

20) 鉄促進剤 LS5 - 81 の抗腫瘍効果

研究代表者 田中 宏樹

【研究目的】

HIF-1 α は細胞の低酸素応答に中心的な役割を果たしている転写因子であるが、多くの癌組織において高発現しており、腫瘍組織の悪性化にも大きな役割を果たしている。HIF-1 α 蛋白質は低酸素環境で安定化し転写因子として働くが、常圧酸素環境下では速やかに分解される。この分解過程は水酸化酵素である HIF-prolyl-hydroxylases (PHD1, 2, 3) が酸素と鉄の存在下で HIF-1 α 蛋白質を水酸化することで活性化される。これまでに我々は細胞への鉄の取り込みを促進する化合物について報告してきた。本研究は鉄吸収促進剤 LS5-81 の細胞への鉄の取り込みを促進する作用により HIF-1 α の分解を促進し、それによる肝癌治療効果を検討するものである。

【研究方法】

1. ヒト肝癌細胞株 HepG2, Hep3B を LS5-81 とクエン酸鉄アンモニウム (FeAC) を加えた培養液を用いて常圧酸素、低酸素で培養した。培養細胞から蛋白質, RNA を抽出し、蛋白質についてはウェスタンブロット法, RNA についてはリアルタイム RT-PCR 法により HIF-1 α の発現解析を行った。
2. 野生型 HIF-1 α 発現ベクターと HIF-1 α の水酸化部位を置換した変異型 HIF-1 α 発現ベクターをそれぞれ肝癌細胞に遺伝子導入し細胞株を樹立し LS5-81 と FeAC を加えて培養をした後に野生型 HIF-1 α と変異型 HIF-1 α 蛋白質の発現解析を行った。
3. 1. の条件でそれぞれの培養を行い 24, 48 時間後の生細胞数を MTS 法により解析した。
4. Hep3B を免疫不全マウス皮下に移植して腫瘍を形成させ, LS5-81 を一週間腹腔内投与し, 同時に腫瘍径を計測した。

【結果および考察】

1. LS5-81 による HIF-1 α 発現抑制とその機序

ヒト肝癌細胞株 Hep3B と HepG2 をそれぞれ LS5-81 と鉄の存在下で培養すると HIF-1 α 蛋白質の発現が抑制されたが HIF-1 α mRNA の発現は抑制されなかった (図 1 A, B)。HIF-1 α の水酸化部位であるプロリン基をアラニン基に置換した変異型 HIF-1 α 蛋白質を発

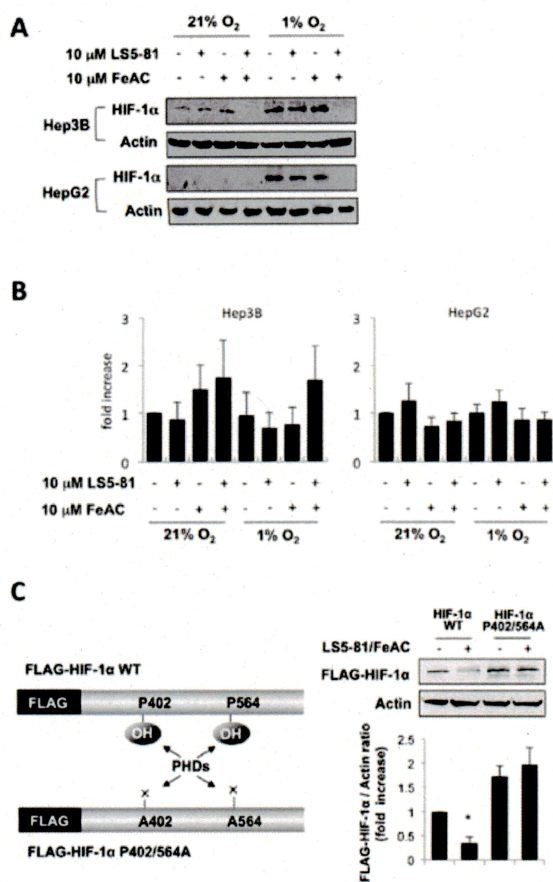


図 1 A ヒト肝癌細胞株における HIF-1 α 蛋白質の発現解析。B ヒト肝癌細胞株における HIF-1 α mRNA の発現解析。C LS5-81 の変異型 HIF-1 α 蛋白質に与える影響の解析。

現する細胞を樹立し、LS5-81 と鉄の存在下で培養すると変異型 HIF-1 α 蛋白質の発現は抑制されなかった(図 1 C)。これらの結果は LS5-81 による鉄吸収促進作用は HIF-1 α 蛋白質の水酸化を促進する事で発現を低下させる事を示唆している。

2. LS5-81 による肝癌細胞増殖抑制効果

Hep3B と HepG2 を LS5-81 と鉄の存在下で培養すると細胞増殖が抑制された。さらに、免疫不全マウスに Hep3B を移植した移植肝癌モデルに対して LS5-81 を投与すると腫瘍が出血を伴い退縮した(図 2 A, C)。また、移植腫瘍における HIF-1 α 蛋白質の発現も LS5-81 を投与することによって抑制された(図 2 B)。これらの結果は LS5-81 による鉄輸送促進効果が HIF-1 α 蛋白質の水酸化を促進することで発現を抑制し、抗腫瘍剤として機能する可能性を示唆している。

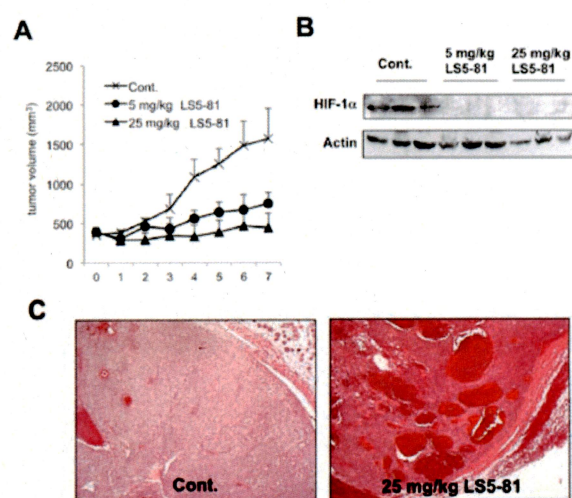


図 2 A 免疫不全マウスにおける移植腫瘍の体積変化。B 移植腫瘍内での HIF-1 α 蛋白質の発現解析。C 移植腫瘍の組織像。

【参考文献】

- Li Z, Tanaka H, Galiano F, Glass J. Anticancer activity of the iron facilitator LS081. J Exp Clin Cancer Res. 2011 Mar 31;30:34.