

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10620

研究課題名(和文) 直腸癌に対する放射線誘導性上皮間葉転換とそのSN-38による抑制

研究課題名(英文) Epithelial Mesenchymal Transition of rectal cancer cells induced by irradiation

研究代表者

川合 一茂 (Kawai, Kazushige)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：80571942

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：直腸癌に対して術前化学放射線療法が広く行われている。我々は大腸癌細胞株に放射線照射を行い、細胞株に上皮間葉転換が誘導され遊走能が亢進することを確認した。さらにmTOR阻害剤であるTemsirrolimusとAutophagy阻害剤であるChloroquineを併用することで細胞のViabilityを低下させることなく放射線誘導性の遊走能の上昇を抑制した。いずれもすでに臨床使用されている薬剤であり、直腸癌化学放射線療法の新たな候補となり得ると期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

直腸癌に対し欧米では化学放射線療法が広く行われているが、この治療は大腸癌局所の制御には有用であるが、術後に出現する遠隔転移が予後規定となることも多く、その制御が課題である。我々は放射線照射が場合によりむしろ遠隔転移の出現を促進するかもしれないこと、これをTemsirrolimusとChloroquineの組み合わせにより抑制できる可能性があることを示した。いずれもすでに臨床使用されている薬剤であり、直腸癌化学放射線療法における薬剤の新たな候補となり得ると期待される。

研究成果の概要(英文)：Chemoradiotherapy is a standard therapy for rectal cancer. We demonstrated that irradiation induced Epithelial Mesenchymal Transition (EMT) in colorectal cancer cells, resulting in the enhancement of cell migratory ability. We also demonstrated that the combination of Temsirrolimus, a mTOR inhibitor, and Chloroquine, an autophagy inhibitor, effectively inhibited this EMT change induced by irradiation. Both drugs are already clinically available, and we believe the combination of them are promising as the candidate for the drug to be used during chemoradiotherapy.

研究分野：Surgical oncology

キーワード：上皮間葉転換 大腸癌 化学放射線療法 Temsirrolimus Chloroquine

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

直腸癌に対して術前化学放射線療法が広く行われている。我々は放射線治療に CPT-11 を併用するレジメを臨床試験として行い、治療成績の大幅な向上を得た。一方癌の浸潤や転移における上皮間葉転換(EMT)の関与が近年注目されているが、放射線が大腸癌細胞株に EMT を誘導するかは報告がない。

