

# 第43回 放射線による制癌シンポジウム

## 第52回 生物部会学術大会

# 生物部会50周年記念大会

放射線生物学における温故知新  
“50年の歴史から最先端治療へ”



日時 2014年 7月11日金・12日土

会場 メルパルク京都

世話人・  
大会長 長谷川 正俊  
奈良県立医科大学 放射線腫瘍医学講座



# 第43回 放射線による制癌シンポジウム 第52回 生物部会学術大会

---

## 生物部会50周年記念大会

放射線生物学における温故知新  
“50年の歴史から最先端治療へ”

日時 2014年 7月11日(金)・12日(土)

会場 メルパルク京都

世話人・  
大会長 長谷川 正俊  
奈良県立医科大学 放射線腫瘍医学講座

### 事務局

奈良県立医科大学 放射線腫瘍医学講座

〒634-8522 奈良県橿原市四条町840

TEL: 0744-29-8908

FAX: 0744-25-3434

E-mail: narabio@naramed-u.ac.jp

## 実行委員会・事務局

---

実行委員長：若井展英（奈良県立医科大学 放射線腫瘍医学講座）

実行委員：浅川勇雄、井上和也、片山絵美子、森本陽子、森本将裕、  
真貝隆之、玉本哲郎、藤谷信将、吉峰 正、福神 敏

事務局：藤村浩子、川島真紀、榎本喜久子、内田雅世

日本放射線腫瘍学会  
第43回 放射線による制癌シンポジウム  
第52回 生物部会学術大会

開催にあたって

世話人・大会長

長谷川 正俊 奈良県立医科大学 放射線腫瘍医学講座

半世紀前の1964年は、夢の超特急と言われた東海道新幹線が開通し、アジアで初めての東京オリンピックが開催された年でした。この度、制癌シンポジウム・生物部会の「生物部会50周年記念大会」を開催させていただくにあたり、生物部会が初めて開催されたのがこのオリンピックの年であったこと、そして生物部会には50年の歴史があることを再認識して、その責任の重さを痛感しています。第一回は東北大学で栗冠先生が開催されたとのことです。今回は、当時の十数名の出席者のおひとりであった坂本澄彦先生（東北大学名誉教授）に特別講演をお願いいたしました。

開業当時の新幹線0系では東京～新大阪間の所要時間が3時間10分でした。従来の約半分という驚異的な速さでしたが、現在の新幹線N700系では最短2時間25分です。この50年間では45分しか短縮できなかったという印象もありますが、新幹線は最初から完成度が非常に高かっただけに、さらに45分も速くなったというべきかもしれません。

さて、それでは、放射線生物学や癌治療はどうでしょうか。分子生物学の進歩が目覚ましく、遺伝子レベルの放射線生物学や腫瘍学の研究が急速に発展しました。癌治療においても50年前には想像もできなかったような進歩があり、手術や化学療法、分子標的治療等が発展しましたが、特に放射線療法においては、かつてのテレコバルトでは考えられないレベルの高精度放射線治療が可能となり、治療成績も大きく改善しました。これらの進歩は新幹線の50年間よりもはるかに大きいのではないのでしょうか。

放射線生物学、放射線腫瘍学が急速に発展したことに異議を唱える人はほとんどいないと思われまふ。ただし、蒸気機関車から特急列車、新幹線に発展してきた歴史と、生物学や腫瘍学の歴史は必ずしも同様ではありません。どんなに分子生物学が進歩して遺伝子レベルの解明が進んでも、以前の放射線生物学が根本的に変わるようなことはほとんどなく、現在でも大部分がそのまま通用します。臨床応用ではむしろ古典的な生物学レベルの議論の方が現実的に有用なことも珍しくありません。従って、放射線生物学とその臨床応用には、長い歴史から学ぶことも多く、その上で新たな研究を発展させていくことが重要と考えます。

今回のテーマは、「放射線生物学における温故知新“50年の歴史から最先端治療へ”」とさせていただきます。この節目に今後の研究の発展や治療成績の向上につながるような成果が少しでも得られれば幸いです。ご協力よろしくお願ひ申し上げます。

## ご参加の皆様へのご案内

### ●ご参加の皆様へ

- 学会参加受付はメルパルク京都 6階 会議室 C【貴船】前のロビーで行います。
- 受付は7月11日(金)午前8時30分より、7月12日(土)は午前8時10分より開始します。
- 学会参加費と引換に参加証をお渡しいたします。参加証に所属・氏名をご記入の上、必ずご着用下さい。着用されていない方は講演会場に入れません。

### 参加費

- 参加費 6,000円(抄録集代込)
  - 懇親会参加費 2,000円
- ※7月11日(金)18時から5階 会議室 A【京極】で開催しますので奮ってご参加下さい。

### ●関連会議・行事

#### • 幹事会

日時：7月11日(金)12:00～12:55

会場：6階 会議室6【楓】

#### • ランチョンセミナー (日本放射線腫瘍学会・バリアンメディカルシステムズ共催セミナー)

日時：7月12日(土)12:05～13:05

会場：6階 会議室 C【貴船】

#### • 懇親会

日時：7月11日(金)18:00～20:00

会場：5階 会議室 A【京極】

※6階 ロビーの受付にて懇親会参加費2,000円をお支払い下さい。

### ●会場案内

総合受付	6階 ロビー
PC 受付	6階 ロビー
メイン会場	6階 会議室 C【貴船】
懇親会	5階 会議室 A【京極】
幹事会	6階 会議室6【楓】
事務局・クローク	6階 会議室5【桜】

### ●表彰

#### 【第2回日本放射線腫瘍学会生物部会賞】

- 日本放射線腫瘍学会生物部会では、放射線生物学研究の活性化を目的として、基礎系、臨床系各1名以内で日本放射線腫瘍学会生物部会賞を設定いたします。
- 7月11日(金)の懇親会において発表して、授与式を行います。

## ●その他

### ●駐車場について

会場内に有料駐車場がございます。

来場には、なるべく公共交通機関をご利用下さい。

## ●座長の皆様へ

- ご担当のセッション開始予定時刻の10分前までに、会場右前方の次座長席にご着席下さい。
- プログラムの時間通りの進行にご協力をお願いいたします。

## ●演者の皆様へ

※ ご講演開始時刻の30分前までに6階ロビーのPC受付へお立ち寄り下さい。

- Windowsをご使用される場合は、原則としてUSBフラッシュメモリーでの受付とさせていただきますが、ノートパソコンの持ち込みも可能です。動画がある場合はノートパソコンの持ち込みのみの対応となります。
- Macをご使用される場合は、ノートパソコンの持ち込みのみの対応となります。
- ノートパソコンを持ち込まれる方は映像出力端子がD-sub 15pinのものをご用意下さい。Macをご使用される場合は変換アダプターもお持ち下さい。
- Power pointのversionは2007以上をご使用ください。

## 1. ご講演時間

### ●第43回放射線による制癌シンポジウム

シンポジウム 発表20～25分 質疑3～5分(シンポジウムによって異なります)

### ●第52回生物部会学術大会

教育講演 発表35分 質疑5分

要望演題 発表7分 質疑2分

一般演題 発表7分 質疑2分

- 講演終了1分前に警告灯、終了時には赤灯でお知らせします。
- 演者の方は講演時間10分前までに、会場左前方の次演者席にご着席下さい。

## 2. ご発表方法

- 発表方法はパソコンプレゼンテーション(1面映写)のみとします。
- 画像枚数に制限はありませんが、発表時間内に終了するようご注意ください。
- 発表の画像操作は講演台に置かれたモニターを見ながらご自身でマウスを操作して画面を進めていただきます。
- 発表データは専用のオペレーターが登壇時にご用意します。

# 交通アクセス

メルパルク京都

〒600-8216 京都府京都市下京区  
東洞院通七条下ル東塩小路676番13  
TEL : 075-352-7444 FAX : 075-352-7390



## 交通のご案内

### 新幹線をご利用の場合

JR京都駅(烏丸中央口)から東へ約1分

### 飛行機をご利用の場合

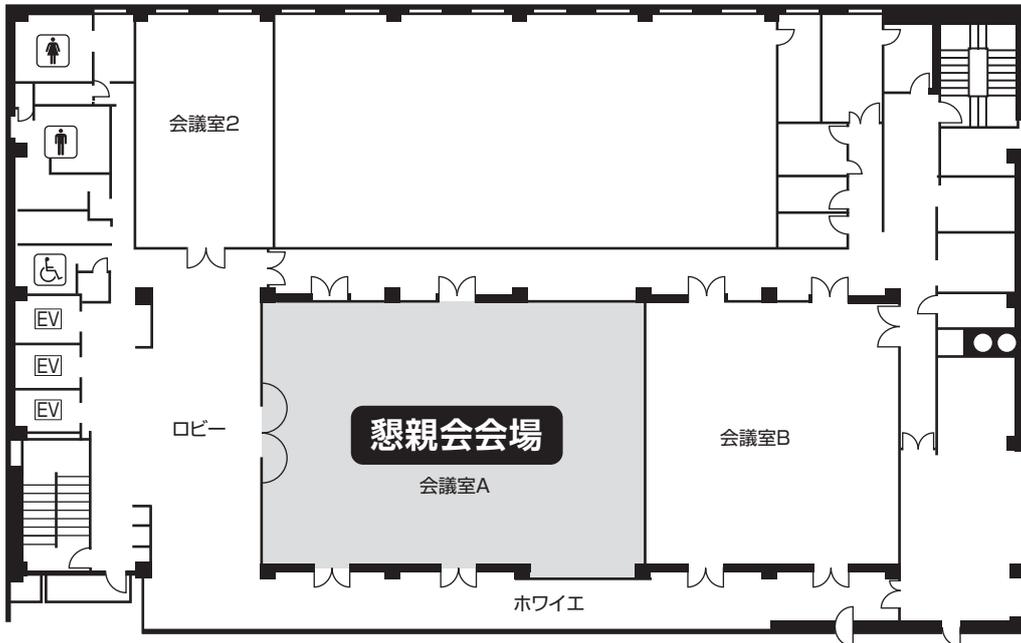
大坂(伊丹)空港からリムジンバスで約60分【片道¥1,280】  
「京都駅八条口」下車徒歩5分

### お車をご利用の場合

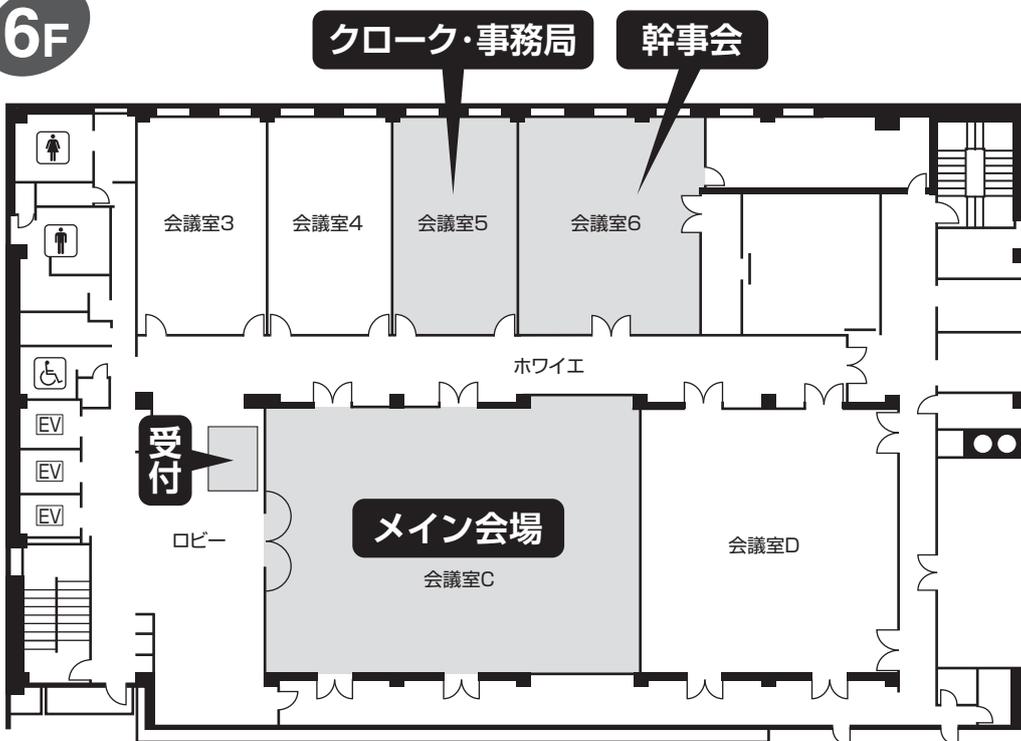
名神高速道路 京都南インターより国道1号線経由で約10分  
阪神高速8号京都線鴨川西出口降りて河原町十条左折、竹田街道十条を  
右折、竹田街道直進し(約5分)、高倉塩小路を左折、一つ目の信号を左折。

# 会場案内図

5F



6F



7月11日金

7月12日土

8:00		
9:00	9:00~9:05 <b>開会のあいさつ</b>	8:30~9:30 <b>セッション1：要望演題</b> 古くても新しい放射線生物学 ①分割照射とLQモデル 座長：田巻 倫明
10:00	9:05~10:35 <b>シンポジウム1</b> 放射線抵抗性細胞、癌幹細胞等を 標的としたアプローチ 演者：志村 勉、皆巳 和賢、三森 功士 座長：平田 秀紀、高橋 昭久	9:30~10:40 <b>セッション2：要望演題</b> 古くても新しい放射線生物学 ②放射線感受性、細胞死、他 座長：近藤 隆
11:00	10:35~11:55 <b>シンポジウム2</b> 集学的癌治療の発展と今後への期待 演者：太田 陽介、中山 優子、加藤 眞吾 座長：山崎 秀哉	10:40~12:00 <b>教育講演</b> 臨床に役立つ放射線生物学 一温故知新一 演者：芝本 雄太、三浦 雅彦 座長：西村 恭昌
12:00	12:00~12:55 <b>幹事会</b> 会場：6F 会議室6	12:05~13:05 <b>ランチョンセミナー</b> 生物部会50周年記念特別講演 (共催：バリアンメディカルシステムズ) 放射線生物部会及び制癌シンポジウムの 成り立ちと今後の期待 演者：坂本 澄彦 司会：阿部 光幸
13:00	13:00~14:00 <b>特別講演</b> 重粒子線がん治療の20年 演者：鎌田 正 司会：長谷川 正俊	13:10~13:40 <b>総会</b>
14:00	14:00~16:00 <b>シンポジウム3</b> 放射線治療の進歩と新展開 演者：玉本 哲郎、溝脇 尚志 溝江 純悦、白井 敏之 座長：早川 和重、溝江 純悦	13:40~14:30 <b>セッション3：一般演題①</b> 重粒子線 座長：若月 優
15:00		14:30~15:10 <b>セッション4：一般演題②</b> DNA損傷、他 座長：松本 英樹
16:00	16:00~17:55 <b>シンポジウム4</b> 膠芽腫における放射線治療、 集学的治療の進歩 演者：中村 光利、鈴木 義行 宮武 伸一、水本 斉志 近藤 夏子 座長：中村 光利、鈴木 義行	15:10~15:50 <b>セッション5：一般演題③</b> 放射線感受性、他 座長：細井 義夫
17:00		15:50~16:40 <b>セッション6：一般演題④</b> その他 座長：柏倉 幾郎
18:00	18:00~20:00 <b>懇親会</b> 会場：5F 会議室A	
20:00		

# プログラム

7月11日(金)

開会のあいさつ 9:00～9:05

---

シンポジウム1 9:05～10:35

---

座長：平田 秀紀(九州大学大学院)  
高橋 昭久(群馬大学大学院)

## 放射線抵抗性細胞、癌幹細胞等を標的としたアプローチ

### S1-1 AKT 経路を標的としたがん細胞の放射線耐性の抑制

○志村 勉

国立保健医療科学院 生活環境研究部 衛生環境管理研究分野

### S1-2 放射線照射の癌幹細胞の遊走・浸潤能への影響

○皆巳 和賢<sup>1)</sup>、吉岡 彩<sup>1)</sup>、今泉 大将<sup>1)</sup>、中谷 香菜<sup>1)</sup>、松本 孔貴<sup>2)</sup>、  
佐藤 克俊<sup>3)</sup>、松浦 成昭<sup>4)</sup>、小泉 雅彦<sup>1)</sup>

1)大阪大学大学院医学系研究科、2)筑波大学医学医療系臨床医学域放射線腫瘍科、  
3)放射線医学総合研究所、4)大阪府立成人病センター

### S1-3 大腸癌幹細胞を標的にした治療法開発のための原発巣／転移巣における ゲノム・エピゲノム解析

○三森 功士、平田 秀成

九州大学病院別府病院

シンポジウム2 10:35～11:55

---

座長：山崎 秀哉(京都府立医科大学)

## 集学的癌治療の発展と今後への期待

### S2-1 頭頸部癌の集学的治療：究極の個別化治療を目指して

○太田 陽介

兵庫県立がんセンター 放射線治療科

### S2-2 非小細胞肺癌の集学的治療

○中山 優子

神奈川県立がんセンター 放射線腫瘍科

### S2-3 子宮頸癌に対する集学的治療

○加藤 真吾

埼玉医科大学国際医療センター放射線腫瘍科

特別講演 13:00～14:00

司会：長谷川 正俊(奈良県立医科大学)

## 重粒子線がん治療の20年

鎌田 正 放射線医学総合研究所 重粒子医科学センター

シンポジウム3 14:00～16:00

座長：早川 和重(北里大学)  
溝江 純悦(名古屋粒子線センター)

### 放射線治療の進歩と新展開

#### S3-1 画像誘導放射線治療 (Image-guided radiotherapy : IGRT)

○玉本 哲郎  
奈良県立医科大学 放射線腫瘍医学講座

#### S3-2 強度変調放射線治療 (Intensity-modulated radiotherapy : IMRT)

○溝脇 尚志  
京都大学 医学研究科

#### S3-3 陽子線治療の普及に向けて (Spot Scanning 法の開始)

○溝江 純悦  
名古屋市立西部医療センター 名古屋陽子線治療センター

#### S3-4 重粒子線治療装置の最近の展開

○白井 敏之  
独立行政法人 放射線医学総合研究所

シンポジウム4 16:00～17:55

座長：中村 光利(奈良県立医科大学)  
鈴木 義行(群馬大学大学院)

### 膠芽腫における放射線治療、集学的治療の進歩

#### S4-1 膠芽腫治療に関する基礎と臨床の概要

○中村 光利、松田 良介、中瀬 裕之  
奈良県立医科大学 脳神経外科

**S4-2** 神経膠芽腫に対する temozolomide を用いた化学放射線治療の臨床成績と次の一手

○鈴木 義行、野田 真永、田巻 倫明、尾池 貴洋、中野 隆史  
群馬大学大学院医学系研究科 腫瘍放射線学

**S4-3** 膠芽腫のベバシズマブ併用放射線治療と症候性脳放射線壊死の治療

○宮武 伸一  
大阪医科大学 医学部

**S4-4** 脳腫瘍、頭蓋底腫瘍に対する陽子線治療

○水本 斉志、坪井 康次、奥村 敏之、林 靖孝、室伏 景子、大西 かよ子、福光 延吉、  
粟飯原 輝人、石川 仁、櫻井 英幸  
筑波大学附属病院 放射線腫瘍科

**S4-5** BNCT の現状

○近藤 夏子<sup>1)</sup>、鈴木 実<sup>1)</sup>、増永 慎一郎<sup>1)</sup>、小野 公二<sup>1)</sup>、川端 信司<sup>2)</sup>、宮武 伸一<sup>2)3)</sup>  
1) 京都大学 原子炉実験所、2) 大阪医科大学 脳神経外科、3) 大阪医科大学 がんセンター

懇親会 18:00～20:00

会場：5F 会議室 A

7月12日(土)

セッション1：要望演題 8:30～9:30

座長：田巻 倫明(埼玉医科大学)

古くても新しい放射線生物学 ①分割照射とLQモデル

O1-1 放射線生物モデル温故知新(1)：Target theoryの構築された経緯と問題点

○野宮 琢磨  
放射線医学総合研究所 重粒子医科学センター

O1-2 放射線生物モデル温故知新(2)：標的理論の再考・既知の理論と新たな部分

○野宮 琢磨  
放射線医学総合研究所 重粒子医科学センター

O1-3 放射線生物モデル温故知新(3)：標的理論改訂モデルで何が可能なのか？

○野宮 琢磨  
放射線医学総合研究所 重粒子医科学センター

O1-4 不均質な放射線感受性クローンをもつ腫瘍の線量・効果関係の解析

○関根 広  
東京慈恵会医科大学附属第三病院

O1-5 大線量寡分割照射におけるLinear Quadraticモデルの検討

○藤谷 信将<sup>1)2)</sup>、吉峰 正<sup>1)2)</sup>、片山 絵美子<sup>1)</sup>、井上 和也<sup>1)</sup>、浅川 勇雄<sup>1)</sup>、  
玉本 哲郎<sup>1)</sup>、武田 麻衣子<sup>3)</sup>、吉田 由香里<sup>4)</sup>、石内 勝吾<sup>5)</sup>、長谷川 正俊<sup>1)</sup>  
1) 奈良県立医科大学 放射線腫瘍医学講座、2) 奈良県立医科大学附属病院 中央放射線部、  
3) 奈良県立医科大学 生化学講座、4) 群馬大学 重粒子医学研究センター、  
5) 琉球大学医学部 脳神経外科学講座

O1-6 子宮頸癌放射線治療におけるLQモデルの応用：  
3次元生物学的線量分布解析による線量評価

○田巻 倫明<sup>1)</sup>、阿部 孝憲<sup>1)</sup>、安藤 謙<sup>2)</sup>、村田 和俊<sup>3)</sup>、野田 真永<sup>3)</sup>、大野 達也<sup>3)</sup>、  
加藤 真吾<sup>1)</sup>、中野 隆史<sup>3)</sup>  
1) 埼玉医科大学 国際医療センター 放射線腫瘍科、2) 群馬県立がんセンター 放射線科、  
3) 群馬大学大学院 腫瘍放射線学

セッション2：要望演題 9:30～10:40

座長：近藤 隆(富山大学大学院)

古くても新しい放射線生物学 ②放射線感受性、細胞死、他

O2-1 アポトーシスを指標として放射線の間接作用を考える

○近藤 隆  
富山大学 大学院医学薬学研究部 放射線基礎医学講座

## O2-2 マウス骨髄細胞由来肥満細胞の分化・増殖に対する放射線の影響

○村上 翔、吉野 浩教、山口 平、西山 彩香、横山 昂生、柏倉 幾郎  
弘前大学大学院保健学研究科

## O2-3 遅発性活性酸素は放射線感受性に影響する

○菓子野 元郎  
大分大学 医学部 先端分子イメージングセンター

## O2-4 腫瘍内酸素分圧の差異による解糖系依存の評価；放射線治療による影響はあるか？

○松尾 政之<sup>1)2)</sup>、松元 慎吾<sup>2)</sup>、斎藤 圭太<sup>2)</sup>、高草木 洋一<sup>2)</sup>、Mitchel James<sup>2)</sup>、  
Christhna Murali<sup>2)</sup>、芝本 雄太<sup>1)</sup>  
1)名古屋市立大学放射線科、2)NCI/NIH

