

平成 22 年 5 月 21 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20791546
 研究課題名（和文）口腔癌における低酸素環境による薬剤耐性機序の解析と新規効果予測マーカーの確立
 研究課題名（英文）Hypoxia induces resistance to 5-fluorouracil in oral cancer cells via G(1) phase cell cycle arrest.

研究代表者
 内田 真紀子（UCHIDA MAKIKO）（助教）
 昭和大学・歯学部・助教
 研究者番号：20453631

研究成果の概要（和文）：口腔扁平上皮癌細胞を低酸素環境下において培養した際、細胞増殖に対して抑制的に働き、5-FU に対して耐性を獲得する Hypoxia sensitive cell lines (HS, Group ①) と細胞増殖に対して常酸素環境下と変化が見られず、5-FU に対しても感受性の変化が見られない Hypoxia resistant cell lines (HR, Group ②) に分けられる事を明らかにした。今回、5-FU に対する耐性獲得機序について明らかにすると共に、5-FU の効果予測マーカーとなり得る候補分子を同定することが出来た。

研究成果の概要（英文）：OSCC cells were divided to two groups by the proliferation activity under hypoxic condition; hypoxia-resistant (HR) and hypoxia-sensitive (HS) cells. Growth of HS cells were inhibited by hypoxia and introduced to G(1) arrest in cell cycle. 5-FU effect on HS cell viability was markedly reduced in hypoxic condition without an induction of chemoresistant related protein, P-glycoprotein. However, proliferation, cell cycle, and 5-FU sensitivity of HR cells were not affected by hypoxia. Hypoxia-inducible factor (HIF)-1alpha was induced by hypoxia in all OSCC cell lines, but diminished in HS cells within 48h. Expression of p21 and p27 was strongly augmented and CyclinD expression was reduced by hypoxia in HS cells. However, the expression of these proteins was constitutive in HR cells during 48h hypoxic culture. Phosphorylation of mammalian target of rapamycin (mTOR) was reduced by hypoxia in HS cells. From these findings, we concluded that HS OSCC cells acquire 5-FU resistance under hypoxia by G(1)/S transition through an upregulation of cell cycle inhibitors.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
20 年度	1400000	420000	1820000
21 年度	1600000	480000	2080000
年度			
年度			
年度			
総計	3000000	900000	3900000

研究分野：歯学

科研費の分科・細目：口腔外科

キーワード：口腔癌、抗癌剤耐性

1. 研究開始当初の背景

腫瘍細胞の増殖と血管系構築の不均衡によって、固形腫瘍内部には十分な酸素が供給されない低酸素細胞が存在する。低酸素細胞は、放射線療法や化学療法に対し抵抗性を示し治療成績の低下や再発の原因となっている。そのため、低酸素細胞を標的とした癌治療は治療効果の向上、さらには、口腔癌の予後の向上に寄与すると考える。

2. 研究の目的

口腔扁平上皮癌細胞の低酸素環境下における 5-FU に対する耐性獲得機序の解

析を行う。また、5-FU に対する治療効果予測の有効な診断マーカーの検索の為、遺伝子発現

プロファイルの網羅的な解析を行う。さらに、低酸素環境下における 5-FU 抵抗性の解除によ

る治療効果の向上を目的とする。

3. 研究の方法

口腔扁平上皮癌細胞を低酸素環境下において培養した際、細胞増殖に与える影響と 5-FU に対する感受性について解析した。さらに、Western blot 法、Real time PCR、フローサイトメトリー等の手法を用いて 5-FU 耐性獲得機序の解析を行った。また、Affymetrix 社の GeneChip Expression Analysis System を用いて低酸素応答性の相違に関する遺伝子を特定し、特定された遺伝子を siRNA によってノックダウンし、機能解析を行った。さらに、その遺伝子が 5-FU に対する治療効果予測の有用な診断マーカーとなり得るかを検討した。

4. 研究成果

口腔扁平上皮癌細胞を低酸素環境下において培養した際、細胞増殖に対して抑制的に働き、5-FU に対して耐性を獲得する Hypoxia sensitive cell lines (HS, Group①)と細胞増殖に対して常酸素環境下と変化が見られず、5-FU に対しても感受性の変化が見られない Hypoxia resistant cell lines (HR, Group ②)に分けられる事を明らかにした。

5-FU に対する耐性獲得機序を明らかにする目的で、その細胞増殖に与える影響をフローサイトメトリーを用いて解析したところ、HS グループにおいては G1 期での細胞周期の停止が生じていることが分かった。

Western blot 法を用いて HIF-1 α 、細胞周期関連蛋白の発現を解析したところ、細胞周期関連蛋白の発現にも 2つのグループにおいて差が確認出来た。

これらの研究結果から、口腔扁平上皮癌細胞株は低酸素環境下において G1 期での細胞周期の停止を介して 5-FU に対して耐性を獲得していることが明らかとなった。

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)

Hypoxia induces resistance to 5-fluorouracil in oral cancer cells via G(1) phase cell cycle arrest.

Oral Oncol. 2009 Feb;45(2):109-15.

Yoshiba S, Ito D, Nagumo T, Shirota T, Hatori M, Shintani S.

[学会発表] (計 4 件)

第 44 回日本口腔組織培養学会

荻葉清香、内田真紀子、伊東大典、南雲達人、

代田達夫、羽鳥仁志、新谷悟

『口腔扁平上皮癌細胞の低酸素環境下における 5-fluorouracil に対する 耐性獲得機序の解析』

European Association for Cranio-Maxillofacial Surgery 9th - 12th September 2008 Bologna, Italy

Hypoxia induces resistance to 5-fluorouracil via G1 arrest

S. Yoshiba, D. Ito, T. Nagumo, T. Shirota, M. Hatori, S. Shintani

日本癌学会総会 2008 年

低酸素下において口腔扁平上皮癌細胞は G1 期での細胞周期停止を介して 5-fluorouracil に対して耐性を獲得する

荻葉清香、内田真紀子、伊東大典、南雲達人、

代田達夫、羽鳥仁志、新谷悟

第 28 回昭和歯学会例会

荻葉清香、伊東大典、南雲達人、代田達夫、

羽鳥仁志、新谷悟

「口腔扁平上皮癌細胞の低酸素環境下における 5-fluorouracil に対する耐性獲得機序の解析」

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

内田 真紀子（助教）

研究者番号：20453631

(2) 研究分担者

研究者番号：

(3) 連携研究者

葭葉 清香（員外助教）

南雲 達人（員外助教）

研究者番号：60555358