

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：15501

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16315

研究課題名(和文)大腸癌細胞の解糖系を介した抗癌剤耐性獲得におけるc-MYCの役割解明

研究課題名(英文)Transcription factor c-MYC promotes chemoresistance through induction of glycolytic enzymes in human colon cancer cells

研究代表者

釘宮 成二 (KUGIMIYA, Naruji)

山口大学・医学部・特別医学研究員

研究者番号：70791515

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文):癌細胞の抗癌剤耐性獲得は大腸癌治療において大きな障壁となっており、予後不良因子の一つである。本研究では大腸癌の抗癌剤耐性獲得に際し、解糖系を介した転写因子c-MYCの役割を明らかにすることで、抗癌剤抵抗性獲得の分子メカニズムの一端を解明することが目的である。c-MYC阻害剤により大腸癌細胞株で解糖系酵素のヘキソカイネース発現が減少した。抗癌剤抵抗性を獲得した大腸癌細胞株ではヘキソカイネースの発現が亢進しており、c-MYC阻害剤により強力に発現が抑制された。抗癌剤耐性を獲得した大腸癌細胞株において解糖系の維持・亢進にc-MYCが大きく依存していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

転写因子c-MYCは大腸癌幹細胞のマーカー遺伝子の一つと報告され、その機能は多岐にわたり報告されている。抗癌剤抵抗性の獲得にも関与が示唆されているが、その詳細は明らかになっていない。今回c-MYCが解糖系酵素発現の維持および亢進に関与していること、および抗癌剤耐性を獲得した細胞において解糖系酵素の発現が亢進し、c-MYC依存的により強く維持および亢進に関与していることが示唆された。

研究成果の概要(英文):Acquisition of resistance of chemotherapy is a big problem in colon cancer. The aim of this investigation is to demonstrate that transcription factor c-MYC promotes chemoresistance through induction of glycolytic enzymes in human colon cancer cells. After inhibiting transcription factor c-MYC, the expression levels of Hexokinase 1 and 2 decreased. The levels of hexokinase 1/2 in chemoresistant human colon cancer cells were higher than the levels of hexokinase 1/2 in non-chemoresistant human colon cancer cells. In chemoresistant cancer cells, the expression levels of hexokinase 1/2 strongly suppressed by inhibiting c-MYC. Transcription factor c-MYC may be associated with maintenance and hyper acceleration of glycolysis in chemoresistant human colon cancer cells.

研究分野：消化器外科学

キーワード：大腸癌 c-MYC 解糖系

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

大腸癌細胞の抗癌剤抵抗性の獲得は、大腸癌治療における大きな障壁であり、予後不良因子の一つである。抗癌剤抵抗性獲得の分子メカニズムの解明は、新規の癌治療標的分子の同定につながる可能性があり、解明が求められている。先行研究により、転写因子 c-MYC が薬剤排出膜蛋白である ABC トランスポーターの発現を介した抗癌剤抵抗性の機序の一端、および c-MYC の発現レベルが大腸癌術後の無再発生存期間と相関性を示すことが明らかとなった。しかし c-MYC の機能は多岐に報告されており、すべては未だに明らかにされていない。c-MYC が解糖系に関わる様々な酵素群の発現を制御しているとの報告がなされており、抗癌剤抵抗性の獲得において、c-MYC による解糖系の制御を介した細胞生存力の亢進の可能性を考えた。追加して糖飢餓条件下では抗癌剤抵抗性や抗アポトーシス能が亢進することが報告されており、糖飢餓条件における c-MYC および解糖系の活性変化についても併せて検討を行うこととした。

2. 研究の目的

大腸癌細胞において、抗癌剤抵抗性獲得における c-MYC の役割を解糖系の制御という観点から *in vitro* で明らかにすることである。さらに糖飢餓環境下における c-MYC および解糖系酵素の活性の変化やそれらの役割について明らかにすることである。

