

---

放射線抵抗性である低酸素環境下腫瘍細胞の  
放射線感受性に関する基礎的研究

---

(研究課題番号 16591229)

平成16年度～平成17年度科学研究費補助金  
(基盤研究 (C)) 研究成果報告書



平成18年3月

研究代表者 三橋 紀夫  
東京女子医科大学医学部 教授



## はしがき

『放射線抵抗性である低酸素環境下腫瘍細胞の放射線感受性に関する基礎的研究』という研究課題で、平成 16 年度～平成 17 年度科学研究費補助金（基盤的研究（C））にて研究を行う機会を得たので、ここにその研究成果について報告する。

## 研究組織

研究代表者：三橋紀夫（東京女子医科大学・医学部・教授）

研究分担者：前林勝也（東京女子医科大学・医学部・助手）

研究分担者：那須佐知子（東京女子医科大学・医学部・助手）

## 交付決定額（配布額）

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 16 年度	2,800,000	0	2,800,000
平成 17 年度	700,000	0	700,000
総 計	3,500,000	0	3,500,000

## 研究発表

### (1) 学会誌等

1. Akimoto, T., Kitamoto, Y., Saito, J., Harashima, K., Nakano, T., Ito, K., Yamamoto, T., Kurosawa, K., Yamanaka, H., Takahashi, M., Mitsuhashi, N. and Niibe, H.: External beam radiotherapy for clinically node-negative localized hormone-refractory prostate cancer: impact of pretreatment PSA value on radiotherapeutic outcomes. *Int.J.Radiat.Oncol.Biol.Phys.*, 59(2):372-379, 2004.
2. Toita, T., Mitsuhashi, N., Teshima, T., Maebayashi, K., Nakamura, K., Takahashi, Y. and Inoue, T., Japanese PCS Working Subgroup for Uterine Cervical Cancer. Postoperative radiotherapy for uterine cervical cancer: results of the 1995-1997 patterns of care process survey in Japan. *Jpn.J.Clin.Oncol.*, 34(2):99-103, 2004.
3. Akimoto, T., Nonaka, T., Harashima, K., Ishikawa, H. Sakurai, H. and Mitsuhashi, N.: Selective inhibition of survival signal transduction pathways enhanced radiosensitivity in human esophageal cancer cell lines in vitro. *Anticancer Res.*,

24(2B):811-820, 2004.

