

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 27 日現在

機関番号：15101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670368

研究課題名(和文)レチノイドによる細胞内分子制御による肝細胞癌の抗癌剤感受性増強効果

研究課題名(英文)Enhancing effect of retinoids on anti-cancerous drugs by regulating intracellular molecules

研究代表者

汐田 剛史 (Shiota, Goshi)

鳥取大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：70263457

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：オールトランスレチノイン酸(ATRA)は、5種類の抗癌剤(5-FU、シスプラチン、ソラフェニブ、マイトマイシンC、アドリアマイシン)の抗腫瘍作用を増強した。ATRAはソラフェニブの抗腫瘍効果を増強したが、その作用機序にAMPKの活性化、ATP産生低下、解糖系抑制、BAX誘導、アポトーシス誘導、p38とJNK活性増強、BAXのミトコンドリア移行の増強の促進、等が関連していることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：All-trans retinoic acid (ATRA) enhanced the antitumor effects of five anti-cancerous drugs such as 5-FU, cisplatin, sorafenib, mitomycin C, and adriamycin. The effect of ATRA on sorafenib is related to activation of AMPK, decreased production of ATP, suppression of glycolysis, induction of Bax, apoptosis induction, activation of p38 and JNK, and translocation of Bax to mitochondria.

研究分野：肝臓学

キーワード：レチノイド 肝細胞癌 抗腫瘍効果 作用増強 AMPK

様式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 肝細胞癌は予後不良の癌腫である。  
 (2) 肝細胞癌の生存率を向上させる抗癌剤はソラフェニブのみである。

(3) AMPK は細胞内エネルギーセンサーであり、癌細胞で発現が低下しているが、AMPK の活性化は癌の治療を促進する可能性がある。

(4) レチノイドは AMPK の発現を促進すると報告されている。

2. 研究の目的

(1) レチノイドにより肝癌細胞に対して抗腫瘍効果を増加するかを明らかにする。

(2) レチノイドにより抗癌剤の抗腫瘍効果が促進される場合、AMPK の関与を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) オールトランスレチノイン酸 (ATRA) と NIK333 による肝癌細胞株 HepG2 への作用の検討

(2) 5 種類の抗癌剤 (adriamycin, cisplatin, mitomycin, sorafenib, 5-FU) の効果を検討する。

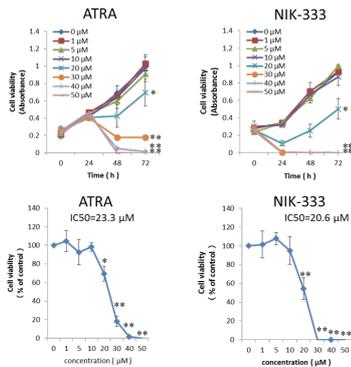
(3) 5 種類の抗癌剤と ATRA と NIK333 の併用効果を検討する。

(4) AMPK の関与を検討する。

(5) 抗癌剤の作用をレチノイドが増強する場合に、その機序を明らかにする。

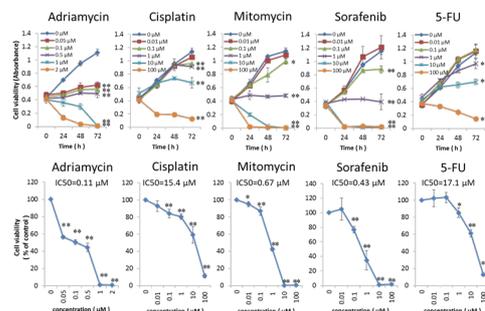
4. 研究成果

(1) 天然レチノイド ATRA と合成レチノイド NIK333 による HepG2 細胞の増殖への影響



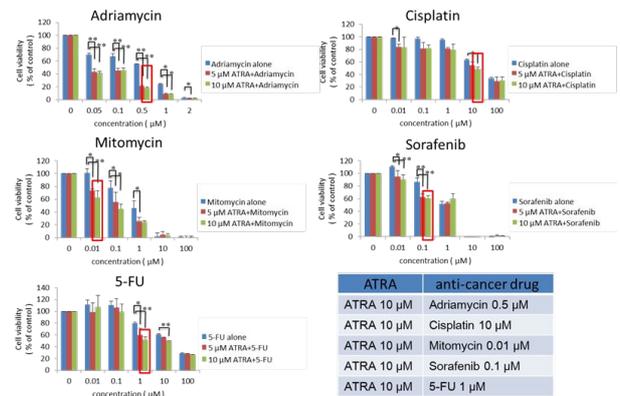
ATRA と NIK333 はともに、濃度依存性、時間依存性に HepG2 細胞の増殖を抑制した。

