

一般演題(口演)生物(24~29)

9月1日(土) 9:30~10:18

第2会場

座長

大西 健

茨城県立医療大学人間科学センター





温熱による開始tRNA分解を介した翻訳抑制と細胞周期との関係性

○渡邊 和則^{1,2)}, 梅本 裕介¹⁾, 長房 すずか¹⁾, 高橋 昭久³⁾, 井尻 憲一²⁾, 大槻 高史^{1,4)}

¹⁾岡大院自然科学, ²⁾東大アイソトープ, ³⁾群大重粒子線医学研究センター, ⁴⁾岡大院統合科学

Relationship between the cell cycle and the translational suppression via degradation of initiator tRNA by heat stress.

○Kazunori WATANABE^{1,2)}, Yusuke UMEMOTO¹⁾, Suzuka NAGAHUSA¹⁾, Akihisa TAKAHASHI³⁾, Kenichi IJIRI²⁾, Takashi OHTSUKI^{1,4)}

¹⁾Grad. Sch. of Nat. Sci. and Tech, Okayama Univ., ²⁾Radioisotope Center, Tokyo Univ.,

³⁾Gunma Univ. Heavy Ion Med. Center, ⁴⁾Grad. Sch. of Interdis. Sci. and Eng. in Health Systems, Okayama Univ.

【背景】生物は温熱に曝されると様々なストレス応答によって生存することができる。このストレス応答として、ヒートショックプロテインの発現上昇や翻訳抑制などが報告されている。我々はRNA分解酵素であるXrn1/2による開始tRNA特異的な分解促進を介した新たな温熱による翻訳抑制機構を報告している。また、前回の学会において次のことを報告している。短時間温熱に曝すことで細胞周期を同調した細胞では、温熱下での開始tRNAの分解がG2/M期で最も抑制されており、翻訳活性が最も高かった。このことから、細胞周期依存的な翻訳抑制は、開始tRNAの分解により制御されている可能性が高いことを報告している。しかし、細胞周期依存的な翻訳抑制にeIF2 α 及び、mTORシグナルが関与しているかどうかは明らかになっていない。

【目的】温熱による細胞周期依存的な翻訳抑制に、eIF2 α 及びmTORシグナルの4EBP、S6Kのリン酸化を介した翻訳抑制機構が関与しているのかどうかを明らかにすることを目的とした。

【方法】HeLa細胞を45.5℃で5分間温熱ストレスを与えた後、通常培養条件に戻し、その後さらに温熱ストレスを60分間与えることで、細胞周期依存的にeIF2 α 、4EBP、S6Kのリン酸化が変化するかを検討した。

【結果】eIF2 α はすべての細胞周期でリン酸化が抑制されていた。また、温熱による4EBP、S6Kのリン酸化は起こらなかった。

【結語】以上の結果から、温熱ではmTORシグナルを介した翻訳抑制機構は働かないことが明らかになった。また、温熱下での細胞周期に依存した翻訳抑制は、開始tRNAの分解によってのみ制御されていることが示唆された。

ヒト子宮頸がんHeLa細胞の温熱誘導細胞障害におけるBAG3の役割

○田淵 圭章^{1,2)}, 柚木 達也³⁾, 古澤 之裕⁴⁾, 平野 哲史¹⁾, 鳥越 美沙子³⁾, 皆川 沙月¹⁾, 林 篤志³⁾

¹⁾富山大学研究推進機構遺伝子実験施設, ²⁾富山大学大学院生命融合科学教育部,

³⁾富山大学大学院医学薬学研究部(医学)眼科学講座, ⁴⁾富山県立大学教養教育生物学教室

The role of BAG3 on the hyperthermia-induced cell damage in human cervical cancer HeLa cells

○Yoshiaki TABUCHI^{1,2)}, Tatsuya YUNOKI³⁾, Yukihiro FURUSAWA⁴⁾, Tetsushi HIRANO¹⁾, Misako TORIGOE³⁾, Satsuki MINAGAWA¹⁾, Atsushi HAYASHI³⁾

¹⁾Division of Molecular Genetics, Life Science Research Center, University of Toyama,