## O2-5 低酸素ならびに再酸素化が細胞周期動態に及ぼす影響

○後藤 達明、戒田 篤志、三浦 雅彦  
東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 口腔放射線腫瘍学分野

## O2-6 <sup>137</sup>Cs 針を線源とした低線量率連続照射による時空間的細胞周期動態の可視化

○戒田 篤志、三浦 雅彦  
東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 口腔放射線腫瘍学分野

## O2-7 人工グリオーマ幹細胞の放射線照射後細胞周期イメージング

○公田 龍一<sup>1)2)</sup>、サンペトラ オルテア<sup>2)</sup>、小池 直義<sup>1)2)</sup>、深田 淳一<sup>1)</sup>、川田 哲也<sup>1)</sup>、  
佐谷 秀行<sup>2)</sup>、茂松 直之<sup>1)</sup>  
1)慶應義塾大学医学部 放射線科(治療)、2)慶應義塾大学医学部 先端医科学研究所遺伝子制御

教育講演 10:40~12:00

座長：西村 恭昌(近畿大学)

## 臨床に役立つ放射線生物学 ―温故知新―

### E-1 分割照射の今昔：理論と実際

○芝本 雄太  
名古屋市立大学大学院

### E-2 放射線感受性に影響を与える因子：細胞動態の温故知新

○三浦 雅彦  
東京医科歯科大学大学院

## 放射線生物部会及び制癌シンポジウムの成り立ちと今後の期待

坂本 澄彦 東北放射線科学センター 理事長、東北大学 名誉教授

共催：バリアンメディカルシステムズ

総 会 13:10～13:40

セッション3：一般演題① 13:40～14:30

座長：若月 優(放射線医学総合研究所)

### 重粒子線

#### 03-1 DNA二本鎖切断修復阻害剤による炭素線増感効果の検討

○高橋 昭久<sup>1)2)</sup>、馬 洪玉<sup>2)</sup>、東 千晶<sup>3)</sup>、成澤 由起子<sup>3)</sup>、中川 彰子<sup>2)</sup>、小町 麻由美<sup>2)</sup>、磯野 真由<sup>4)</sup>、吉田 由香里<sup>4)</sup>、金井 達明<sup>4)</sup>、中野 隆史<sup>2)4)</sup>

1)群馬大学 先端科学研究指導者育成ユニット、2)群馬大学 院医 腫瘍放射線学、  
3)群馬大学 医学部医学科、4)群馬大学 重粒子線医学研究センター

#### 03-2 Carbon-ion beam irradiation kills X-ray-resistant p53-null cancer cells by inducing mitotic catastrophe

○ナパバ アモウイチェト<sup>1)</sup>、尾池 貴洋<sup>1)2)</sup>、柴田 淳史<sup>3)</sup>、荻原 秀明<sup>2)</sup>、木村 由夏<sup>1)</sup>、磯野 真由<sup>4)</sup>、吉田 由加里<sup>4)</sup>、大野 達也<sup>4)</sup>、河野 隆志<sup>2)</sup>、中野 隆史<sup>1)</sup>

1)群馬大学大学院医学系研究科腫瘍放射線学、2)国立がん研究センター研究所ゲノム生物学研究分野、  
3)群馬大学先端科学研究指導者育成ユニット、4)群馬大学重粒子線医学研究センター

#### 03-3 粒子線照射後の軟骨肉腫細胞における LET 依存性バイスタンダー効果の解析

○若月 優、軽部 雅崇、伊川 裕明、鎌田 正

放射線医学総合研究所 重粒子医科学センター病院

#### 03-4 重粒子線の転移抑制効果

○松本 孔貴<sup>1)</sup>、鵜澤 玲子<sup>2)</sup>、平山 亮一<sup>2)</sup>、山下 慶<sup>2)</sup>、李 恵子<sup>2)</sup>、金子 由美子<sup>2)</sup>、安藤 興一<sup>3)</sup>、増永 慎一郎<sup>4)</sup>、古澤 佳也<sup>2)</sup>、櫻井 英幸<sup>1)</sup>

1)筑波大学 陽子線医学利用研究センター、2)放射線医学総合研究所 重粒子医科学センター、  
3)群馬大学 重粒子線医学研究センター、4)京都大学原子炉実験所 粒子線腫瘍学研究センター

#### 03-5 重粒子線照射による SLD 回復と再酸素化

○平山 亮一<sup>1)</sup>、鵜澤 玲子<sup>1)</sup>、松本 孔貴<sup>2)</sup>、小原 麻希<sup>1)</sup>、白井 敏之<sup>1)</sup>、古澤 佳也<sup>3)</sup>

1)放射線医学総合研究所 重粒子医科学センター 次世代重粒子治療研究プログラム、  
2)筑波大学 医学医療系 臨床医学域 放射線腫瘍科、  
3)放射線医学総合研究所 研究基盤センター 研究基盤技術部

## DNA 損傷、他

### 04-1 X線照射によって細胞膜上の発現が誘導されるタンパク質の同定と解析

- 吉田 舞子<sup>1)2)3)</sup>、橋本 敬一郎<sup>3)</sup>、関戸 好孝<sup>2)</sup>、古平 毅<sup>1)</sup>、黒澤 良和<sup>3)</sup>  
1)愛知県がんセンター 中央病院、2)愛知県がんセンター 研究所、  
3)藤田保健衛生大学 総合医科学研究所

### 04-2 全長トリ XRCC4 遺伝子の同定と解析

- 谷田部 成一郎<sup>1)</sup>、松本 義久<sup>2)</sup>  
1)東京工業大学大学院 理工学研究科 原子核工学専攻、2)東京工業大学 原子炉工学研究所

### 04-3 DNA 二重鎖切断修復における XRCC4 のリン酸化による制御

- 松本 義久<sup>1)</sup>、Sharma Mukesh Kumar<sup>1)2)</sup>、今道 祥二<sup>1)3)</sup>  
1)東京工業大学 原子炉工学研究所、2)R.L.S. Govt. (P.G.) College, India、  
3)現・国立がん研究センター研究所

### 04-4 XRCC4 リジン - アルギニン置換体の作製と解析

- 福地 命、Sharma Mukesh Kumar、Wanotayan Rujira、松本 義久  
東京工業大学 原子炉工学研究所

## 放射線感受性、他

### 05-1 低栄養が放射線感受性に及ぼす影響

- 村田 泰彦、上原 芳彦、細井 義夫  
東北大学 医学部

### 05-2 ミトコンドリア機能計測による癌治療の感受性および効果判定の可能性

- 村山 千恵子<sup>1)</sup>、川口 章<sup>1)</sup>、上條 あけみ<sup>1)</sup>、金澤 奨勝<sup>2)</sup>、塚田 秀夫<sup>2)</sup>  
1)東海大学 医学部、2)浜松ホトニクス 中央研究所

### 05-3 ヒト膀胱癌細胞における LPA 受容体を標的とした放射線増感効果の検討

- 小町 麻由美<sup>1)</sup>、高橋 昭久<sup>2)</sup>、野田 真永<sup>1)</sup>、岡本 雅彦<sup>3)</sup>、村田 和俊<sup>4)</sup>、  
鈴木 義行<sup>1)</sup>、中野 隆史<sup>1)</sup>  
1)群馬大学 大学院医学系研究科 腫瘍放射線学、2)群馬大学 先端科学者育成ユニット、  
3)群馬大学 重粒子線医学センター、4)群馬大学 付属病院 放射線科

### 05-4 A novel selective inhibitor of PLK1, TAK-960, sensitizes therapeutic effect of radiation by inducing mitotic arrest

- 井上 実<sup>1)</sup>、吉村 通央<sup>1)</sup>、小林 稔<sup>1)</sup>、板坂 聡<sup>1)</sup>、本田 弘平<sup>2)</sup>、平岡 真寛<sup>1)</sup>、  
原田 浩<sup>1)</sup>  
1)京都大学大学院 医学研究科 放射線腫瘍学・画像応用治療学、  
2)武田薬品工業 医薬研究本部 癌創薬ユニット

## その他

### O6-1 ヒト肺がん細胞のウイルス核酸認識受容体の応答性に及ぼす放射線の影響

○吉野 浩教、柏倉 幾郎

弘前大学大学院 保健学研究科 放射線生命科学分野

### O6-2 クロマチンリモデリング因子 BRG1 発現陰性がんに対する合成致死治療戦略

○尾池 貴洋<sup>1)2)</sup>、萩原 秀明<sup>2)</sup>、富永 裕一<sup>3)</sup>、伊藤 健太郎<sup>3)</sup>、蔦 幸治<sup>4)</sup>、  
水上 達治<sup>1)2)</sup>、古田 耕<sup>4)</sup>、渡辺 俊一<sup>5)</sup>、中野 隆史<sup>1)</sup>、河野 隆史<sup>2)</sup>

1)群馬大学大学院医学系研究科腫瘍放射線学、2)国立がん研究センター研究所ゲノム生物学研究分野、  
3)第一三共株式会社研究開発本部癌研究所、4)国立がん研究センター中央病院病理科・臨床検査科、  
5)国立がん研究センター中央病院呼吸器外科

### O6-3 低酸素細胞領域におけるアポトーシス可視化システムの構築

○鍵谷 豪<sup>1)</sup>、小川 良平<sup>2)</sup>、畑下 昌範<sup>3)</sup>、田中 良和<sup>3)</sup>、山下 慶<sup>4)</sup>、中村 美月<sup>4)</sup>、  
福田 茂一<sup>4)</sup>、松本 英樹<sup>5)</sup>

1)北里大学 医療衛生学部、2)富山大学大学院 放射線基礎医学講座、  
3)若狭湾エネルギー研究センター 生物資源グループ、4)放射線医学総合研究所 重粒子医科学センター、  
5)福井大学 高エネルギー医学研究センター

### O6-4 分化型甲状腺癌患者の<sup>131</sup>I 内用療法が末梢血液に与える cytotoxic response の解析

○門前 暁<sup>1)</sup>、真里谷 靖<sup>1)</sup>、千葉 満<sup>1)</sup>、高井 良尋<sup>2)</sup>

1)弘前大学 大学院保健学研究科 医療生命科学領域、2)弘前大学 大学院医学研究科 放射線医学講座

### O6-5 末梢血リンパ球を用いた前立腺癌放射線治療後の直腸出血の予測

○染谷 正則、堀 正和、中田 健生、高田 優、坂田 耕一

札幌医科大学医学部 放射線医学講座

# 特別講演

## 重粒子線がん治療の20年

鎌田 正

(放射線医学総合研究所 重粒子医科学センター)

7月11日(金) 13:00~14:00

司 会

長谷川 正俊

(奈良県立医科大学)

## 重粒子線がん治療の20年

鎌田 正

放射線医学総合研究所 重粒子医科学センター

放射線医学総合研究所(放医研)における粒子線治療の歴史は1975年の速中性子線に始まり、1979年陽子線治療、1994年の重粒子線治療へと発展して来た。速中性子線と陽子線による治療は2,000名以上に対して行われたが、線量集中性あるいは生物効果(細胞致死作用)の面でそれぞれに一長一短があり、‘がん’の種類や場所によって治療成績に差があることが報告された。そこで放医研では、粒子線治療について国内外の臨床的・基礎的研究も合わせて検討し、1983年国の第1次対がん10カ年総合戦略の一環として、重粒子線(炭素線)を用いたがん治療を行うことを提案した。その結果、放医研に医療用重イオン加速器の建設が決定され、1993年に装置が完成、1994年6月に重粒子線がん治療臨床試験が始まった。したがって、本年(2014年)は重粒子線がん治療が始まって20周年を記念する年になる。数多くの基礎開発研究とともに臨床試験が実施された結果、個々の疾患に適した線量分割法の開発や、呼吸同期照射法など照射技術の開発、およびPETを中心とした新しい画像診断法の治療への応用などが行われ多くの成果を生み出している。手術困難な骨軟部肉腫や直腸癌の術後局所再発などの難治性がんを治療に導くことが可能となり、前立腺、頭頸部、肺、肝臓、膵臓、食道などのがんでは、同じ治すにしてもより短期間で安全に治せることなどが明らかとなっている。2003年には放医研における重粒子線がん治療は(高度)先進医療として承認されたが、治療患者数は年々増加しており、2013年度には年間延べ約1,000件の治療が実施され、これまでの総治療件数も約9,000件に達している。

一方、放医研では重粒子線がん治療の普及を目的とした重粒子線治療装置の小型化研究を実施した結果、サイズ、費用ともに現在の装置の約3分の1が2010年に実現され、その実証機が既に群馬、佐賀の国内2カ所で順調に稼働している。また、2011年には次世代の重粒子線がん照射装置であるスキャニング照射装置の臨床応用を開始するとともに小型軽量の回転ガントリー照射装置の2015年の完成を目指して超伝導磁石を試作しその性能について検証中である。放医研はこれまでに蓄積された研究成果をもとに、重粒子線治療の国内外での普及をはかるとともに、国内だけでなく世界的な重粒子線治療ネットワークを構築し、多くの施設と研究交流を深め、より高度な重粒子線治療の研究開発への取り組みを進めている。

ランチョンセミナー  
生物部会 50 周年記念特別講演

共催：バリアンメディカルシステムズ

放射線生物部会及び制癌シンポジウムの  
成り立ちと今後の期待

坂本 澄彦

(東北放射線科学センター 理事長、東北大学 名誉教授)

7月12日(土) 12:05～13:05

司 会

阿部 光幸

(京都大学 名誉教授)

# 放射線生物部会及び制癌シンポジウムの 成り立ちと今後の期待

坂本 澄彦

東北放射線科学センター 理事長  
東北大学 名誉教授

## 1. 生物部会誕生の経緯

1964年(昭和39年)に岩手医科大学の足沢三之助教授が会長で、日本医学放射線学会が盛岡で開かれた。その時、京大菅原努教授と東北大栗冠正利教授が話し合っ、丁度、日本に帰国していた寺島東洋三博士を聞く会が設けられた。寺島先生は、1963年に mitotic cell collection による細胞の同調法と細胞の放射線感受性に関する cell age dependency の論文を発表し世界的に注目されて居り、この会には20人ほどが集まり、東北銀行のホールを会場にして行われた。会の終了後、栗冠教授の提案で、生物部会の設置を日本医学放射線学会の理事会に働きかけ、生物部会長として菅原教授を推薦する事が決められた。

日本医学放射線学会には、放射線物理学を専門とする研究者が集まって、物理委員会(後に物理部会と称するようになった)が出来ており、放射線医学に必要な医学物理学の研究と、それを発表をする場が出来ていた。

一方、生物関係では1954年(昭和29年)にビキニ環礁の水爆実験により、第五福竜丸事件が起こり、1959年(昭和34年)に日本放射線影響学会が発足していたが、ここでは、fallout に関する研究が主体と云って良く、放射線医学の基礎となるべき放射線生物学は主流では無かったし、日本ではこの分野の質の高い研究が少なかった。これが生物部会を組織した動機になったと云って良いと思う。

そして、第1回の生物部会が、1964年秋に仙台で日本放射線影響学会(会長古賀良彦東北大学教授)が開かれた時に、昔の良陵会館で栗冠教授の世話で開かれた。この会に参加した人は20人足らずであったが、伊藤隆先生(当時は東大助教授後に教授)、仲尾善雄先生(放医研後に広島大学教授)、斉

藤達雄先生(東北大学教授)のお話をお聞きした。

その後は原則として、年2回、日医放や影響学会の折に開かれていた。生物部会は、初めは多くの参加者があり盛大であったが、種々の理由により、段々活気が失われて行った。

## 2. 放射線による制癌シンポジウムの誕生

生物部会の活動の一つとして行われている“放射線による制癌シンポジウム：基礎と臨床の対話”は昭和46年2月に第1回が開かれている。これは、生物部会の衰退と関係があるので、そのシンポジウム発足の経緯に触れて置きたい。

1970年秋(昭和45年)に松沢大樹先生(当時、愛知県がんセンターの放射線研究部長)が非常勤講師として東北大学に放射線基礎医学の講義の為に仙台に来られた。その時、アメリカ、イギリスの留学から帰国して、東北大学放射線基礎医学教室の助教授をしていた小生の所に立ち寄り、米英での留学体験などを話して居る内に、日本の放射線基礎医学研究者と放射線臨床医との間のギャップが大きく、アメリカの様に、両者の溝を埋める努力が必要ではないかと言う事になり、制癌シンポジウムを企画しようと云う事になった。

先ず、シンポジウムを始めるに当って、世話人を決めようと云う事になり、基礎からは、松沢、坂本の他に浦野宗保先生(京都府立医大助教授、後に放医研)、臨床から放射線基礎医学にも大いに関心を持って居る人として、田中敬正先生(天理よろず相談所病院部長、後に関西医大教授)、望月幸夫先生(東京女子医大助教授、後に慈恵会医科大学教授)の3人に加わって貰い、森田皓三先生(愛知県がんセンター放射線治療部長)にも議論に加わって貰った。

第1回は、昭和46年2月に松沢先生が世話人とな

り、佐々木武仁先生(当時、東京医科歯科大学助教授、後に教授)の世話で東京医科歯科大学の小講堂を使って行われた。当初、30~40人程度の参加者と想定していたが、会場が溢れんばかりの盛況であった。

その後、制癌シンポジウムを生物部会の行事にさせてくれないかと云う申し入れがあり、世話人の中には反対する人が居たが、兎に角、5人の世話人が、1回ずつシンポジウムを世話した後に決めようと云う事になり、結局は、5人がシンポジウムの世話人を務めた後に、生物部会の行事となった。

### 3. 生物部会と制癌シンポジウムの住み分けに就いて

制癌シンポジウムを生物部会が主催する事になり、両方が同じ様なテーマを取り扱うのは意味がないと云う事で、役割分担を一応決めておいた方が良くと云う事になり、原則として、従来の生物部会では主として放射線生物学一般、放射線障害、防護、保健物理などを主題とし、制癌シンポジウムでは腫瘍放射線生物学の研究と臨床放射線医学研究との対話が出来様に双方から問題点を出し合って、一緒に議論する場所にしようとする事になった。しかし、生物部会と制癌シンポジウムが別々に行われて居た事と、この役割分担に関与していた人達が第一線を退いたりして、年数が経つにつれて、この住み分けが明確ではなくなって来ていた。しかし、現在の様に両者が同じ世話人で、同じ時期に開催される様になると、当初、目論んだ住み分けが出来る様になるのではないかと云う事だと思つて居る。

### 4. 今後に期待するもの

放射線生物学研究が盛んになり始めた半世紀前に比べると、今はあの当時の熱気が無くなって居る様に思われ、現在、放射線生物学は日本だけではなく、米国その他の国々でも研究人口も増えているとは言えず、研究費も優遇されていないと云われている。しかし、東日本大震災以来、非専門家の学者、マスコミが原発事故の影響を誇大に発言して居るは寒心に堪えず、正確な情報の発信と共に、放射線障害を含む放射線生物学研究の更なる発展を期待したい。

又、evidence-based radiotherapy と云う事を盛んに言われているが、放射線治療に於いても、経験

に裏付けされた evidence だけでなく、腫瘍放射線生物学研究結果に基づいた治療が出来る事が望ましい事だと思つて居る。しかし、今までは、臨床医を説得出来るような腫瘍放射線生物学の成果は多いとは言えず、この面での研究の発展を期待している。

### 【ご略歴】

- 昭和34年3月  
東京医科歯科大学医学部卒業
- 昭和34年~35年  
インターン
- 昭和39年 東京医科歯科大学大学院博士課程終了(医学博士)
- 昭和39年 東京医科歯科大学医学部助手
- 昭和41年~昭和43年  
米国国立癌研究所研究員(M.M.Elkind 研究室)
- 昭和43年~昭和44年  
英国 Gray 研究所研究員(H.B.Hewitt 研究室)
- 昭和44年 東北大学医学部助教授(放射線基礎医学講座)
- 昭和47年 東京大学医学部助教授(放射線基礎医学講座)
- 昭和51年~昭和54年  
カナダの TRIUMF における“パイ中間子によるがん治療の基礎的研究に関する国際共同研究”に日本側研究責任者として参加
- 昭和54年~昭和56年  
米国 LBL における“重イオンによる癌治療の基礎的研究”に従事
- 昭和56年 東北大学医学部教授(放射線基礎医学講座)
- 昭和61年 放射線医学講座教授に配置換え
- 平成8年 東北大学停年退官
- 平成8年 東北大学名誉教授
- 平成8年 東北放射線科学センター理事
- 平成13年 東北放射線科学センター理事長
- 昭和58年12月16日  
東宮御所において、皇太子殿下(今上天皇)に“パイ中間子及び重イオンによる癌治療”についてご進講
- 平成22年  
日本放射線影響学会功労賞受賞
- 著書:「癌の放射線生物学」、「医学のための放射線生物学」、「放射線生物学」など
- 日本癌学会名誉会員、日本医学放射線学会名誉会員、日本放射線腫瘍学会名誉会員、日本放射線影響学会名誉会員、日本医学放射線学会生物部会名誉会員、アメリカ放射線腫瘍学会(ASTRO)名誉会員



# 教育講演

## 臨床に役立つ放射線生物学 — 温故知新 —

### E-1 分割照射の今昔：理論と実際

芝本 雄太

(名古屋市立大学大学院)

### E-2 放射線感受性に影響を与える因子： 細胞動態の温故知新

三浦 雅彦

(東京医科歯科大学大学院)

7月12日(土) 10:40~12:00

座長

西村 恭昌

(近畿大学)

## E-1 分割照射の今昔：理論と実際

○芝本 雄太

名古屋市立大学大学院 医学研究科 放射線医学分野

放射線治療が開始された19世紀末にどのような分割照射法が用いられたかは、知るところではないが、当初は恐らく1回ないしは数回程度の照射が試みられたのではないだろうか。その後臨床経験が蓄積されるにつれて、1回2Gy 前後の分割法が効果と有害事象の点から最もメリットが大きいと認識されるようになった。1回線量が2Gy を超えると、抗腫瘍効果に比べて晩期有害事象の増加の方が大きくなると考えられ、 $\alpha/\beta$ 比を用いて生物学的な理論付けがなされた。その後確立された生物学的理論に基づいて、過分割照射、加速照射、加速過分割照射が検討され、いくつかの腫瘍において有用性が示された。一日1回の通常照射法を用いて正常組織がターゲットと同等に照射される場合は、1回2Gy 前後が最適であるという基本は今も変わらないと考えられる。しかし近年は、高精度放射線照射法の進歩が著しく、正常組織をスペアしてターゲットに線量を集中できるようになったので、分割照射法に対する考え方が変わってきている。特に定位照射においては、正常組織に対する線量が通常照射法に比べて大きく低減できるため、1回大線量を用いても安全であり、なおかつ通常照射法で投与しうる以上の線量を投与できる。一方IMRTでは、ターゲットが通常、定位照射の対象より大きいため、1回線量はこれまでと同等か少し上げる程度として、総線量を増やす場合がほとんどである。したがって、近年は定位照射で用いられるような分割照射法がどのような効果と有害事象をもたらすのかについて生物学的考察が行われている。

高精度放射線治療における照射法を考えた場合、

一回の照射時間の長さや間歇的な線量投与による治療効果が問題となるが、演者らの研究では、再酸素化現象が早期に起こる腫瘍では、それほど憂慮する必要はないという結果が得られている。定位照射のような単回～少数回分割照射の結果を通常分割照射の結果と比べるには、何らかの線量換算が必要であるが、LQモデル換算式を用いると大きな誤差を生じることが判明した。線量決定においてはこの点を留意する必要がある。特に抗腫瘍効果の観点で、再酸素化を考慮しないBEDを寡分割照射において使用するのは誤りである。BEDは1回大線量照射の効果を過大評価するのである。著者らの実験では、寡分割照射においては、再酸素化現象の役割が非常に大きいことが示唆されている。全分割のなかで、何回が再酸素化現象を利用できるかという「再酸素化現象利用率」なるものを考慮してみると、1回照射では0%であり、2回照射では50%(1/2)、続いて、67%(2/3)、75%(3/4)と上昇していく。30回照射では $29/30=97\%$ であるため、この数字に近づいてくる6～8回の定位照射が最も効率がよいのではないかと考えている。以上のように、本講演では分割照射の基礎と臨床について、将来の方向性を含めて述べる。

## E-2 放射線感受性に影響を与える因子：細胞動態の温故知新

○三浦 雅彦

東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 口腔放射線腫瘍学分野

放射線感受性は、多くの因子によって影響を受け、これまで様々な角度から研究がなされてきた。種々の捉え方があるが、一般に、内因性と外因性の因子に分けることができる。内因性因子の例を以下に示す。フリーラジカルを不活化するSH化合物は細胞内に比較的多量に存在しており、間接作用によるDNA損傷を軽減しうるが、最近では、癌幹細胞において、GSH合成能の亢進が認められ、酸化ストレスに対する抵抗性機構として注目されている。また、DNA損傷、特にDSB生成時に機能する細胞周期チェックポイント、非相同末端結合(NHEJ)、相同組換え(HR)に関与するタンパクの多寡や変異も、放射線感受性に影響を与える重要な因子である。一方、細胞膜に存在する増殖因子受容体も大きな役割を果たしている。中でも、EGFRの研究が最も進んでおり、これまでは、放射線によるEGFRの自己リン酸化によって生存シグナルが発せられ、アポトーシスを抑制する作用がそのメカニズムとして知られていた。最近、EGFRが直接核内に移行してDNA-PKと結合し、NHEJ活性を亢進することがわかり、DSB修復とのクロストークが明らかになっている。この因子は、実臨床に結びついた貴重な例である。外因性因子としての代表格は、やはりハイポキシアである。固型腫瘍では、血管新生が追いつかず、腫瘍微小環境の特性として低酸素分画が生じるが、これが腫瘍細胞に放射線抵抗性を付与し、古くから放射線増感のためのターゲットとして注目されてきた。最近、その動的様相が明らかになりつつあり、想像以上に複雑であることがわかってきた。

本講演では、放射線感受性に影響を与える因子の

概要について解説するとともに、特に細胞動態という切り口から、放射線感受性に与える影響について考えてみたい。これに関連する最初の論文は、1906年に報告されたいわゆるベルゴニー・トリボンドーの法則であろう。増殖能の高い細胞ほど、未分化な細胞ほど放射線感受性が高いというものであるが、これに捕われすぎると、正しい理解を妨げかねない。その後の種々の技術的發展に伴う細胞動態に関する知見を振り返りながら、温故知新的アプローチを試みる。

Blank writing area with horizontal dotted lines.