(2) 5 種類の抗癌剤 (adriamycin, cisplatin, mitomycin, sorafenib, 5-FU) の効果の検討



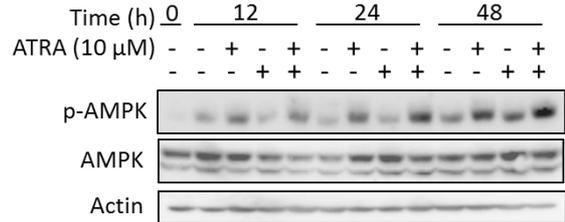
5 種類の抗癌剤は、濃度依存性、時間依存性に HepG2 細胞の増殖を抑制した。

(3) レチノイドと抗癌剤併用の抗腫瘍効果



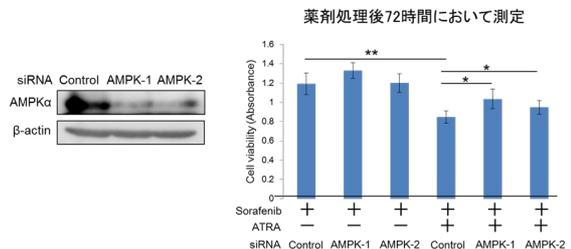
レチノイドを細胞増殖に影響のない濃度の 5μM、10μM で用い、5 種類の抗癌剤を併用して、細胞生存率の検討を行った。ATRA との併用では、5 種類全ての組み合わせで抗腫瘍効果の増強が認められ、抗癌剤単独に比べ、最も細胞増殖を抑制した濃度の組み合わせは、表に示す。

(4) ATRA とソラフェニブ併用による AMPK の活性化



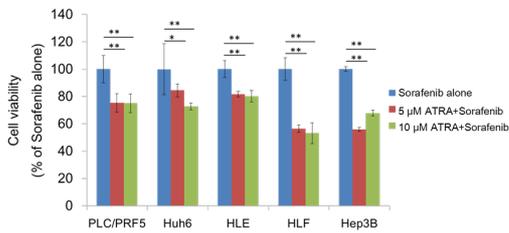
ATRA 単独および、sorafenib と ATRA の併用処理後 12、24、48 時間で sorafenib 単独に比べ、AMPK の活性化が認められ、他の 4 種類の抗癌剤と ATRA の併用では AMPK の活性化は見られなかった。

(5) AMPK 発現抑制が抗腫瘍効果に及ぼす影響についての



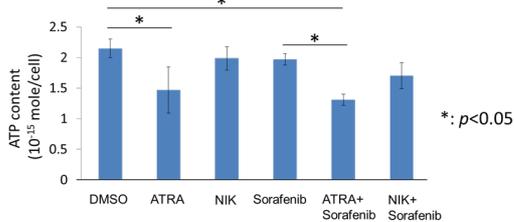
AMPK siRNA により ATRA + Sorafenib 併用の抗腫瘍効果がキャンセルされた。したがってこの抗腫瘍効果の増強における AMPK の関与が示唆された。

(6) ATRA による各種肝癌細胞株での抗腫瘍効果の増強



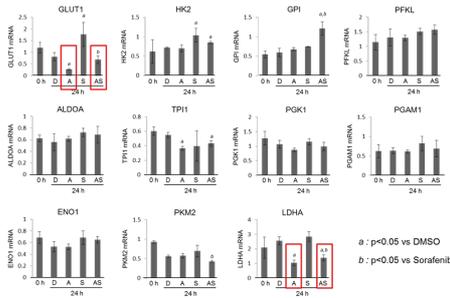
(7) Sorafenib とレチノイドによる細胞内 ATP 量について検討

ATRA (10 μM)、NIK-333 (10 μM)、Sorafenib (0.1 μM) 処理後24時間において測定



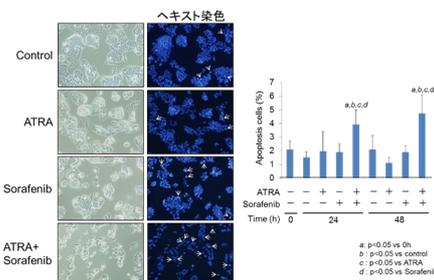
ATRA (10 μM)、NIK-333 (10 μM)、Sorafenib (0.1 μM) で処理後 24 時間において測定したところ、ATRA 単独および Sorafenib との併用において細胞内の ATP 量の低下が認められ、NIK333 においては認められなかった。