²⁾Graduate School of Innovative Life Science, University of Toyama,

³⁾Department of Ophthalmology, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, University of Toyama,

⁴⁾Laboratory of Biology, Department of Liberal Arts and Sciences, Toyama Prefectural University

【目的】BAG (Bcl2-associated athanogene) ファミリーに属するBAG3はHsp70のコシャペロンであり、ストレス誘導性の抗アポトーシスタンパク質である (1)。種々のがん細胞においてBAG3の高発現が観察されており (2), BAG3はがんの増殖や生存に関与すると考えられている (1)。以前、我々は、BAG3の機能阻害が温熱感受性を増強することをヒト口腔扁平上皮がん細胞を用いて明らかにした (3)。今回、ヒト子宮頸がんHeLa細胞において温熱誘導細胞障害におけるBAG3の高発現の影響を検討した。【方法】ヒトBAG3とGFP結合BAG3は、レンチウイルスを用いてHeLa細胞に高発現させた。細胞を44℃で90分間温熱負荷後、37℃で一定時間培養した。細胞の生存率は、トリパンブルー染色法により評価した。タンパク質の発現は、ウエスタンブロット法と蛍光顕微鏡を用いて観察した。【結果】HeLa細胞への温熱負荷は、細胞生存率を有意に低下させた。一方、BAG3の高発現により、その細胞生存率の低下が有意に抑制された。非ストレス負荷細胞において、核移行シグナルを付与したmCherryは核に発現したが、温熱負荷により核から細胞質への移行が観察された。一方、BAG3は非ストレス負荷の条件において主に細胞質に発現したが、温熱負荷により速やかに核内へ移行した。【結語】HeLa細胞において、BAG3の高発現は温熱に対して細胞保護作用を示すことが明らかとなった。温熱負荷によるBAG3の核移行の詳細なメカニズムは明らかではないが、この移行がBAG3の細胞保護作用に密接に関与すると考えられる。

参考文献

- 1) Behl C. : *Trends Pharmacol. Sci.***37**, 672-688 (2016)
- 2) Yunoki T. et al. : *Anticancer Res.***37**, 1931-1934 (2017)
- 3) Yunoki T. et al. : *Cancer Lett.***335**, 52-57 (2013)



mTOR複合体を介した温熱による核内ストレス構造体形成機構の解明

○井上 歩実¹⁾, 岡田 真実¹⁾, 山本 理紗子¹⁾, 大槻 高史^{1,2)}, 渡邊 和則¹⁾

¹⁾岡大院自然科学, ²⁾岡大院統合科学

Elucidation of nuclear stress bodies formation mechanism via mTOR under heat stress

○Ayumi INOUE¹⁾, Mami OKADA¹⁾, Risako YAMAMOTO¹⁾, Takashi OHTSUKI^{1,2)},
Kazunori WATANABE¹⁾

¹⁾Department of Medical engineering, Graduate School of Natural Science and Technology, Okayama University.,

²⁾Graduate School of Interdisciplinary Science and Engineering in Health Systems, Okayama University

【目的】温熱などの環境ストレスに曝されることで形成されるストレス顆粒はRNAとRNA結合タンパク質からなる構造体である。ストレス顆粒には細胞質で形成されるstress granulesと核内で形成されるnuclear stress bodies (nSBs)の2種類が報告されている。しかし現在までに、温熱によるnSBs形成機構は明らかになっていない。そこで、本研究では温熱によるnSBs形成機構を明らかにすることを目的としている。我々は前回の大会にて、nSBs構成タンパク質であるHSF1をノックダウンすることでnSBs構成タンパク質の顆粒形成が抑制されることを報告した。また、HSF1は温熱により核内に移行後、nSBsへと局在変化する事及び、局在変化はmammalian target of rapamycin (mTOR)をノックダウンすることで抑制されることも報告した。そこで我々はmTORに着目した。mTORはmTOR複合体1 (mTORC1)とmTORC2のコアタンパク質として存在している。このため、どちらのmTOR複合体がHSF1顆粒の形成を制御しているのか明らかになっていない。そこでどちらのmTOR複合体がnSBs形成を制御しているのか明らかにすることを目的とした。

