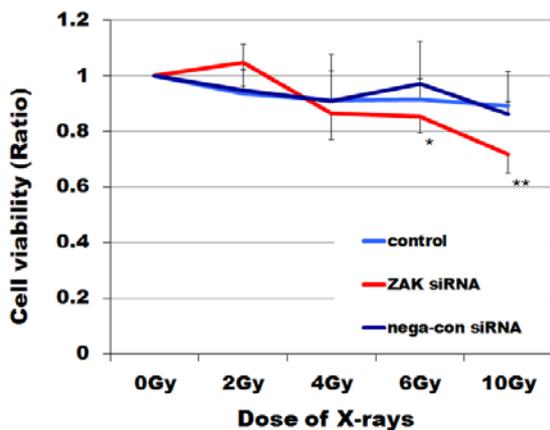


図2. siRNAによるZAK遺伝子発現抑制によるSAS-R1細胞の放射線感受性増感。

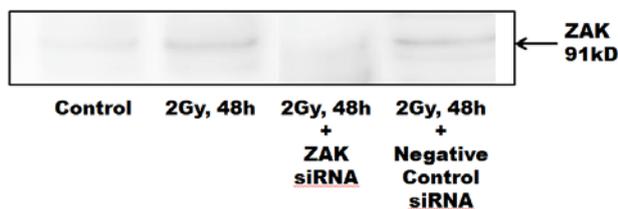


図3. SAS-R1細胞におけるsiRNAによるZAKタンパク質の発現抑制。

(3-2) 波及効果と発展性など

SAS細胞に毎日X線を照射して選択・確立した臨床的放射線耐性細胞(SAS-R1)の放射線耐性獲得に寄与している遺伝子を1つ同定した。今後、残りの3遺伝子について詳細に解析し、放射線耐性獲得のメカニズムの解明を目指したいと考えている。がん細胞の放射線耐性獲得のメカニズムの解明は、がん放射線治療における新規治療方法の開発につながる重要な成果となると確信している。

[4] 成果資料

(原著および総説)

1. Matsumoto, H., Tomita, M., Otsuka, K., Hatashita, M., Hamada, N.: Nitric oxide is a key molecule serving as a bridge between radiation-induced bystander and adaptive responses. *Curr. Mol. Pharmacol.* 4: 126 ~ 134, 2011.

(国際学会)

1. Matsumoto, H., Tomita, M., Otsuka, K., Maeda, M., Hatashita, M.: Nitric oxide is a key molecule serving as a bridge between

radiation-induced bystander and adaptive responses. **The 14th International Congress of Radiation Research.** Warsaw (Poland), 2011.

2. Matsumoto, H.: The evidence that low dose radiation involves non-targeted effects in targeted effects. **The Sugahara Memorial International Symposium.** Kyoto (Japan), 2012.
3. Matsumoto, H.: How to approach the microbeam experiments. -from broad- to mMicro-beams. **The 2nd Microbeam Experiment Training Course in the 10th International Workshop for Microbeam Probes of Cellular Radiation Response.** New York (USA), 2012. (Invited)

(特別講演)

1. 松本英樹, 富田雅典, 大塚健介, 前田宗利, 舟山知夫, 横田裕一郎, 武藤泰子, 坂下哲哉, 小林泰彦: アルゴン・マイクロビーム照射による放射線適応応答の誘導. 第6回高崎量子応用シンポジウム. 高崎市, 2011.
2. 松本英樹, 畑下昌範: 陽子線がん治療における低線量被ばくによる正常組織反応の機構解明. 第13回若狭湾エネルギー研究センター研究報告会. 福井市, 2011.
3. 松本英樹: NOをメディエーターとする生体応答 -基礎研究からイノベーションまで-. 第17回浜松自由基研究会. 浜松市, 2011.
4. 松本英樹: RadiosurgeryのためのRadiation Biology. 第3回放射線外科学会. 大阪市, 2012.
5. 松本英樹: 低線量被ばくを考える. 第10回九州放射線治療システム研究会. 福岡市, 2012.