

P-01

Deficiency of Fyn Protein Is Prerequisite for Apoptosis Induced by Src Family Kinase Inhibitors in Human Mesothelioma Cells

Laboratory of Cell Transplantation, Institute for Advanced Medical Sciences, Hyogo College of Medicine

○ Ryoji Eguchi

Malignant mesothelioma is an aggressive tumor arising from mesothelial cells of serous membranes. Src family kinases (SFKs) have a pivotal role in cell adhesion, proliferation, survival, and apoptosis. Here we examined the effect of SFK inhibitors in NCI-H2052, ACC-MESO-4 and NCI-H28 cells, mesothelioma cell lines, and Met5A, a human non-malignant mesothelial cell line. We found that PP2, a selective SFK inhibitor, inhibited SFK activity and induced apoptosis mediated by caspase-8 in NCI-H28, but not Met5A, NCI-H2052 and ACC-MESO-4 cells. Src, Yes, Fyn and Lyn protein, which are members of the SFK, were expressed in these cell lines, while NCI-H28 cells were deficient in Fyn protein. Small interfering RNA (siRNA) targeting Fyn facilitated PP2-induced apoptosis mediated by caspase-8 in NCI-H2052 and ACC-MESO-4 cells. PP2 reduced Lyn protein levels and suppressed SFK activity in all mesothelioma cell lines. Lyn siRNA induced caspase-8 activation and apoptosis in NCI-H28 cells, but not in NCI-H2052 and ACC-MESO-4 cells. However, double RNAi knockdown of Fyn and Lyn induced apoptosis accompanied by caspase-8 activation in NCI-H2052 and ACC-MESO-4 cells. Dasatinib, an inhibitor of multi-tyrosine kinases including SFK, also inhibited SFK activity and induced reduction of Lyn protein levels, caspase-8 activation and apoptosis in NCI-H28 cells but not in other cell lines. Present study suggests that SFK inhibitors induce caspase-8-dependent apoptosis caused by reduction of Lyn protein in Fyn-deficient mesothelioma cells. (Carcinogenesis, 2012, 33(5), 969-975)

P-02

TAK1 による放射線誘発細胞周期停止と細胞生存の促進

¹ 富山大・院医薬研(医)・放射線基礎医学、

² 薬、³ 和漢研

○ 近藤 隆¹、古澤 之裕¹、魏 政立¹、李 鵬¹、
趙 慶利¹、櫻井 宏明²、済木 育夫³

Transforming growth factor beta 1 activated kinase 1 (TAK1) は、NF- κ B, p38 MAPK, JNK などのリン酸化に関与し、種々のストレスに対して細胞保護的な役割をなすことが知られている。しかしながら、放射線照射下における TAK1 の役割については不明な点が多い。そこで我々は、TAK1 を安定的に発現抑制した HeLa 細胞株を用いて、放射線感受性および遺伝子発現変化について検討を行った。

材料・方法: 実験にはヒト子宮がん由来の HeLa 細胞を用いて、細胞死はコロニー形成法により検討を行った。アポトーシスをカスパーゼ 3 の切断と SubG1 期の細胞の割合を指標として定量した。細胞周期の変化はフローサイトメトリーにて検討した。また遺伝子発現変化を GeneChip を用いたマイクロアレイにて解析した。

結果・考察: TAK1 の安定的なノックダウンは、放射線によるコロニー形成能の低下とカスパーゼ 3 の切断を促進し、SubG1 期の細胞の割合も増加させた。また TAK1 ノックダウンにより、放射線により誘発される細胞周期の停止が部分的に抑制されたことから、放射線感受性増加の一因として TAK1 ノックダウンによるチェックポイント機構の抑制が考えられた。一方で TAK1 の下流分子とされる NF- κ B, p38 MAPK, ERK リン酸化の誘導に関しては、TAK1 ノックダウンによる抑制は見られず、TAK1 ノックダウンによる放射線感受性の増加は他の標的分子が役割を担っていると考えられた。GeneChip による網羅的遺伝子解析手法により、TAK1 ノックダウン細胞と対照細胞において、放射線照射による細胞周期関連遺伝子の発現変化に差が認められた。バイオインフォマティクスツールを用いてネットワーク解析を試みたところ、CDKN1A (p21) を中心とした遺伝子ネットワークが対照細胞で同定された一方、TAK1 ノックダウン細胞ではネットワークが断片的であった。実際に対照細胞において、p21 の発現を siRNA により抑制したところ、放射線による細胞周期の停止を抑制し、SubG1 期の細胞の割合を増加させた。以上より、TAK1 は NF- κ B, p38 MAPK, ERK のリン酸化状態にかかわらず、p21 の転写を介して、放射線誘発細胞死に対して防御的に働いているものと推測される。