

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 14 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～ 2011

課題番号：22791282

研究課題名（和文） ビデオマススコープ法による抗癌剤耐性メカニズムの解明

研究課題名（英文） Explication of the mechanism of chemoresistance using video mass scope

研究代表者

津谷 康大（TSUTANI YASUHIRO）

広島大学・原爆放射線医科学研究所・助教

研究者番号：10534985

研究成果の概要（和文）：

ヒト胃癌細胞株、ヒト食道癌細胞株に対する抗癌剤耐性株 4 種に対しマイクロアレイにて網羅的解析を行い、5-FU, oxaliplatin, CPT-11 に関する抗癌剤耐性関連遺伝子を同定した。特に oxaliplatin においては耐性株にて up regulation している遺伝子 AGR2, MUC4, LGALS7, GJB6, KDM5D、down regulation している遺伝子 FLRT2, SLC25A27, ANKRD20A1, FRG1, SAMD4A をそれぞれ同定した。

研究成果の概要（英文）：

We performed microarray analyses for chemoresistant cell lines such as gastric cancer and esophageal cancer. We found chemoresistance related genes for 5-FU, oxaliplatin, and CPT-11, respectively. Especially, in oxaliplatin resistant cell lines, we discovered common up regulated genes such as AGR2, MUC4, LGALS7, GJB6, and KDM5D, and down regulated genes such as FLRT2, SLC25A27, ANKRD20A1, FRG1, and SAMD4A.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：抗癌剤耐性株

1. 研究開始当初の背景

消化器癌治療において化学療法は非常に重要な役割を担っているが、化学療法の効果には個人差があるため治療への反応性を事前に予測し、患者の特性に応じた最適な薬物療法を選択することが理想である。近年のゲノム解析技術の進展により、テーターメード医療の実現に向けさまざまなトランスレーショナルリサーチが行われているが、実地臨床に応用されるまでには至っていないのが現状である。よって、有効な抗癌剤効果予測因子を解明し、化学療法の成績を向上させることが必要である。

2. 研究の目的

我々が独自に樹立した抗癌剤耐性細胞株を用い、親株とマイクロアレイ解析、質量分析計によるメタボローム解析などで比較することにより抗癌剤耐性に大きく関わる遺伝子を同定することを目的とした。

3. 研究の方法

胃癌細胞株 MKN45 から樹立した 5-FU 耐性株 MKN45/F2R、oxaliplatin 耐性細胞株 MKN45/L2R、CPT-11 耐性細胞株 MKN45/C2R、食道癌細胞株 TE13 から樹立した oxaliplatin 耐性株 TE13/L10R を用いた。マイクロアレイ

にて親株と耐性株を比較し網羅的解析を行った。また、MKN45/F2R とその親株 MKN45 に対し、質量分析計を用い薬剤投与下において網羅的メタボローム解析を行った。

