

課題番号 3

臨床的放射線耐性肝がん細胞の細胞増殖、細胞生存・死の解析

[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: 齋藤 陽平(東北薬科大学)
山本 由美(東北薬科大学)
桑原 義和(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)

がん細胞は放射線照射により細胞死が誘導されるが、放射線に抵抗性を示す細胞が出現することも報告されている。このがんの再発を引き起こす放射線耐性がん細胞は、抗がん剤に対しても耐性を獲得することがある。放射線治療効果を高めるため、放射線耐性がん細胞の細胞死に対する抵抗性や細胞増殖の作用機序を解明することが必要であると考えられる。福本研においてヒト肝がん細胞株 HepG2 から臨床的放射線量に耐性能を持つ HepG2-8960-R が樹立された。この細胞株は、放射線耐性でありながら高い DNA 合成能を有している。さらに過去の研究において、HepG2-8960-R は、抗 EGFR 抗体セツキシマブに対して耐性を示すことも明らかになっている。本研究において、HepG2-8960-R のセツキシマブ耐性獲得の解明及び血清飢餓条件下における細胞応答の解析を試みた。

(本研究の概要)

HepG2-8960-R が EGF 非依存的に細胞増殖をすること、EGFR 発現低下の原因が mRNA レベルでの発現の抑制であるのかを確認する。EGFR のプロモーター領域のメチル化をメチル化特異的 PCR により解析する。

血清飢餓条件下における HepG2-8960-R の細胞死抵抗性を確認する。同条件下における細胞内シグナルの解析を行い、寄与するシグナル分子の探索を行う。

(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. HepG2-8960-R の細胞増殖能の解析

HepG2-8960-R は EGF 応答性細胞増殖能が著しく低い、血清条件下においては HepG2 と比較してわずかにしか細胞増殖能の低下が認められなかった。過去の研究において、HepG2-8960-R は HepG2 と比較して EGFR の発現量が低いことを確認していたが、この低下の原因が EGFR のプロモーター領域のメチル化の亢進が要因であることを明らかにした。

2. HepG2-8960-R の細胞死の解析

HepG2 は、血清飢餓条件下において増殖が停止し3日以内に細胞死が引き起こされ生存細胞数が著しく減少するが、HepG2-8960-R は同条件下において1週間後でも多くの細胞が生存することを明らかにした。詳細な検討の結果、この血清飢餓誘導性細胞死に対する抵抗性にトランスグルタミナーゼ2(TG2)の関与が考えられたため、HepG2 に TG2 を安定的に過剰発現する HepG2-TG2 細胞の作製を試みた。HepG2-TG2 は、HepG2-8960-R と同様に血清飢餓抵抗性を示した。

以上、放射線耐性肝がん細胞 HepG2-8960-R は、放射線やセツキシマブだけではなく血清飢餓誘導性細胞死に対しても抵抗性を示すことが明らかになった。

(3-2)波及効果と発展性など

がん細胞は正常細胞に比べ細胞分裂が盛んで放射線感受性が高いので、がんに対する放射線療法が用いられている。しかし、放射線耐性がん細胞の出現は放射線療法の限界を示すものである。今回の研究成果は放射線耐性がん細胞の細胞増殖能獲得とその性質を理解する上で重要な知見であり、放射線耐性がん細胞の増殖を抑制することができる治療法を確立できることが期待される。

[4]成果資料

(1)学会発表

肝がん細胞の TG2 による増殖応答制御

齋藤 陽平^a, 桑原 義和^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 87 回日本薬理学会年会, 仙台, 2014 年 3 月

肝がん細胞株 HepG2 の放射線耐性獲得に対する
Transglutaminase 2 の関与

安彦 亮^a, 齋藤 陽平^a, 桑原 義和^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

日本薬学会第 134 年会, 熊本, 2014 年 3 月