

○平成28年度奨励研究

「放射線抵抗性がん（がん幹細胞様細胞）の性質とHSP90阻害剤による抗がん効果」

放射線技術科学科 助教 藤井義大

1. 研究目的

放射線は、非侵襲性の癌治療法として、最近特に注目を集めている。IMRTや重粒子治療等、装置面での飛躍的な進歩に基づく局所制御の高度化が目覚ましい中で、今後の問題として転移の制御が浮き彫りになっている。

また、HSP (heat shock protein) 90は、抗がん剤として期待されている分子シャペロンの1つで、多くのがん関連蛋白質の安定性に関わっている。このため、HSP90阻害剤は複数の分子標的を同時に制御することが期待される。そこで、本研究ではこの放射線抵抗性がんを対象として転移に深く関わっている現象である遊走・浸潤能とHSP90阻害剤による抗がん効果を研究する。

2. 研究方法

使用細胞：肝臓癌由来の細胞であるHepG2と放射線抵抗性がん（がん幹細胞様細胞）としてHepG2-8960R（以後HepG2-Rとする。）

1) 放射線抵抗性がん細胞（がん幹細胞様細胞）の性質

放射線抵抗性がん細胞の放射線感受性、遊走・浸潤能を確認する。このため、培養ヒトがん細胞に放射線を照射し、がん幹細胞マーカーの存在の有無により、生存率がどのように変化するかを検討する。また、遊走能・浸潤能についても同様に検討する。

- ・コロニー形成法
- ・傷つけアッセイ法
- ・ウエスタンブロッティング法
- ・ボイデンチャンバーによる遊走・浸潤アッセイ法

2) HSP90阻害剤による抗がん作用

HSP90阻害剤を処理した放射線抵抗性がん細胞の生存率がどのように変化するかを検討する。

- ・コロニー形成法

3. 研究結果

1) 放射線抵抗性がん細胞（がん幹細胞様細胞）の性質

- ・放射線感受性

がん幹細胞マーカー(CD133)の有無により、放射線感受性の違いは観察できなかった(図1)。

- ・遊走能

傷つけアッセイ法による実験では、放射線抵抗性がん細胞の遊走能が亢進しているという事実は確認できなかった(図2)。

- ・浸潤能

浸潤能に関わるタンパク質の1つであるE-cadherinの発現が抑制されていることが観察でき、浸潤能が亢進している可能性が示唆されたが、ボイデンチャンバーによる遊走・浸潤アッセイ法では、浸潤能の有意な亢進は観察できなかった(図3)。

2) HSP90阻害剤による抗がん作用

数種のHSP90阻害剤による放射線抵抗性ががん細胞の生存率が低下することが観察できた（図4）。

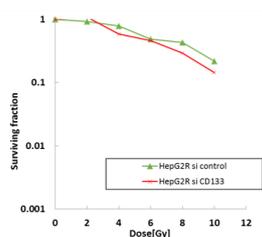


図1：がん幹細胞マーカー（CD133）の有無による放射線感受性

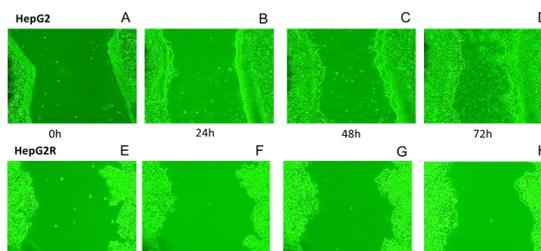


図2：傷つけアッセイ法による遊走能

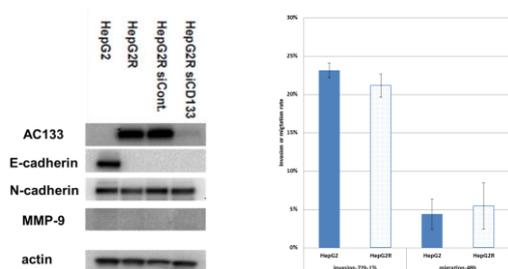


図3：浸潤能に関わるタンパク質の発現（左）
ボイデンチャンバーによる浸潤能（右）

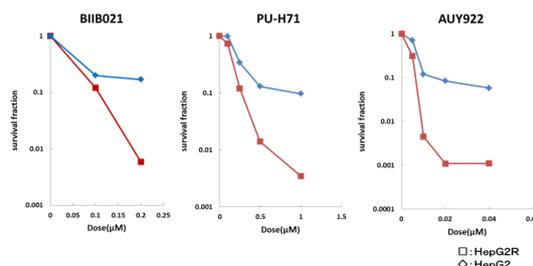


図4：HSP90阻害薬による放射線抵抗性ががん細胞の生存率

4. 考察（結論）

今回の研究では、放射線抵抗性ががん細胞の遊走・浸潤能とHSP90阻害剤に対する効果を調べた。

遊走能に関しては、有意な差は観察できなかった。浸潤能に関しては、タンパク質の発現レベルでは亢進している可能性を示唆する結果が得られた。しかし、ボイデンチャンバー法による、実際の浸潤の現象では、有意な差を観察することができなかった。よって、今回使用した放射線抵抗性ががん細胞においては、放射線抵抗性と遊走・浸潤能の有意な相関を見出すことはできなかった。

一方、HSP90阻害剤に対する効果に関しては、薬剤処理によって細胞の生存率が低減することを観察することができた。放射線に対しては抵抗性であるが、HSP90阻害剤に対しては非常に高感受性であることは、非常に興味深い現象である。この詳細な分子機序を解明することにより、将来の放射線抵抗性のがんに対する有効な治療法を確立できる可能性がある。

5. 成果の発表（学会・論文等、予定を含む）

1. Yoshihiro Fujii, Ohnishi Ken, Fukumoto Manabu, Kuwahara Yoshikazu, Suzuki Masatoshi

CD133陽性CRR細胞の放射線抵抗性の要因と走・浸潤能との関連性

第75回日本癌学会学術総会（横浜）2016年10月

2. Yoshihiro Fujii, Ohnishi Ken, Fukumoto Manabu, Kuwahara Yoshikazu, Suzuki Masatoshi

The relevance of CD133 to radio-resistance, migration and invasion ability in clinically relevant radio-resistant cell

The 62nd Annual Meeting of the Radiation Research Society

Hilton Waikoloa Village on the Big Island, HI on October 16-19, 2016.