2. 研究の目的

以下の3つを目的とした。

大腸癌細胞株において X 線照射が EMT を誘導するか否かを検討する

照射による EMT の誘導 pathway を解明する

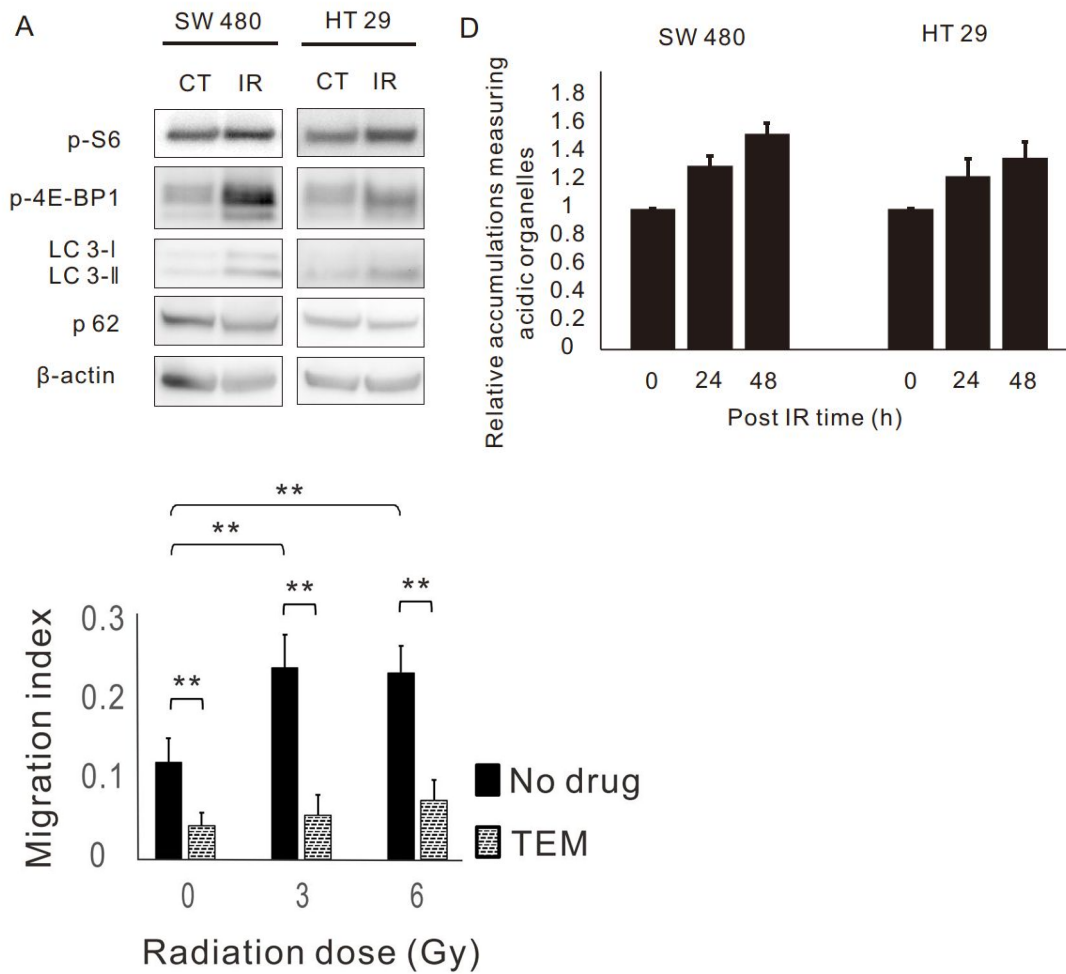
pathway を阻害することにより、X 線照射による EMT の誘導を阻害する

3. 研究の方法

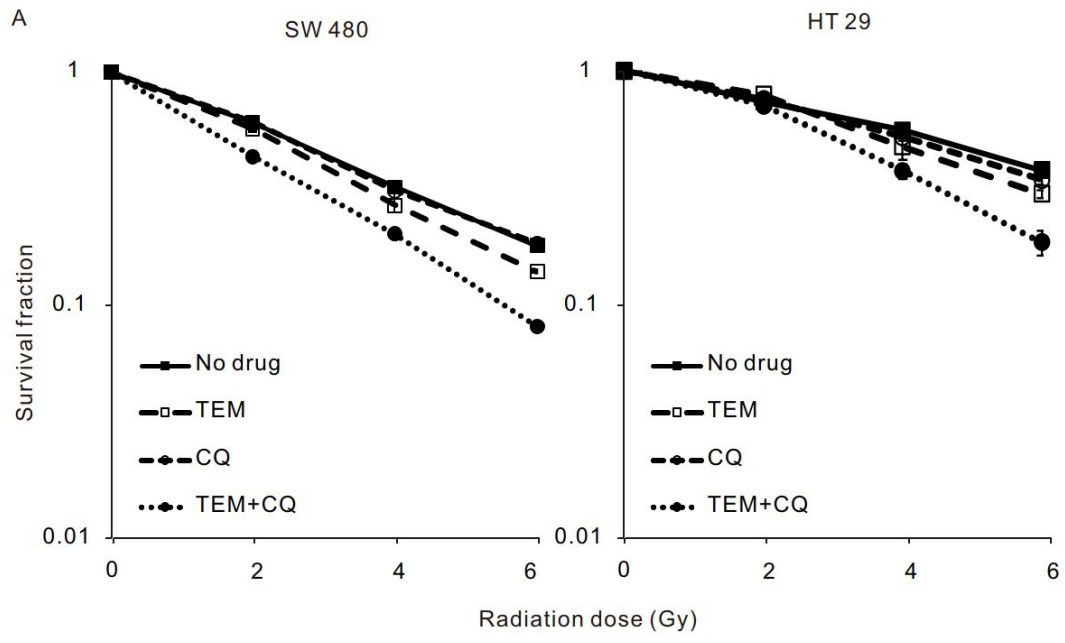
ヒト大腸癌細胞 (SW480 細胞と HT29 細胞) に対して 4 Gy の放射線照射を行い、mTOR 経路活性およびオートファジー活性の変化を経時的に評価した。mTOR 経路活性は mTOR 下流タンパクのリン酸化アイソフォーム (p-S6, p-4EBP-1) の発現量を Western blotting により解析し、オートファジー活性はその関連タンパクの発現量を Western blotting により、また酸性オルガネラの蓄積量をアクリジンオレンジ染色法により解析した。次いで、各細胞を薬剤添加なし、TEM 80 nM のみ添加、CQ 20 μ M のみ添加、および TEM 80 nM + CQ 20 μ M を添加した群に分けた後 0-6 Gy の X 線照射を行い、Clonogenic assay を用いて各薬剤の X 線増感作用を評価した。また、4 Gy の X 線照射後の各群における mTOR 経路活性およびオートファジー活性を上述の通り評価した。さらに、これらの群の細胞におけるアポトーシス細胞率およびカスパーゼ活性をフローサイトメトリーにて解析した。さらに Scratch assay を用いて細胞遊走能を、フローサイトメトリーを用いて E-カドヘリン、ビメンチンの発現量を解析した。

