

腫瘍の低酸素シグナル伝達系と放射線耐性機構との関連性

[1] 組織

代表者：濱 進 (京都薬科大学)
対応者：福本 学 (東北大学加齢医学研究所)
分担者：小暮 健太郎 (京都薬科大学)
中村 伊吹 (京都薬科大学)

研究費：物件費15万円，旅費34万円

[2] 研究経過

(2-1) 本研究の目的

腫瘍内には癌細胞の増殖に伴い低酸素領域が形成される。この低酸素領域の癌細胞は、酸素効果の低下により放射線照射に対して耐性を示すことが知られているが、その耐性機構については十分に明らかにされていない。これまでに放射線の単照射により、低酸素誘導因子 (HIF) が増大することが報告されており、癌細胞の放射線耐性機構として、単に酸素効果の低下では説明できず、HIF などの低酸素シグナルの関与する可能性が示唆されている。しかし、臨床における放射線耐性には、反復照射による細胞自身の特性変化と微小環境の変化により、複雑な耐性機構の関与が考えられるが、十分な検討がなされていないのが現状である。そこで、本研究では放射線の継続照射により作製した放射線耐性細胞を用いて、その耐性機構における低酸素シグナリングの関連性について検討することを目的として研究を行った。

(2-2) 本研究の概要

東北大学の福本先生が作製した臨床的放射線耐性細胞 HepG2 -8960-R および親株細胞 HepG2 を正常酸素下および低酸素下で培養し、細胞増殖における低酸素の影響を検討した。その結果、HepG2 -8960-R の低酸素培養により細胞生存能が増大した。この増大メカニズムとして、低酸素下において誘導されるミトファジーを介したミトコンドリア活性の増大が寄与していることが示唆された。

(2-3) 研究活動状況の概要

H23年6月24-25日：第17回癌治療増感研究会に参加した。

H23年9月16日：東北大学から京都薬科大学へ臨床的放射線耐性細胞 HepG2 -8960-R および親株細胞 HepG2 の送付。

H23年11月28-29日：東北大学加齢医学研究所の福本研究室にて研究進捗状況の報告および研究計画の打ち合わせを行った。

H24年3月5-6日：東北大学加齢医学研究所の福本研究室のセミナーに参加するとともに研究進捗状況の報告および研究計画の打ち合わせを行った。

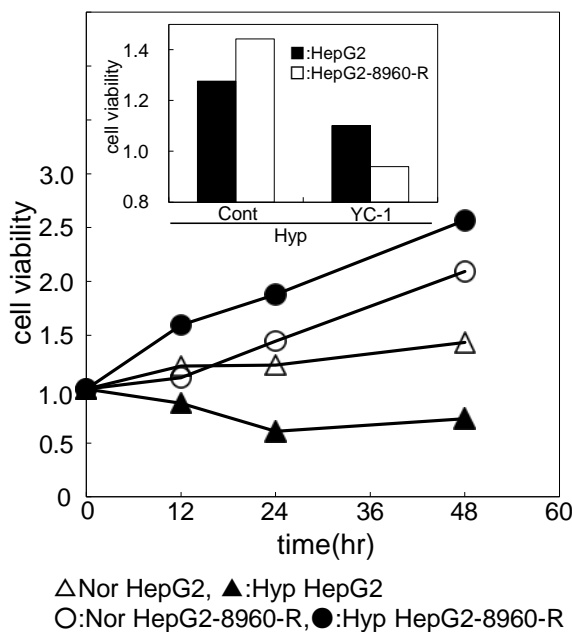
上記に加えて、加齢研の担当教員の福本先生とは随時メールで打ち合わせを行った。

[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。

まず第1に臨床的放射線耐性細胞 HepG2 -8960-R および親株細胞 HepG2 細胞生存活性に対する低酸素培養の影響を比較検討した。その結果、低酸素培養12時間後において、HepG2 -8960-R は HepG2 に比べて細胞生存活性の高いことが明らか



となった (下図)。

HepG2 -8960-R および HepG2 を正常酸素下 (Nor) または低酸素下 (Hyp) で培養し、細胞生存活性を Wst-1 assay により評価した。

第2に、HepG2 -8960-R において、低酸素誘導性の細胞生存活性の増大への低酸素誘導因子 (HIF) の関与について検討した。その結果、HIF 阻害剤処理により、HepG2 に比べて HepG2 -8960-R におい

て、細胞生存活性が大きく減少したことから、HepG2 -8960-RはHIF依存性の高いことが明らかとなった(上図、挿入図)。

第3に、HepG2 -8960-Rの耐性機構にオートファジーの抑制が関与していることが報告されていることから低酸素培養によるオートファジー誘導について検討した。その結果、正常酸素下ではオートファジーの抑制が認められたが、低酸素下では逆にオートファジーが促進された。さらにHepG2 -8960-R低酸素培養によりミトコンドリア量の低下が認められ、免疫染色によりミトコンドリアマーカーとオートファジーマーカーの共局在が観察されたことから、HepG2 -8960-Rの低酸素培養によりマイトファジーが誘導されたと考えられる。また細胞あたりのミトコンドリア活性の増大も認められた。すなわち、HepG2 -8960-Rの低酸素培養による細胞生存活性の増大には、マイトファジー誘導によるミトコンドリア活性の増大およびHIFの関与する細胞内生存シグナルの増大の結果であると推察される。

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究により、(3-1)に記載したように低酸素下の放射線耐性細胞は、マイトファジー誘導およびHIF依存性の増大を介して細胞生存活性が増大していることが示された。放射線治療において耐

性細胞の生存およびその増殖を阻害することは極めて重要であり、正常酸素下および低酸素下における放射線耐性機構を東北大学の福本先生の研究室と共同で進め、詳細を明らかにすることにより臨床応用可能な放射線増感療法の開発に繋がると考えられる。

[4] 成果資料

(1) 論文

投稿準備中である。

(2) 学会発表

癌の放射線耐性機構における低酸素シグナルの役割

濱進¹、中村伊吹¹、吉田菜以¹、桑原義和²、福本学²、土谷博之¹、小暮健太郎¹

(1 京都薬大, 2 東北大加齢医学研)

日本薬学会 第132年会、札幌、2012年3