

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

旭川医科大学研究フォーラム (2017) 第17巻:44-45.

平成27年度「独創性のある生命科学研究」個別研究課題 7)
HedgehogInteractingProteinの発現低下による腭発癌の可能性

笹島 順平

ウスに移植することによって造腫瘍能を評価する。

【結果】

まず膵前癌細胞株と膵癌細胞株の Hedgehog 関連遺伝子の発現について定量的 RT-PCR で評価した (Figure 1)。膵前癌細胞株では膵癌細胞株と比較して、Sonic Hedgehog の発現は低く、Hhip の発現は高く、以降の解析は PanIN 細胞株のみを用いることとした。続いて 5 種の shRNA レンチウイルスを用いて Hhip のノックダウンを行った。それぞれの Hhip ノックダウン細胞株から RNA を抽出し、Hhip の発現を評価し (Figure 2)、もっともノックダウン効率の良かった shRNA レンチウイルス (Hhip53) で Hhip をノックダウンした膵前癌細胞株をさらなる実験に使用した。

次に In Vitro での増殖能を SRB Assay にて評価したが、Hhip ノックダウンによる増殖能の変化は認められ

7) Hedgehog Interacting Protein の発現低下による膵発癌の可能性

Contribution of pancreatic carcinogenesis by Hedgehog Interacting Protein

内科学講座 消化器血液腫瘍制御内科学分野

代表研究者 笹島 順平

【目的】

本研究は、遺伝子改変膵がん自然発症マウスから分離した膵前癌細胞および膵癌細胞を用いて、Hhip の発現変化の膵発癌過程に対する影響とその意義を明らかにすることを目的とする。

【方法】

Pdx1-Cre ; LSL-Kras (G12D) マウスから樹立した膵前癌細胞および Pdx1-Cre;LSL-Kras (G12D);p53 (lox/+)マウスから樹立した膵癌細胞を用いて Hhip 発現を定量的 RT-PCR にて評価する。その後、レンチウイルスを用いて Hhip 遺伝子のノックダウンを行い、SRB Assay によって In vitro での増殖能を評価し、さらにマ

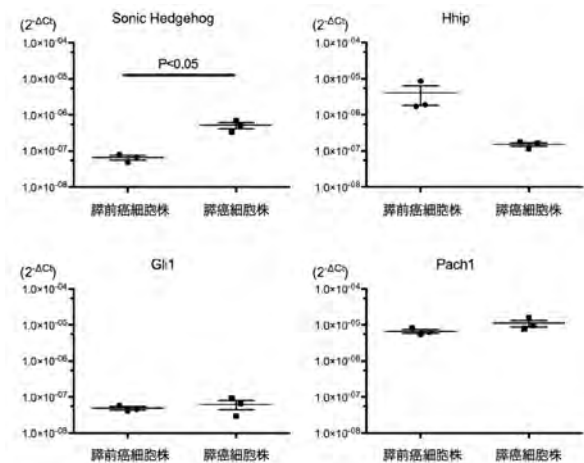


Figure 1 Expression analysis of Hedgehog pathway

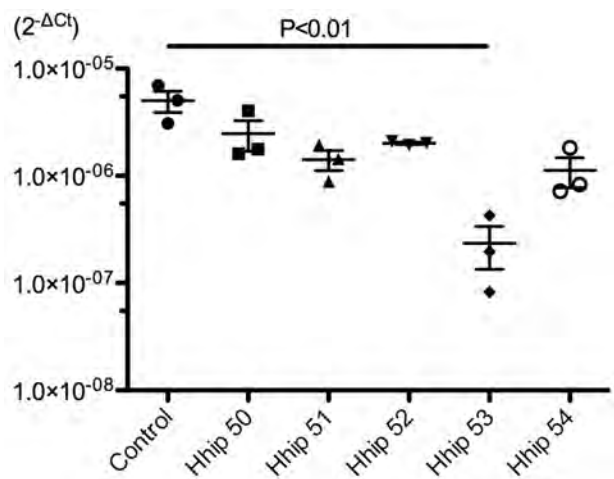


Figure 2 Hhip expression

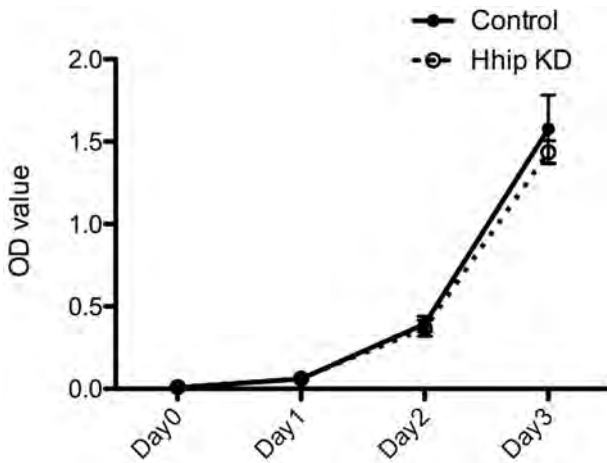


Figure 3 Cell Viability (SRB assay)

