

令和 2 年 6 月 24 日現在

機関番号：32610

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2016～2019

課題番号：16K10550

研究課題名（和文）結腸直腸癌における高酸素・高圧酸素併用化学療法の有効性について

研究課題名（英文）Efficacy of combined chemotherapy of hyperoxia and hyperbaric oxygen in colorectal cancer

研究代表者

小林 敬明（Kobayashi, Takaaki）

杏林大学・医学部・助教

研究者番号：10439169

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：低酸素環境でHIF1 が高発現する大腸癌細胞株DLD1、HCT116を用いて抗がん剤感受性の変化を検討を行ったが、通常酸素環境下（normoxia）に比較して低酸素環境下（hypoxia）では抗がん剤暴露時の生存率が上昇する傾向であった。しかし両郡を比較すると有意差を認めず、再検討したが同様の結果であった。よって低酸素環境は抗がん剤の感受性に変化を与えない決意論に至った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

低酸素環境は抗がん剤感受性を低下させる一因と仮定して検討を行った。低酸素環境では抗がん剤暴露後の大腸癌細胞の生存率は高い傾向であったが、通常酸素環境と比較して有意差の結果は出なかった。また、通常の2D培養では発現しづらい低酸素環境を3D培養により見いだせると考えたが、こちらも低酸素環境での3D培養自体ができず、一定の知見を得るに至らなかった。今後は実験精度を上げるか、他の解析方法による検討が必要と思われる。

研究成果の概要（英文）：We examined changes in anticancer drug susceptibility using colon cancer cell lines DLD1 and HCT116 that highly express HIF1 in a hypoxic environment. The survival rate in a hypoxic environment after exposure to anticancer drugs tended to increase than that in a normoxic environment.

However, when comparing the two counties, no significant difference was observed, and the results were similar, although they were reexamined. Therefore, the hypoxic environment has reached a resolution that cannot be said to change the sensitivity of anticancer drugs.

研究分野：大腸癌

キーワード：低酸素 薬剤感受性 結腸癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

以前の我々の研究では、大腸癌の先進部の癌細胞には EMT に近似した変化 (N カドヘリン、TGF、Zeb2 などが発現亢進) を認め、ケモカイン (CXCL9,10,11、CCL18、CCL2) が高発現していることを明らかにした。ケモカイン (CXCL) の受容体である CXCR4 を含む GPCR (G protein-coupled chemokine receptors) は、多くの癌の転移や EMT (Epithelial mesenchymal transition) に関与することが報告されており、リウマチでの炎症、癌での低酸素などで誘導される事が知られている。

低酸素は、癌細胞に EMT や幹細胞化を惹起し、また低酸素にて誘導される血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) や低酸素誘導因子 (HIF) は癌の増殖・転移において重要な役割を担っている。特に癌治療を行う上での臨床的な HIF の影響としては、

- 1) HIF の高発現は予後不良
- 2) 放射線療法での治療抵抗性の亢進
- 3) 化学療法での耐性亢進等の治療抵抗性に関与することが知られている。

我々は癌細胞の治療抵抗性獲得には、低酸素・HIF による EMT や幹細胞が誘導されたためと仮定し、HIF 阻害により抗癌剤耐性を改善できると考えた。

2. 研究の目的

結腸直腸癌細胞株を用いて低酸素環境下での抗癌剤の感受性試験を行う。この際通常 2D 培養以外にも 3D 培養下を行う。最終的には高酸素・高圧酸素併用による抗癌剤感受性試験を行い、抗癌剤耐性に対する高圧酸素併用療法の有効性を検証する。

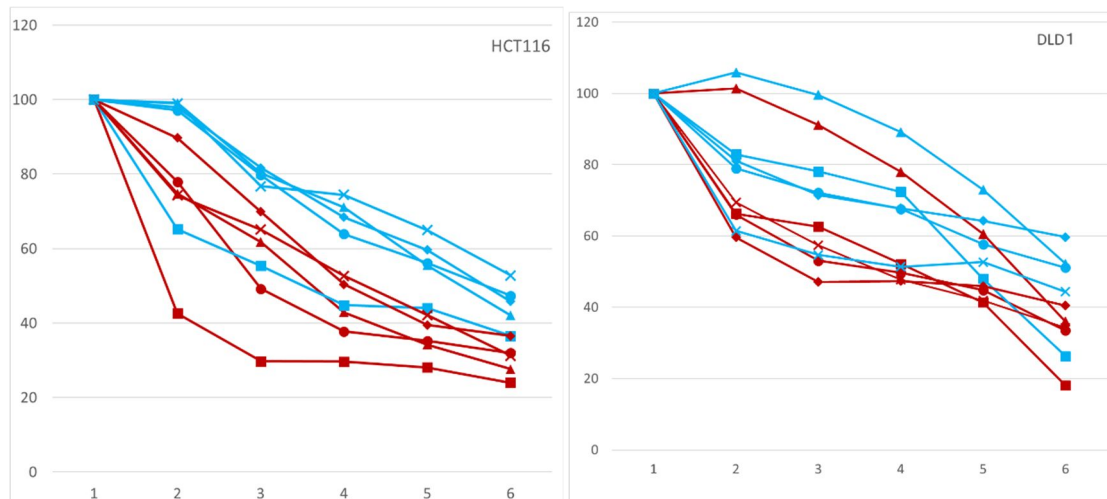
3. 研究の方法

以下の順で検討。

- 1) 大腸癌細胞株のうち HIF 高発現株の同定
- 2) 大腸癌 HIF 高発現株における通常酸素環境、低酸素環境での 2D・3D 培養と抗癌剤感受性実験 (5FU、シスプラチン、オキサリプラチン、SN38N、セツキシマブ)
- 3) 大腸癌臨床検体での HIF 発現を検討
- 4) 大腸癌 HIF 高発現株で高圧酸素療法併用抗癌剤感受性試験

4. 研究成果

1) 低酸素環境で HIF1 α が高発現する大腸癌細胞株は DLD1、HCT116 と同定できた。
2) DLD1、HCT116 を用いて抗がん剤感受性の変化の検討を引き続き行った。抗がん剤は消化管がんで使用されることが多い 5FU、シスプラチン、オキサリプラチン、SN38 (イリノテカンの活性型)、セツキシマブを用いて行った。すべての薬剤において、通常酸素環境下 (normoxia) に比較して低酸素環境下 (hypoxia) では抗癌剤暴露時の生存率が高い傾向であったが、両群を比較すると有意差を認めず、再検したが同様の結果であった。(下図各段階における癌細胞生存率) よって低酸素環境は抗癌剤の感受性に変化を与えない決意論に至った。



L-OHP normoxia hypoxia CDDP normoxia hypoxia SN38 normoxia hypoxia 5FU normoxia hypoxia C-mab normoxia hypoxia x

3D 培養を簡易に施行できることは確認できたが、低酸素条件下での 3D 培養はなかなか増殖する環境を見いだせなかった。

3) 大腸がん組織での HIF1 α の免疫染色に関しても、染色できず、発現は不明である。

4) 高圧酸素下の培養実験は使用するチャンバーでの培養条件の検討まで行ったが、それ以上には至らなかった。

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
研究 分 担 者	正木 忠彦 (Masaki Tadahiko) (30238894)	杏林大学・医学部・教授 (32610)	