4. 研究成果

SW480 細胞、HT29 細胞のいずれにおいても、X 線照射後に mTOR 下流タンパクのリン酸化発現量が亢進し、オートファジーが誘導された。また遊走能の亢進、E-カドヘリンの減少、およびビメンチンの増加が認められ、EMT の亢進が認められた。



Clonogenic assay では、TEM 単剤および CQ 単剤はいずれも X 線治療効果に影響を与えなかったが、TEM と CQ の併用療法は X 線治療効果を線量依存性に増強させた。TEM 単剤により mTOR 下流タンパクのリン酸化が阻害されたがオートファジーが亢進し、CQ 単剤はオートファジーを抑制したが mTOR 下流タンパクのリン酸化発現量には影響を及ぼさなかった。一方、TEM と CQ の併用療法は mTOR 下流タンパクのリン酸化とオートファジーのいずれも阻害した。細胞死解析では、TEM と CQ の併用療法を行った細胞において著明なアポトーシスの誘導が認められた。これらの結果は SW480 細胞、HT29 細胞のいずれにおいても同様に認められた。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Shiratori Hiroshi, Kawai Kazushige, Hata Keisuke, Tanaka Toshiaki, Nishikawa Takeshi, Otani Kensuke, Sasaki Kazuhito, Kaneko Manabu, Murono Koji, Emoto Shigenobu, Sonoda Hirofumi, Nozawa Hiroaki	4. 巻 42
2. 論文標題 The combination of temsirolimus and chloroquine increases radiosensitivity in colorectal cancer cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oncology Reports	6. 最初と最後の頁 377-385
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/or.2019.7134	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shiratori Hiroshi, Kawai Kazushige, Okada Masamichi, Nozawa Hiroaki, Hata Keisuke, Tanaka Toshiaki, Nishikawa Takeshi, Shuno Yasutaka, Sasaki Kazuhito, Kaneko Manabu, Murono Koji, Emoto Shigenobu, Ishii Hiroaki, Sonoda Hirofumi, Ushiku Tetsuo, Ishihara Soichiro	4. 巻 111
2. 論文標題 Metastatic role of mammalian target of rapamycin signaling activation by chemoradiotherapy in advanced rectal cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1291 ~ 1302
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14332	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔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	畑 啓介 (Kawai Kazushige) (60526755)	東京大学・医学部附属病院・特任講師 (12601)	
研究分担者	野澤 宏彰 (Nozawa Hiroaki) (80529173)	東京大学・医学部附属病院・准教授 (12601)	

6. 研究組織（つづき）

	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	渡邊 聡明 (Watanabe Toshiaki) (80210920)	東京大学・医学部附属病院・教授 (12601)	
研究 分担者	石原 聡一郎 (Ishihara Soichiro) (00376443)	東京大学・医学部附属病院・教授 (12601)	