(8) Sorafenib と ATRA 処理による解糖系関連遺伝子の発現変化

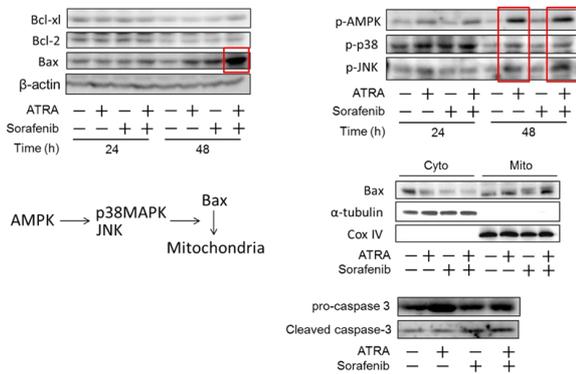


グルコース取り込みに関わる GLUT1、乳酸合成に関わる LDHA では ATRA 単独および sorafenib との併用で有意な発現低下が認められた。したがってこれらの変化は解糖系におけるエネルギー産生の低下と関わると考えられた。

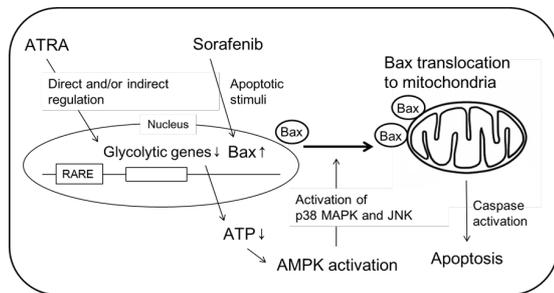
(9) ATRA とソラフェニブの併用によるアポトーシス誘導



(10) ATRA と Sorafenib の併用におけるアポトーシス誘導の機序



(11) ATRA とソラフェニブによるアポトーシス誘導機序



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Naoki Ishijima, Keita Kanki, Hiroki Shimizu, Goshi Shiota, Activation of AMP-activated protein kinase by retinoic acid sensitizes hepatocellular carcinoma cells to apoptosis induced by sorafenib, Cancer Science, 査読あり、10.1111/cas.12633,2015、

〔学会発表〕(計 5 件)

神吉けい太、石島直樹、汐田剛史、レチノイドによる肝細胞癌抗癌剤感受性増強効果と細胞内エネルギー代謝への影響、日本消化器癌発生学会総会、2014年11月13日~14日、ホテル日航福岡、福岡市

神吉けい太、石島直樹、汐田剛史、肝細胞癌における all-trans レチノイン酸の解糖系抑制作用と AMPK 活性化を介した抗癌剤感受性増強効果、日本レチノイド研究会、2014年10月11日~12日、秋田大学、秋田市

石島直樹、神吉けい太、坂部友彦、汐田剛史、肝細胞癌におけるレチノイドの抗癌剤感受性増強効果と細胞内エネルギー代謝への影響、日本癌学会総会、2014年9月25日~27日、横浜パシフィコ、横浜市

神吉けい太、石島直樹、汐田剛史、レチ

ノイドによる肝細胞癌の抗癌剤感受性増強効果と AMPK 活性化への影響、肝細胞研究会、2014年6月27日～28日、東京医科歯科大、東京都  
石島直樹、神吉けい太、坂部友彦、汐田剛史、肝細胞癌に対するレチノイドによる抗癌剤の抗腫瘍効果増強作用の検討、日本肝臓学会総会、2014年5月29日～30日、ホテルニューオータニ、東京都

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

汐田 剛史 (SHIOTA Goshi)  
鳥取大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号：70263457

### (2) 研究分担者

神吉 けい太 (KANKI Keita)  
鳥取大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号：10516876