3. 研究の方法

(1) *in vitro* において大腸癌細胞株である COLO205 と LoVo を用いて c-MYC 阻害剤 (10058-F4) を 50 μ M もしくは 100 μ M 濃度で 8 時間もしくは 24 時間、通常条件下と糖飢餓条件下で投与し、c-MYC および解糖系酵素の発現量を Western blotting を用いて確認した。

(2) 大腸癌細胞株 CAC02 に抗癌剤投与を継続しつつ継代し、抗癌剤抵抗性を獲得した大腸癌細胞株 (chemoresistant CAC02) を樹立した。大腸癌細胞株 CAC02 と抗癌剤抵抗性を獲得した大腸癌細胞株 chemoresistant CAC02 に c-MYC 阻害剤を投与し、解糖系酵素の発現量を Western blotting を用いて確認した。

4. 研究成果

(1) 大腸癌細胞株 LoVo では糖飢餓によりヘキソキナーゼ 1 (HK1) および 2 (HK2) の蛋白発現が増加し、c-MYC 薬理的阻害により、HK1/2 の蛋白発現が容量依存的に低下し、糖飢餓条件下ではより顕著に抑制が認められた (図 1)。代謝系 reprogram の際に c-MYC 依存的に HK1/2 の発現が誘導され、解糖系が活性化したと考えられる。また c-MYC 阻害により HK1/2 は mRNA も抑制され、転写による制御が示唆された。大腸癌細胞株 COLO205 では糖飢餓による HK1/2 の発現増加は認められなかったが、c-MYC 薬理的阻害により LoVo と同様の HK1/2 発現低下と糖飢餓条件下でのより強い抑制効果が同様に認められた (図 2)。上記の機構はヒト大腸癌細胞株に共通する可能性が示唆された。

(2) CAC02 大腸癌細胞株に 5-FU 抗癌剤投与を継続しつつ継代を繰り返し、抗癌剤抵抗性細胞株を樹立した。生細胞測定試薬を用いて抗癌剤投与後の生細胞率を測定し、大腸癌細胞株 CAC02 の抗癌剤抵抗性獲得を確認した (図 3)。大腸癌細胞株 CAC02 で c-MYC 阻害剤による薬理的阻害により、通常条件下と糖飢餓条件下の両方で HK1/2 蛋白の発現低下を確認した (図 4)。抗癌剤抵抗性を獲得した大腸癌細胞株 chemoresistant CAC02 では通常条件下と糖飢餓条件下の両方で HK1/2 蛋白発現の亢進が確認された。通常条件下では c-MYC 薬理的阻害による HK2 蛋白の発現低下は認めず、逆に増加を認めた。そして糖飢餓条件下では HK1/2 蛋白の発現が強く抑制された (図 4)。抗癌剤耐性を獲得した細胞株において解糖系の維持・亢進に c-MYC が大きく依存していることが示唆された。

