

臨床的放射線耐性肝がん細胞のアポトーシス抵抗性に対する TG2 の影響

[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)

放射線治療は悪性腫瘍の有効な治療法の一つであるが、放射線耐性を示す腫瘍やがん細胞の存在が根治を妨げ再発に関与することが報告されている。この放射線耐性がん細胞は、放射線だけではなく抗がん剤にも抵抗性を示す例が数多くあり、再発後の治療をより困難なものにしている。我々は放射線耐性がん細胞の細胞増殖・細胞生存機構を解明し、放射線治療効果を増大させる新たな方法の開発を目指している。これまでの研究では、福本研において樹立された臨床的放射線耐性ヒト肝がん細胞株 HepG2-8960-R を用いて細胞増殖能を中心に解析してきた。その結果 HepG2-8960-R は、EGFR のプロモーター領域のメチル化亢進により EGFR の発現が著しく低下しているため、抗 EGFR 抗体セツキシマブが作用しないことを明らかにした。また、HepG2-8960-R が親株と比較して TG2 の発現が高く、血清飢餓条件下でのアポトーシスに抵抗性を示すことも明らかにした。本年度は、放射線耐性細胞における放射線誘導性及び血清飢餓誘導性アポトーシスに対する抵抗性メカニズムの解析を目指して研究を行った。

(本研究の概要)

トランスグルタミナーゼ2 (TG2) 過剰発現細胞の作成と放射線照射による影響の解析を行った。さらに血清飢餓条件下における HepG2-8960-R の細胞死抵抗性の解析を行った。

(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-TG2 過剰発現細胞の作成と放射線照射

ヒト placenta cDNA library より TG2 をサブクローニングし、哺乳類発現ベクター pcDNA6.2/V5-GW/D-TOPO に組み、HepG2 にトランスフェクションし TG2 過剰発現 HepG2 (HepG2-TG2)を作成した。さらに Transglutaminase 活性または GTPase 活性を欠損させた TG2 を KOD Plus mutagenesis kit を用いて点変異を導入することで作成し、同様に HepG2 に発現させた細胞株を作成した。放射線感受性を調べるため、HepG2-TG2 のコロニー形成能を評価したところ、親株である HepG2 と有意差は認められなかった。一方、cell survival assay においては、HepG2-TG2 は HepG2 と比較して生存細胞数が多いことが明らかになった。また、HepG2-TG2 では放射線照射後の caspase 3 の活性化も抑制された。

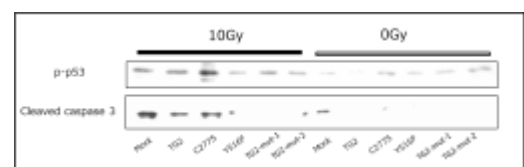


Figure. 放射線照射後の caspase 3 の活性化

2. HepG2-8960-R の血清飢餓条件下における細胞死抵抗性の解析

血清飢餓条件下 3 日目において、IkB α や cleaved PARP の発現の上昇が認められたが、HepG2 及び HepG-8960-R の間に有意差が認められるシグナル分子は見出せてはいない。今後、更なる解析が必要だと考えられる。

(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。放射線照射による放射線耐性細胞の細胞死抑制

機構を解明することは、放射線療法に新しい知見を与えることになる。さらに放射線療法と併用する放射線耐性細胞の出現を抑制する新規治療薬の開発につながることを期待される。

[4]成果資料

(1) 論文発表

Loss of EGF-dependent cell proliferation ability on radioresistant cell HepG2-8960-R

Saito Y., Abiko R., Kishida A., Kuwahara Y., Yamamoto Y., Yamamoto F., Fukumoto M., and Ohkubo Y.

Cell Biochem. Funct. (2015) **33**, 73-79

Guanine nucleotide-binding protein 1 is one of the key molecules contributing to cancer cell radioresistance

Fukumoto M., Tatsuya Amanuma T., Yoshikazu Kuwahara Y., Shimura T., Suzuki M., Mori S., Kumamoto H., Saito Y., Ohkubo Y., Duan Z., Sano K., Oguchi T., Kainuma K., Usami S., Kinoshita K., Lee I. and Fukumoto M

Cancer Science (2014) **105**, 1351-1359

(2) 学会発表

肝癌細胞株 HepG2 の放射線体制獲得に対する Transglutaminase 2 の関与

安彦 亮、齋藤 陽平、桑原 義和 a、山本 由美、山本文彦、福本 学 a、大久保 恭仁

第33回 分子病理学研究会, 宮城, 2014年7月, p26