

研究報告書

平成30年度：A課題

令和2年4月22日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀田知光 殿

研究施設 京都大学大学院生命科学研究科
がん細胞生物学分野

住 所 京都市左京区吉田近衛町

研究者氏名 原田 浩



(研究課題)

腫瘍内微小環境依存的な遊走を通じて放射線治療後のがん再発を起こす責任遺伝子の解析

平成31年3月26日付助成金交付のあった標記A課題について研究が終了致しましたのでご報告いたします。

背景と目的

これまでの研究で我々は、「悪性固体腫瘍内の低酸素・低栄養領域に存在するがん細胞が、放射線治療を優位に生き残り、低酸素誘導性転写因子1（HIF-1）依存的に酸素・栄養環境の良い血管近傍に浸潤して、がんの再発を引き起こす」という『放射線治療後のがん再発機構』を報告してきた。そして「この浸潤を阻害することで、がんの再発を抑制できること」を証明し、新たな治療コンセプトの確立に向けた可能性を示してきた。また、予備的に実施した実験を通じて、HIF-1の活性化因子をゲノムワイドにスクリーニングする系を確立している。この背景の下、本研究で我々は、がん細胞の浸潤を HIF-1 依存的に活性化する新規遺伝子を同定し、その作用機序を解明することを目指して研究を進めた。

結果

cDNA ライブラリーを対象にした expression screening を実施し、HIF-1 を活性化する新規遺伝子を同定した（特許公開前のため、当該遺伝子を X と呼ぶ）。新規遺伝子 X の過剰発現ベクターを p53 変異型の人由来がん細胞株などに導入した場合に、HIF-1 の転写活性化能（transactivation activity）が亢進し、HIF-1 下流の浸潤関連遺伝子（マトリックスメタロプロテアーゼ遺伝子群）の発現が誘導されることを見出した。この時、がん細胞の浸潤能が亢進することを、ボイデンチャンバーを用いた *in vitro* の実験で確認した。逆に内在性遺伝子 X の発現が高い細胞株を対象に、遺伝子 X の発現をノックダウンしたところ、細胞の浸潤能が低下することを確認した。

考察

以上の結果は、HIF-1 を活性化する新規遺伝子ネットワークが同定されたことを意味しており、学術的な意義が大きい。また、当該遺伝子ネットワークを阻害することで、低酸素がん細胞の HIF-1 依存的な浸潤を抑制するという、新たながん治療法の確立に繋がる可能性があると考えられる。

論文

1. Roudkenar MH, Fukumoto M, Roushandeh AM, Kuwahara Y, Uroshihara Y, **Harada H**, Fukumoto M. Disturbance in the regulation of miR17-92 cluster on HIF-1alpha expression contributes to clinically relevant radioresistant cells: an *in vitro* study. *Cytotechnology*. 72:141-153.2020.
2. Li X, Hattori A, Takahashi S, Goto Y, **Harada H**, Kakeya H. UCHL1 promotes HIF-1-dependent tumor cell malignancy in spheroid models. *Cancer Sci.* 111:239-252. 2020.
3. Nagao A, Kobayashi M, Koyasu S, Chow CCT, ***Harada H**. HIF-1-dependent reprogramming of glucose metabolic pathway of cancer cells and its therapeutic significance. *Int J Mol Sci.* 20:238. 2019.
4. Koyasu S, Shimizu Y, Morinibu A, Saga T, Nakamoto Y, Togashi K, **Harada H**. Increased 14C-acetate accumulation in IDH-mutated human glioblastoma: implications for detecting IDH-mutated glioblastoma with 11C-acetate PET imaging. *Journal of Neurooncol.* 145:441-447. 2019.

学会発表

1. 原田浩. 低酸素と放射線の関わり. 第 10 回日本放射線腫瘍学会 (JASTRO) 放射線生物学セミナー. 大阪. Feb. 16. 2020.
2. 原田浩. 放射線腫瘍学における低酸素バイオロジー. 第 49 回. 京都放射線腫瘍研究会. Feb. 15. 2020.
3. **Harada H**. A link between activation of HIF-1 and defect in p53 in malignant progression of cancers. International Seminar on Stress Medicine and Precision Healthcare; from Hypoxia and DNA Damage Response to Therapeutic Intervention. National Taiwan University. Taipei. Dec 30, 2019.

4. 原田浩. 新規 HIF-1 活性化因子の発現スクリーニングで明らかになった HIF-1 活性制御機構. 第 42 回日本分子生物学会年会. 福岡. Dec.6, 2019.
5. **Harada H.** Radioresistance of hypoxic tumor cells; Lessons from hypoxia and HIF-1 biology. The 3rd isRTB. Suzhou, China. Nov. 28, 2019.
6. 原田浩. 低酸素・腫瘍生物学研究で迫る癌治療増感. 日本放射線腫瘍学会第 32 回学術大会. 名古屋. Nov. 21, 2019.
7. 原田浩. 放射線治療効果の増強につなげる腫瘍生物学・低酸素生物学研究. 第 57 回日本癌治療学会学術集会. 福岡. Oct. 26, 2019.
8. **Harada H.** Tumor hypoxia; its influences on malignant progression and therapy resistance of cancer cells. Special Seminar in Kobe University Graduate School of Medicine. Kobe. Oct. 9, 2019.
9. **Harada H.** A link between HIF-1 and defect in p53 under hypoxic stress. Core Symposium 1: Microenvironmental Stress, The 78th Annual Meeting of Japanese Cancer Association. Kyoto. Sep. 26. 2019.
10. 原田浩. 低酸素がん細胞の治療抵抗性と再発を担う能動的休眠制御. 第 92 回日本生化学大会. 横浜. Sep. 18. 2019.
11. **Harada H.** Radioresistance of hypoxic tumor cells; Lessons from hypoxia& HIF-1 biology and beyond. The 16th International Congress of Radiation Research 2019 (ICRR2019). Manchester, UK. Aug 25-29. 2019.

謝辞

本研究にご支援下さいました公益財団法人がん研究振興財団に心より感謝申し上げます。