

松瀬 美智子 論文内容の要旨

主 論 文

A novel role for thyroid hormone receptor beta in cellular radiosensitivity

(甲状腺ホルモン受容体ベータによる細胞の放射線感受性に対する新しい機能)

松瀬美智子、ウラジミール・サエンコ、イリヤ・セドリアロウ、
タチアナ・ログノビッチ、中沢由華、光武範吏、ナターリア・アクレビッチ、
難波裕幸、山下俊一

(Journal of Radiation Research in press)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科放射線医療科学専攻
(主任指導教員：山下俊一教授)

緒 言

甲状腺ホルモン受容体(THR_s)は核受容体スーパーファミリーに属する転写因子である。甲状腺ホルモンがTHR_sに結合し、組織特異的に遺伝子の発現を調節することによって、細胞分化や代謝の調節など様々な組織の恒常性の維持に重要な役割を果たしている。THR_s遺伝子の変異は甲状腺ホルモン不応症で多く報告されているが、この遺伝子や遺伝子座の変異は様々な癌においても報告されており、THR_s異常と発癌との関連性が示唆されている。

一方、放射線に対する細胞応答は細胞の種類によって異なり、発現している遺伝子プロファイルに強く影響を受ける。特に、THR_sは様々な遺伝子の発現を調節しており、細胞の放射線感受性に影響を与える可能性があるが、THR_sと放射線との関連は未だ報告されていない。そこで、本研究ではTHR β の放射線感受性への影響を評価し、THR β を介した放射線細胞応答の変化に関する分子機構の詳細について検討した。

対象と方法

ヒト甲状腺乳頭癌細胞(NPA, TPC-1)、ヒト甲状腺未分化癌細胞(ARO, FRO)、ヒト乳癌細胞(MCF-7)、アフリカミドリザル腎細胞(COS7)及びヒト初代培養甲状腺細胞(PT)を用いてWestern blottingで内因性THR β 蛋白の発現レベルを確認した。次にアデノウイルスベクターを用いてGFP(コントロール)及びTHR β (wild-typeもしくはmutant)を細胞に遺伝子導入し、コロニー形成法で放射線感受性を評価した。さらにPKH-2を用いて細胞を標識し、フローサイトメトリーで細胞分裂の解析を行った。細胞老化の解析は、細胞を固定後、SA- β -Gal(senescence-associated β -galactosidase)染色を行い、老化細胞数を測定した。細胞周期調節に関わる蛋白の発現レベル及び活性状態をWestern blottingによって確認した。

結 果

- 1) 内因性 THR β の発現は、PT での発現レベルと比べると、NPA、TPC-1、FRO では高く、MCF-7、COS7 では低かった。また、ARO ではほとんど発現が確認されなかった。
- 2) 内因性 THR β の発現が高い NPA、TPC-1、FRO では、wtTHR β または mutTHR β の導入によるコロニー形成能に違いが見られなかった。一方、内因性 THR β の発現が少ない MCF-7、COS7、ARO は、コントロール (GFP) と比較して wtTHR β の導入により放射線感受性に変化し、mutTHR β により放射線抵抗性に変化した。
- 3) 放射線感受性に変化した細胞では、放射線照射後の wtTHR β による細胞分裂の抑制が観察された。一方、mutTHR β は放射線による細胞分裂抑制効果を減弱させた。
- 4) 放射線照射後、wtTHR β を導入した細胞において、コントロールと比べ有意な細胞老化の促進が観察され、mutTHR β を導入した細胞では細胞老化の減少が観察された。
- 5) 放射線照射後、wtTHR β を導入した細胞では CDK インヒビター p16 及び p21 の増加、リン酸化 Rb の発現の減少が観察され、G1 期への集積が示唆された。mutTHR β を導入した細胞では、p21 レベルの減少及びリン酸化 Rb の増加が観察された。

考 察

本研究において、内因性 THR β 蛋白の発現レベルは細胞の種類により異なることが確認された。この違いは組織発生的な違いもしくは長期間の培養に起因するものと考えられる。内因性 THR β の発現が高い細胞では、THR β の遺伝子導入によるコロニー形成能に変化が見られなかった。おそらくこのような細胞では、この転写因子によって発現する遺伝子が十分に機能しており、THR β の導入による放射線応答に変化が現れなかったと考えられる。それとは逆に、内因性 THR β が低発現の細胞では、THR β の導入により放射線感受性に変化し、これには細胞老化が重要な役割を果たしていると考えられた。さらに、wtTHR β を導入した細胞では、放射線照射 5 日後においてもリン酸化 Rb レベルの減少が確認された。リン酸化 Rb は S 期の進行に必要な E2F 依存性の遺伝子の転写を調節している蛋白である。したがって wtTHR β を導入し放射線照射した細胞における増殖の停止は、細胞の G1 期への集積によるものと考えられた。

以上、本研究において、THR β は内因性 THR β の発現が低い細胞の放射線感受性を変化させるという新しい知見が得られた。今後、内因性 THR β が低発現の細胞における wtTHR β 及び mutTHR β の導入による遺伝子発現の変化等を調べることにより、細胞の放射線感受性及び放射線誘発細胞老化のメカニズムの一端を明らかにできる可能性がある。