4. Fujimura, M., Sakai, F., Fujimura, K. and Mitsuhashi, N.: A trial to measure local lung volume changes during respiration with CT. *Radiat. Med.*, 22(2):82-89, 2004.
5. Ishikawa, H., Sakurai, H., Hasegawa, M., Mitsuhashi, N., Takahashi, M., Masuda, N., Nakajima, M., Kitamoto, Y., Saitoh, J., and Nakano, T.: Expression of hypoxic-inducible factor 1 alpha predicts metastasis-free survival after radiation therapy alone in stage IIIB cervical squamous cell carcinoma. *Int.J.Radiat.Oncol. Biol.Phys.*, 60(2):513-521, 2004.
6. Akimoto, T., Nonaka, T., Harashima, K., Sakurai, H., Ishikawa, H., Mitsuhashi, N.: Radicol potentiates heat-induced cell killing in a human oesophageal cancer cell line: the Hsp90 chaperone complex as a new molecular target for enhancement of thermosensitivity. *Int.J.Radiat.Biol.*, 80(7):483-492, 2004.
7. Nakamura, T., Hayashi, K., Ota, M., Eguchi, R., Ide, H., Takasaki, K. and Mitsuhashi, N.: Salvage esophagectomy after definitive chemotherapy and radiotherapy for advanced esophageal cancer. *Am.J.Surg.*, 188(3):261-266, 2004.
8. Akimoto, T., Muramatsu, H., Takahashi, M., Saito, J., Kitamoto, Y., Harashima, K., Miyazawa, Y., Yamada, M., Ito, K., Kurokawa, K., Yamanaka, H., Nakano, T., Mitsuhashi, N. and Niibe, H. : Rectal bleeding after hypofractionated radiotherapy for prostate cancer: correlation between clinical and dosimetric parameters and the incidence of grade 2 or worse rectal bleeding. *Int.J.Radiat.Oncol.Biol.Phys.*, 60(4):1033-1039, 2004.
9. Nakamura, K., Teshima, T., Takahashi, Y., Imai, A., Koizumi, M., Mitsuhashi, N., Shioyama, Y., Inoue, T. and Japanese PCS Working Subgroup of Prostate Cancer: Radiotherapy for localized hormone-refractory prostate cancer in Japan. *Anticancer Res.*, 24(5B):3141-3146, 2004.
10. Sakurai, H., Mitsuhashi, N., Harashima, K., Muramatsu, H., Ishikawa, H., Kitamoto, Y., Suzuki, Y., Saitoh, J, Nonaka, T., Akimoto, T., Nakayama, Y., Hasegawa, M. and Nakano, T.: CT-fluoroscopy guided interstitial brachytherapy with image-based treatment planning for unresectable locally recurrent rectal carcinoma. *Brachytherapy.*, 3(4):222-230, 2004.
11. Toita, T., Nakamura, K., Uno, T., Kodaira, T., Shinoda, A., Ogawa, K., Mitsuhashi, N., Maebayashi, K., Kawaguchi, A., Inoue, T. and Teshima, T.: Radiotherapy for uterine cervical cancer: results of the 1995-1997 patterns of care process survey in Japan. *Jpn.J.Clin.Oncol.*, 35(3):139-148, 2005.
12. Harashima, K., Akimoto, T., Nonaka, T., Tsuzuki, K., Mitsuhashi, N. and Nakano,

- T. : Heat shock protein 90 (Hsp90) chaperone complex inhibitor, Radicicol potentiated radiation-induced cell killing in a hormone-sensitive prostate cancer cell line through degradation of the androgen receptor. *Int.J.Radiat.Biol.*, 81(1):63-76, 2005.
13. Okamoto, T., Yamazaki, K., Kanbe, M., Kodama, H., Omi, Y., Kawamata, A., Suzuki, R., Igari, Y., Tanaka, R., Iihara, M., Ito, Y., Sawada, T., Nishikawa, T., Maki, M., Kusakabe, K., Mitsunashi, N. and Obara, T.: Probability of axillary lymph node metastasis when sentinel lymph node biopsy is negative in women with clinically node negative breast cancer: A bayesian approach. *Breast Cancer*, 12(3):203-210, 2005.
  14. Karasawa, K., Horikawa, N., Kawase, E., Seki, K., Kohno, M., Shinoda, H., Nasu, S., Muramatsu, H., Maebayashi, K. and Mitsunashi, N.: Assessment of psychological responses in patients about to receive radiotherapy. *Radiat. Med.*, 23(7): 478-484, 2005.
  15. Akimoto, T., Nonaka, T., Kitamoto, Y., Ishikawa, H., Ninomiya, H., Chikamatsu, K., Furuya, N., Hayakawa, K., Mitsunashi, N. and Nakano, T: Radiation therapy for T2N0 laryngeal cancer: a retrospective analysis for the impact of concurrent chemotherapy on local control. *Int.J.Radiat.Oncol.Biol.Phys.*, (in press)
  16. Akimoto, T., Ishikawa, H., Nonaka, T., Harashima, K., Matsumoto, H. and Mitsunashi, N.: Histone deacetylase (HDAC) inhibitor, trichostatin A, increases radiosensitivity by inducing p53-independent apoptosis. *Int.J.Radiat. Biol.*, (in press)
  17. 前林勝也, 三橋紀夫: 放射線治療の最新の進歩. 東京女子医科大学雑誌, 74(4):183-189, 2004.
  18. 三橋紀夫, 村松博之, 篠田宏文, 清塚 誠, 前林勝也: 化学放射線療法 of 現状と展望 頭頸部がん. *INNERVISION*, 19(8):40-44, 2004.
  19. 三橋紀夫, 関 香織, 那須佐知子, 今井礼子, 河野真理, 前林勝也: 進行食道癌に対する化学放射線療法. *外科*, 66(11):1259-1265, 2004.
  20. 阿部香代子, 小野由子, 村垣善浩, 伊関 洋, 丸山隆志, 久保長生, 堀 智勝, 三橋紀夫: Functional MRI による脳腫瘍術前の脳機能野の同定. *臨床放射線*, 50(8):977-982, 2005.
  21. 根本健二, 山田章吾, 西尾正道, 青木昌彦, 中村隆二, 松本康夫, 笹本龍太, 斉藤吉弘, 高山 誠, 三橋紀夫, 五味光太郎, 兼坂直人, 小林雅夫, 田中史穂, 佐々木 茂, 玉村裕保, 光森道英, 西村恭昌, 辻野佳世子, 武本充広, 内田伸恵, 山本道法, 塩山善之, 平川浩一, 小野誠治: JASTRO 研究グループによる標準的放射線治療法を用いた食道表在癌の治療成績-中間報告-. *日放腫会誌, J.Jpn.Soc.Ther.Radiol.Oncol.*, 17(3):187-193, 2005.