4. 研究成果

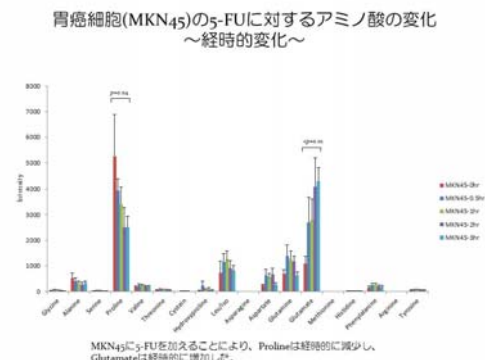
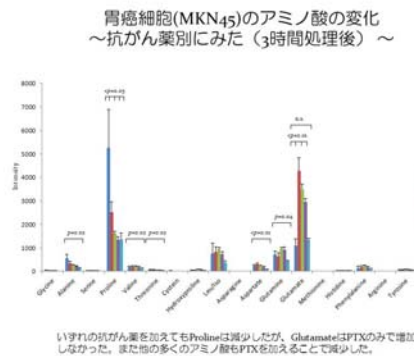
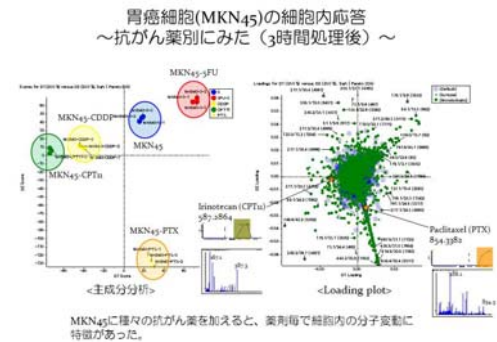
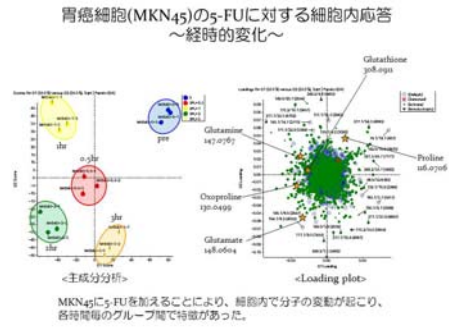
胃癌細胞株 MKN45 を用い、5-FU 耐性株 MKN45/F2R、オキサリプラチン耐性株 MKN45/L2R、CPT-11 耐性株 MKN45/C2R を樹立した。また、食道癌細胞株 TE13 を用い、オキサリプラチン耐性株 TE13/L10R を樹立した。抗癌剤の感受性については、それぞれの耐性株は MTT アッセイにて親株と比較し 20~160 倍程度の強い耐性を獲得していることを確認した。

マイクロアレイ解析においては、親株に対し変動倍率 2.0 にて有意に変化している遺伝子を特定した。MKN45/F2R では 302 遺伝子、MKN45/L2R では 480 遺伝子、MKN45/C2R では 633 遺伝子を同定した。また TE13/L10R においては変動倍率 5.0 にて 458 の有意に変化している遺伝子を同定した。特に oxaliplatin 耐性株においては 2 種の耐性株にて共通して up regulation している遺伝子 AGR2, MUC4, LGALS7, GJB6, KDM5D、共通して down regulation している遺伝子 FLRT2, SLC25A27,

ANKRD20A1, FRG1, SAMD4A をそれぞれ同定した。これらの複数の耐性細胞株に共通して発現した遺伝子についての意義は大きく、臨床応用できる可能性がある。

質量分析計を使用し、親株、耐性株に抗癌剤を投与し、細胞内の分子応答を解析した。胃癌細胞株に5-FU、CDDP、CPT-11、Paclitaxelを投与し経時的にアミノ酸の変化を観察した。5-FU、CDDP、CPT-11においては投与後に特定のアミノ酸の増加が観察され、paclitaxel投与時には観察されなかったことから、DNA標的抗癌剤投与による細胞内応答に特定のアミノ酸が深く関与していることが示唆された。また抗癌剤の種類により細胞内応答が異なり、この検出に質量分析計は有用である。

	Gene	fold change
up regulation	AGR2	397.5
	MUC4	113.9
	LGALS7	69.2
	GJB6	45
	KDM5D	38.5
down regulation	FLRT2	73.7
	SLC25A27	42.8
	ANKRD20A1	35.4
	FRG1	25.4
	SAMD4A	25.1



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)

1. Mima T, Okada M, Hagiya M, Miyata M, Tsutani Y, et al. Upregulation of notch2 and six1 is associated with progression of early-stage lung adenocarcinoma and a more aggressive phenotype at advanced stages. Clinical Cancer Research 査読有 2012, 15: 945-55.

[学会発表] (計 2 件)

1. 笹田伸介、メタボローム解析によるヒト胃癌細胞株の抗がん薬に対する細胞内分子応答および耐性因子の探索、第 112 回日本外科学会定期学術集会、2012 年 4 月 12-14 日、千葉

2. 笹田伸介、質量分析法を用いたヒト胃癌細胞株における抗がん薬に対する細胞内分子応答の解析、第 83 回日本胃癌学会総会、2011 年 3 月 4 日、青森

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

津谷 康大 (TSUTANI YASUHIRO)

広島大学・原爆放射線医科学研究所・助教
研究者番号：10534985

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：