Blank writing area with horizontal dotted lines.

# シンポジウム1

## 放射線抵抗性細胞、癌幹細胞等を 標的としたアプローチ

7月11日(金) 9:05~10:35

座長

平田 秀紀  
(九州大学大学院)

高橋 昭久  
(群馬大学大学院)

## S1-1 AKT 経路を標的としたがん細胞の放射線耐性の抑制

○志村 勉

国立保健医療科学院 生活環境研究部 衛生環境管理研究分野

がんの放射線治療は、全身への負担が小さく、臓器の形態と機能温存性に優れた治療法である。しかし、日本では欧米に比べ実施率が低く、その有効性の検証が必要である。放射線治療成績の向上のためには、腫瘍に限局して放射線を照射するための放射線照射装置の開発や、照射スケジュールについての検討が行われ、十分な治療成績の向上が得られた。しかし、それでもなお、放射線により治療効果が望めない放射線耐性の腫瘍が存在する。放射線治療における最大の難問は放射線抵抗性のがん細胞の存在であり、治療後のがんの再発の原因となる。我々は、放射線治療で用いられる分割照射によって一月以内にヒトがん細胞が放射線耐性を獲得し得ることを明らかにした。我々が発見したがん細胞の獲得放射線耐性は、放射線治療の成否に関わる重要な放射線応答であり、がんの根絶には獲得放射線耐性を克服することが必要である。がん細胞の獲得放射線耐性は、細胞の生存シグナル AKT/GSK3beta/Cyclin D1 経路が恒常的に活性化されることが原因であり、AKT 阻害剤により抑制することが可能である。また、獲得放射線耐性の他に、がん細胞の放射線耐性には、自己複製能と腫瘍形成能を併せ持つ細胞群、がん幹細胞による放射線耐性が重要な役割を担っていると考えられている。ヒトがん細胞に約2か月半にわたり分割照射した後、生存する細胞におけるがん幹細胞マーカー CD133 の発現を解析し、照射前には10%程度であったがん幹細胞を、約90%にまで濃縮する照射条件を決定した。放射線で濃縮したがん幹細胞と分割照射前の親株細胞を用いて、それぞれの放射線応答を比較し、がん幹細胞の放射線耐

性においても、AKT 経路が関与することを明らかにした。さらに、マウス皮下に作製した獲得放射線耐性細胞由来とがん幹細胞由来のヒト腫瘍移植片の解析により、これらのヒト腫瘍移植片の *in vivo* における放射線耐性は、AKT 阻害剤と放射線を併用することで、抑制されることを明らかにした。

本研究では、放射線治療で問題となるがん細胞の放射線耐性は、AKT 阻害剤を用いて抑制可能であることを明らかにした。AKT は細胞死抑制の他に、がん幹細胞の増殖、解糖系、血管新生を制御しており、これらの機能が放射線耐性に関わることが考えられる。今後は、AKT 阻害剤の効果をより詳細に検討し、臨床応用に向けた研究が必要である。

## S1-2 放射線照射の癌幹細胞の遊走・浸潤能への影響

○皆巳 和賢<sup>1)</sup>、吉岡 彩<sup>1)</sup>、今泉 大将<sup>1)</sup>、中谷 香菜<sup>1)</sup>、松本 孔貴<sup>2)</sup>、佐藤 克俊<sup>3)</sup>、  
松浦 成昭<sup>4)</sup>、小泉 雅彦<sup>1)</sup>

1)大阪大学大学院医学系研究科、2)筑波大学医学医療系臨床医学域放射線腫瘍科、  
3)放射線医学総合研究所、4)大阪府立成人病センター

**【背景・目的】**現在の放射線治療は、科学技術の進歩と共に大きく発展している。X線を用いた治療では、IMRT (Intensity Modulate Radiation Therapy：強度変調放射線治療) や SRS (Stereo Tactic Surgery：定位放射線手術) が行われ、近年では、炭素イオン線・陽子線といった粒子線照射による治療も盛んに行われている。その結果、良好ながん局所制御率を得られるようになった。一方で、放射線治療後の再発や転移が問題となっており、その一因にがん幹細胞の存在が挙げられる。がん幹細胞が放射線に抵抗性を示すことは報告があるものの、放射線照射後におけるがん幹細胞のがん転移能についてはほとんど報告がない。そこで、放射線照射のがん幹細胞の浸潤能・遊走能への影響を検討することを目的とする。

**【材料・方法】**使用細胞は膵がん細胞株 AsPC および PANC-1 を使用した。照射は 4MV X 線もしくは 290MeV/n の炭素イオン線を用いた。がん幹細胞を分離するマーカーとして CD24 および CD44 を用い FACS Aria を用いて CD24+CD44+ 細胞を分離し、それをがん幹細胞とした。がん幹細胞と非がん幹細胞を放射線照射し、細胞遊走能を boyden chamber assay で、細胞浸潤能を Matrigel invasion assay にて評価した。

**【結果とまとめ】**X線照射された非がん幹細胞の遊走能、浸潤能は線量依存的に抑制される一方で、がん幹細胞に X線照射すると細胞の遊走能、浸潤能が亢進する結果を得た。一方、炭素イオン線の場合、非がん幹細胞、がん幹細胞共に線量依存的に細胞遊走能、浸潤能が抑制されることが分かった。よって、

炭素イオン線照射はがん幹細胞の遊走・浸潤能を抑制しがん転移を抑制する可能性が示された。

## S1-3 大腸癌幹細胞を標的にした治療法開発のための 原発巣／転移巣におけるゲノム・エピゲノム解析

○三森 功士、平田 秀成

九州大学病院別府病院

**【背景と目的】** 癌幹細胞は癌組織において、ヒエラルキーの頂点に存在し、分化系統の下流の癌細胞の供給源になり癌の増殖を引き起こすと考えられていることから癌幹細胞に生じたゲノムレベルの変異は「原発巣および転移巣において遍く存在する」ことが考えられる。また、癌幹細胞を標的とした治療を勘案する際問題になるのが、おそらく癌幹細胞がつくる「多様性」であり、その多様性を保持した癌細胞が循環血液中を移動して他臓器転移することにある。

われわれは、まず最初に1) 担癌患者の末梢循環血液中において癌幹細胞の性質を有する癌細胞は存在するか？その上で、本報告の主座である、2) 原発巣の multi-regional な統合解析により、難治性を生む多様性の原因をつくる癌幹細胞の存在をゲノムレベルで捉えることができるか？さらに転移を成立させる上で必須のゲノムレベル・エピゲノム変異とは存在するか？明らかにする。

### 【結果】

1) 循環血液：大腸癌症例における上皮マーカー CEA, CK20 と癌幹細胞マーカー CD133 の3遺伝子の発現を末梢血液について調べ、癌幹細胞陽性症例群は対照群にくらべて、予後再発が極めて悪いことを明らかにした(J Clin Oncol 2011)。さらに、上皮間葉移行を誘導する遺伝子“Plastin 3 (PLS3)”を同定し、がん細胞に PLS3 を導入するとがん幹細胞としての性質を有することも示した(Cancer Res 2013)。このように担癌患者循環血液中には再発・予後を規定する癌幹細胞(様細胞)が存在することを示した。

2) 原発巣：大腸がん1例を原発巣約20箇所と転移巣複数箇所に分割し、エキソームシーケンシング、SNP array を用いた copy 数解析、methylation array を用いたメチル化解析、expression array を用いた発現解析も併施して、各データを統合的に解析し1症例のがんの不均一性の詳細を明らかにした。その結果、原発巣全域において共通する founder 変異は54個、progressor 変異(数カ所で共通する shared 変異190個、1カ所のみ存在する unique 変異700個という)を明らかにした。すなわち、founder 変異は癌幹細胞の段階で生じた変異と考えられ、progressor 変異により多様性を生じていることを明らかにした。(他9例でも同様の所見)

エキソームの結果を癌幹細胞の有無でシミュレーションし、『癌幹細胞が存在する(=自己複製能と増殖能)』と過程した場合のみ、実際のゲノム変異プロファイルと一致することを明らかにした。すなわち原発巣には数理的解析において、癌幹細胞の存在が示唆された。一方、転移を決定するドライバー変異は存在しなかった。

**【結語】** 治療の標的を勘案する際、原発巣において転移を決める遺伝子変異および癌幹細胞を規定する遺伝子変異も明らかにはしえなかった。しかし、癌幹細胞の存在下生じる『多様性』規定遺伝子を捉える、あるいは客観的に数値化できれば、治療抵抗性の予測指標にはなりうると考え鋭意数理解析を進めている。

## シンポジウム2

# 集学的癌治療の発展と今後への期待

7月11日(金) 10:35~11:55

座長

山崎 秀哉

(京都府立医科大学)

## S2-1 頭頸部癌の集学的治療：究極の個別化治療を目指して

○太田 陽介

兵庫県立がんセンター 放射線治療科

頭頸部癌は臓器温存の観点から、「切らずに治すがん治療」として古くから我々放射線腫瘍医のモチベーションをかき立てる存在であるが、同時に放射線生物学的観点からも altered fractionation や化学放射線療法の効果が見触診によりリアルタイムに実感できる、とても身近な存在の癌種と言える。

早期癌の根治療法として、また進行癌では術後の補助療法として確立し、また臓器温存の利点から進行癌切除可能症例へも適応範囲を広げてきた頭頸部癌の放射線治療において、近年パラダイムシフトとも言える重要な知見や進歩が次々に登場し、今後の発展が大いに期待される状況にある。

### ①ヒトパピローマウイルス (HPV) 関連癌の発見と治療の個別化

中咽頭癌における予後因子バイオマーカーとしての HPV の登場は、これまでの中咽頭癌を治療感受性が高く予後良好の HPV 関連癌と、予後不良な飲酒喫煙関連癌 (HPV 非関連癌) として区別する必要性を問題提起した。また Epstein-Barr ウイルス (EBV) 感染を原因とする上咽頭癌まで含めたウイルス関連癌と非関連癌での治療戦略の再構築 (個別化) が求められている。折しも同時併用化学放射線療法 (CCRT) における致死的な晩期有害事象がトピックとなり、予後良好症例に対する治療の低侵襲化 (de-consolidation) も今後の重要なテーマとなる。

### ②セツキシマブの登場による Bio-Radiation (BRT) の現況

上皮成長因子受容体 (EGFR) 抗体薬であるセツ

キシマブ併用放射線治療は、生物学的製剤と放射線を併用する BRT という新たな選択肢を提起した。現在まで見聞きする情報では、BRT が CCRT に比して quality of life に優れるという欧米での知見が必ずしも日本の現場には再現されておらず、CCRT と同様の管理体制での慎重な治療実施が望まれる現況にある。高齢者であっても積極的に CCRT を行う国内状況において、真に BRT が有効な患者像を HPV 含むバイオマーカーを駆使して模索していく方向性が必要であると考えられる。

### ③IMRT の普及と放射線生物学へのフィードバック

IMRT の普及により放射線生物学への新たな課題が突き付けられた。同時標的内ブースト照射法による最適な線量分割の確立や、あまり重要視されてこなかった咽頭収縮筋や顎下線の耐容線量といった新たなリスク臓器概念の構築が急務である。また IMRT により開けた根治 CCRT 後の再照射の分野では、脳幹や脊髄の耐容線量においても初回治療から再発までの期間等を加味した新たな有害事象リスクを評価・構築していく必要がある。これら臨床知見から得られた新たなテーマについて、放射線生物学からの解答を追求していかなければならない。

以上、最近のトピックスからは頭頸部癌も他の癌種と同じく治療の個別化へと急速にシフトすると予想される。IMRT 治療計画そのものが究極の個別化であるし、患者予後層別化のバイオマーカーの探求とともに、放射線感受性のバイオマーカー探索にもさらなる飛躍が期待される。

## S2-2 非小細胞肺癌の集学的治療

○中山 優子

神奈川県立がんセンター 放射線腫瘍科

肺癌のなかでも局所進行肺癌の占める割合は高く、肺癌治療における化学放射線療法を主体とした集学的治療の役割は大きい。

局所進行非小細胞肺癌に対する治療は、放射線治療単独療法の時代から現在の第3世代抗がん剤を併用した化学放射線療法の時代になり、治療成績は明らかに向上した。しかし、この間に臨床試験で試みられてきたのは、化学療法と放射線療法の併用のタイミングや併用する化学療法レジメンの比較が主体であった。放射線治療を比較した臨床試験としては、化学療法併用での通常分割照射法と1日2回の多分割照射法の比較試験 (RTOG9410) が行われているが、多分割照射法の有用性は示されていない。現在まで、化学放射線療法では照射線量 60Gy/30Fr の単純分割照射法が標準的放射線治療として用いられてきた。現在の日本の化学放射線療法は、2つの無作為化比較試験 (WJTOG0105 と OLCSG0007) によって確立され、これらで用いられた照射線量も 60Gy/30Fr である。

近年、標準線量照射と高線量照射を比較する臨床試験 (RTOG0617) が行われた。しかし、高線量照射のほうが標準線量照射に比して、治療成績が劣るというセンセーショナルな結果となった。米国では X 線治療 (強度変調放射線治療 IMRT または三次元原体照射法 3D-CRT) と陽子線治療を比較する第Ⅲ相比較試験 (RTOG1308) が開始されている。また、照射途中に FDG-PET を施行し、集積部位に対してブースト照射を最大で 80.4Gy まで照射する個別化適応放射線治療の第Ⅱ相試験 (RTOG1106) も行われている。

日本肺癌学会の肺癌ガイドラインでは、Ⅳ期非小細胞肺癌に対する治療のアルゴリズムは、扁平上皮癌か非扁平上皮癌か、次いで EGFR または ALK 遺伝子変異の有無によって各々の治療方針が推奨されている。Ⅲ期非小細胞肺癌の集学的治療においても同様な方向性の模索が必要であろう。扁平上皮癌では、順行性にリンパ節転移を来すことが多く、局所の放射線治療強度を強めることによって治療成績が向上することが知られている。予防的リンパ照射も腫瘍の原発部位に応じた選択的リンパ領域照射法を用いるのも一法であろう。一方、局所進行非扁平上皮癌では、すでに潜在的遠隔転移を有することが多く、分子標的薬剤と放射線治療との併用療法が今後の治療の要となるであろう。

## S2-3 子宮頸癌に対する集学的治療

○加藤 真吾

埼玉医科大学国際医療センター放射線腫瘍科

子宮頸癌の根治的な治療法には手術と放射線治療があり、これらに化学療法が併用されることがある。治療法の選択は、腫瘍の臨床病期、組織型、および年齢や合併症の有無などを考慮して総合的に決定される。治療法を病期別に述べると、I・II A 期の小さい腫瘍では標準治療は手術ないし放射線単独治療であり、これらの治療によって良好な治療成績が得られている。これに対してII B～IV A 期の局所進行癌では一般的に手術は困難であり、かつ放射線単独治療の治療成績も不良であった。局所進行子宮頸癌の治療成績の向上のために同時化学放射線治療に関する複数の RCT が1990年代に行われた。その結果、米国で行われた5つの RCT において、シスプラチンを含む化学療法と放射線治療の同時併用群では、従来の放射線単独を主とする治療と比較して無増悪生存率および全生存率がともに有意に良好であることが報告された。さらにこれら5つの試験を含め過去に行われた RCT を解析した複数のメタアナリシスの結果からも、化学療法と放射線治療を同時併用することで、骨盤内再発と遠隔転移が有意に減少し、無再発生存率および全生存率はともに改善することが示された。このように同時化学放射線治療は、その有効性が高いエビデンスレベルで示され、局所進行子宮頸癌に対する標準治療となっている。

近年の RCT で使用された化学療法のレジメンは、シスプラチン  $40 \text{ mg/m}^2$  の毎週投与(5～6週)か、シスプラチン  $50\sim 75 \text{ mg/m}^2$  +5-FU  $1,000 \text{ mg/m}^2$  (day 1～4) の3～4週毎の投与に大別される。どちらのレジメンもその有効性は確認されているが、Grade 3～4の急性毒性の頻度は放射線治療 + シス

プラチン単剤の治療の方が低かった。このため現在では放射線治療 + シスプラチン単剤の治療が標準治療として世界的に広く用いられている。

放射線治療に化学療法を併用することでまず期待されるのは、放射線の殺細胞効果の増感である。上述の RCT において局所再発の割合は、化学放射線治療群で明らかに低くなっており、化学療法の併用による放射線の増感効果が局所制御率の向上に結びついたものと考えられる。一方、化学療法の遠隔転移に対する直接的な効果は限定的と考えられ、同時化学放射線治療後に adjuvant 化学療法を行う臨床試験が進行している。

同時化学放射線治療後の遅発性有害反応の発生頻度は、放射線単独治療後と比較してほぼ同等であったとの報告がある。ただし放射線治療による遅発性反応は、治療後10年以降でも少なからず発生することが知られており、それに比べると本報告の経過観察期間はまだ短い。このため今後も十分な経過観察が必要であることを認識すべきである。

# シンポジウム3

## 放射線治療の進歩と新展開

7月11日(金) 14:00~16:00

座長

早川 和重

(北里大学)

溝江 純悦

(名古屋粒子線センター)

## S3-1 画像誘導放射線治療 (Image-guided radiotherapy : IGRT)

○玉本 哲郎

奈良県立医科大学 放射線腫瘍医学講座

---

近年の放射線治療の高度化に伴い、日本でも強度変調放射線治療 (Intensity modulated radiotherapy : IMRT) や定位放射線照射 (Stereotactic irradiation : STI) などの治療法が多くの施設で実施可能な状況になりつつある。IMRT や STI などの治療法は、これまでの通常法での放射線治療と比較して、腫瘍に対する線量を上げながら正常組織への線量を下げること、高い局所効果が期待できる。ただし、このような治療法では、治療の位置精度が重要である。

JASTRO の IGRT ガイドラインでは、「IGRT とは2方向以上の二次元照合画像、または三次元照合画像に基づき、治療時の患者位置変位量を三次元的に計測、修正し、治療計画で決定した照射位置を可能な限り再現する照合技術を意味する。」とされ、診療報酬上も、「IGRT とは毎回の照射時に治療計画時と照射時の照射中心位置の三次元的な空間的再現性が5mm以内であることを照射室内で画像的に確認・記録して照射する治療のことである」とされている。すなわち、IGRT の目的は、画像を用いて治療時の位置精度を確保することである。

今回、IGRT の成り立ち、現状および今後について、当院での経験もまじえながらお話したい。

## S3-2 強度変調放射線治療 (Intensity-modulated radiotherapy : IMRT)

○溝脇 尚志

京都大学 医学研究科

近年、術者の手ぶれ補正機能までも有する高性能の手術支援ロボットが話題となっているが、強度変調放射線治療 (Intensity-modulated radiation therapy : IMRT) は、医工連携によって IT 技術を本格的に医療技術分野に応用して大成功を収めた最初の例である。

IMRT は、その中核となるコンピュータ最適化技術によって従来の放射線照射法および治療計画法に存在した多くの技術的制約から開放された結果、物理的な限界内で任意の線量分布が実現可能となった点が画期的である。IMRT の実用化によって、リスク臓器の線量を抑えつつ、ターゲットへは腫瘍制御に十分な線量を投与することが多くの部位において可能となった。この結果、根治照射の適応拡大、局所制御率の改善、有害事象の軽減が実現されている。代表的な例を以下に挙げる。前立腺癌においては、線量増加による再発率の低減と直腸晩期有害事象の軽減、頭頸部癌においては、唾液分泌障害による口腔内乾燥症の軽減が実現されている。さらに、通常照射技術では十分な治療が難しい悪性胸膜中皮腫に対する全胸膜照射や脊椎に対する定位照射も安全に施行可能となり、脳腫瘍においては永久脱毛回避が現実のものとなった。

一方、IMRT ならではの問題点も存在する。主要な点としては、治療計画における自由度の飛躍的な増大にともない、contouring や線量分布により細心の注意を要するようになったこと、照射時間延長に伴う治療装置負荷や低線量被曝が増加すること、ターゲットの動きによる線量分布に対する影響が大きく胸部・上腹部領域への適応に限られることが挙