22. 三橋紀夫, 前林勝也, 那須佐知子: 化学放射線療法 総論. *Mebio Oncology 化学放射線療法*, 2(4):4-11, 2005.

(2) 口頭発表

1. K. Fujiwara, Y. Ohashi, Y. Nakayama, R. Nishimura, N. Mitsuhashi, K. Shimizu, M. Hatae, K. Ochiai, K. Hatano, K. Noda: Phase III double-blind randomized trial of radiation therapy for stage IIIB cervical cancer in combination with low or high dose Z-100, immunomodulator widely used in Japan. American Society of Clinical Oncology 40<sup>th</sup> Annual Meeting, Poster Display /Discussion Session (June 5-8, 2004, New Orleans, LA, USA)
2. Y. Hashimoto, C. Kondo, T. Tsujikawa, M. Momose, M. Maki, R. Kuwatsuru, K. Kusakabe, N. Mitsuhashi: Accuracy of positron emission tomography for diagnosis of pulmonary lesions with low <sup>18</sup>F-fluorodeoxyglucose uptake less than 2.5 in standardized uptake value. ECCO 13 - the European Cancer Conference, Poster Display (October 30 – November 3, 2005, Paris, France)
3. 阿部香代子, 小野由子, 丸山隆志, 村垣善浩, 堀 智勝, 三橋紀夫: 脳腫瘍術前の脳機能野の同定方法について. 第 63 回日本医学放射線学会学術集会. (平成 16 年 4 月 8,9,10 日、横浜)
4. 赤嶋夕子, 倉田二郎, 三浦まり, 福内明子, 尾崎 眞, 岡本 淳, 飯村 浩, 酒井文和, 三橋紀夫: 経皮的電気刺激による疼痛関連脳活動の fMRI. 第 6 回日本ヒト脳機能マッピング学会大会. (平成 16 年 3 月 21,22 日、東京)
5. 桜井英幸, 齊藤淳一, 石川 仁, 北本佳住, 原島浩一, 野中哲生, 秋元哲夫, 中山優子, 長谷川正俊, 中野隆史: 腫瘍内低酸素状態の診断と臨床的有用性. 第 10 回癌治療増感研究会. (平成 16 年 5 月 8,9 日、神奈川)
6. 野中哲生, 秋元哲夫, 三橋紀夫, 原島浩一, 石川 仁, 桜井英幸, 中野隆史: Thermal response における Hsp90 シャペロンコンプレックス. 第 10 回癌治療増感研究会. (平成 16 年 5 月 8,9 日、神奈川)
7. 秋元哲夫, 野中哲生, 原島浩一, 三橋紀夫: 生存シグナル伝達経路活性化阻害による放射線増感効果と H2AX フォーカス形成との相関. 第 10 回癌治療増感研究会. (平成 16 年 5 月 8,9 日、神奈川)
8. 唐澤久美子, 伊藤佳菜, 齋藤アネ優子, 直居 豊, 広川 裕, 村松博之, 三橋紀夫, 喜多みどり, 池田勝久, 吉原俊雄: 聴器悪性腫瘍放射線療法施行例の治療成績. 第 28 回日本頭頸部腫瘍学会. (平成 16 年 6 月 16,17,18 日、福岡)
9. 清塚 誠, 関 香織, 河野真理, 篠田宏文, 村松博之, 前林勝也, 唐澤久美子, 三橋紀夫: 照射野内再燃をきたした甲状腺初発悪性リンパ種の 1 例. 第 28 回日本頭頸部腫瘍学会. (平成 16 年 6 月 16,17,18 日、福岡)
10. 篠田宏文, 清塚 誠, 関 香織, 河野真理, 村松博之, 前林勝也, 唐澤久美子, 三橋紀夫: 舌癌に対する低線量率組織内照射の治療成績. 第 28 回日本頭頸部腫瘍学会. (平成 16 年 6 月 16,17,18 日、福岡)

