

臨床的放射線耐性肝がん細胞の細胞増殖能獲得 メカニズムの解明—ErbB ファミリーの解析—

[1] 組織

代表者：大久保 恭仁（東北薬科大学）
対応者：福本 学（東北大学加齢医学研究所）
分担者：山本 文彦（東北薬科大学）
小林 智徳（東北薬科大学）
福本 学（東北大学加齢医学研究所）
桑原 義和（東北大学加齢医学研究所）
志村 勉（東北大学加齢医学研究所）

研究費：物件費 20万円

[2] 研究経過

（本研究の目的）

通常がん細胞は放射線により細胞死が起きるが、放射線耐性細胞が出現することが知られている。この放射線耐性がん細胞は放射線治療後のがんの再発という問題を引き起こす。何故放射線に耐性を示すがん細胞が細胞増殖能を有するのかを解明することは今後のがんの放射線療法にとって非常に重要な研究課題である。福本研はヒト肝がん細胞株 HepG2 から放射線に耐性を示すがん細胞 (HepG2-R) を樹立した。この HepG2-R が EGF 誘導性 DNA 合成能を有することを我々は見出したが、そのメカニズムは不明である。EGF 受容体は癌遺伝子産物である ErbB ファミリーの一員 (ErbB1) であるので、ErbB ファミリーおよび Met に焦点を絞りそのメカニズム解明を試みた。

（本研究の概要）

HepG2 及び HepG2-R の EGF 親和性を ^{125}I -EGF 結合実験で比較検討する。ついで EGF 刺激の有無で HepG2 及び HepG2-R の ErbB ファミリー (ErbB1, 2, 3) の発現量及び二量体形成量を比較検討する。さらにそれら二量体のリン酸化も比較検討する。ErbB ファミリーおよび Met の遺伝子レベルも比較検討する。

（研究打ち合わせ等の開催状況）

福本研とはデータ検討会を開くと同時に、メールで意見交換を随時行い次の実験計画を検討した。

[3] 成果

（3-1）研究成果

1. 今回、FACS による細胞周期の測定を行ったところ、HepG2-R において、5% 血清存在下（培養条件）で S 期の割合が HepG2 と比較して約半分であった。
2. 精製したゲノムへの 3H-チミジンの取り込み量も EGF 刺激なしでも EGF 刺激ありでも HepG2-R は、HepG2 と比較して約半分であった。
3. リアルタイム RT-PCR による ErbB family 及び Met の mRNA の発現量は、HepG2-R において HepG2 より EGFR (ErbB1)、ErbB2 で顕著に低下。Met は、僅かに低下。
4. ErbB family 及び Met のタンパク発現量は、EGFR (ErbB1)、ErbB2、ErbB3 で顕著に低下。Met は、ほとんど変化していない。
5. EGF 刺激による EGFR の二量体形成は、HepG2-R では、起こりにくい。
6. 更に HepG2 及び HepG2-R の EGFR の二量体は、ほとんど EGFR-EGFR のホモダイマーであり、ヘテロダイマーを検出することはできなかった。
7. ErbB3 は常にホモダイマーを形成していた。

以上の結果をまとめると、HepG2-R は、EGFR の発現量の減少と二量体形成量の低下が EGF 誘導性 DNA 合成能の低下に寄与していると推測される。

（3-2）波及効果と発展性など

HepG2-R が ErbB2, 3 の高発現により高い DNA 合成能を獲得する可能性が示唆された。そこで、これらの抗体と放射線の併用により放射線耐性肝がん細胞の増殖を抑制する可能性が考えられる。これが可能になれば、肝がんの放射線治療による完治も期待できると考える。

[4] 成果資料

(1) 論文

Enhancement of autophagy is a potential modality for tumors refractory to radiotherapy.
Cell Death & Disease. 2, e177, **56**, (2011)

(2) 学会発表

放射線耐性肝がん細胞の EGF 誘導性細胞増殖促進の作用機序の解明

小林 智徳^a, 齋藤 陽平^a, 桑原 義和^b, 福本 基^b,
山本 由美^a, 山本 文彦^a, 福本 学^b, 大久保 恭仁^a
東北薬科大学^a 東北大加齢研^b

第 84 回日本生化学会, 京都, 2011 年 9 月, プログラム 2 p-0388