げられる。

その後、IMRT における大革命といえる強度変調回転照射 (Volumetric-modulated Arc Therapy : VMAT) が開発され、2010年代に入って急速に臨床現場に普及したことによって状況は一変した。VMAT は1~2アークの回転照射で非常に効率よく IMRT を行う方法である。頭頸部や全骨盤などへの IMRT では、総照射時間が20分以上、総 MU 値が1,500以上ということも珍しくなかったが、VMAT では、総照射時間：5分以内、MU 値：500~700と、照射時間、MU 値とも大幅に低い値で IMRT と同等以上の線量分布が実現可能である。この結果、患者負担や低線量被曝が大幅に軽減された。さらに VMAT では、臓器の動きと MLC の動きが IMRT と比べてシンクロしにくいという特徴があるため、肺腫瘍などの動きが大きい部位に対しても計画に近い線量分布が実現可能であり、IMRT よりもさらに動きの影響を受けやすい粒子線治療と比較して大きなメリットである。

IMRT は VMAT への進化により、超高効率な線量投与と動きに対する大きな耐容性を獲得した結果、今後の放射線治療法における主役の一つとなることは確実である。

## S3-3 陽子線治療の普及に向けて (Spot Scanning 法の開始)

○溝江 純悦

名古屋市立西部医療センター 名古屋陽子線治療センター

名古屋陽子線治療センターでは、2013年2月より水平固定ポート (FX) を使用して陽子線治療 (ブロードビーム法: BB) を開始した。その後、同年6月からは回転ガントリー (G2) による治療 (BB 法) を開始し、そして2014年1月からは回転ガントリー (G1) による治療 (スポットスキャン法: SS) が開始されている。2014年5月までに369名の治療を行っているが、治療装置は順調に稼働しており、現在までに機器の重篤な故障は無い。FX では、左右2門法で前立腺癌を治療しており、計175例の照射を行っている。前立腺癌に対する最近の陽子線治療の報告では、IMRT と比較し、照射時の散乱による睾丸線量が低く、従って照射後の男性ホルモンの低下が殆ど見られない事や、治療後の中等度・高度の便緊急性や便回数が統計的有意差でもって少なかったとの報告がある。G2では肺腫瘍や肝腫瘍などの動く標的に対する治療が行われており、計163例の照射を行っている。肝腫瘍に於いては、腫瘍径が60ミリを超えると IMRT では肝放射線障害の確率が上昇するのに対し、陽子線治療では確率が大幅には上昇しないとの報告がなされた。又、肺腫瘍では、抗がん剤併用時の重篤な放射線肺炎の可能性が、陽子線治療では軽減される可能性が示唆されている。

2014年1月から G1 ガントリー室で開始された日本初の SS 法による治療は、既に30名の治療を行っている。従来の陽子線治療で行われているような、細い陽子線ビームを標的の大きさに合わせて3次元的に拡大し、その後、拡大したビームを腫瘍に合わせて成型する工程が必要無く、結果として、ビームを成型する為のボラス・コリメータ作製が不要な

ことから、治療前の日程の短縮が可能となり、又、それらの照射機器への装着も無いことから毎回の治療時間の短縮も可能となる。又、SS 法は、ビームの加速エネルギー制御と2方向の電磁石制御により3次元的な照射を行う方法であり、医療被曝の軽減も図られる。頭頸部腫瘍・骨盤腫瘍や骨軟部組織腫瘍などの呼吸移動の無い腫瘍に対し有効と考えられているが、将来的には、肺腫瘍や肝腫瘍などの呼吸移動を伴う腫瘍に対しても治療が出来るように治療システムの開発が行われている。さらに SS 法は、陽子線治療の究極の治療法といえる強度変調陽子線治療 (IMPT) を可能とし、これにより正常組織の線量をより軽減した、最良な線量分布での治療が出来るようになる。

前立腺癌は当センターの治療患者の中で多くを占めているが、現在37~39回の多分割照射が行われている。今後は、より小分割での陽子線治療を目指し、プロトコルを作成中である。同様の試みは、他部位へも行われるべきで、結果として1回高線量治療がもたらす腫瘍制御の上昇が期待できる。そして、ガントリー治療室1室のみの装置が稼働を始め、その施設の体力に合った治療人数を念頭に、装置設計が可能となり、今後の大いなる普及が期待される。

## S3-4 重粒子線治療装置の最近の展開

○白井 敏之

独立行政法人 放射線医学総合研究所

放射線医学総合研究所では1994年以来20年間にわたり、8,000人を超える患者に対して重粒子線治療を実施してきた。この20年の最初の10年間では、ワブラー照射装置をベースにした様々な技術開発をおこなってきた。例えば、体幹部への照射を可能とした呼吸同期照射技術、正常組織への線量を低減する積層原体照射技術、XiOをベースとしたペンシルビーム治療計画装置の開発などが挙げられる。また、HIMACの普及モデルを構築するために、高効率線形加速器や小型シンクロトロン、螺旋ワブラー照射装置なども開発してきた。

こうした10年間のHIMAC臨床運用の経験および研究開発の成果に基づき、2005年ごろより治療成績のさらなる向上を目指すために、360度最適な方向から腫瘍の日々のサイズ・形状変化に合わせて重粒子照射をおこなう新たな治療装置の研究開発を開始した。この研究プログラムの中では、呼吸同期照射が可能な高速3次元スキャニング照射装置、超伝導電磁石を使用した回転ガントリー装置、金属マーカーを必要としないX線画像誘導治療装置、Microdosimetric kinetic modelに基づいた高精度治療計画装置などが開発されてきた

一方で、患者数の増大によりHIMAC治療室の治療人数の限界に近づいてきたこともあり、2009年より新しくHIMAC棟の横に3室の重粒子線治療室を備えた新治療研究棟の建設が開始され、上記の研究成果を臨床に適用することが可能となった。現在、3室中の2室で呼吸同期を必要としない部位に対して、高速3次元スキャニング照射装置を使用した治療がおこなわれており、画像誘導治療装置と

組み合わせた呼吸同期照射の臨床試験も予定されている。また、超伝導回転ガントリーを備えた3番目の治療室の建設も進んでおり、来年度中の治療開始を目指しているところである。

本講演では、新治療研究棟において実用化されつつある、これら最近の重粒子線治療装置に関する研究成果を述べるとともに、将来の展望について発表する予定である。



## シンポジウム4

# 膠芽腫における放射線治療、 集学的治療の進歩

7月11日(金) 16:00～17:55

座長

中村 光利  
(奈良県立医科大学)

鈴木 義行  
(群馬大学大学院)

## S4-1 膠芽腫治療に関する基礎と臨床の概要

○中村 光利、松田 良介、中瀬 裕之

奈良県立医科大学 脳神経外科

膠芽腫は形態学的に多彩な組織像を呈するため病理診断が困難なことに加えて、抗癌剤や放射線治療 (RT) に抵抗性で有効な治療法の確立には至っていない。一方、第1番染色体短腕 (1p) と第19番染色体長腕 (19q) の loss of heterozygosity (LOH) を示す悪性神経膠腫で PCV (procarbazine, CCNU, vincristine) 療法 (本邦では PAV (procarbazine, ACNU, vincristine)) の有用性や、temozolomide (TMZ) 投与による有意な全生存期間 (OS) および無増悪生存期間 (PFS) の延長が報告された。特に O6-methylguanine-methyltransferase (O6-MGMT) 遺伝子のプロモーターがメチル化されている症例ではより TMZ の抗腫瘍効果が期待できる。しかし、TMZ をはじめとするアルキル化剤は O6-MGMT によって効果が減弱されるため、各症例における O6-MGMT の状態に応じて O6-MGMT の不活化など TMZ の効果を増強する治療法の開発が必要となってきた。これまで、TMZ とインターフェロンや BCNU の併用、TMZ の高用量投与などの臨床試験が行われ、昨年1月に BCNU wafer の術中投与、6月には初発・再発膠芽腫に対する bevacizumab (BEV) の併用も認可されたが、いずれも有害事象の増強が懸念され、十分な治療成績の得られる症例は限られている。

近年、膠芽腫は Proneuronal, mesenchymal などの分子サブタイプに分類され、TMZ や BEV も含めてそれぞれのサブタイプと奏効率、PFS、OS との相関が検討され、治療法決定の指針となると期待されている。演者らも膠芽腫における genetic・epigenetic な変異を網羅的に解析し、組織多様性を

示す膠芽腫では構成組織ごとの遺伝子変異の形式が異なり、それぞれの治療効果に係わる genotype は異なることを立証し、個々の症例におけるオーダーメイド治療には分子病理学的な解析が必要であることを提唱してきた。更に、重篤な有害事象の発生率が低い抗てんかん薬やポリフェノール類あるいは細胞障害活性を有する  $\gamma$   $\delta$  T 細胞などの抗腫瘍効果に着目し、これらの併用によって膠芽腫患者の health related quality of life (HRQOL) を維持しながら TMZ の治療効果を増強できる可能性を見出している。

膠芽腫に対しても診断・治療薬の進歩は目覚ましいものの、いまだ予後不良の疾患である。今後、膠芽腫の QOL を維持しながら治療効果を挙げるには、症例ごとの genotype に基づいた抗腫瘍効果を増強する有害事象発生が少ない併用療法の確立が重要と考えられる。

## S4-2 神経膠芽腫に対する temozolomide を用いた化学放射線治療の臨床成績と次の一手

○鈴木 義行、野田 真永、田巻 倫明、尾池 貴洋、中野 隆史

群馬大学大学院医学系研究科 腫瘍放射線学

2006年9月に本邦において temozolomide (TMZ) が悪性神経膠腫に対して保険適応となり、現在では、多くの神経膠芽腫症例が、摘出術後に TMZ を用いた化学放射線治療、いわゆる Stupp レジメ、によって治療されていると推測される。しかしながら、本邦における TMZ を用いた化学放射線治療成績については、論文報告は限られているのが現状である。我々は、2013年に、群馬大学医学部附属病院における、初発神経膠芽腫に対する TMZ を用いた化学放射線治療の治療成績について PLOS1 誌上で報告している (Oike T, Suzuki Y, et al. PLOS1, 2013)。今回は、その報告に関する詳細と、現在我々が行っている治療法 (SIB boost) について報告する。

対象は TMZ が本邦で保険適応となった2006年9月から2011年12月の間に、当院で TMZ 併用放射線治療が施行された、組織学的に確認された神経膠芽腫全45症例。男性29例、女性16例で、年齢の中央値は60歳であった。治療は、原則、Stupp レジメに準じ、可及的摘出術後に、TMZ 併用放射線治療 (拡大局所照射 50 Gy/25回 /5週の後、局所照射 10 Gy/5回 /1週) を施行した。TMZ は、放射線治療開始日から終了日まで連日 75 mg/m<sup>2</sup>/日 を投与し、その後、200 mg/m<sup>2</sup>/日 を5日間連日投与し23日間休薬するスケジュールで、可能な限り投与を継続した。また、1988年1月から2006年8月の間に当院で放射線治療が施行された、組織学的に確認された神経膠芽腫36例を control 群とした。TMZ 併用群、control 群の中央生存期間はそれぞれ15.8ヶ月、12.0ヶ月であり、TMZ 併用群に有意な生存期間の延長を認めた (P < 0.01)。TMZ 併用群、control

群の2年生存率はそれぞれ27.7%、14.6%であった。TMZ 併用群のうち、7例に grade 3、2例に grade 4の血液毒性を認めた。多変量解析では、TMZ の併用は、腫瘍摘出度に次いで強い予後因子であった (P=0.04)。

2012年1月より、TMZ の使用法はそのままに、腫瘍局所 (GTV) への線量増加を目的として、拡大局所照射を 46 Gy/23回 /4.6週 (3次元原体照射) に減じ、局所照射を IMRT を用いた simultaneous instantaneous boost (SIB) 法にて GTV への線量を 21 Gy/7回に増量した治療法に変更した (BED : GTV=82.5 Gy)。原則、全ての神経膠芽腫患者を本治療法で行っており、2013年末時点までに30名の神経膠芽腫患者に治療を行った。

## S4-3 膠芽腫のベバシズマブ併用放射線治療と 症候性脳放射線壊死の治療

○宮武 伸一

大阪医科大学 医学部

新規診断膠芽腫に対しては、術後 X 線とテモゾロミド (TMZ) の併用療法が標準治療として worldwide に認知されてきたが、依然としてその治療は難知を極めている。一方再発悪性神経膠腫に対する抗 VEGF 抗体製剤であるベバシズマブによる治療成績は優れた抗浮腫効果を含め、progression free survival (PFS) の延長を認めたことより、新規診断膠芽腫に対しても初期治療より X 線と TMZ の併用療法にベバシズマブを追加する試験治療が大きな期待を集めた。二つの大規模臨床試験 (Avaglio, RTOG0825) が行われ、最近その結果が報告された。両試験の結果には若干の乖離が認められたが、予想に反して全生存 (overall survival, OS) にはベバシズマブの寄与は認められなかった。本講演では両試験の結果を説明するとともに、ベバシズマブ使用時の画像効果の評価の問題も含めて、自験例をまじえてその効果を報告する。

また近年、高線量放射線治療が頭蓋内悪性腫瘍に適応され、また転移性脳腫瘍に対しては定位放射線治療による積極的加療により、これら腫瘍に対して優れた成績を残している。一方で、高線量放射線治療により脳放射線壊死に遭遇する機会が増加してきた。脳放射線壊死は周囲に強い脳浮腫を呈し、症候性となり、患者の機能予後や、時には生命予後も悪化させることも多い。われわれは放射線壊死による浮腫の発生機序が脆弱な血管新生にあり、VEGF が大きく関与していることを自験例より明らかとし、ベバシズマブの効果が期待できることを報告してきた。これらの観察を基に実際にベバシズマブを症候性脳放射線壊死に投与するという臨床研究を大阪医

科大学単独で12例の患者に行ったところ、全例で著効を得た。以上の知見をもとに、アミノ酸トレーサーによる PET 診断をも含めて、「神経症状を呈する脳放射線壊死に対する核医学診断及びベバシズマブ静脈内投与療法」を第3項先進医療として平成23年4月1日より、薬事承認を目指した多施設臨床試験として開始している。

症候性脳放射線壊死は上述のように、喫緊の課題ではあるが、諸般の事情により企業主導治験を組むことは難しい。よって質の高い臨床試験を行い、良好な結果を得られれば、JASTRO を含めた各種学会より学会要望を提出し、治験を経ずして、公知申請により本治療の薬事承認を目指している。平成25年度前半に予定症例数40例の登録は完了したので、平成26年度にデータ追跡、論文化、ガイドライン作成、公知申請まで進めたい。

本講演では、上述の2つのトピックスに加え、再発悪性神経膠腫に対する腫瘍選択的粒

子線治療である硼素中性子捕捉療法 (BNCT) とベバシズマブの併用についても言及したい。

## S4-4 脳腫瘍、頭蓋底腫瘍に対する陽子線治療

○水本 斉志、坪井 康次、奥村 敏之、林 靖孝、室伏 景子、大西 かよ子、  
福光 延吉、栗飯原 輝人、石川 仁、櫻井 英幸  
筑波大学附属病院 放射線腫瘍科

【目的】筑波大学附属病院での脳腫瘍、頭蓋底腫瘍に対する陽子線治療について報告する。

【方法】対象は筑波大学附属病院で陽子線治療が施行された脳腫瘍、頭蓋底腫瘍の症例。陽子線治療を用いた高線量投与の試みがなされている膠芽腫、脊索腫の治療成績・有害事象を中心に検討した。膠芽腫に対する陽子線治療はX線治療と併用で、午前中にT2-high領域へ50.4Gy/28fracのX線照射を行い、6時間以上後にGd増強領域へ46.2GyE/28fracの陽子線ブーストを行った。ACNUまたはTMZを同時併用した。また、脊索腫に対する照射は1989年から2005年までは1日1回照射法(18症例、シリーズ1)を施行し、2006年以降は1日2回照射法(22症例、シリーズ2)により残存腫瘍+切除腔に対して、78.4GyE/56frac(2frac/日)の照射を行った。

【考察】陽子線治療が施行された膠芽腫20症例の生存期間中央値は21.6ヵ月、1年生存率・2年生存率はそれぞれ71%・45%であった。全体の1/4の症例で50ヵ月以上の長期生存が得られた。長期生存例では96.6GyEの照射部位およびその辺縁に放射線壊死が認められたが、壊死巣の摘出やベバシズマブ投与により対処可能であった。脊索腫に対する陽子線治療は、シリーズ1、シリーズ2の経過観察期間はそれぞれ93ヵ月、53ヵ月であった。5年局所制御率・全生存率はそれぞれ56%・67%(シリーズ1)、87%・77%(シリーズ2)であった。シリーズ1ではグレード3以上の有害事象として3例の放射線脳壊死を認めたが、シリーズ2ではグレード3以上の有害事象は認めなかった。

その他、髄膜腫、下垂体腺腫などにも数例程度の

陽子線治療を施行したが、現時点では陽子線治療特有の有害事象は認められていない。また、小児脳腫瘍に対しても臨床試験として陽子線治療が施行されており、治療計画上は正常脳に対する照射線量の減量が可能であった。晩期有害事象の評価には長期的な経過観察が必要とされるが、陽子線治療を用いることにより知能障害などの晩期有害事象が軽減される事が期待される。

【結論】脳腫瘍に対する陽子線治療は、腫瘍に対する線量増加及び正常組織の線量減量の両面からの治療成績向上が期待される。陽子線治療を用いた脳腫瘍に対する最適な照射方法については更なる検討が必要と考えられる。

## S4-5 BNCT の現状

○近藤 夏子<sup>1)</sup>、鈴木 実<sup>1)</sup>、増永 慎一郎<sup>1)</sup>、小野 公二<sup>1)</sup>、川端 信司<sup>2)</sup>、  
宮武 伸一<sup>2)3)</sup>

1) 京都大学 原子炉実験所、2) 大阪医科大学 脳神経外科、3) 大阪医科大学 がんセンター

京都大学原子炉実験所では現在まで過去12年間に、再発悪性神経膠腫(GⅢ、Ⅳ)50例、新規悪性神経膠腫(GⅢ、Ⅳ)64例の中性子捕捉療法(Boron Neutron Capture Therapy: BNCT)を行ってきた。2002年以前は熱中性子を用いて開頭手術を行って中性子線照射を行ってきた。2002年以降は熱外中性子を用いて非開頭手術下で中性子線照射を行ってきた。

エネルギーが $<0.5\text{eV}$ の熱中性子は原子核に捕獲され易く、特に硼素の安定同位体B-10に捕獲されると直ちに高LETの $\alpha$ 粒子( $163\text{keV}/\mu\text{m}$ )とLi反跳核( $210\text{keV}/\mu\text{m}$ )に分裂する。またこれら粒子の飛程は各々9ミクロン、4ミクロンと極短く、細胞一個を破壊するに丁度良い長さである。従って、硼素化合物が選択的に腫瘍細胞に集積すると、腫瘍を含む正常脳へ照射される中性子の分布が一様でも、殺細胞効果はほぼ腫瘍細胞選択的に生じることになる。これが硼素中性子捕捉療法の選択的癌細胞破壊の機序である。BNCTに現在使用されている硼素化合物はBSHとBPAである。この2つの薬剤の作用機序は異なっている。BSHは分子量が大きく、血液脳関門は通過せず、正常脳には蓄積しない。腫瘍近傍ではこの関門が破壊されており、造影剤が蓄積するのと同じ機序で、腫瘍内だけに蓄積するが、受動的拡散によるので、多量に蓄積しない。BPAは硼素化したフェニルアラニンであり、蛋白代謝の亢進した腫瘍組織に能動的に蓄積するが、正常脳にもある程度は蓄積する。両者併用によりその欠点を補っている。

BNCTにおいて再発悪性神経膠腫(GⅢ、Ⅳ)の

全生存期間の中央値は11.2か月( $n=34$ 、2009年)である。2007年Journal of clinical oncology (JCO)の7か月( $n=310$ )を上回る結果となっている。さらにJCOで全生存期間中央値が4.4か月の予後不良群(RPA3+RPA7)においてもBNCT治療群は11.0か月と上回っている。一方、新規診断の神経膠芽腫においては深部線量不足とホウ素の不均一分布を補うためにBNCT後にX線を追加照射している。このプロトコルを用いた結果、全生存期間中央値は23.5か月になった( $n=11$ 、2006年)。2010年以降、このプロトコルにテモゾロミドを加えて、新規診断膠芽腫(GⅣ)の多施設共同研究を行っている。

本講演では原子炉BNCTの結果に加えて、2012年以降、再発神経膠腫(GⅢ、Ⅳ)に対する加速器BNCTの治験についても紹介する。

# セッション1：要望演題

## 古くても新しい放射線生物学 ①分割照射とLQモデル

7月12日(土) 8:30~9:30

座長

田巻 倫明

(埼玉医科大学)

# 01-1 放射線生物モデル温故知新(1)： Target theory の構築された経緯と問題点

○野宮 琢磨

放射線医学総合研究所 重粒子医科学センター

下記に表される標的理論は現在事実上用いられていないモデルとなったが放射線生物学の歴史を学ぶ上で欠くことのできない理論である。

$$\text{細胞生存率 } S = (1 - (1 - e^{-x})^n) \quad \dots\dots (1)$$

標的理論がもう使えない理論なのか既知の見解も含め検証を試みた。

同理論はある生命個体への X 線照射による損傷(ヒット)によって標的(ターゲット)が不活化(死)に至る現象を表したモデルである(Wyckoff RW 1930, Lea DE 1941, Luria SE 1947, Puck TT 1957 他)。標的理論の最もシンプルなモデルは標的が1つ、1ヒットで不活化する生命個体(細胞とする)のモデルである。標的当たり平均1ヒット生じる線量(Mean Lethal Dose: MLD)を照射したときに生き残る細胞は  $e^{-1}$  = 約37%となる。実際に1ヒットモデルと考えられる細胞株は  $e^{-kx}$  というモデルとよく合致する(Berry RJ 1961 他)。

1つの標的に n ヒットする確率は「ある確率の事象が実際に起こる回数」によって求められ、ポアソン分布(Poisson SD 1837)に従うことは古くから知られている。また、照射線量が  $x \cdot \text{MLD}$  となったときの標的当たりヒット率は

$$\begin{aligned} 0 \text{ ヒットの確率 } & P_0(x) = x^0 \cdot e^{-x} / 0! \\ 1 \text{ ヒットの確率 } & P_1(x) = x^1 \cdot e^{-x} / 1! \\ 2 \text{ ヒットの確率 } & P_2(x) = x^2 \cdot e^{-x} / 2! \\ n \text{ ヒットの確率 } & P_n(x) = x^n \cdot e^{-x} / n! \quad \dots\dots (2) \end{aligned}$$

と表される。式(2)はポアソンの極限定理でも導かれる(Poisson SD 1837)。

ここで1つの細胞が2ヒットによって細胞死するモデルを考慮した場合、細胞が1ヒットで不活化す

る標的を2つ有する場合(マルチターゲットモデル)、細胞が2ヒットで不活化する標的を1つ有する場合(マルチヒットモデル)が考えられている(Fowler JF 1964)。

式(1)の各項の意味は下記のように解釈できる。

$e^{-x}$ : ある標的が生き残る確率 [=P0(x)]

$(1 - e^{-x})$ : ある標的が不活化する確率

$(1 - e^{-x})^n$ : n 個の標的すべてが不活化する確率

$(1 - (1 - e^{-x})^n)$ : 最低1個の標的が生き残る確率(細胞生存率)

