

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：

遠藤 拓

専攻分野：産婦人科学

コース：

指導教授：鈴木 直

主論文の題目：

放射線刺激により誘発されるインターロイキン34の放射線治療抵抗性における潜在的役割について

共著者：

バグダーディー ムハンマド、石川 浩三、江澤 永倫子、梅山 悠伊、和田 はるか、鈴木 直、清野 研一郎

【緒言】

我々は先行研究において、抗がん剤耐性を獲得した肺がん細胞が Interleukin-34 (IL-34)を過剰産生することを示しており、IL-34は腫瘍微小環境において免疫抑制性 M2 マクロファージの分化を促す一方で、Autocrine によって腫瘍細胞自身にアポトーシス抑制的に働き、抗がん剤耐性獲得を誘導することを明らかにしてきた。

IL-34は生理的には骨髄系細胞の分化のほか、皮膚のケラチノサイトや脳の休止状態のニューロンに発現し、ラングハンス細胞やミクログリアなどの発生・分化に関わる。また、炎症や悪性腫瘍などの様々な病態ストレス環境下で NF- κ B を介して発現誘導され、病態の制御因子になり得ると考えられつつある。

一般的に放射線療法は限局性腫瘍で有効性が高いとされるが、一部の限局性腫瘍では放射線抵抗性を示し、再発するケースも報告されている。しかしながら、その耐性を得る詳細な機序は未だ解明されていない。

本研究では、抗がん剤治療と類似の殺腫瘍作用を有する放射線治療において、放射線の長期暴露により治療耐性がもたらされるという仮説のもと、がん細胞の放射線治療耐性獲得への IL-34 の関与について検討した。

【対象・方法】

ヒト直腸癌細胞(HCT116株)、ヒト結腸癌細胞 (SW480株)、ヒト前立腺癌細胞 (LNCaP clone FCG株およびPC-3株) の細胞株より細胞を継代した後、それぞれ 1×10^5 個の細胞に対してTube voltage 150kV、Filter1.0Alの条件下にて放射線照射実験 (0~10Gy) を行った。照射72時間後に各細胞を回収し、Step One Real time PCR system (Applied Biosystems, Waltham, Massachusetts, USA)を用い、IL-34およびその関連遺伝子のmRNA発現を $\delta\delta$ CT法にて解析した。照射前の生存細胞数を基準に、照射後72時間の生存細胞数の割合を60%保持出来る線量を以降の実験における至適線量とした。さらに目視による細胞増殖の評価から、最も放射線ダメージからの回復が良好である細胞株を、以降の実験における最適細胞株とした。その細胞株に対し、NF-kB阻害薬(BAY11-7082)およびBcr-Abl特異的阻害薬(ST1-571)存在下での、放射線照射によるIL-34およびM-CSFの発現誘導への影響をmRNA発現レベルで検証した。さらに最適細胞株に対して計9回にわたる至適線量の放射線照射を行い、IL-34およびM-CSFのmRNA発現を調べた。本研究における統計学的解析はStudent t検定にて行われた。なお、本研究は北海道大学生命倫理委員会の承認のもと実施された。(承認番号: 014-0274)

【結果】

高線量の放射線照射では形態学的に老化様変化を認め、著しい増殖能低下を認めたが、20 Gy 以下では通常の状態が保持されたため、20 Gy を至適線量とした。全ての細胞株において、20 Gy の放射線照射後 24 時間ごとの IL-34 と M-CSF の mRNA 発現を調査した結果、IL-34 は遅発性に、M-CSF は比較的早期に発現することが示された。なお、SW480 株が最も放射線の影響から早く回復したため、最適細胞株として実験を進めた。SW480 株に対して各種阻害剤を用いた検討では、NF-kB 阻害薬 (BAY11-7082) を用いた場合に IL-34 の mRNA 発現が抑制され、Bcr-Abl 特異的阻害薬 (ST1-571) を用いた際には M-CSF の mRNA 発現が抑制された。さらに放射線連続照射による検討では、IL-34 の mRNA 発現が線量依存性に増加した。

【考察】

本研究結果より、放射線照射によって誘導される IL-34 と M-CSF の発現パターンが異なることから、その発現機序が相違することが示唆さ

れた。さらに放射線の反復照射によって IL-34 の発現が線量依存性に漸増することが実証され、長期の抗がん剤暴露によって、がん細胞で恒常的な IL-34 の過剰発現が示される現象と類似していた。以上のことから、がん細胞の生存維持や、がん病巣における免疫応答の抑制に働く IL-34 の作用が放射線治療耐性にも関連する可能性が示唆された。さらに IL-34 および M-CSF と同様に、放射線照射によって CSF-1R の発現が増加した。これらのことから、CSF-1R の発現増加が Autocrine 作用に対して相乗的に寄与し、がん細胞の抗アポトーシス作用を支持する可能性も示唆された。

【結論】

放射線照射によって IL-34 の発現が誘導されたことから、抗がん剤と同様に IL-34 の放射線治療耐性獲得への関与が示唆された。本結果は、放射線治療耐性獲得メカニズム解明の一助となり、今後の新規治療の可能性を見出すための出発点となる可能性がある。