

TG2による臨床的放射線耐性肝がん細胞の細胞増殖・細胞死の制御

[1]組織

代表者: 齋藤 陽平(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)
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 30万円

[2]研究経過

(本研究の目的)

放射線療法は、臓器の機能や形態の維持に優れ、全身への影響が少ない治療法である。放射線治療時に放射線照射により誘導される細胞死は、DNA 傷害を介すると考えられているが、治療効果低下とがん再発を引き起こす DNA 修復能の高い放射線抵抗性細胞の出現が問題となっている。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、福本研においてヒト肝がん細胞株 HepG2 より樹立された臨床的放射線耐性肝がん細胞 HepG2-8960-R を用い、放射線耐性細胞の細胞増殖能を中心に解析してきた。

本研究では、放射線耐性がん細胞の増殖抑制と放射線感受性の増大を目的として、増殖抑制と細胞死抵抗性に寄与するトランスグルタミナーゼ2 (TG2)の機能抑制による影響を検証する。

(本研究の概要)

TG2 過剰発現及びTG2機能欠損変異過剰発現細胞の安定株作製と放射線照射による影響の解析、細胞膜アンカー型TG2発現細胞の作製とその細胞死抑制効果の検討、臨床的放射線耐性肝がん細胞 HepG2-8960-R のTG2発現細胞の作製を行った。

(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

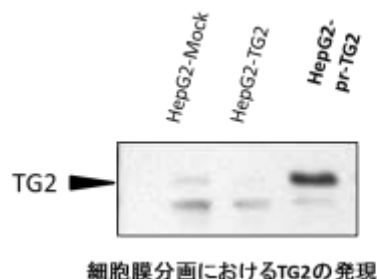
(3-1)研究成果

1. 放射線照射誘導性アポトーシスに対するTG2の影響

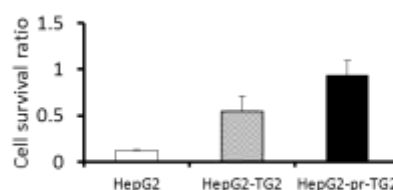
TG2 及び機能欠損変異TG2を安定的に発現している HepG2-TG2、HepG2-TG2C277S(アミド基転移不活性型)、HepG2-TG2R580A(グアニンヌクレオチド結合不活性型)を用いて放射線照射によるアポトーシス抑制への影響を解析した。HepG2-TG2 は、HepG2よりも放射線照射後 48 時間におけるアポトーシスを抑制したが、HepG2-TG2C277S では、放射線照射によりアポトーシスが著しく増加し、HepG2-TG2R580A でも放射線照射によるアポトーシスは増加傾向にあった。この結果は、p53の活性化やCaspase 3の活性化の結果と一致した。また、血清飢餓条件下での細胞死では HepG2-TG2C277S は耐性を示したが、HepG2-TG2W241A(アミド基転移不活性型)と、HepG2-TG2R580A は、耐性を示さなかった。従って、トランスグルタミナーゼ活性やGTPase活性以外の機能が血清飢餓条件下における細胞死抑制に寄与している可能性があることが示唆された。

2. 細胞膜アンカー型TG2の作製と細胞死に対する影響

TG2の細胞死抑制の作用機序を解明するために細胞膜アンカー型TG2(pr-TG2)を作製し、安定発現株HepG2-pr-TG2 を作製した。HepG

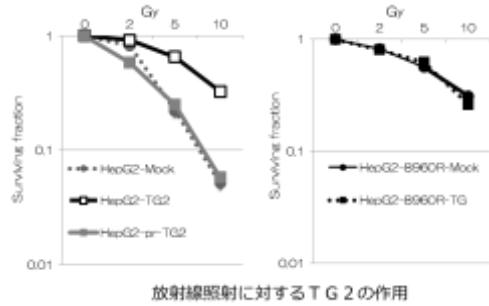


細胞膜分画におけるTG2の発現



血清飢餓条件下での細胞死に対する耐性

2-pr-TG2 は、血清飢餓条件下における細胞死を HepG2-TG2 よりも強力に抑制することが明らかになった。しかしながら、放射線照射による細胞死に対しては、全く抑制効果がないことが明らかとなった。従って、放射線照射による細胞死と血清飢餓条件下における細胞死に対するTG2の細胞死抑制作用はその機序が異なることが推測された。現在、更なる解析を進めている。



3. 臨床的放射線耐性肝がん細胞 HepG2-8960-R への TG2 過剰発現

HepG2-8960-R の放射線耐性能に対する TG2 の寄与を確認するため、HepG2-8960-R にTG2の機能欠損変異体の導入を計画した。臨床的放射線耐性細胞は、2Gy/day の照射を行うが、安定発現株作製に当たって、日々の放射線照射を行わない細胞を親株として用い、4 か月間放射線を行わない条件下で過剰発現細胞株を樹立した。しかしながら、作製後の細胞株の維持にも放射線照射を行わなかったが、Mock において放射線耐性能は維持されていた。また、HepG2-8960-R-TG2 においてもMockと同程度の放射線耐性能を有していた。現在、HepG2-8960-R のTG2機能欠損変異体の安定発現株を作製中である。

(3-2) 波及効果と発展性など

放射線耐性がん細胞の出現は放射線療法の妨げとなる。放射線照射による放射線耐性がん細胞の細胞死抑制機構を解明することによって、放射線療法に新しい知見を与えるだけでなく、新規抗がん剤の開発に繋がる結果が得られることが期待できる。さらに、放射線耐性能の獲得のメカニズムの一端も明らかにすることができ広く社会に貢献できると考えられる。

[4] 成果資料

なし