11. 石川 仁, 秋元哲夫, 桜井英幸, 三橋紀夫, 齊藤淳一, 長谷川正俊, 中野隆史: 放射線照射により異なる放射線感受性を有する PNET 細胞株の樹立と放射線応答の違いに関する基礎的研究. 第 63 回癌学会学術総会. (平成 16 年 9 月 29,30,10 月 1 日、福岡)
12. 野中哲生, 秋元哲夫, 三橋紀夫, 原島浩一, 石川 仁, 桜井英幸, 中野隆史: 癌細胞の温熱応答における Hsp90 シャペロンコンプレックスの役割. 第 63 回癌学会学術総会. (平成 16 年 9 月 29,30,10 月 1 日、福岡)
13. 秋元哲夫, 野中哲生, 桜井英幸, 石川 仁, 三橋紀夫: Thermal Radio-sensitization の分子標的. 日本ハイパーサーミア学会第 21 回大会. (平成 16 年 9 月 24, 25 日、京都)
14. 野中哲生, 秋元哲夫, 石川 仁, 桜井英幸, 中野隆史, 三橋紀夫: 癌細胞の温熱応答における HSP シャペロンコンプレックスの役割. 日本ハイパーサーミア学会第 21 回大会. (平成 16 年 9 月 24, 25 日、京都)
15. 橋本弥一郎, 那須佐知子, 福留美夏, 関 香織, 前林勝也, 三橋紀夫: 乳癌 脳転移に対する放射線治療. 第 31 回東京女子医科大学乳癌研究会. (平成 16 年 9 月 11 日、東京)
16. 関 香織, 前林勝也, 今井礼子, 篠田宏文, 河野真理, 清塚 誠, 三橋紀夫: 乳房温存療法患者の唾液中クロモグラニン A を用いた精神的ストレスの研究. 第 31 回東京女子医科大学乳癌研究会. (平成 16 年 9 月 11 日、東京)
17. 橋本弥一郎, 近藤千里, 百瀬 満, 牧 正子, 日下部きよ子, 三橋紀夫: LSO 装置による FDG-PET の肺癌診断精度. 第 44 回日本核医学会総会. (平成 16 年 11 月 4,5,6 日、京都)
18. 百瀬 満, 飯村 浩, 西井規子, 作田晶子, 近藤千里, 桑鶴良平, 日下部きよ子, 三橋紀夫: 冠動脈 CT 画像と心筋 SPECT 短軸像との fusion による領域診断の試み. 第 44 回日本核医学会総会. (平成 16 年 11 月 4,5,6 日、京都)
19. 福島賢慈, 百瀬 満, 近藤千里, 金谷和子, 日下部きよ子, 三橋紀夫, 笠貫宏: ラット摘出灌流心モデルを用いた心筋血流トレーサの心筋内動態の比較検討. 第 44 回日本核医学会総会. (平成 16 年 11 月 4,5,6 日、京都)
20. 三橋紀夫, 戸板孝文: 放射線治療の最前線, 子宮頸がんに対する放射線療法の標準化に向けて. 第 3 回婦人科悪性腫瘍化学療法研究機構総会 サテライトシンポジウム. (平成 16 年 11 月 5 日、東京)
21. 三橋紀夫, 秋元哲夫: 分子標的薬剤と放射線増感. 日本放射線腫瘍学会第 17 回学術大会. (平成 16 年 11 月 18,19,20 日、東京)
22. 那須佐知子, 前林勝也, 橋本弥一郎, 福留美夏, 村松博之, 村杉雅秀, 大貫恭正, 唐澤久美子, 三橋紀夫: 非小細胞肺癌に対する術後放射線治療成績の検討. 日本放射線腫瘍学会第 17 回学術大会. (平成 16 年 11 月 18,19,20 日、東京)
23. 清塚 誠, 篠田宏文, 那須佐知子, 今井礼子, 前林勝也, 三橋紀夫, 唐澤久美子, 三田 覚, 篠崎和美: 鼻腔初発非ホジキンリンパ腫に対する化学放射線