(※注: 最終形から推測される過程)

これらから式(1)は「標的全てが不活化されて初めて細胞死に至る」のでマルチターゲットモデルと解釈できる。

これに対してマルチヒットモデルの概念では2ヒットモデルで生き残る細胞は  $P_0(x) + P_1(x)$  で表される。n ヒットモデルでは生存細胞は  $P_0(x)$  から  $P_{n-1}(x)$  までの和で次のように表される。

$$\sum_{i=0}^{n-1} P_{n-1}(x) = \sum_{i=0}^{n-1} \frac{x^i \cdot e^{-x}}{i!} \quad \dots\dots\dots (3)$$

この2つの概念は同時期に提唱されたが一方は残り、一方は使用されなくなった。その分岐点となったのは D0, extrapolation number といった概念の出現と考えられる。これらの概念が既存モデルの淘汰にどのように影響したか、なぜ(1)の概念が最終的に残ったかについて考察を述べる。

謝辞: 本研究に貴重な助言を頂いた古澤佳也先生に厚く感謝の意を表します。

# 01-2 放射線生物モデル温故知新(2)： 標的理論の再考・既知の理論と新たな部分

○野宮 琢磨

放射線医学総合研究所 重粒子医科学センター

**【背景】** 前演題にて概説したように、D0, E(外挿数)への適合性からマルチターゲットモデルが主流へと移っていった(Alper T 1960, Elkind MM 1960, Fowler JF 1963, 他)。一方で同時期 Fowler 氏らが示したマルチヒットモデルの式は下記のように

$$\sum P_{n-1}(x) = \sum_{i=0}^{n-1} \frac{x^i \cdot e^{-x}}{i!} \dots\dots\dots (1)$$

で表される(Fowler JF 1964)。しかしこの時点で不足しているのはフィッティングの為に必要な固有の係数である。この式はΣを用いた多項式であるために固有の係数を“何個” “どこに” 設定するかが重要であるが実用化のための方法を検討した。

**【方法】** 我々は生存曲線毎に固有の係数“k”を付加したモデルを考案したので下記に示す。

$$SH_n(x) = \sum_{i=0}^{n-1} \frac{(kx)^i \cdot e^{-kx}}{i!} \dots\dots\dots (2)$$

SH<sub>n</sub>(x) : n ヒットのマルチヒットモデルにおける細胞生存率

x : 照射線量(\*[mean lethal dose]Gy), e : 自然対数の底

これに対してマルチターゲットモデルに任意の係数を付加したものは下記となる。

$$ST_n(x) = (1 - (1 - e^{-kx})^n) \dots\dots\dots (3)$$

ST<sub>n</sub>(x) : n ヒットのマルチターゲットモデルにおける細胞生存率

我々は実際の細胞生存曲線を10細胞株分過去の文献より選び、フィッティングを行った(Atwood KC 1949, Gunter SE 1956, Puck T 1956, 他)。フィッティングは最小二乗法を用いて行い、その数値を両モデルで比較した。正規性の検定には Shapiro-Wilk

の W 検定を用い、対応のある2群の比較には Wilcoxon の符号付順位検定を用いた。

**【結果】** 最小二乗和(sum of least squares)の平均(S.D.)は、当研究のマルチヒットモデルにおいて0.7545(±1.1331)、マルチターゲットモデルの方では3.0889(±5.6690)であった(p=0.006)。当研究におけるマルチヒットモデルはマルチターゲットモデルよりも生存曲線への適合精度が有意に高かった。仮想の標的数“n”の平均値(S.D.)はマルチヒットモデルで5.5(±4.6)、マルチターゲットモデルで10.5(±8.5)であり(p=0.008)、マルチヒットモデルの方が低い“n”でフィッティング可能であった。

**【考察・結論】** 当時この概念を提唱した Fowler 氏らも生存曲線への適合性はマルチヒットモデルの方が高いことを認めているが、同モデルは緩やかな曲線を描くために接線を引く場所によって D0, E が大きく変化するという困難さに直面した。この D0, E の概念に当てはめようとする自体がマルチターゲット理論に傾倒していく原因であったかも知れない。マルチヒット理論はフィッティング法が確立されていなかったこととコンピュータでないと計算できない点が残らなかった理由の一つと考えられるが、これらの要素を補完し、自動計算プログラムを作成した点が本研究の意義と過去に無い新しい点と考えられた。

謝辞：本研究に貴重な助言を頂いた根本建二先生に厚く感謝の意を表します。

## 01-3 放射線生物モデル温故知新(3)： 標的理論改訂モデルで何が可能なのか？

○野宮 琢磨

放射線医学総合研究所 重粒子医科学センター

**【背景】** 前演題にて標的理論の改良点を概説した。現在幅広く用いられている Linear-Quadratic (LQ) モデルについても考察が必要である。一つの問題点として知られているのは LQ モデルは 2-10Gy/fr. 程度の中線量域ではフィッティングが良好であるが、1Gy 以下の低線量域や 10Gy 以上の高線量域では整合性が良くないことが知られている。特に低線量域では超低線量域で放射線感受性である low-dose hyperradiosensitivity (HRS) と、その後に誘導される放射線抵抗性 induced radioresistance (IRR) によって生存曲線が反対に下に凸となることが実際の現象として知られている (Joiner MC 1986, Spadinger I 1993, Marples B 1993, Joiner MC 1996, Mothersill C 2002)。この現象は上に凸である LQ モデルの曲線を用いて当てはめることはできないが、我々はマルチヒット理論を基盤にこの現象を説明するモデルを検討した。

**【方法】** 細胞の放射線感受性に影響を与える因子を 2つ導入して検討した。

- (1) 細胞集団は放射線感受性の異なる細胞の混在と  
考え、放射線感受性の異なる細胞群を一定の比率で混在させた。具体的な方法としては 1 ヒットで死ぬ細胞と 3 ヒットで死ぬ細胞を比率を変えて混在させ、生存曲線をシミュレートした。
- (2) 1 ヒット 1 ターゲットモデルに Repair の概念を導入した。一定の割合でヒットが修復されるモデルとし、修復の確率はポアソン分布に従うモデルとした。また、修復の程度に関しては固有の係数を用いることで修復の強弱の概念を導入した。

**【結果】**

- (1) 1Hit 細胞と 2Hit 細胞を混在させた上で低線量の領域での細胞生存率をシミュレートした結果は図2のようになった。基本的には 1Hit と 2Hit の生存曲線の間をとった形となり、下に凸の形状は見られなかった。
- (2) 1Hit 細胞に一定の確率で Hit を消すモデルを作り、2回まで起こる場合を 2-Repair モデルとして図に示す。固有の係数 “k” が小さい場合は緩やかであるが、k が大きくなるにつれ下に凸の曲線が再現された (図3)。

**【考察・結論】** これまで HRS/IRR に関しては実験によって分画の違いは否定的であり (Wouters BG 1994, Howard A 1978)、修復であることが予想されている (Boreham DR 1991, Joiner MC 1999)。当研究結果は実験予測と矛盾せず、この現象をマルチヒット理論をベースにモデル化した報告はこれまでになく新たな知見と考えられる。

モデル化の意義は「如何に真の現象に近づけるか」にあると考えられる。「真実を反映した」モデルと「形状を合わせるために係数を調節した」モデルとでは、延長線上の予測が大きく異なることが予想される。理論の基盤が真実に近ければ定位照射の様な高線量域でも照射野辺縁の低線量域にも実際の影響を予測することが可能になると考えられる。

謝辞：本研究に貴重な助言を頂いた松藤成弘先生に厚く感謝の意を表します。

## 01-4 不均質な放射線感受性クローンをもつ腫瘍の線量・効果関係の解析

○関根 広

東京慈恵会医科大学附属第三病院

【目的】放射線治療の効果を表すモデルとして、LQモデルが用いられている。LQモデルはコロニー形成能をモデル化しているが、高線量域ではLQモデルが当てはまらない可能性が示唆されている。特に、1回線量が10Gy以上の定位照射が臨床応用されるようになって、臨床データとLQモデルの解離が明らかになりつつある。一つの可能性として腫瘍の放射線感受性の不均一性に注目した。腫瘍が増殖するに従い、放射線感受性の異なるクローンが出現する可能性がある。そこで様々な放射線感受性を含む腫瘍を照射したときの線量生残率を求めた。このモデルはコンピュータが行う実験であり、実際に行うのは非常に困難な多数の実験を行い、生残率曲線の特徴をシミュレーションすることを目的とした。

【方法】ランダムに1-7個の腫瘍クローンを発生させる。各クローンの放射線感受性は7種類の腫瘍細胞の放射線感受性からランダムに与えられる。各クローンの腫瘍内に占める比率をランダムに与える。ある大きさに達したときに1-16Gyの1回照射を行い、生残数をカウントする。シミュレーションは各線量につき500回繰り返し、生残率をプロットした。

【結果】線量ごとの生残率の分布は正規分布ではないことが分かった。しかし、数回の実験では算術平均をとることが多いため、一つは算術平均を求めた。他は幾何平均を求めた。各平均値をもとに、最小二乗法で2次項までの回帰を行い、係数を求めた。幾何平均の方が、曲線は急峻であった。1次項の係数 $\alpha$ と2次項の係数 $\beta$ の比を求めたところ、算術平均および幾何平均でそれぞれ14.6, 13.5であった。各線量での幾何平均に対する算術平均の生残率の比を

求めたところ、2Gy, 5Gy, 10Gy, 20Gy, 30Gyでそれぞれ0.99, 1.12, 1.56, 4.81, 27.52であった。線量が大きいほど、解離が明瞭となった。

【結論】不均質な放射線感受性クローンを含む腫瘍では、腫瘍の感受性クローンの分布や比率により生残率はことなり、大線量でのLQモデルの誤差の原因の一因になり得る。

## 01-5 大線量寡分割照射における Linear Quadratic モデルの検討

- 藤谷 信将<sup>1)2)</sup>、吉峰 正<sup>1)2)</sup>、片山 絵美子<sup>1)</sup>、井上 和也<sup>1)</sup>、浅川 勇雄<sup>1)</sup>、  
玉本 哲郎<sup>1)</sup>、武田 麻衣子<sup>3)</sup>、吉田 由香里<sup>4)</sup>、石内 勝吾<sup>5)</sup>、長谷川 正俊<sup>1)</sup>  
1) 奈良県立医科大学 放射線腫瘍医学講座、2) 奈良県立医科大学附属病院 中央放射線部、  
3) 奈良県立医科大学 生化学講座、4) 群馬大学 重粒子医学研究センター、  
5) 琉球大学医学部 脳神経外科学講座

**【目的】** 1回線量、分割回数と治療効果の関係を簡便に把握する指標として Linear Quadratic Model (LQ モデル) に基づく生物学的等価線量 (Biological Effective Dose, BED) が使用されることが多い。しかし定位放射線照射、特に定位手術的照射においてはその治療効果を LQ モデルで評価することは困難であるという報告がある一方で、定位放射線照射への適応も可能であるという報告もある。これまで我々は BED を指標とした線量投与・分割方法と腫瘍抑制効果について増殖遅延を指標として検討を行ってきたが、さらに照射方法の相違と細胞死などの組織学的変化の関係についても検討を行った。

**【方法】** ヒト由来の膠芽腫を Balb/c ノード・マウスの右大腿皮下へ移植して、換算体積が  $200 \text{ mm}^3$  を超えた時点から X 線照射を行った。投与線量は  $12 \text{ Gy}/1\text{fraction (fr)}$  と同等の BED となる分割回数・投与線量を、腫瘍細胞の  $\alpha/\beta$  比を  $10 \text{ Gy}$  として算出し、 $12 \text{ Gy}/1\text{fr}$  (1回線量:  $12 \text{ Gy}$ )、 $20.96 \text{ Gy}/8\text{fr}$  (1回線量:  $2.6 \text{ Gy}$ )、 $18.16 \text{ Gy}/4\text{fr}$  (1回線量:  $4.5 \text{ Gy}$ )、 $15.06 \text{ Gy}/2\text{fr}$  (1回線量:  $7.5 \text{ Gy}$ ) とした。なお照射 (X 線、 $150\text{-kVp}$ ,  $20 \text{ mA}$ ,  $0.5 \text{ mm-Al filter}$ ,  $0.1 \text{ mm-Cu filter}$ ) は期間の延長による影響を少なくするため 1日2回照射とし、腫瘍を移植した右大腿皮下のみに行い、他の部位は約  $5 \text{ mm}$  厚の鉛で遮蔽した。各マウスの腫瘍体積が照射時の5倍を超えた時点で腫瘍を摘出し、ホルマリン固定、パラフィン包埋切片で H. E. 染色、Ki67 染色を行い腫瘍細胞および血管間質等の組織学的変化を検討した。

**【結果】** 非照射対照群では類円形またはやや不整の核を有する異型細胞の増殖を認めたが、(照射群と

比較すれば) 比較的均一だった。照射群においては核の大小不同が顕著で、奇怪な多核巨細胞も多数認められたが、一部には対照群同様の細胞も見られ、同部位には核分裂像、Ki67 陽性細胞も認められた。前者と後者の割合は個々の腫瘍で異なっていたが、照射群間の有意な相違は指摘できなかった。

**【結論】** 増殖遅延による評価では、1回線量が  $12 \text{ Gy}$  程度までであれば照射群間に有意な差は認められず、LQ モデルがある程度成立する可能性が示唆されたが、病理組織学的検討でも照射群間に明確な相違は認められなかった。

## 01-6 子宮頸癌放射線治療における LQ モデルの応用： 3次元生物学的線量分布解析による線量評価

○田巻 倫明<sup>1)</sup>、阿部 孝憲<sup>1)</sup>、安藤 謙<sup>2)</sup>、村田 和俊<sup>3)</sup>、野田 真永<sup>3)</sup>、大野 達也<sup>3)</sup>、  
加藤 真吾<sup>1)</sup>、中野 隆史<sup>3)</sup>

1) 埼玉医科大学 国際医療センター 放射線腫瘍科、2) 群馬県立がんセンター 放射線科、  
3) 群馬大学大学院 腫瘍放射線学

**【背景】** 子宮頸癌に対する標準的放射線治療では、体外照射による全骨盤照射と小線源治療である子宮腔内照射が併用される。全骨盤照射では直腸と膀胱を保護するための中央遮蔽が一部用いられる結果、骨盤内でも不均一な線量分布が形成される。また、体外照射と子宮腔内照射の分割線量は異なる。よって、治療全体の効果を評価するためには、単なる物理線量の合算では不十分であり、生物学的線量に換算してその合計を評価する必要がある。その方法として、LQ モデルを用いた2Gy 分割等線量 (Equivalent dose in 2Gy/fr : EQD<sub>2</sub>) が用いられる。

**【目的】** 子宮頸癌に対する中央遮蔽を用いた全骨盤照射と子宮腔内照射を併用した放射線治療の3次元EQD<sub>2</sub> 分布を解析する。

**【方法】** 体外照射として、ファントム上に仮想的な全骨盤照射 (WP) (10MV X 線、直交4門)、中央遮蔽を用いた全骨盤照射 (CS) (10MV X 線、前後対向2門、中央遮蔽3か4cm) の計画を作成した。腔内照射 (BT) では、タンデムとオボイドを使用し A 点を線量処方点とする治療計画を作成した。全治療として、① WP 30Gy/15回 + CS 20Gy/10回 + BT 24Gy/4回 (CS 幅3か4cm)、② WP 40Gy/20回 + CS 10Gy/5回 + BT 24Gy/4回 (CS 幅3cmか4cm)、③ WP 45Gy/25回 + BT 28Gy/4回、のパターンを作成し3次元EQD<sub>2</sub> 分布を解析した。腫瘍に対する効果を評価するためには  $\alpha/\beta=10$ 、正常組織への影響を評価するためには  $\alpha/\beta=3$  を用いた。

**【結果】** A 点に投与される線量 (EQD<sub>2</sub>) は、① (CS 幅3cm) で78.0Gy、① (CS 幅4cm) で71.8Gy、② (CS 幅3cm) で80.1Gy、② (CS 幅4cm) で77.0Gy、

③で84.1Gyであった。これらの値は、従来報告されていた手法である WP と BT の線量のみを単純合算する方法での A 点線量 (① : 62Gy, ② : 72Gy) と比べると約5~16Gy の差があった。また、CS を用いない治療 (③) と比較すると、CS を用いた治療 (①と②) では、50~70Gy で照射される領域が側方により広く進展する一方、中央遮蔽される部分の前後方向の進展は小さくなった。また、仮想的に配置した膀胱評価点 / 直腸評価点の線量 (EQD<sub>2</sub>) はそれぞれ、

① (CS 幅3cm) で74.7Gy/56.0Gy、

① (CS 幅4cm) で74.4Gy/55.7Gy、

② (CS 幅3cm) で84.2Gy/65.6Gy、

② (CS 幅4cm) で84.0Gy/65.5Gy、

③で99.5Gy/75.0Gy となり、中央遮蔽によって低減されていた。(本発表ではその線量分布を提示する)。

**【結論】** 中央遮蔽を用いた全骨盤照射と子宮腔内照射の併用では、単なる物理線量の合成分布による評価よりも、3次元EQD<sub>2</sub> 合成分布を作成することで、より正確な治療評価が可能になると考えられた。



## セッション2：要望演題

### 古くても新しい放射線生物学 ②放射線感受性、細胞死、他

7月12日(土) 9:30～10:40

座長

近藤 隆

(富山大学大学院)

## 02-1 アポトーシスを指標として放射線の間接作用を考える

○近藤 隆

富山大学 大学院医学薬学研究部 放射線基礎医学講座

**【背景】** アポトーシスの実行過程にいたる主な経路は、1) Fas/FasL 等死のシグナルと受容体を介する外部経路と2) ミトコンドリアの Bcl-2ファミリー蛋白質により制御される内部経路であり、両経路共にカスパーゼが多段階に働き進行する。X線や $\gamma$ 線などの電離放射線は、生体内の標的分子を直接に励起・電離するとともに、水分子の励起・電離により放射線分解産物であるヒドロキシルラジカル( $\cdot$ OH)等の活性酸素を生成する。これらによってDNA鎖切断や細胞膜の脂質過酸化等の初期損傷を誘発し、放射線誘発アポトーシスのカスケードを活性化する。ラジカル除去剤(特に $\cdot$ OHに対する)が放射線誘発細胞死(増殖死)を抑制することから、放射線による $\cdot$ OH生成はその生物作用の約7割を担う“間接作用”として知られている。

**【方法と結果】** 著者らもこの点に興味を持ち、放射線誘発ヒトリンパ腫細胞株U937のアポトーシス指標に、今までにアポトーシス抑制作用が報告された薬剤の $\cdot$ OHとの反応速度定数と放射線照射後6時間後のアポトーシス抑制率とを比較したが、明らかな相関は認められず、放射線誘発早期アポトーシスについては、 $\cdot$ OHの寄与は小さいとする結果を報告した<sup>1)</sup>。また、放射線アポトーシスの化学的増強について検討したところ、細胞内でスーパーオキシドを生成する薬剤ではその増強は認められないが、 $H_2O_2$ を生成する場合でその増強が認められることから、 $H_2O_2$ が放射線アポトーシス誘発で主要な役割を担うとする一連の結果を報告した<sup>2-5)</sup>。さらに、最近、細胞内で $H_2O_2$ を生成するFK-228の誘導体でも放射線アポトーシスの増強を確認した。

また、著者らはSOD/カタラーゼ活性を有する白金ナノ粒子が放射線アポトーシスを抑制することを報告した<sup>6)</sup>。比較的 $O_2^{\cdot-}$ に選択性が高いとされるヒドロエチジンをを用いた結果では、放射線による蛍光強度の増加はなく、 $O_2^{\cdot-}$ の寄与は少ないとすると、白金ナノ粒子による防護効果はSOD活性によるといふより、カタラーゼ活性即ち $H_2O_2$ 除去によるものと思われる。

**【結論】** 以上より、放射線誘発アポトーシスには細胞内 $H_2O_2$ が重要な役割を果たすので、従って、アポトーシスの増加を目的とする場合には細胞内の $H_2O_2$ の制御が放射線治療における癌細胞死増強に重要となる。

### 【参考文献】

- 1) Cui Z-G, et al. Apoptosis 9, 757-763, 2004.
- 2) Cui Z-G, et al. Free Radic Res 38, 363-373, 2004.
- 3) Yu D-Y, et al. Apoptosis 12, 1523-1532, 2007.
- 4) Yu D-Y, et al. ibid. 13, 448-461, 2008.
- 5) Yu D-Y, et al. ibid. 14, 655-664, 2009.
- 6) Jawaid P, et al. ibid. 19:1006-1016, 2014.