今後実験サンプル数を増やし、データを解析するため実験を継続する予定である。

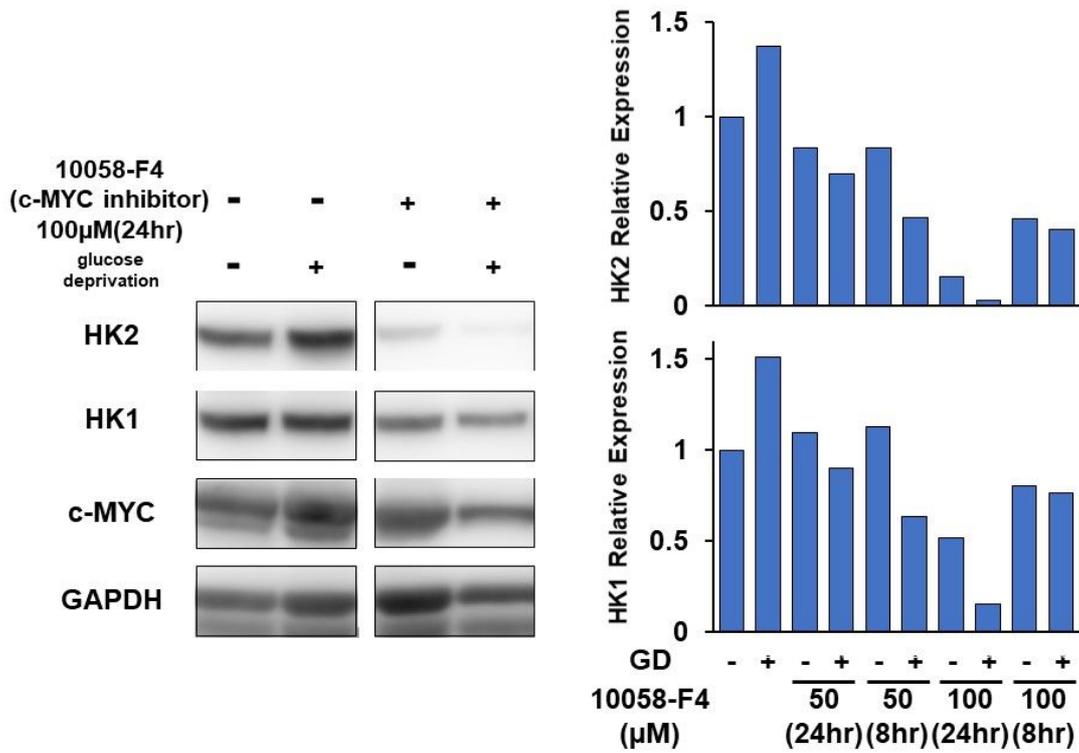


図1 LoVo大腸癌細胞株における通常培地と糖飢餓条件培地下でのc-MYC阻害剤投与による解糖系酵素蛋白の発現量変化

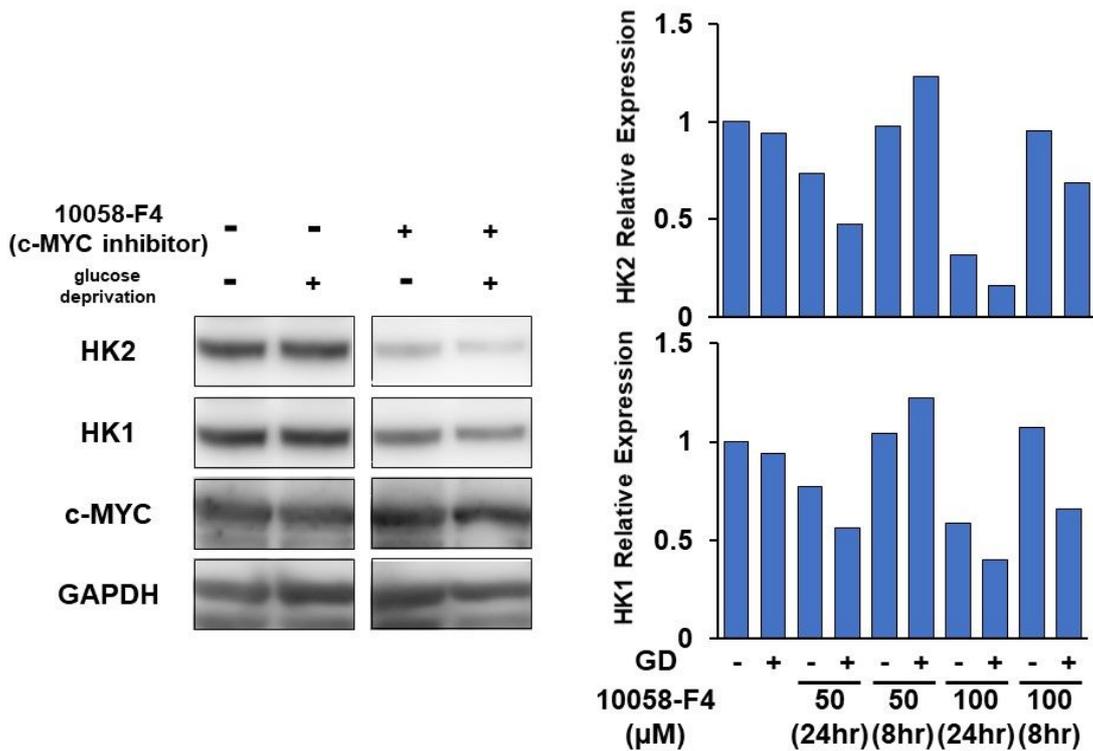


図2 COLO205大腸癌細胞株における通常培地と糖飢餓条件培地下でのc-MYC阻害剤投与による解糖系酵素蛋白の発現量変化