【方法】mTOR複合体を構成するRictor, Raptor, mLST8をそれぞれノックダウンしたHeLa細胞を、43℃の温熱で一定時間処理した。その後、免疫染色処理を行い、nSBs形成において重要なHSF1顆粒の形成を観察することでnSB形成への影響を検討した。

【結果】mTORC1にのみ存在するRaptor、mTORC1、mTORC2の両方に存在するmLST8をノックダウンしてもHSF1顆粒の形成は抑制されなかった。一方で、mTORC2にのみ存在するRictorをノックダウンするとHSF1顆粒の形成が抑制された。

【結言】mTORC2がnSBsの形成を制御していることが示唆された。

SESN1を標的とした頭頸部癌シスプラチン・温熱耐性の克服

○成田 憲彦¹⁾, 伊藤 有未¹⁾, 菅野 真史¹⁾, 呉 明美¹⁾, 岡本 昌之¹⁾, 高林 哲司¹⁾, 松本 英樹²⁾, 藤枝 重治¹⁾

¹⁾福井大学医学部 耳鼻咽喉科・頭頸部外科,

²⁾福井大学 医学系部門 医学領域 国際社会医学講座 放射線基礎医学分野

A novel target, SESN1, to overcome cisplatin and hyperthermia resistance in human head and neck cancer cells

○Norihiko NARITA¹⁾, Yumi ITO¹⁾, Masafumi KANNO¹⁾, Myongmi OH¹⁾, Masayuki OKAMOTO¹⁾, Tetsuji TAKABAYASHI¹⁾, Hideki MATSUMOTO²⁾, Shigeharu FUJIEDA¹⁾

¹⁾Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, Faculty of Medical Sciences, University of Fukui,

²⁾Department of Experimental Radiology and Health Physics, Faculty of Medical Sciences, University of Fukui

今日の頭頸部癌治療においては放射線、化学療法、手術を組み合わせた集学的治療が標準となっている。しかしながら、放射線や化学療法薬に対する耐性化がしばしば見られ、そのような症例では治療に難渋し、またその予後は不良となる。本研究ではシスプラチン耐性ヒト上顎癌細胞株IMC-3CRを用い、シスプラチン耐性メカニズムの解析を試みた。IMC-3CRをシスプラチン処理した際の遺伝子発現の変化をPCRアレイで網羅的に解析した。PCRアレイの結果から、IMC-3CRにおいてシスプラチン刺激によってSESN1 (Sestrin 1) の発現が誘導されることが解った。SESN1はperoxiredoxin活性作用により、reactive oxygen species (ROS) による酸化DNA損傷を抑制する。またROSは、シスプラチンなどの化学療法薬のほか放射線、温熱などによっても産生され、アポトーシス誘導に参与する。clonogenic cell survival assayの結果、IMC-3CRはシスプラチン耐性に加え、温熱耐性をも獲得していることが解った。RNAiを用いた機能解析の結果、SESN1を抑制するとIMC-3CRのシスプラチン耐性、温熱耐性が減弱され、ROS誘導型のアポトーシスが増加することが解った。本研究ではSESN1をターゲットとし、頭頸部癌のシスプラチン・温熱耐性を克服する分子標的治療の可能性について報告する。



ヒト口腔癌細胞における5-アミノサリチル酸による 温熱誘導アポトーシスの増強

○モニルザマン ロハン¹⁾, 趙 慶利²⁾, ラーマン マティ オル²⁾, ジャベイド パラス²⁾,
三橋 陽平²⁾, 富原 慶¹⁾, 斉藤 淳一²⁾, 野口 京²⁾, 近藤 隆²⁾, 野口 誠¹⁾

¹⁾富山大学大学院医学薬学研究部(医学) 歯科口腔外科学講座,

²⁾富山大学大学院医学薬学研究部(医学) 放射線医学講座

Synergistic Enhancement of Hyperthermia-induced Apoptosis by 5-Aminosalicylic Acid in Human Oral Squamous Cell Carcinoma cells

○Rohan MONIRUZZAMAN¹⁾, Qing-Li ZHAO²⁾, Mati Ur REHMAN²⁾, Paras JAWAID²⁾,
Yohei MISTUHASHI²⁾, Kei TOMIHARA¹⁾, Jun-Ichi SAITOH²⁾, Kyo NOGUCHI²⁾,
Takashi KONDO²⁾, Makoto NOGUCHI¹⁾