## 02-2 マウス骨髄細胞由来肥満細胞の分化・増殖に対する放射線の影響

○村上 翔、吉野 浩教、山口 平、西山 彩香、横山 昂生、柏倉 幾郎

弘前大学大学院保健学研究科

**【目的】** 肥満細胞は消化管や肺、皮膚といった全身の組織に広く分布する免疫細胞の1つである。肥満細胞は、その細胞内にヒスタミンやセロトニンといった炎症性メディエーターを含んだ顆粒を多数有しており、IgE を介した抗原抗体反応により脱顆粒を起こし、炎症反応を惹起する。放射線応答における肥満細胞の役割や放射線の影響についてはこれまでに幾つか研究が行われており、肥満細胞が産生する炎症性メディエーターが血管内皮細胞の放射線誘発炎症応答を増強すること、また肥満細胞欠損マウスはコントロール群と比べて腸管の放射線損傷が減少することが報告されている。このように、放射線による組織の炎症・損傷に肥満細胞が関与することが示されているものの、骨髄細胞から肥満細胞への分化誘導に対する電離放射線の影響は不明である。本研究では、肥満細胞への分化における放射線の影響を明らかにするために、放射線曝露マウス由来骨髄細胞からの肥満細胞の分化誘導について検討した。

**【方法】** 8週齢メスのC57BL/6J JclマウスにX線を0.5及び2Gy全身照射し、照射後1-10日間マウスを飼育した。飼育後、各マウスから骨髄細胞を採取し、チュルク液を用いて有核細胞数をカウントした。骨髄細胞を遺伝子組換えマウス Interleukin-3, Interleukin-9, Stem Cell Factor 及び遺伝子組換えヒト Transforming Growth Factor  $\beta$ -1 含有 DMEM 培地で培養し、肥満細胞への分化誘導を行った。培養1週間毎に細胞を回収、トリパンブルー色素排除法で生細胞数を計数し、継代を行った。また、細胞表面抗原の発現はフローサイトメーターで解析し、Fc  $\epsilon$  Receptor I (Fc  $\epsilon$  RI) 及び c-kit 陽性群 (Fc  $\epsilon$

RI<sup>+</sup>/c-kit<sup>+</sup>) を肥満細胞とした。

**【成績・結論】** 骨髄細胞数は、2Gy 照射1-3日で非照射の1/3-1/4まで有意に低下したが、5日目及び10日目では非照射群と同程度まで回復した。また、継代の後に生細胞数を計数したところ、培養1,2週間目では放射線量依存的な細胞増殖率の低下が認められたが、3週目以降では各群間での差は認められなかった。非照射骨髄細胞の Fc  $\epsilon$  RI<sup>+</sup>/c-kit<sup>+</sup> 群の割合は培養日数に依存して増加し、培養3-4週間後にピークとなった(陽性率60-70%)。照射群においても培養日数に伴い Fc  $\epsilon$  RI<sup>+</sup>/c-kit<sup>+</sup> 群が増加し、その割合は非照射群と同程度であった。以上の結果より、マスト細胞への分化誘導刺激下における放射線曝露マウス由来骨髄細胞の増殖率は培養1,2週間目まで低下しているが、放射線曝露マウス由来骨髄細胞も肥満細胞への分化能を維持していることが示唆された。

## 02-3 遅発性活性酸素は放射線感受性に影響する

○菓子野 元郎

大分大学 医学部 先端分子イメージングセンター

放射線による細胞死は、修復されなかった DNA 損傷が原因でもたらされることが知られている。また、放射線照射中の短時間に生じる活性酸素が DNA 損傷の誘発に関わる機構が間接作用として知られており、放射線感受性を左右するものとして重要視されている。しかし、我々は、照射細胞において遅発的に生じる活性酸素が、放射線による細胞死に部分的に関わることを見出したので報告する。我々は、正常線維芽細胞 BJ/hTERT において、ミトコンドリアの形態を制御する因子のうち、Dynamin related protein 1 (Drp1) が、放射線照射後にリン酸化されミトコンドリアへ局在化することを明らかにした。また、照射後1日後から7日後まで遅発的に増える活性酸素を調べたところ、ミトコンドリア局在性のスーパーオキシドは照射3日後をピークに増えることがわかった。一方、Drp1 の発現を抑制した細胞 (shDrp1) においては、照射後のミトコンドリアの断片化が見られず、照射3日後のミトコンドリアのスーパーオキシドの増加も見られなくなることから、放射線照射後のミトコンドリアにおける活性酸素の増加は Drp1 依存的事であることが示唆された。また、興味深いことに、Drp1 の発現を抑制した shDrp1 細胞では、対照細胞に比べて放射線抵抗性になることがわかった。照射後に残存する DNA 二重鎖切断について 53BP1 フォーカスを指標に調べたところ、6Gy 照射3日後におけるフォーカス数は、shDrp1 細胞において有意に少いことがわかった。以上の結果より、Drp1 依存的事である遅発性活性酸素の増加は、放射線照射後の DNA 二重鎖切断修復にも影響を及ぼしている可能性が示唆される。次に、我々は、

放射線照射前処理、照射後処理に分けて、ビタミン C 誘導体 2-Glucoopyranoside ascorbic acid (AA-2G) を処理した際、放射線防護効果の程度を比較した。その結果、照射後処理でも放射線抵抗性になることがわかった。放射線防護効果が表れる要因として、照射後の遅発性活性酸素を抑えることが重要であることが明らかとなった。

## 02-4 腫瘍内酸素分圧の差異による解糖系依存の評価； 放射線治療による影響はあるか？

○松尾 政之<sup>1)2)</sup>、松元 慎吾<sup>2)</sup>、斎藤 圭太<sup>2)</sup>、高草木 洋一<sup>2)</sup>、Mitchel James<sup>2)</sup>、  
Chrishna Murali<sup>2)</sup>、芝本 雄太<sup>1)</sup>

1)名古屋市立大学放射線科、2)NCI/NIH

In vivo 酸素イメージングには PET、DC-MRI、BOLD-MRI などあるが、今回我々が用いた Electron Paramagnetic Resonance (EPR) による酸素イメージングは、酸素感受性ラジカルである triarylmethyl radical (TAM) のスペクトルが周囲の酸素分圧により影響を受け、その線幅が酸素分圧と比例関係に変化することを利用した方法である。また、腫瘍では解糖系代謝経路が活性化される (Warburg 効果) 特徴がある。以前より MRI によるピルビン酸代謝の評価は可能であったが、測定感度に問題があった。近年、新たに Dynamic Nuclear Polarization (DNP) 法が開発された。DNP 法では、固体状態の化合物に高磁場でレーザーを照射し不対電子を増加させることで感度を向上させ、より詳細なピルビン酸代謝の評価が MRI にて可能となった。

**【目的】** 低酸素環境下の癌細胞は、生き残るためにその微小環境をミトコンドリアの酸化的リン酸化だけでなく解糖系をエネルギー生成のために使う。ここで、EPR の非侵襲的な酸素イメージングと DNP-MRI でのピルビン酸代謝イメージングを一連に行うことにより、腫瘍内酸素分圧とピルビン酸代謝の関係を検討する。

**【方法】** SCCVII、HT29 の 2 種類の cell line をそれぞれ C3H マウス、ヌードマウスの右後脚に  $5 \times 10^5$  および  $1 \times 10^6$  皮下移植した ( $n=6$ )。腫瘍最大径 15mm 大のマウスを ESR および 7T MRI いずれも使用可能なステージに固定し、EPR 専用コイルに装着、TAM を尾静脈より投与後、まず EPR にて酸素イメージングを行った。EPR 撮影終了後すぐ

に、マウスを固定したステージを 7 T MRI のパラレルコイルに移動装着し、DNP-MRI 撮像をエコープラナー法で行った。2 種類の cell line において EPR による腫瘍内酸素分圧と DNP-MRI による乳酸 / ピルビン酸比を比較した。HT29 においては 5Gy 照射 1 日後にも同様な連続画像検査を行い、照射の影響を検討した。

**【結果】** ファントム実験の結果では、7T MRI において、ピルビン酸および乳酸の濃度はいずれも明確に画像上評価可能であった。HT29 と SCCVII の平均酸素分圧はそれぞれ 15.8 mmHg、13.5 mmHg であり、HT29 が高い傾向にあったが有意差は認めなかった。しかしながら低酸素領域 ( $pO_2 < 8$  mmHg) は SCCVII が HT29 に比べ有意に高かった ( $P < 0.05$ )。乳酸 / ピルビン酸比は低酸素域で亢進し、HT29 より SCCVII において有意に高かった ( $P < 0.05$ )。HT29 において 5Gy 照射 1 日後の平均酸素分圧に明らかな有意差は認めなかったが、低酸素領域は放射線照射後に拡大する傾向があった。5Gy 照射 1 日後の乳酸 / ピルビン酸比は、8 mmHg 以下の低酸素領域において非照射の 36% から 76% に有意に上昇した ( $P < 0.05$ )。

**【結論】** 5Gy 照射 1 日後の乳酸 / ピルビン酸比が特に低酸素領域で亢進している理由は、腫瘍酸素分圧の低下、灌流の減少などによって説明された。この新しいイメージングの組み合わせは、放射線治療における腫瘍の酸素分圧と解糖系代謝の理解に新しいアプローチを示した。

## 02-5 低酸素ならびに再酸素化が細胞周期動態に及ぼす影響

○後藤 達明、戒田 篤志、三浦 雅彦

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 口腔放射線腫瘍学分野

**【目的】** 通常のグルコース濃度下で腫瘍細胞を低酸素処理すると、細胞はG1期に集積するが、低グルコース濃度下では、S期に進行する細胞が出現するとの報告がなされた(Zhu et al., 2013)。我々は、細胞周期を可視化するFluorescent ubiquitination-based cell cycle indicator (Fucci) (Sakaue-Sawano et al., 2008)を導入したHeLa細胞を用いて、長時間低酸素状態に置くと、ほとんどの細胞がS期に集積することを報告した(Kaida et al., 2012)。これまで、低酸素状態では、腫瘍細胞はG0/G1期に集積するものと考えられてきた。この現象の意義の解明を目的に、今回我々は、HeLa-Fucci細胞を用いて、低酸素処理ならびに再酸素化が細胞周期動態に及ぼす影響の詳細を検討したので報告する。

**【材料・方法】** 細胞は、Fucci導入HeLa細胞(HeLa-Fucci細胞)を用いた。低酸素処理は、アネロパックケンキ5%システム(三菱ガス化学)にて、酸素濃度を0.1%以下にして培養した。解析には、蛍光顕微鏡 BZ-9000(キーエンス)およびフローサイトメーターBD FACS Canto II(日本ベクトン・ディッキンソン)を用いた。S期でのDNA合成を確認するために、Click-iT<sup>®</sup> EdU Imaging Kits(Life Technologies)を使用した。FACS解析は、低酸素による蛍光消失(Kaida et al., 2012)を補償するため、低酸素処理後2時間再酸素化した後に実施した。

**【結果】** DNA量解析の結果から、16時間低酸素状態に置くことでG1期付近への集積が見られたが、その後40時間まで、DNA量に有意な変化は認められなかった。意外なことに、Fucci蛍光のFACS

解析では、16時間以降、緑色蛍光のみを発現する細胞分画(S/G2/M期)に集積が見られ始め、32時間後にはほとんどがこの分画に集積した。この分画に集積した細胞は、EdUの取り込みを示したことから、機能的にもS期であることを確認した。低グルコース状態でも、同様な結果を示した。次に、24時間低酸素処理した後再酸素化し、細胞周期動態を追跡した。その結果、細胞周期を滞りなく回転する細胞はほとんどなく、1)緑色期に長期間留まる細胞、2)M期を経たのち、赤色であるG1期に長期間留まる細胞、3)赤色期を脱出し、緑色期に移行する細胞の3つに大きく分けられた。頻度としては、1)が約60%、2)が28%、3)12%であった。

**【考察】** HeLa-Fucci細胞を低酸素処理すると、Fucciの蛍光指標からは、赤色、緑色両方の蛍光を発するS期初期よりも進行したS期に集積すると考えられたが、DNA量からは、G1期に極めて近い位置にあることがわかった。この乖離は、DNAライセンス化因子の制御から判断されるS期内の位置までDNA合成量が追いついていないことによるものと考えられる。低酸素処理によってリボヌクレオチドリダクターゼ活性が低下するが、その阻害剤であるヒドロキシウレアでも全く同じ現象が起こることから(Kaida et al., 2011)、これが本現象のメカニズムであると考えている。再酸素化による細胞周期の停止機構については、現在検討中である。

## 02-6 $^{137}\text{Cs}$ 針を線源とした低線量率連続照射による 時空間的細胞周期動態の可視化

○戒田 篤志、三浦 雅彦

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 口腔放射線腫瘍学分野

密封小線源 ( $^{137}\text{Cs}$ 、 $^{192}\text{Ir}$ 、 $^{198}\text{Au}$ 、 $^{125}\text{I}$ ) を用いた低線量率小線源治療 (LDR-BRT) は、口腔癌や前立腺癌、子宮頸癌に対する有効な治療法のひとつである。その治療効果には、様々な放射線生物学的に重要な現象が寄与していると考えられており、逆線量率効果はその一例である。小線源治療の特徴として、線源からの距離により、線量率、線量が極めて不均一になることが挙げられるが、そうした場に応じて、G2アレストがどのように起こるのか、その詳細を明らかにすることは、これまで技術的にほとんど不可能であった。本研究では、生細胞における細胞周期動態を可視化し得るシステムである Fluorescent Ubiquitination-based Cell Cycle Indicator (Fucci) を応用し、 $^{137}\text{Cs}$  線源を用いて、低線量率連続照射 (cLDR-IR) が、腫瘍細胞動態に及ぼす時空間的な影響を可視化するとともに、その詳細を解析した。

Fucci を導入した HeLa 細胞 (HeLa-Fucci 細胞) を播種した培養皿底面に、 $^{137}\text{Cs}$  針を密着、固定後、蛍光顕微鏡下で培養し、線源から 10 mm 程度離れた細胞までを含む集団について、タイムラプスイメージングを行い、cLDR-IR 中の細胞動態を解析した。DNA 二重鎖切断 (DSB) は、anti- $\gamma$  H2A. X 抗体を用いた蛍光免疫染色により検出した。

cLDR-IR 各時間後、線源から 10 mm までの細胞について蛍光分布を弱拡大にて観察したところ、照射 24 時間以降、線源直近 ( $> 83$  cGy/h) で緑色を呈する細胞の割合が最も高く、線源から離れるにつれてその割合は次第に低下した (5 mm : 21 cGy/h ; 10 mm : 8 cGy/h)。この蛍光動態は、これまでの

我々の研究から G2/M アレストを反映していると考えられた。その程度は、線源からの距離に依存し、線量率と線量に相関することが明確に捉えられた。すなわち、線源からの距離に応じて、G2/M 期にアレストしながら照射される様子が初めて可視化されたことになる。次に、強拡大にて個々の細胞を観察すると、線源に近接した位置に存在する殆どの細胞は 1 度目の M 期を通過できるものの、時間の経過 (線量の蓄積) とともに G2 アレストは著明に起こり、2 周目以降、M 期を通過できた細胞の割合は有意に減少した。また線源直近では、連続照射 75 時間後までに多くの細胞が死に至ったが、興味深いことに、致死した細胞の多くは線量が蓄積していくにもかかわらず、G2 期から M 期へ進行し、M 期で細胞死を呈するいわゆる mitotic catastrophe (MC) を起こした。このような cLDR-IR 中の細胞周期動態を踏まえ、放射線照射後の細胞周期動態と密接に関連した DSB 修復動態について検討したところ、序盤は線量の蓄積とともに増加した核内 foci 数が、連続的に照射されているにもかかわらず、照射 24 時間後をピークにプラトーになることが示された。現在、G2 アレストの解除とこうした DSB 修復動態との関係を明らかにすべく検討を進めている。

## 02-7 人工グリオーマ幹細胞の放射線照射後細胞周期イメージング

○公田 龍一<sup>1)2)</sup>、サンペトラ オルテア<sup>2)</sup>、小池 直義<sup>1)2)</sup>、深田 淳一<sup>1)</sup>、川田 哲也<sup>1)</sup>、佐谷 秀行<sup>2)</sup>、茂松 直之<sup>1)</sup>

1)慶應義塾大学医学部 放射線科(治療)、2)慶應義塾大学医学部 先端医科学研究所遺伝子制御

**【背景】** グリオブラストーマ(GBM)は予後不良の中枢神経悪性腫瘍である。治療が困難な原因の一つとしてグリオーマ幹細胞(Glioma stem cell, GSC)の放射線抵抗性が挙げられる。GSCの放射線治療に対する振る舞いや浸潤を解析するため、我々はInk4a/Arfノックアウトマウスより採取した神経幹細胞を用いてマウス人工グリオーマ幹細胞(induced-glioma stem cell, iGSC)を樹立し、この細胞を野生型マウスの前脳に同系・同所移植することによりGBMマウスモデルを確立した。本研究では放射線照射後のiGSCの細胞周期の解析をIn vitro およびEx vivoの系で行った。

**【方法】** Ink4a/Arf欠損マウス由来の神経幹細胞にH-RasV12を過剰発現させ人工グリオーマ起源細胞(induced-glioma initiating cell, iGIC)を樹立した。これを野生型マウスに同系移植して発生するグリオーマ様腫瘍よりグリオーマ幹細胞を単離し、iGSCを樹立した。

さらにこの細胞に蛍光細胞周期インジケータであるpFucci-G1 orangeを遺伝子導入することで赤色蛍光の有無によってG0/G1期とS/G2/M期を視覚的に認識可能なモデル細胞を確立した。この細胞をマウス前脳に移植後4日目に摘出して脳の切片を作成して放射線照射を行い蛍光の経時的変化を共焦点顕微鏡で観察した。

**【結果】** Fucci G1 orangeをトランスフェクションしたiGSCのIn vitroのタイムラプス像において、放射線照射後48時間でG0/G1期にあると考えられる大型の腫瘍細胞が出現し、これらの細胞は形態的には分葉化した核を複数もつ多核巨細胞であった。

Flow cytometryによる細胞周期解析では6n、8nあるいはそれ以上の多倍体ピークが上昇することが示された。Ex vivoの脳切片培養においても赤色蛍光を放つG0/G1期分画の細胞割合の上昇が確認され、さらに同様の現象はIn vivoの放射線照射でも認められた。切片に対する照射後4日目以後は細胞周期の再分布が起きることが確認された。

**【結語】** マウスiGSCとその同系移植による動物モデルにおいて放射線照射はG0/G1期の細胞の割合を上昇させた。また72時間以後細胞周期の再分布がおこり腫瘍組織の再増大が起こることが観察された。このような放射線照射後に一過性に生じるG0/G1期分画の上昇が分割放射線治療と同期し放射線治療の有効性が減弱する可能性が示唆される。

# セッション3：一般演題①

## 重粒子線

7月12日(土) 13:40～14:30

座長

若月 優

(放射線医学総合研究所)

## O3-1 DNA二本鎖切断修復阻害剤による炭素線増感効果の検討

○高橋 昭久<sup>1)2)</sup>、馬 洪玉<sup>2)</sup>、東 千晶<sup>3)</sup>、成澤 由起子<sup>3)</sup>、中川 彰子<sup>2)</sup>、  
小町 麻由美<sup>2)</sup>、磯野 真由<sup>4)</sup>、吉田 由香里<sup>4)</sup>、金井 達明<sup>4)</sup>、中野 隆史<sup>2)4)</sup>

1)群馬大学 先端科学研究指導者育成ユニット、2)群馬大学 院医 腫瘍放射線学、  
3)群馬大学 医学部医学科、4)群馬大学 重粒子線医学研究センター

**【目的】**放射線によるDNA二本鎖切断(DSB)は相同組換え(HR)と非同末端結合(NHEJ)により修復される。これまでに我々は、DNA二本鎖切断修復欠損細胞を用いてLET依存的な放射線感受性を調べ、炭素線における増感剤の主な標的候補はNHEJであることを提唱してきた。今回、ヒトがん細胞を用い、HR修復およびNHEJ修復阻害剤による炭素線増感効果を確かめることを目的とした。

**【方法】**各阻害剤の修復特異性を確認するため、がん抑制遺伝子*p53*欠損マウス胚線維芽細胞由来のHR修復関連*Rad54*欠損、NHEJ修復関連*LIG4*欠損および野生型の細胞を用いた。また、がん細胞における炭素線増感効果を確認するため、ヒト神経膠芽腫細胞A172(*p53*正常型)とU251MG(*p53*変異型)を用いた。異なる濃度(5-20 $\mu$ M)のHR修復関連*Rad51*阻害剤(B02)またはNHEJ修復関連DNA-PK阻害剤(NU7026)を培地に添加し、6時間後に群馬大学重粒子線照射装置にて6cm SOBP炭素線(290MeV/u, 50keV/ $\mu$ m)を照射した。放射線照射18時間後に培地を交換し、コロニー形成法で放射線感受性を調べた。対照実験としてX線照射装置(MBR-1520R-4)を用いてX線(150kV, 20mA)照射を行った。

**【結果】**B02およびNU7026の放射線増感効果は、それぞれ*Rad54*欠損細胞および*LIG4*欠損細胞で消失した。また、がん細胞において、各阻害剤は濃度依存的にX線のみならず、炭素線で有意に増感効果があった。B02と比べてNU7026の方が、細胞毒性は低く、放射線増感効果は高いことを明らかにした。さらに、二剤併用による放射線増感効果は

それぞれ単独による阻害剤の相加的な効果を示した。

**【総括】**ヒト神経膠芽腫細胞において、DSB修復を分子標的候補としてB02と比べてNU7026を用いることで、炭素線による殺細胞効果をさらに高めることができた。

## 03-2 Carbon-ion beam irradiation kills X-ray-resistant p53-null cancer cells by inducing mitotic catastrophe

○ナパパ アモウイチェト<sup>1)</sup>、尾池 貴洋<sup>1)2)</sup>、柴田 淳史<sup>3)</sup>、萩原 秀明<sup>2)</sup>、木村 由夏<sup>1)</sup>、磯野 真由<sup>4)</sup>、吉田 由加里<sup>4)</sup>、大野 達也<sup>4)</sup>、河野 隆志<sup>2)</sup>、中野 隆史<sup>1)</sup>

1)群馬大学大学院医学系研究科腫瘍放射線学、2)国立がん研究センター研究所ゲノム生物学研究分野、3)群馬大学先端科学研究指導者育成ユニット、4)群馬大学重粒子線医学研究センター

---

**Purpose** : To elucidate the mechanisms underlying the strong killing effect of carbon-ion beam irradiation on cancer cells with TP53 tumor suppressor gene deficiencies.

**Methods** : DNA damage responses after carbon-ion beam or X-ray irradiation in isogenic HCT116 cancer cell lines with and without TP53 (p53+/+ and p53-/-, respectively) were analyzed as follows : cell survival by clonogenic assay, cell death modes by morphologic observation of DAPI-stained nuclei, DNA double-strand breaks (DSBs) by immunostaining of phosphorylated H2AX ( $\gamma$ H2AX), cell cycle by flow cytometry and other assays.

**Results** : The p53-/- cells were more resistant than the p53+/+ cells to X-ray irradiation, while the sensitivities of the p53+/+ and p53-/- cells to carbon-ion beam irradiation were comparable. X-ray and carbon-ion beam irradiations dominantly induced apoptosis of the p53+/+ cells but not the p53-/- cells. In the p53-/- cells, carbon-ion beam irradiation, but not X-ray irradiation, markedly induced mitotic catastrophe that was associated with premature mitotic entry with harboring long-retained DSBs at 24 h post-irradiation.

**Conclusions** : Efficient induction of mitotic catastrophe in apoptosis-resistant p53-deficient cells implies a strong cancer cell-killing effect of carbon-ion beam irradiation that is independent of the p53 status, suggesting its biological advantage over X-ray treatment.