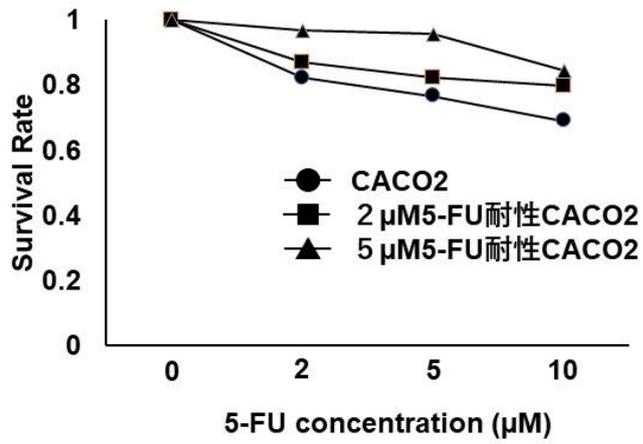


図3 5-FU投与によるCACO2と抗癌剤耐性CACO2の細胞生存率

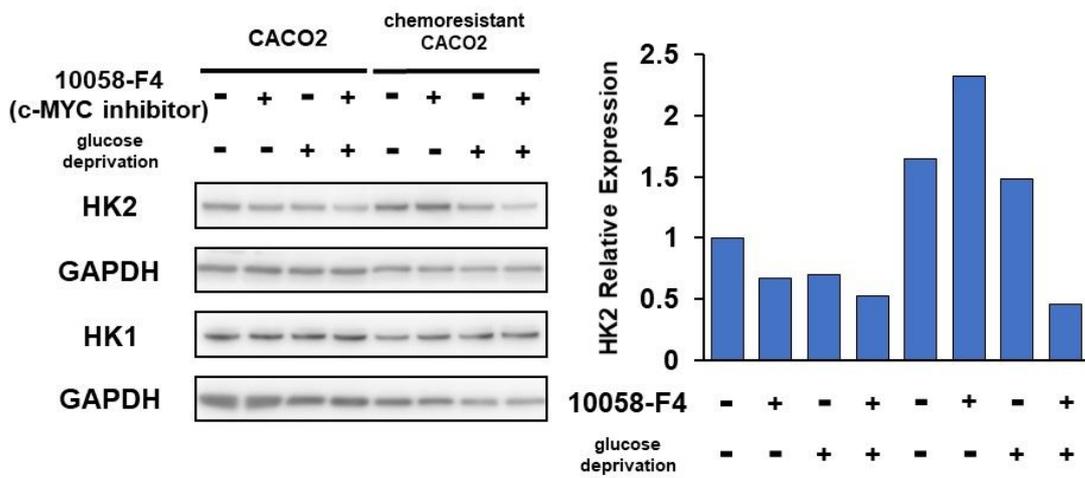


図4 CACO2大腸癌細胞株と抗癌剤抵抗性獲得CACO2大腸癌細胞株における通常培地と糖飢餓条件培地下でのc-MYC阻害剤投与による解糖系酵素蛋白の発現量変化

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----