

論 文 内 容 要 旨

題目 Epigallocatechin-3-gallate Enhances Radiation Sensitivity in Colorectal Cancer Cells Through Nrf2 Activation and Autophagy

(Epigallocatechin-3-gallate は大腸癌細胞株において Nrf2 とオートファジーを介して放射線感受性を増強する)

著者 TUMENJIN ENKHBAT, MASAOKI NISHI, KOZO YOSHIKAWA, HIGASHIJIMA JUN, TAKUYA TOKUNAGA, CHIE TAKASU, HIDEYA KASHIHARA, DAICHI ISHIKAWA, MASAHIDE TOMINAGA and MITSUO SHIMADA

平成 30 年 11 月発行 Anticancer Research. 第 38 卷 11 号 6247 ページから 6252 ページに発表済

内容要旨

放射線治療は大腸癌を含む固形腫瘍に対する有効な治療法であり、DNA 障害や ROS 産生を介した細胞障害等により抗腫瘍効果を発揮する(*Oncotarget* 2017)。さらなる治療成績の向上のためには放射線治療効果の増強が求められている。

世界中で飲用されている緑茶は抗酸化作用を有するカテキンを多く含む。緑茶に含有されるカテキンの中で体内動態に最も影響を与えるものは Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) である。我々はこれまでに、EGCG の有用性を報告してきた(*J Gastroenterol Hepatol* 2016, *J Gastroenterol* 2014)。EGCG は癌の発生、進展、転移のいずれの過程においても抗腫瘍効果を発揮する(*Biochem Pharmacol* 2011)。さらに、EGCG は放射線感受性を増強する可能性が報告されている(*Cancer Sci.* 2011)。しかしながら、大腸癌における EGCG の放射線感受性増強の詳細なメカニズムは不明である。

今回我々が着目した Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) は抗酸化・解毒作用を調整する転写因子であり(*Nature* 2011)、Nrf2-Keap1-オートファジー経路は細胞死の重要な役割を担っている(*Mol Cell* 2013)。EGCG はこの Nrf2 の inducer である。オートファジーは 1. マクロオートファジー、2. ミクロオートファジー、3. マイトファジーに大別される。このうちマイトファジーはミトコンドリアの変性をターゲットとする誘導されたマイトファジーは、癌微小環境に

様式(8)

において機能不全に陥ったミトコンドリアを有する癌細胞のクリアランスを介して、抗腫瘍効果を誘導する(*Cell* 2016)。

今回、EGCG の放射線感受性増強効果、特に Nrf2-オートファジー経路を介してた効果を解明する目的で、大腸癌細胞株を用いて、EGCG と放射線治療による抗腫瘍効果、Nrf2 発現、オートファジー誘導を評価した。得られた結果は以下の如くである。

- 1) EGCG により大腸癌細胞株 (HCT-119) の放射線治療効果が増強され、腫瘍細胞増殖を抑制した。
- 2) EGCG+放射線治療により Colony formation は Control 群と比較し、34.2%減少した。
- 3) 免疫蛍光染色においては、EGCG+放射線治療により Nrf2 の核内移行が誘導された。
- 4) EGCG+放射線治療により LC-3・Caspase-9 発現の上昇が認められた。

これらの結果から、EGCG は大腸癌細胞株において、細胞増殖抑制、Nrf2 の核内移行誘導、オートファジー誘導を介して、放射線感受性を増強すると考えられた。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1405 号	氏名	Tumenjin Enkhbat
審査委員	主査 高山 哲治 副査 金山 博臣 副査 石澤 啓介		

題目 Epigallocatechin-3-gallate Enhances Radiation Sensitivity in Colorectal Cancer Cells Through Nrf2 Activation and Autophagy

(Epigallocatechin-3-gallate は大腸癌細胞株において Nrf2 とオートファジーを介して放射線感受性を増強する)

著者 TUMENJIN ENKHBAT, MASAAKI NISHI, KOZO YOSHIKAWA, HIGASHIJIMA JUN, TAKUYA TOKUNAGA, CHIE TAKASU, HIDEYA KASHIHARA, DAICHI ISHIKAWA, MASAHIDE TOMINAGA and MITSUO SHIMADA
 平成 30 年 11 月発行 Anticancer Research. 第 38 巻 11 号 6247 ページから 6252 ページに発表済
 (主任教授 島田 光生)

要旨 放射線治療は大腸癌を含む固形腫瘍に対する有効な治療法であるが、さらなる治療成績向上のためには効果を増強させることが必要である。申請者らは、緑茶に含有されるカテキンの中で生理活性が強い epigallocatechin-3-gallate (EGCG) の癌細胞や癌幹細胞への有用性を報告してきた。近年、EGCG は放射線感受性を増強する可能性が報告されているが、大腸癌における EGCG の放射線感受性増強の詳細なメカニズムは不明である。Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) は、抗酸化-解毒作用を有する転写因子であり、近年、Nrf2-Keap1-オートファジー経路が細胞死に重要な役割を担っていることが報告されている。

そこで申請者らは、Nrf2 の inducer として知られている EGCG の放射線感受性増強効果を解明する目的で、大腸癌細胞株を用いて、EGCG と X 線照射による抗腫瘍効果、Nrf2 発現、オートファ

ジー誘導を評価した。事前検討から EGCG12.5 μ M、X 線照射 2Gy で以下の実験を行い、抗腫瘍効果は cell counting kit と colony formation assay を用いて、Nrf2 発現は免疫蛍光染色を用いて評価した。オートファジー及びアポトーシスについては、それぞれ LC-3 及び Caspase-9 mRNA 発現を RT-PCR を用いて評価した。得られた結果は以下の如くである。

- 1) 大腸癌細胞株の細胞増殖は、EGCG+X 線照射により、Control 群、EGCG 単独群、X 線照射単独群に比べ有意に抑制された。
- 2) Colony formation は、EGCG+ X 線照射により、Control 群、EGCG 単独群、X 線照射単独群に比べ有意に減少し、Control 群の 34.2%になった。
- 3) 免疫蛍光染色による Nrf2 の核内移行は、EGCG+ X 線照射により、Control 群、EGCG 単独群や X 線照射単独群に比べ有意に増加した。
- 4) EGCG+ X 線照射により、LC-3 発現は、Control 群、EGCG 単独群、X 線照射単独群に比べ有意に増加し、Caspase-9 発現は Control 群に比べて有意に増加した。

これらの結果から、EGCG は大腸癌細胞株において、細胞増殖抑制、Nrf2 の核内移行によるオートファジー誘導を介して、放射線感受性を増強する可能性があると考えられた。

本研究は大腸癌の放射線効果増強におけるメカニズム解明や新たな治療法開発に寄与すると考えられ、学位授与に値すると判定した。