¹⁾Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, University of Toyama, ²⁾Department of Radiology, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, University of Toyama

Hyperthermia (HT) allows for effective and sustained targeted delivery of anti-cancer agents. However, there is no study conducted to investigate the anti-tumor effects of combination therapy between anti-inflammatory drug, 5-aminosalicylic acid (5-ASA) and HT. In this study, we aimed to evaluate the potential of 5-ASA on HT-induced apoptosis using human oral squamous cell carcinoma, HSC-3 cells. Annexin V-FITC/PI assay demonstrated that induction of apoptosis in HSC-3 cells was synergistically enhanced when 5-ASA used in combination with HT compared to either treatment alone. We hypothesized that the synergistic effect of combined treatment might be accompanied by increased intracellular reactive oxygen species (ROS) generation. This notion was supported by a finding that 5-ASA markedly enhanced HT-induced ROS generation than either treatment alone. In addition, 5-ASA combined with HT induced apoptosis with the increased intracellular calcium ions concentration, loss of mitochondrial membrane potential, expression of several apoptotic-related proteins including Bcl-2 and caspase family, and ER stress markers. Moreover, we found that combined treatment with 5-ASA and HT up-regulated FAS expression, a death receptor-mediated apoptotic related protein. Collectively, our findings provide the first preliminary evidence for the promising anti-cancer mechanism of 5-ASA which might be particularly useful as a sensitizer for HT. In addition, the combination could represent an effective therapeutic approach for the treatment of human oral squamous cell carcinoma.

温熱療法は乳がん細胞の抗がん剤トランスポーター発現を制御し、抗がん剤効果を増強する

○黒川 宏美, 寺崎 梓, 松井 裕史

筑波大学医学医療系

Hyperthermia enhanced an effect of anticancer drug for breast cancer via several transporter regulation

○Hiromi KUROKAWA, Azusa TERASAKI, Hirofumi MATSUI

Faculty of Medicine, University of Tsukuba

【背景】化学療法へのがん細胞耐性は、がん細胞内への薬剤取り込み不足と排泄過剰によってもたらされる。より効果的な化学療法確立には(1)取り込みトランスポーターの誘導と(2)排泄トランスポーターの抑制双方を同時に誘導することが必要となる。我々はこれまでにがん治療法の一つである光線力学療法(PDT)と活性酸素(ROS)に着目した研究を行ってきており、ROSにより各種トランスポーターの発現が制御できることを見出してきた。さらにROSは温熱療法によりがん細胞特異的に産生量が増加すること、温熱療法によりトランスポーターの発現が制御できることを見出してきた。これらの結果から、我々はラット胃がん細胞およびマウス乳がん細胞に対して薬剤排泄トランスポーターABCG2の発現低下を介して、抗がん剤doxorubicin(DOX)の細胞傷害効果が増強できることを見出し、昨年の本学会で報告している。本研究では、ヒト由来乳がん細胞に対しても同様の治療効果が見込まれるか検討した。【方法】ヒト由来乳がん細胞であるMCF-7およびMDA-MB-453に対し、抗がん剤効果が増強できるか検討した。細胞は37または42度で1時間加温した後37度で24時間培養した。その後抗がん剤DOXおよびpaclitaxel(PTX)をそれぞれ添加し24時間培養後、細胞生存率試験を実施した。さらにこれらの取り込み、排泄に係るトランスポーターの発現が、温熱療法により変化するかどうかウェスタンブロッティング法を用いて検討した。【結果】MCF-7およびMDA-MB-453では温熱療法によりDOXおよびPTXの細胞傷害効果が増強した。DOXに関しては、取り込みに係るSLC22A16の発現が温熱療法により増加し、排泄に係るABCG2の発現が低下した。PTXに関しては、取り込みに係るSLCO1A2の発現が増加し、排泄に係るABCB1の発現が低下した。【結論】ヒト乳がん細胞に対し、温熱療法は抗がん剤の取り込み及び排泄に係るトランスポーターの発現を制御することで、抗がん剤効果を増強することが明らかとなった。