なかった (Figure 3)。さらに In Vivo での造腫瘍能を評価した。FVB マウスにアシアロ GM にて前処理を行ったのち、背部皮下に 2 箇所レンチウイルスを感染させた腓前癌細胞を移植した(それぞれ 2.5×10^5 個 / $50 \mu\text{l}$)。腓前癌細胞は樹立した際の検討で腫瘍の生着を認めなかったが、今回の検討では腫瘍形成を認めた。移植後 2 週間後にサクリフェイスし、腫瘍重量および腫瘍径を測定した。両群の腫瘍重量と腫瘍径から計算した腫瘍体積 (長径 \times 短径² $\div 2$) を評価したところ、Hhip のノックダウンにより、主要重量および腫瘍体積の低下を認めた (Figure 4)。

【考 察】

本研究では当初の予想に反して腓前癌細胞株の Hhip 発現を抑制することによる造腫瘍能の抑制効果を認めた。腓前癌細胞株であるが、樹立当初は造腫瘍能を示さなかったが、今回はノックダウンの過程で継代を重ねたため、その過程で造腫瘍能を獲得したものと思われる。In Vitro では Hhip の発現抑制は何も増殖能に影響を及ぼさなかったが、Hhip は Autocrine には作用せず、Paracrine で作用するという報告¹⁾ から In Vivo の結果とは矛盾しないと考えられる。Hhip は Hedgehog を阻害するため、その抑制は Hedgehog の活性化につながるはずであり、前癌細胞の癌化を予想していたが、逆の結果となった。腓前癌の前期段階では Hhip が治療標的となる可能性があるが、Hedgehog と腓前癌の関係は議論の余地が大きく、さらなる検討が必要と思われる。

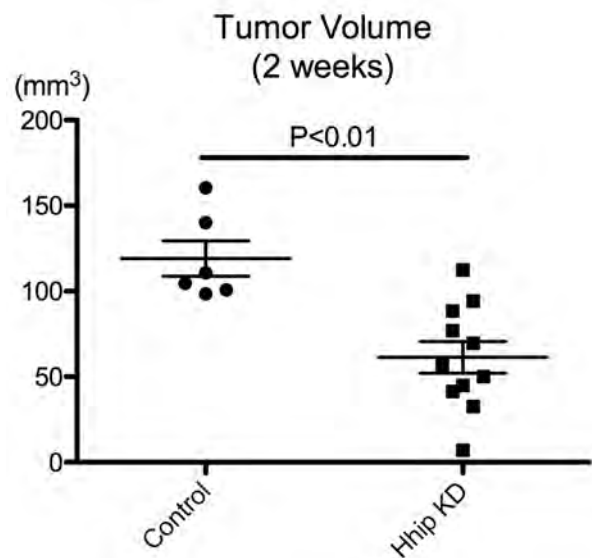
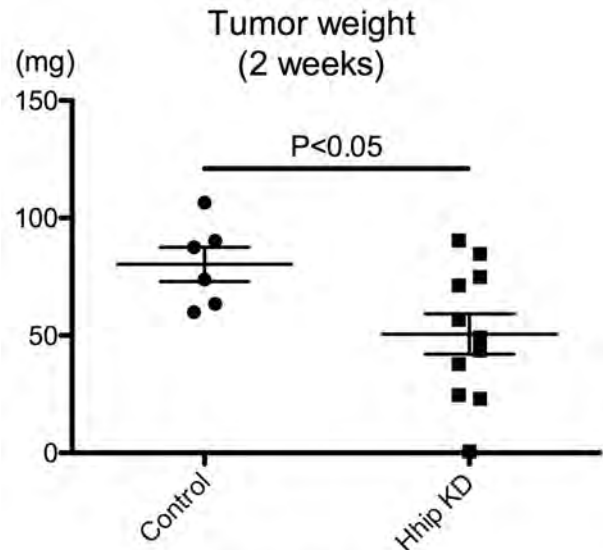


Figure 4

【引用文献】

- 1) Kwong L, Bijlsma MF, Roelink H. Shh-mediated degradation of Hhip allows cell autonomous and non-cell autonomous Shh signalling. *Net Commun.* 2014 Sep 12;5:4849. Doi:10.1038/ncomms5849.