## 03-3 粒子線照射後の軟骨肉腫細胞における LET 依存性バイスタンダー効果の解析

○若月 優、軽部 雅崇、伊川 裕明、鎌田 正

放射線医学総合研究所 重粒子医科学センター病院

**【目的】**軟骨肉腫細胞は放射線抵抗性の腫瘍として従来から知られており、近年は陽子線治療、炭素線治療にて、良好な成績が報告されている。我々は異なる線種(X線・陽子・炭素イオン・鉄イオン)およびLETの異なる炭素イオンによる照射を軟骨肉腫細胞に行いそのバイスタンダー効果を解析した。

**【方法】**異なる線種・LET(X線・陽子(1 GeV/amu; LET of 0.2 keV/mm)・炭素イオン(290 MeV/amu; LET of 15 keV/mm)・鉄イオン(1 GeV/amu; LET of 151 keV/mm))により照射された軟骨肉腫細胞(HTB94)と非照射のヒト線維芽細胞(AG0157)を共培養し、ヒト線維芽細胞のDNAダメージをmicronucleus assayにより計測し、線種による誘導されるバイスタンダー刺激の相違を解析した。さらに炭素イオン線(290 MV/amu)において3種類のLET(15、30、70 KeV/ $\mu$ l)を照射された軟骨肉腫細胞と非照射のヒト線維芽細胞を共培養し、同様にDNA損傷を調べ、同一線種の異なるLETにおけるバイスタンダー刺激の相違を解析した。いずれも非照射軟骨肉腫細胞と共培養した非照射ヒト線維芽細胞におけるDNA損傷の頻度をコントロールとした。

**【結果】**異なる線種・LET(X線・陽子・炭素イオン・鉄イオン)により照射された軟骨肉腫細胞から産生・放出されるバイスタンダー刺激によるDNA損傷の頻度を調べると、LETの高い炭素イオン・鉄イオンによる反応はコントロールと比較して1.8-2倍と増加したのに対して、LETの低いX線・陽子線照射による反応は約1.5倍と、高LET線種による反応と比較して小さい傾向にあった。一方、

LETの異なる炭素イオン線(15、30、70 KeV/ $\mu$ l)を照射された軟骨肉腫細胞から産生・放出されるバイスタンダー刺激によるDNA損傷の頻度はコントロールと比較していずれのLETでも1.7-2倍でLETにより有意な差を認めなかった。

**【結論】**軟骨肉腫細胞が異なる線種・LETによる照射されたことにより誘導されるバイスタンダー刺激は高LETの線種ほど高いDNA損傷を導く可能性が示唆された。一方、同一線種(炭素イオン)で異なるLETで照射されたことによるバイスタンダー刺激には差がないことが示唆された。このことから軟骨肉腫細胞によるバイスタンダー刺激は線種依存性の相違は存在するが、同一線種(炭素イオン)ではLET依存性の相違は無い可能性が示唆された。

## 03-4 重粒子線の転移抑制効果

○松本 孔貴<sup>1)</sup>、鵜澤 玲子<sup>2)</sup>、平山 亮一<sup>2)</sup>、山下 慶<sup>2)</sup>、李 恵子<sup>2)</sup>、金子 由美子<sup>2)</sup>、安藤 興一<sup>3)</sup>、増永 慎一郎<sup>4)</sup>、古澤 佳也<sup>2)</sup>、櫻井 英幸<sup>1)</sup>

1) 筑波大学 陽子線医学利用研究センター、2) 放射線医学総合研究所 重粒子医科学センター、3) 群馬大学 重粒子線医学研究センター、4) 京都大学原子炉実験所 粒子線腫瘍学研究センター

**【背景・目的】** 放医研における炭素線治療は6,000件を越え、その中で悪性黒色腫や骨肉腫のように遠隔転移により優れた局所制御に見合った生存率が得られない症例がある。炭素線治療の向上に転移の制御は必須であり、転移に対する放射線の効果を基礎的に明らかにする必要がある。本研究では、高転移能を有するがん細胞に対する放射線効果を細胞、動物実験の両面で評価し、炭素線と光子線の影響を比較し、さらにその分子メカニズムについて調べる事を目的とした。

**【結果】** 細胞実験において、X線に比べて炭素線(LET ≒ 13,50,75 keV/um)で優れた細胞致死効果が得られ、RBEは1.3～2.5であった。一方、癌細胞の転移能に密接に関与することが知られる遊走能及び浸潤能に対する抑制効果を調べた結果、RBEはそれぞれ2.2～10.9及び5.4～21.7の値を示し、細胞致死で比較した場合に比べより炭素線の効果が顕著に見られた。動物実験では、マウスの下肢に移植した局所腫瘍に炭素線(6cm SOBPの中心部分)とγ線を照射し、照射後の転移評価の基準として肺転移数を計数した(自然肺転移実験モデル)。その結果、線量依存的に肺転移が抑制され、その効果は炭素線の方が顕著だった。また、in vivo-in vitro assay法を用いて腫瘍内細胞の生存率を算出し、炭素線及びγ線で同じ腫瘍内細胞致死効果を引き起こす生物学的等効果線量を求めた。その結果、等効果線量で各放射線照射後の肺転移数変化を再評価した場合も、炭素線がより顕著に肺転移を抑制した。悪性黒色腫の転移能は細胞間接着能の変化が密接に関与する事から、接着能に関わる因子としてE-cad-

herin (E-cad)、N-cadherin (N-cad)、Mel-CAM及びL1-CAMの照射後の発現変化を調べた。その結果、E-cadはX線0.5Gyで非照射より有意に抑制され、線量の増加に伴い発現が増加した。一方、炭素線では低線量での抑制は見られず、線量及びLET依存的に発現が上昇した。また、Mel-CAMとL1-CAMはE-cadと逆の反応を示し、X線では、0.5Gyで一過性に亢進しその後は線量依存的に抑制されたが、炭素線では線量・線質依存的に発現が抑制された。

**【結論】** 以上の結果から、炭素線の抗転移効果は、腫瘍内細胞を死滅することだけに依存せず、生き残った細胞の転移能に対する抑制効果にも起因する可能性が示された。また、炭素線などの高LET放射線はγ線やX線などの光子線に比べ有意に転移を抑制する可能性が示唆された。さらに、そのメカニズムとして、炭素線照射後は細胞間の接着能が高まり細胞が凝集することで転移しにくい状態に移行している可能性が示唆された。

## 03-5 重粒子線照射によるSLD回復と再酸素化

○平山 亮一<sup>1)</sup>、鷗澤 玲子<sup>1)</sup>、松本 孔貴<sup>2)</sup>、小原 麻希<sup>1)</sup>、白井 敏之<sup>1)</sup>、古澤 佳也<sup>3)</sup>

1)放射線医学総合研究所 重粒子医科学センター 次世代重粒子治療研究プログラム、

2)筑波大学 医学医療系 臨床医学域 放射線腫瘍科、

3)放射線医学総合研究所 研究基盤センター 研究基盤技術部

**【はじめに】**重粒子線の特徴として、X線や $\gamma$ 線などの光子放射線に比べ、低酸素細胞に対しても効果的な生物効果を生じさせること、さらに分割照射による細胞生存率の回復阻害などが知られている。しかし、重粒子線と言ってもLET値が低いと、光子放射線とさほどかわらない生物効果を示すため、LET依存的な生物効果の調査が重要である。本研究では様々な重粒子線核種を用いて、LET領域を大きく変化させながら、移植腫瘍の細胞生存率を調べた。また、照射時に低酸素状態を作り、その状態でも移植腫瘍を照射し、細胞生存率を求めた。さらに、24時間間隔で同等の線量を2回に分けて照射を行い、亜致死損傷(SLD)回復の程度も検討した。

**【材料と方法】**マウス扁平上皮がんであるSCCVII細胞をC3H/Heマウス雄の右足に移植し(100万細胞)、移植後5日目にX線(200kV、20mA、0.5mm Al+0.5mmCuフィルター)ならびに放医研HIMACから供給される重粒子線(C、NeならびにSi線)を照射した。照射15分前に右足を輪ゴムで結紮させることで、腫瘍全体を低酸素状態にし、照射を行った。照射後、in vivo-in vitroコロニー形成法にて、SCCVII細胞の生存率を求めた。分割で照射する場合は、照射後に結紮を解除し、2回目の照射時に再度結紮を行い、照射時だけ低酸素状態を保った。

**【結果】**X線ならびにC線照射(15keV/ $\mu$ m)では結紮の有無にかかわらず分割照射による細胞生存率の上昇が確認された。しかし、Si線(58keV/ $\mu$ m)では分割照射による生存率上昇は確認できなかった。一方、Ne線(31keV/ $\mu$ m)では低酸素状態で照射したときにだけ、生存率の上昇が観察された。

**【結語】**LET値が58keV/ $\mu$ mの重粒子線では、24時間以内の亜致死損傷回復がほとんど観察できないことがわかった。しかしながら、これよりも低いLET値であれば亜致死損傷回復が観察できることがわかった。Ne線照射で、結紮しなかった腫瘍では分割照射による生存率の上昇が見られなかった。この理由は、腫瘍細胞の亜致死損傷回復による放射線抵抗性増加と腫瘍内に含まれる低酸素細胞の再酸素化による放射線感受性増加が競合し、分割照射による生存率上昇が観察されなかったと考えている。

## セッション4：一般演題②

### DNA 損傷、他

7月12日(土) 14:30～15:10

座長

松本 英樹

(福井大学)

## 04-1 X線照射によって細胞膜上の発現が誘導されるタンパク質の同定と解析

○吉田 舞子<sup>1)2)3)</sup>、橋本 敬一郎<sup>3)</sup>、関戸 好孝<sup>2)</sup>、古平 毅<sup>1)</sup>、黒澤 良和<sup>3)</sup>

1) 愛知県がんセンター 中央病院、2) 愛知県がんセンター 研究所、

3) 藤田保健衛生大学 総合医科学研究所

細胞はストレスに対して様々な応答機構を有する。例えば X 線被曝は DNA 二本鎖切断を起こすが、細胞は細胞周期を止め修復機構が働き、修復できないと細胞死(アポトーシス)へつながる。この過程に関わる既知のタンパク質の多くは核内因子であるが、ナチュラルキラー細胞のセンサー NKG2D に対するリガンドの発現が DNA 損傷により増加するという報告が示すように、細胞膜上の変化が注目される。細胞膜タンパク質は細胞間相互作用などの情報伝達の要で生命現象を理解するために非常に重要であり、DNA 損傷に対するストレス応答として発現量を変化させる細胞膜タンパク質は生命現象において深い意義を持つと期待される。一方研究面からみると、細胞膜タンパク質は分子の中に親水性部分と疎水性部分を含むために生化学的な取り扱いが難しく、その活性を保ったまま網羅的に解析する方法が未開発で解明が遅れている。本研究では、細胞膜上に存在する様々なタンパク質に対して網羅的に抗体を単離する方法を利用し、X 線照射により新しく発現誘導されるタンパク質を抗体を用いて同定することを目標に研究を進めた。巨大なバリエーションを持つファージ抗体ライブラリーを利用した細胞膜タンパク質に対する網羅的抗体単離法(ICOS法)は、そのままでは目的とするタンパク質に対する抗体を選択的に単離できない。そこで本研究では、X 線照射前の細胞膜上のタンパク質に対する抗体集団を用いて目的ではないタンパク質集団をマスクして、DNA 損傷に伴って新たに発現誘導された細胞膜タンパク質を選択的に浮かび上がらせる方法(mask-aided ICOS法)を考案し、それに結合する抗体を

単離した。得られた数種類の抗体を用いて FACS を行い、X 線照射による発現誘導を確認したところ期待する性質を示すクローンが存在した。その抗体を用いて免疫沈降と MS/MS により抗原同定を行った結果、それが LY6D タンパク質であることが判明した。LY6D の発現誘導が、ATM-CHK2-p53 経路を用いた X 線照射後に起こる典型的な転写調節機構により支配されていることも明らかになった。LY6D 分子は以前から頭頸部癌で高発現して注目されており、更にその発現が抗癌剤への抵抗性増大と正の相関関係を示すことも報告されている。頭頸部癌の多くは非常に X 線感受性が高く一方で LY6D 発現が見られること及び LY6D 発現との抗癌剤の抵抗性が相関すること、これらは LY6D を標的とする抗体治療と組み合わせた新しい治療法の開発が可能であることを示唆している。用いた抗体ライブラリーはヒト抗体であり、すでに治療薬の候補を入手したことになる。頭頸部癌は放射線治療により根治も目指せる疾患であるが一部は放射線抵抗性を示す。今回 X 線照射によって細胞膜上に LY6D の発現が増加し、その発現が ATM-CHK2-p53 経路に支配されていることを解明したことで、今後の頭頸部癌治療の更なる一助となると考えられる。

## 04-2 全長トリ XRCC4 遺伝子の同定と解析

○谷田部 成一郎<sup>1)</sup>、松本 義久<sup>2)</sup>

1)東京工業大学大学院 理工学研究科 原子核工学専攻、2)東京工業大学 原子炉工学研究所

**【背景・目的】**放射線によって生じるさまざまな DNA 損傷の中で、DNA 二重鎖切断 (DSB) は最も重篤であり、がん化や遺伝的影響に大きく寄与していると考えられている。DSB は、主に2つの機構、相同組換え (HR)、非相同末端結合 (NHEJ) によって修復される。NHEJ において中心的に働くタンパク質には、Ku70/Ku86、DNA-PKcs、XRCC4、DNA ligase IV、XLF がある。XRCC4 は DNA の結合を行う DNA ligase IV と複合体を形成し、DNA 損傷末端の再結合を調節する役割を担っていると考えられている。また、我々は XRCC4 が DNA-PKcs によってリン酸化調節を受けることを報告してきた。ヒト XRCC4 は 336 アミノ酸からなり、多くの脊椎動物の XRCC4 は同程度の大きさであるが、トリ XRCC4 としては 211 アミノ酸からなるタンパク質がデータベースに搭載されていた。この 211 アミノ酸は XRCC4 の N 末端の Globular head domain、二量体形成領域、DNA ligase IV 結合領域を含むが、核移行シグナルや DNA-PK によるリン酸化部位を含む C 末端領域が欠けている。そこで、全長トリ XRCC4 を同定し、その機能解析を行うことを目的とした。

**【方法】**キンカチョウ XRCC4 の配列を参考に開始コドン、停止コドンを含むプライマーを設計し、トリ B リンパ球 DT40 cDNA 画分を用いて PCR を行った。約 1kb の断片を pCMV10 ベクターに挿入し、クローニングした。これを DT40 由来 XRCC4 破壊株 (DT40 XRCC4<sup>-</sup>、榎本武美先生、関政幸先生、阿部拓也先生よりご供与頂いた) に導入し、安定発現株を樹立した。放射線照射は本学のコバルト 60 線源を用いて行った。

**【結果】**上記で得られた cDNA を塩基配列解析した結果、ヒト XRCC4 と全体にわたって相同性を示し、334 アミノ酸からなることが分かった。また、DT40 XRCC4<sup>-</sup> は正常 DT40 細胞に比べて放射線高感受性であったが、XRCC4 cDNA 導入細胞は正常 DT40 細胞とほぼ同等の放射線感受性を示した。さらに、界面活性化剤 Nonidet P-40 を用いた抽出法によって XRCC4 のクロマチン結合を検討した結果、放射線照射後に線量に依存して増加が見られた。また、リン酸化と考えられる移動度の変化が認められた。

**【考察・展望】**今回の結果から、XRCC4 の C 末端領域の重要性、放射線照射後の XRCC4 のリン酸化が脊椎動物に普遍的であることが明らかになった。トリ DT40 から樹立された多くの遺伝子欠損細胞で XRCC4 のクロマチン結合や翻訳後修飾の状態を解析することで、NHEJ による DSB 修復の制御に関して重要な知見が得られることが期待される。そのため、今回得られた情報を元に、抗体作製を試みている。

## 04-3 DNA 二重鎖切断修復における XRCC4のリン酸化による制御

○松本 義久<sup>1)</sup>、Sharma Mukesh Kumar<sup>1)2)</sup>、今道 祥二<sup>1)3)</sup>

1)東京工業大学 原子炉工学研究所、2)R.L.S. Govt. (P.G.) College, India、

3)現・国立がん研究センター研究所

DNA 二重鎖切断 (DSB) は放射線によって生じるさまざまな DNA 損傷の中で最も重篤であり、放射線の多くの生物作用に最も密接に関わると考えられている。真核生物における主な DSB 修復機構として、相同組換えと非相同末端結合 (NHEJ) がある。NHEJ においては、Ku70、Ku86、DNA-PKcs、XRCC4、DNA ligase IV、XLF が中心的な役割を担う。DNA-PKcs は、Ku70、Ku86 を介して DSB に結合することによって活性化するタンパク質リン酸化酵素である。DNA-PKcs は 4127 アミノ酸からなる巨大タンパク質で、リン酸化酵素触媒領域はその C 末端の 300 アミノ酸程度を占めるに過ぎない。しかしながら、活性中心に変異を加えると DNA-PKcs の NHEJ 機能が失われることから、NHEJ において DNA-PKcs のタンパク質リン酸化機能が必要であると考えられる。ところが、DNA-PKcs が、どのタンパク質の、どの部位を、何のためにリン酸化するかは長年の研究にも関わらず明らかになっていない。

我々は、DNA-PKcs のリン酸化標的として XRCC4 に注目した。2000年に、放射線照射された細胞内で XRCC4 が DNA-PKcs によってリン酸化されることを示し、その後、2つのグループがリン酸化部位として Ser260 と Ser320 (alternative splicing により Ser318 と表記することもある) を同定した。しかしながら、これらの部位に変異を導入しても XRCC4 の機能への影響は認められていない。我々はこれらの他に 4ヶ所のリン酸化部位を同定し、それぞれの部位の変異体発現細胞、リン酸化状態特異的抗体を作製した。その結果、4カ所のうち3カ

所において、放射線照射や薬剤 (Zeocin) 処理によりリン酸化が亢進することが明らかになった。また、DNA-PKcs の阻害剤 (NU7441)、欠損細胞 (M059J) を用いた実験により、リン酸化に DNA-PKcs が関わることを示された。しかしながら、DNA-PKcs 阻害下あるいは非存在下でもリン酸化が見られる部位があり、DNA-PKcs に構造上類似する ATM の関与が考えられた。また、これらの3カ所の変異体発現細胞は正常細胞に比べて放射線高感受性であり、 $\gamma$ -H2AX 蛍光免疫染色法、 comet 電気泳動法により、DSB 修復の遅れが観察された。以上のことから、XRCC4 のリン酸化による制御は NHEJ において重要な役割を担うと考えられた。リン酸化における DNA-PKcs と ATM の役割の違い、リン酸化部位ごとの意義の違いについては今後の更なる研究が必要である。

## O4-4 XRCC4リジン-アルギニン置換体の作製と解析

○福地 命、Sharma Mukesh Kumar、Wanotayan Rujira、松本 義久  
東京工業大学 原子炉工学研究所

放射線によって生じるさまざまな DNA 損傷の中で、DNA 二重鎖切断 (DSB) は最も重篤なものであり、その生物作用に最も密接に関わると考えられている。真核生物において、DSB の修復は主に相同組換え (Homologous recombination, HR)、または、非同末端結合 (Non-homologous end joining, NHEJ) によって行われる。HR が S 期後半から G2 期に限定されるのに対し、NHEJ は G0 期、G1 期および S 期の前半でも機能する。ヒトはじめ哺乳類細胞では、大部分の細胞が G0 期あるいは G1 期にあることから、NHEJ の重要性が高いと考えられる。NHEJ においては、Ku70、Ku86、DNA-PKcs、XRCC4、DNA ligase IV、XLF が中心的な役割を担うと考えられている。この中で、DNA ligase IV は DSB を最終的に切れた DNA を結合する酵素であり、XRCC4 は DNA ligase IV の機能を調節すると考えられている。

本研究は XRCC4 と DNA ligase IV の新たな調節機構を見出すことを目的として行った。まず、アセチル化、SUMO 化、ユビキチン化修飾部位となりうるリジンに着目し、ヒト XRCC4 とトリ XRCC4 の間で保存されているリジンをアルギニンに置換した変異体 cDNA のシリーズ 16 種を作製した。これらの変異体 XRCC4 cDNA を XRCC4 遺伝子を欠損するマウス細胞 M10 に導入し、安定発現株を樹立した。コロニー形成法によって  $\gamma$  線照射後の細胞生存率を測定した結果、正常 XRCC4 (XRCC4-WT) を発現させた場合に比べて、著しい放射線感受性を示すものを 2 つ見出した (以下、XRCC4-KR#8, XRCC4-KR#13 と記す)。

蛍光顕微鏡観察の結果、XRCC4-KR#13 は核ではなく、細胞質への局在が認められた。このことから、XRCC4-KR#13 の DSB 修復機能低下は、核移行が正常に行われなかったためであると考えられた。一方、XRCC4-KR#8 は、免疫沈降法を行った結果、DNA Ligase IV との相互作用が失われていることが分かった。さらに、 $\gamma$ H2AX に対する抗体を用いた免疫蛍光染色、 comet 電気泳動法による検討の結果、XRCC4-KR#8 は XRCC4-WT に比べて DNA 二重鎖切断修復能力が低下していることが分かった。

以上、本研究で得られた成果は、NHEJ による DNA 二重鎖切断修復の分子機構、特に DNA ligase IV と XRCC4 の相互作用のメカニズムに新たな知見を与えるとともに、新規放射線増感剤の分子設計の手がかりとなることも期待される。



# セッション5：一般演題③

## 放射線感受性、他

7月12日(土) 15:10～15:50

座長

細井 義夫

(東北大学大学院)

## 05-1 低栄養が放射線感受性に及ぼす影響

○村田 泰彦、上原 芳彦、細井 義夫

東北大学 医学部

**【目的】** 癌の放射線治療において放射線抵抗性細胞の存在は重要である。正常組織に比べ低酸素状態にある癌組織は、放射線抵抗性を示すことが報告されている。この時、低酸素状態の細胞は必ず低栄養状態を伴い、低栄養状態も放射線抵抗性の一因となっている可能性が考えられる。放射線照射後における低酸素／低栄養条件によって、細胞は放射線抵抗性を示すことが昔から知られているが、放射線照射前に低栄養状態に置くことが放射線感受性に及ぼす影響については不明な点が多い。また、哺乳類における免疫抑制剤／抗癌剤ラパマイシンの標的タンパク質 mTOR について、ラパマイシンによる放射線増感効果および DNA2 重鎖切断修復の抑制、mTOR 上流の AMPK の低栄養状態における放射線抵抗性の選択性などが報告されており、mTOR の系を阻害した場合に放射線抵抗性の癌細胞のみを選択的に増感できる可能性が考えられる。しかし、低栄養状態における mTOR と放射線感受性に関する報告はない。我々は癌幹細胞等の低栄養状態での放射線抵抗性を選択的に解除する分子標的の発見を目的とし、mTOR の解析を試みた。今回、2種類の細胞株の低栄養状態における mTOR の活性化および放射線感受性について検討したので報告する。

**【方法】** SV40 でトランスフォームされたヒト繊維芽細胞 LM217 およびヒト肝癌細胞 HepG2 を用いた。各細胞株を通常培地および低栄養培地で培養し、タンパク質発現および放射線感受性を解析した。タンパク質発現については、immunoblot により評価した。AMPK と mTOR の活性は 172 番目および 2448 番目のトレオニンのリン酸化によりそれぞれ

評価した。放射線感受性については、コロニーアッセイ法から得られた生存率により評価した。コロニーアッセイ法では放射線照射前に各細胞株を低栄養培地中で培養し、放射線照射後に通常培地中に一定数の細胞を播き、コロニー数から生存率を求めた。

**【結果】** 低栄養培地中の LM217 細胞において AMPK は活性化され、mTOR 活性は低下した。しかし、HepG2 細胞では LM217 細胞と同様に AMPK が活性化されたにもかかわらず、mTOR 活性の亢進が認められた。次に、コロニーアッセイ法を行ったところ、低栄養処理された LM217 細胞は通常培地処理に比べ放射線抵抗性となったが、HepG2 細胞は逆に放射線高感受性となった。

**【考察・結論】** 本研究により、LM217 細胞および HepG2 細胞は低栄養状態において、異なる mTOR 活性化状態を示すことが明らかとなった。また、放射線照射前における低栄養処理により、LM217 細胞は放射線抵抗性となったが、HepG2 細胞は放射線高感受性となった。低栄養状態の各細胞株における mTOR 活性化状態の違いが、両細胞株の放射線感受性の違いに関与している可能性が考えられる。

## 05-2 ミトコンドリア機能計測による癌治療の感受性および効果判定の可能性

○村山 千恵子<sup>1)</sup>、川口 章<sup>1)</sup>、上條 あけみ<sup>1)</sup>、金澤 奨勝<sup>2)</sup>、塚田 秀夫<sup>2)</sup>

