

89 卵巣癌細胞におけるシスプラチン誘導アポトーシスの抑制機構—hCGとinsulin-like growth factor-1 (IGF-1)の役割—

京都大

黒田英樹、万代昌紀、小西郁生、鶴田優子、
草刈孝史、田村 出、由良泰一郎、南部香成子、
藤井信吾

【目的】シスプラチンは卵巣癌細胞にアポトーシスを起こさせるが、hCGはこのアポトーシスを抑制する。このhCGのアポトーシス抑制機序を解明する目的で、細胞増殖因子の一つであるinsulin-like growth factor-1 (IGF-1)に注目し、アポトーシス抑制機構におけるIGF-1とhCGの相互関係を解析した。【方法】卵巣癌細胞株OVCAR-3 (LH/hCG受容体発現陽性)に、hCGを添加しアポトーシス関連物質であるbcl-2, baxとIGF-1およびIGF-1受容体 (IGFR) の発現をNorthern blotとRT-PCR法にて検討した。同細胞株にシスプラチンを添加し、アポトーシスを誘導する際に、hCG添加群、IGF-1添加群、およびhCGとIGFR中和抗体同時添加群を作り、アポトーシスの抑制の有無をアポトーシス細胞定量 (ELISA法)にて検討した。その他10種類の卵巣癌細胞株においてLH/hCG受容体の有無を検討し、受容体陽性細胞株にて上記と同様の検討を行った。

【成績】hCGをOVCAR-3に添加するとIGF-1発現を約2倍亢進させた。bcl-2, bax, IGFRの発現レベルには変化はなかった。IGF-1添加は、シスプラチンで誘導されるアポトーシスを抑制 (hCGが抑制するのと同程度の抑制) した。hCGによるアポトーシス抑制はIGFR中和抗体添加により解除された。LH/hCG受容体発現は41M細胞株にも認められ、OVCAR-3と同様にhCGおよびIGF-1によるアポトーシス抑制が観察された。

【結論】卵巣癌細胞においてシスプラチンにより誘導されるアポトーシスをhCGが抑制する機序には、hCGがLH/hCG受容体を持つ卵巣癌細胞のIGF-1産生を誘導し、そのIGF-1がアポトーシスを抑制する機構があるものと考えられた。

90 シスプラチン耐性卵巣癌細胞の温熱ストレス応答

産業医大、生化学*

*安部 哲哉、柏村正道

[目的]抗癌剤耐性卵巣癌細胞の温熱処理に対するストレス応答を明らかにすることは、抗癌剤耐性癌細胞への温熱療法の有効性を理解する際に有用である。そこで、シスプラチン耐性ヒト卵巣癌細胞株の温熱ストレスに対する応答を熱ショック蛋白質 (Hsp) の誘導によって検討した。[方法]シスプラチン耐性ヒト卵巣癌細胞株 (A2780CP) は、親株であるシスプラチン感受性細胞株 (A2780) に比べて細胞内グルタチオン (GSH) 濃度が約2.7倍増加している。この2つの細胞株に異なる温度の温熱ストレスを与えて、Hsp72 mRNA の誘導とその転写因子であるheat shock factor (HSF) の転写活性を解析した。[成績]45度の温熱ストレスを30分間与えると両細胞株でHsp72 mRNA の強い誘導を示した。一方、42度の温熱ストレスを30分間、同じく両細胞株に与えると、A2780細胞ではHsp72 mRNA の誘導は減弱したが、細胞内GSHが増加しているA2780CP細胞の方は、Hsp72 mRNA の強い誘導を認めた。そこで、A2780細胞にGSHの前駆体であるN-acetyl-cysteineを前投与して、42度の温熱ストレスを与えるとHsp72 mRNAの誘導が増強された。Gel shift assay を用いてHSFのDNA結合活性を調べてみると、両細胞とも42度の温熱ストレスで同様の強い活性を示した。また、両細胞とも細胞質に局在していたHSFは、温熱ストレスにより核移行を示し、両細胞間に大きな差は認められなかった。[結論]今回用いたシスプラチン耐性卵巣癌細胞は、温熱ストレスに対してその感受性細胞に比べて強い熱ショック蛋白質Hsp72の誘導を示すことが明らかとなった。このストレス応答の増加には細胞内GSHの濃度の増加が密接に関与しており、HSFの転写活性化以降の過程にGSHが作用していることが示唆された。