1)東海大学 医学部、2)浜松ホトニクス 中央研究所

がんの治療戦略として、これまで、がん細胞が増殖するために必要なシグナル伝達物質や細胞構成成分の働きを阻害することに重点が置かれてきた。しかし近年、がん細胞におけるエネルギー産生の特徴を利用した新しいがん治療が注目を集めてきている。がん細胞が正常細胞とは異なる様式でエネルギーを産生していることは、50年以上前にすでに明らかにされている。正常細胞は血中のグルコースを取り入れ、ピルビン酸への解糖段階を経て、酸素存在下では、ミトコンドリアに取り込まれ TCA 回路、電子伝達系における酸化的リン酸化により効率的な ATP 産生が行われる。酸素非存在下では、産生されたピルビン酸はミトコンドリアへは入らず嫌氣的解糖系により乳酸に変換される。一方、がん細胞ではミトコンドリアでの酸化的リン酸化が低下し、酸素がある状態でも嫌氣的解糖系での ATP 産生が主体であり、この現象は Warburg 効果として知られている。

嫌氣的解糖系による ATP 産生は、ミトコンドリアと比べて極端に効率が悪いため、がん細胞ではグルコースの取り込みが極端に亢進している。さらに、がん遺伝子の活性化、がん抑制遺伝子の欠損・変異による特異な代謝経路が明らかになってきて、抗がん剤の標的としてがん細胞の代謝酵素に着目した新しいがん治療が続々と報告されている。

グルコースの取り込みが非常に高いがん細胞の特性を臨床に応用したのは、がん診断が先である。汎用されている [18F] FDG-PET は、がん細胞によるグルコースの取り込み亢進現象を利用したがん検出法である。すなわち、がん細胞の生存に必要な

量の ATP を効率の悪い嫌氣的解糖系で産生するためには、より多くのグルコースを取り込む必要があり、血中から細胞内へのグルコース輸送体の活性を増加させ、代謝酵素のヘキソキナーゼ活性が上昇するので [18F] FDG-PET の取り込みや代謝トラップが増加する。[18F] FDG-PET は、がん細胞の検出には有用性が認められているが炎症部位でも偽陽性を呈すること、さらにはがん治療効果の早期判定には不向きであるという難点がある。それらを克服する新規 PET 製剤として D-チロシン誘導体 D-[18F] FMT が開発された。しかしどちらの PET 製剤でも、がん治療効果は PET 製剤の取り込み量の減少すなわち陽性画像からの陰性画像への移行度で判定することになる。

一方、視点を変えて、もしミトコンドリア機能計測に適した PET 製剤が使用できれば、治療によるがん細胞に特徴的な代謝異常の解除、さらにミトコンドリア代謝系へのシフトを陰性画像から陽性画像への変化として描出することが可能となり検出感度は格段に上がる。我々は、電子伝達系の最初のパートを担うコンプレックス I (MC-I) をターゲットとした MC-1 活性用新規 PET 製剤として開発された [18F] BCPP-EF-PET を用いて放射線治療効果を判定し、早期治療効果予測における [18F] BCPP-EF-PET の有用性を確認した。

## 05-3 ヒト膵癌細胞における LPA 受容体を標的とした放射線増感効果の検討

○小町 麻由美<sup>1)</sup>、高橋 昭久<sup>2)</sup>、野田 真永<sup>1)</sup>、岡本 雅彦<sup>3)</sup>、村田 和俊<sup>4)</sup>、鈴木 義行<sup>1)</sup>、中野 隆史<sup>1)</sup>

1)群馬大学 大学院医学系研究科 腫瘍放射線学、2)群馬大学 先端科学者育成ユニット、3)群馬大学 重粒子線医学センター、4)群馬大学 附属病院 放射線科

**【目的】** 難治性癌の一つである膵癌は、外科的療法、放射線療法、化学療法の集学的治療をもっても5年生存率が8%と治療成績は良好とは言えない。再発の原因の一つとして、周囲臓器の耐容線量の問題から、腫瘍の局所制御に十分な線量を投与できないことが挙げられており、優れた放射線増感剤の開発が検討されてきた。今回、LPA 受容体を標的とした放射線増感効果について siRNA と LPA1,3受容体アンタゴニスト・Ki16425を用いて調べた。

**【方法】** ヒト膵癌細胞株 PANC-1、BxPC-3、MIAPaCa-2を用い、RT-qPCR 法で6種の LPA 受容体サブタイプ(LPA1-6)について mRNA 発現量を定量した。受容体 si-RNA をトランスフェクション24時間後に、細胞を播種し、12時間後に Faxitron RX-650を用いて X 線照射(100kVp, 1.14Gy/min)した。さらに、細胞播種8時間後に基剤コントロールまたは10 $\mu$ M Ki16425を培地中に添加し、4時間後に X 線照射を行い、コロニー形成法で放射線感受性を調べた。

**【結果】** LPA1-6mRNA の内、PANC-1および BxPC-3は LPA1 受容体、MIAPaCa-2は LPA3 受容体が優位に発現していた。LPA1 と LPA3 の siRNA ノックダウン処理によって、放射線高感受性になった。また、10% 生存率における Ki16425 の X 線増感効果比は、PANC-1 : 1.5、BxPC-3 : 2.3、MIAPaCa-2 : 1.2であった。

**【結論】** LPA 受容体からのシグナル伝達の阻害によって、ヒト膵癌細胞の X 線による殺細胞効果を高められる可能性が示唆された。

## O5-4 A novel selective inhibitor of PLK1, TAK-960, sensitizes therapeutic effect of radiation by inducing mitotic arrest

○井上 実<sup>1)</sup>、吉村 通央<sup>1)</sup>、小林 稔<sup>1)</sup>、板坂 聡<sup>1)</sup>、本田 弘平<sup>2)</sup>、平岡 真寛<sup>1)</sup>、原田 浩<sup>1)</sup>

1) 京都大学大学院 医学研究科 放射線腫瘍学・画像応用治療学、

2) 武田薬品工業 医薬研究本部 癌創薬ユニット

---

Cytotoxicity of ionizing radiation is known to depend on cell cycle phase ; therefore its pharmacological manipulation, especially inducing cell cycle arrest at the most radiosensitive mitotic-phase (M-phase), is aimed for effective radiation therapy. Polo-like kinase 1 (PLK1) is a serine/threonine kinase which functions in mitotic progression and has been recognized as a potential target for radiosensitization. Here, we investigated whether a novel small molecule inhibitor of PLK1, TAK-960, enhances cytotoxic effect of radiation by modulating cell cycle phase of cancer cells. In vitro clonogenic assay combined with time-lapse imaging and flow cytometric analyses of cell cycle phase demonstrated that TAK-960 treatment exhibited striking radiosensitizing effect especially when it increased the proportion of M-phase cells. Tumor growth delay assay combined with optical imaging of cell cycle phase in tumor xenografts also demonstrated that radiosensitizing effect of TAK-960 depended on the increase in M-phase cells. These results indicate that TAK-960 is a promising radiosensitizer, in considering the therapeutic time window for the resultant M-phase arrest as a timing of irradiation. Cytotoxicity of ionizing radiation is known to depend on cell cycle phase ; therefore its pharmacological manipulation, especially inducing cell cycle arrest at the most radiosensitive mitotic-phase (M-phase), is aimed for effective radiation therapy.

Polo-like kinase 1 (PLK1) is a serine/threonine kinase which functions in mitotic progression and has been recognized as a potential target for radiosensitization. Here, we investigated whether a novel small molecule inhibitor of PLK1, TAK-960, enhances cytotoxic effect of radiation by modulating cell cycle phase of cancer cells. In vitro clonogenic assay combined with time-lapse imaging and flow cytometric analyses of cell cycle phase demonstrated that TAK-960 treatment exhibited striking radiosensitizing effect especially when it increased the proportion of M-phase cells. Tumor growth delay assay combined with optical imaging of cell cycle phase in tumor xenografts also demonstrated that radiosensitizing effect of TAK-960 depended on the increase in M-phase cells. These results indicate that TAK-960 is a promising radiosensitizer, in considering the therapeutic time window for the resultant M-phase arrest as a timing of irradiation.



# セッション6：一般演題④

## その他

7月12日(土) 15:50～16:40

座長

柏倉 幾郎

(弘前大学大学院)

## O6-1 ヒト肺がん細胞のウイルス核酸認識受容体の応答性に及ぼす放射線の影響

○吉野 浩教、柏倉 幾郎

弘前大学大学院 保健学研究科 放射線生命科学分野

**【背景】** 自然免疫担当細胞は、病原体に高度に保存された病原菌関連分子を認識するパターン認識受容体を発現し、その受容体を介して病原体に応答する。我々はこれまでにパターン認識受容体の一つである Toll 様受容体に着目し、放射線がヒト単球系細胞 THP1 の Toll 様受容体 2 および 4 に及ぼす影響は細胞の分化に依存し、THP1 由来マクロファージでは X 線曝露後に Toll 様受容体 4 の発現が低下するとともにリポ多糖誘導性インターフェロン  $\beta$  の発現が低下することを明らかにした (Yoshino et al., J. Radiat. Res., in press)。一方で、X 線曝露 THP1 由来マクロファージは、細胞質のウイルス核酸認識受容体である retinoic acid-inducible gene-I (RIG-I) と melanoma differentiation-associated gene-5 (MDA5) の発現およびアゴニストである poly (I : C) /LyoVec 誘導性インターフェロン  $\beta$  の発現を維持していることを報告した (日本放射線影響学会第 56 回大会、発表番号 P-42)。以上の結果は、RIG-I と MDA5 のウイルスセンサーは放射線曝露マクロファージでも機能することを示唆しており、がん放射線治療においてもウイルス核酸認識受容体を標的とした免疫活性化および抗腫瘍作用の可能性が期待できるものの、がん細胞における RIG-I と MDA5 のアゴニストへの応答性およびその応答性に及ぼす放射線の影響については不明な点が多い。そこで、本研究では、ヒト肺がん細胞の細胞増殖および細胞死に及ぼす poly (I : C) /LyoVec の影響を解析するとともに、その応答性に及ぼす放射線の影響を検討した。

**【方法】** 本研究ではヒト肺がん細胞 A549 を使用し

た。A549 を poly (I : C) /LyoVec (InvivoGen) 存在下で 3 日間液体培養した後、トリパンブルー色素排除法により生細胞数を計数し、細胞死解析を行った。細胞死は FITC 標識 Annexin V およびヨウ化プロピジウム (PI) 染色により評価した。放射線との併用実験では、poly (I : C) /LyoVec 添加 1 時間後に X 線照射を行い、上記同様、生細胞数の計数および細胞死解析を行った。

**【結果】** poly (I : C) /LyoVec (125 - 1000 ng/ml) 存在下で A549 を培養したところ、poly (I : C) /LyoVec 非存在下と比べて細胞数が低下し、その効果は濃度依存的であった。細胞死解析を行ったところ、poly (I : C) /LyoVec 刺激により Annexin V 陽性の細胞死集団が顕著に増加した。X 線と poly (I : C) /LyoVec を併用した場合、各単独と比べて細胞数は低下し、また細胞死集団が増加する傾向が観察された。以上の結果より、RIG-I および MDA5 のアゴニストはヒト肺がん細胞に対して抗がん作用を示し、その効果は X 線と協働的に作用することが示唆された。

## O6-2 クロマチンリモデリング因子 BRG1 発現陰性がんに対する合成致死治療戦略

○尾池 貴洋<sup>1)2)</sup>、荻原 秀明<sup>2)</sup>、富永 裕一<sup>3)</sup>、伊藤 健太郎<sup>3)</sup>、葛 幸治<sup>4)</sup>、  
水上 達治<sup>1)2)</sup>、古田 耕<sup>4)</sup>、渡辺 俊一<sup>5)</sup>、中野 隆史<sup>1)</sup>、河野 隆史<sup>2)</sup>

1) 群馬大学大学院医学系研究科腫瘍放射線学、2) 国立がん研究センター研究所ゲノム生物学研究分野、  
3) 第一三共株式会社研究開発本部癌研究所、4) 国立がん研究センター中央病院病理科・臨床検査科、  
5) 国立がん研究センター中央病院呼吸器外科

近年、ゲノム網羅的遺伝子変異解析により、クロマチンリモデリング複合体 SWI/SNF の構成遺伝子の不活性化型変異が多彩ながん種において高頻度に同定され、注目を集めている。我々は合成致死の概念に基づき、SWI/SNF 複合体の触媒 (ATPase) サブユニット BRG1/SMARCA4 発現陰性がん細胞の特異的増殖抑制方法を探索した。

免疫組織化学染色の結果、非小細胞性肺癌手術検体103例のうち16例 (15.5%) が BRG1 発現陰性であり、その全例で EGFR、KRAS、ALK などの既知ドライバー変異も陰性であった。BRG1 発現陰性がん細胞株は BRG1 発現陽性がん細胞株と比較して、in vitro、in vivo とともに BRM 発現抑制による増殖抑制効果が有意に高かった。この増殖抑制効果は野生型 BRG1 の導入により救済され、ATPase 欠損変異型 BRG1 の導入には影響を受けないことから、BRG1 と BRM の合成致死性が強く示唆された。

本研究結果の発表 (Oike et al. Cancer Res 2013) 後、これを支持する内容の論文発表が相次いだ (Hoffman et al. Proc Nat Acad Sci USA 2014, Wilson et al. Mol Cel Biol 2014)。今後、BRG1 発現陰性がん症例に対する BRM-ATPase 阻害薬の開発と臨床応用が期待される。

## O6-3 低酸素細胞領域における アポトーシス可視化システムの構築

○鍵谷 豪<sup>1)</sup>、小川 良平<sup>2)</sup>、畑下 昌範<sup>3)</sup>、田中 良和<sup>3)</sup>、山下 慶<sup>4)</sup>、中村 美月<sup>4)</sup>、  
福田 茂一<sup>4)</sup>、松本 英樹<sup>5)</sup>

1) 北里大学 医療衛生学部、2) 富山大学大学院 放射線基礎医学講座、

3) 若狭湾エネルギー研究センター 生物資源グループ、

4) 放射線医学総合研究所 重粒子医科学センター、5) 福井大学 高エネルギー医学研究センター

【はじめに】がん幹細胞とは、正常組織中に存在する幹細胞同様に腫瘍内で自己複製能と多分化能を併せもつ未分化な腫瘍細胞である。この細胞は、幹細胞用形質を保つため低酸素誘導因子 HIF を介し、Oct4, Nanog 等の幹細胞マーカーや Notch シグナルを活性化する。放射線や抗癌剤は DNA を標的とするが、この細胞は低酸素環境である幹細胞ニッチに存在することと、その低い細胞分裂頻度のため、これら治療に対し抵抗性を示し、がん再発の原因として問題視されている。つまり、HIF 活性化領域でのアポトーシスを可視化するシステムは、がん幹細胞を標的とした薬剤を生体レベルで非侵襲的に探索することを可能にし、上記課題解決へ向けた強力なスクリーニングシステムであるとも考えられる。プロテインプライミングとは、ポリペプチドのインテインが取り除かれエクステインが連結する反応過程である。小澤らは、この機構を応用しルシフェラーゼ (Luc) の両末端間にカスパーゼ3 (Casp3) の認識配列を挿入し環状型 Luc を構築した。立体構造変化により環状型 Luc の発光値は低いが、Casp3によりその認識配列が切断させることで活性の高い Luc が再構成され、生体腫瘍内のアポトーシス可視化に成功した<sup>1)</sup>。我々は、HIF 応答型プロモータを用い環状型 Luc 発現を制御することで HIF 活性化領域内のアポトーシスを可視化できると考え、このシステム構築を目的とした。

【材料・方法】低酸素環境下で細胞を培養後、抗癌剤を添加しアポトーシスを誘発した。Luc 相対発光量の測定には Dual-Luc 法を用いた。可視化には、ルミノイメージアナライザーを用いた。

【結果・考察】HIF 応答型アポトーシス可視化ベクター開発のため、環状型 Luc 上流のプロモータ領域内の HRE 数を 4, 6, 12 と変化させ、低酸素環境下アポトーシス誘発により最も高い発光量を有するプロモータ内 HRE 数の探索を行った。その結果、6つ HRE を有するプロモータが、低酸素下抗癌剤添加群で最も高い発光量を示し、環状型 Luc 遺伝子を制御する配列とし最適であると考えられた。また、発光量は酸素濃度依存的に変化した。しかし、実験に用いた COS-7 細胞は非腫瘍原性のため、*in vivo* 実験への進展は望めない。腫瘍原性を有す Chang 細胞は、COS-7 同様、低酸素下抗癌剤添加群で最も高い発光量を示したが、その値は低く可視化は難しいと考えられた。このため、プロモータ内の TATA box を CMV プロモーターコア配列に置換することで、発光量は増大しアポトーシス細胞の *in vitro* イメージングに成功した。今後、担癌マウスを作製し生体腫瘍低酸素領域のアポトーシス可視化を試みる予定である。

### 【参考文献】

- 1) T. Ozawa *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed* 2007, 46, 7595-99

## O6-4 分化型甲状腺癌患者の<sup>131</sup>I内用療法が末梢血液に与える cytotoxic response の解析

○門前 暁<sup>1)</sup>、真里谷 靖<sup>1)</sup>、千葉 満<sup>1)</sup>、高井 良尋<sup>2)</sup>

1) 弘前大学 大学院保健学研究科 医療生命科学領域、2) 弘前大学 大学院医学研究科 放射線医学講座

分化型甲状腺癌は、生命予後は比較的良好である一方で遠隔転移、局所領域再発もしばしば認められ<sup>1)</sup>、この場合<sup>131</sup>I内用療法が有効な治療選択肢とされてきた。<sup>131</sup>Iは、甲状腺への集積過程において全身を循環することで正常組織を放射線に曝露させることとなり、その副作用が問題となるはずだが、その詳細については未だ明確ではない。我々は、これまでに造血システムが分化系特異的な放射線感受性をもつこと、また分化が線質特異的に制御されることを *in vitro* にて示してきた<sup>2)</sup>。このことから、生体内末梢血は<sup>131</sup>I内用療法によって多様な影響を及ぼす可能性が推測された。本研究では分化型甲状腺癌患者の<sup>131</sup>I内服治療が末梢血液に与える cytotoxic response を明らかにすることを目的とした。

本研究は弘前大学大学院医学研究科倫理委員会の承認のもと、本学附属病院にて2012年12月から2014年5月までに承諾の得られた17名(56 ± 11歳)の<sup>131</sup>I内用療法予定とする分化型甲状腺癌患者を対象とした。<sup>131</sup>I内用前には、甲状腺ホルモン補充療法の休止及びヨード制限を2週間実施した。対象患者の末梢血は、37-56 GBqの<sup>131</sup>I内用直前及び4週後に採取された。採取された血液は、甲状腺関連マーカー分析、血球分画分析、及び微小核形成分析を実施し、全て分析ができた15検体を評価対象とした。

甲状腺補充療法休止とその解除によって、<sup>131</sup>I内用前に上昇していたTSH、Tgの有意な低下、及び低下していたFT3、FT4の有意な上昇が、内用4週後の全ての患者において確認された。血球分画分析において、白血球系及び赤血球系の主用血球は内用

4週後全て有意に減少した。CD45<sup>+</sup>血液細胞を対象とした微小核形成分析において、内用4週後有意にその微小核形成率は有意に上昇した。更にそれら変動には個体差が確認された。

以上の結果から、分化型甲状腺癌治療患者における37-56 GBqの<sup>131</sup>I内用療法は、主要分画血球に影響を及ぼす他、正常血球細胞に核損傷をもたらすことが確認された。このことから甲状腺関連ホルモンの変動を含め、長期的なフォローアップによって影響を注視していく必要性が示唆された。

### 【参考文献】

- 1) Sabra MM *et al.*, *Thyroid*. Epub ahead of print, 2014.
- 2) Monzen Set *al.*, *PLoS One*. 8(3): e59385, 2013.

## 06-5 末梢血リンパ球を用いた前立腺癌放射線治療後の直腸出血の予測

○染谷 正則、堀 正和、中田 健生、高田 優、坂田 耕一

札幌医科大学医学部 放射線医学講座

**【対象・方法】**2007～2010年にかけて当院で前立腺癌に対しIMRTを行った患者93例のうち、2年以上のフォローアップがなされ、文書にて同意取得した69例から血液を採取し、リンパ球を分離した。リンパ球は非照射およびEx vivoでX線4Gy照射4時間後にmRNAおよびmiRNAを分離した。CTC-AE4.0に従って、直腸出血をGrade1以下51例とGrade2以上18例の2群に分けた。mRNAについては全例で非照射のDNA-PKcs, Ku70, Ku86, GAPDHの発現を調べた。miRNAについては、まず無作為に選んだGrade1以下の4例とGrade2以上の4例からmicroarrayによる発現解析を行い、有意差があった候補miRNAを3つ選び、非照射および照射後のmiRNA発現を全例で測定した。

**【結果】**直腸線量と直腸出血の間に有意な相関は見られなかった。単変量解析で、非照射のKu86発現、照射前後のある1つのmiRNA(以下miR-Aとする)発現の変化、の2つが直腸出血の発現に関連してborderline significance(それぞれ $p=0.085$ ,  $p=0.076$ )を認めた。最小p値法を用いて、cut off値を算出し2群に分けた。その結果、非照射でのKu86発現が低く、なおかつ照射でmiR-Aが照射によって上昇する群において、有意に直腸出血の発生が高い事が分かった(5-year freedom from grade 2 rectal bleeding 47.3% vs 92.3%,  $p < 0.001$ )。多変量解析でも年齢、糖尿病、高血圧、内分泌療法、抗凝固療法、直腸線量は有意な因子とならず、Ku86およびmiR-A発現のみが有意に直腸出血に関係した因子であった。

**【結論】**末梢リンパ球のRNA発現を調べる事で、

直腸出血を起こしやすい患者群を予測できる可能性を示す事ができた。

## 謝 辞

日本放射線腫瘍学会 第43回放射線による制癌シンポジウム・第52回生物部会学術大会の開催に当たり、下記団体・企業の皆様よりご協力をいただきました。ここに深く御礼申し上げます。

日本放射線腫瘍学会  
第43回 放射線による制癌シンポジウム  
第52回 生物部会学術大会  
世話人・大会長 長谷川 正俊  
奈良県立医科大学 放射線腫瘍医学講座

アステラス製薬株式会社  
エーザイ株式会社  
MSD株式会社  
エレクタ株式会社  
小野薬品工業株式会社  
化研生薬株式会社  
株式会社たけびし  
株式会社バリアン メディカル システムズ  
株式会社日立製作所  
協和発酵キリン株式会社  
シーメンス・ジャパン株式会社  
第一三共株式会社  
大鵬薬品工業株式会社  
中外製薬株式会社  
東芝メディカルシステムズ株式会社  
東洋メディック株式会社  
日本化薬株式会社  
日本メジフィジックス株式会社  
ブレインラボ株式会社

(五十音順)

社会医療法人 大雄会  
社会医療法人 高清会 高井病院  
奈良県医師会放射線部会

日本放射線腫瘍学会  
第43回 放射線による制癌シンポジウム  
第52回 生物部会学術大会  
生物部会50周年記念大会

---

世話人・大会長：長谷川 正俊

事務局：奈良県立医科大学 放射線腫瘍医学講座  
〒634-8522 奈良県橿原市四条町840  
TEL：0744-29-8908 FAX：0744-25-3434  
E-mail: narabio@naramed-u.ac.jp

出版： 株式会社セカンド  
学会サポート <http://www.secand.jp/>  
〒862-0950 熊本市中央区水前寺4-39-11 ヤマウチビル1F  
TEL：096-382-7793 FAX：096-386-2025