治療後に放射線視神経症が疑われた 1 例. 日本放射線腫瘍学会第 17 回学術大会. (平成 16 年 11 月 18,19,20 日、東京)

24. 今井礼子, 鎌田 正, 辻 比呂志, 石川 仁, 若月 優, 柳 剛, 三橋紀夫, 辻井博彦: 重粒子線治療を施行した骨肉腫症例の QOL について. 日本放射線腫瘍学会第 17 回学術大会. (平成 16 年 11 月 18,19,20 日、東京)
25. 唐澤久美子, 高田崇裕, 伊藤佳奈, 広川 裕, 関 香織, 三橋紀夫: 進行乳癌に対する化学療法同時併用放射線療法の意義. 日本放射線腫瘍学会第 17 回学術大会. (平成 16 年 11 月 18,19,20 日、東京)
26. 関 香織, 那須佐知子, 河野真理, 今井礼子, 前林勝也, 三橋紀夫, 荒武寿樹, 亀岡信悟, 澤田達雄: 化学放射線治療後に組織学的に再発とされ, EMR で再発のなかった食道表在癌の 2 例. 日本放射線腫瘍学会第 17 回学術大会. (平成 16 年 11 月 18,19,20 日、東京)
27. 三橋紀夫: ハイパーサーミア基礎研究の成果: 15 年の歴史を振り返って. (特別講演) 第 9 回関東ハイパーサーミア研究会. (平成 17 年 2 月 26 日、群馬)
28. 西井規子, 町田治彦, 早野敏郎, 桑鶴良平, 三橋紀夫, 木村文子, 塚田三佐緒, 秋葉 隆: MDCT と MRI による長期透析症例の冠動脈評価の比較. 第 64 回日本医学放射線学会学術集会. (平成 17 年 4 月 8,9,10 日、横浜)
29. 鈴木一史, 桑鶴良平, 阿部妹子, 町田治彦, 阿部香代子, 西井規子, 岩村 晃, 早野敏郎, 三橋紀夫: ガドリニウム造影剤の副作用調査 (第二報); 投与薬剤の種類と投与量別の調査. 第 64 回日本医学放射線学会学術集会. (平成 17 年 4 月 8,9,10 日、横浜)
30. 関 香織, 唐澤久美子, 河野真理, 那須佐知子, 今井礼子, 三橋紀夫: 骨のみ転移症例に対する放射線治療後の経過. 第 13 回日本乳癌学会総会. (平成 17 年 6 月 10,11 日、倉敷)
31. 那須佐知子, 関 香織, 河野真理, 今井礼子, 唐澤久美子, 三橋紀夫: 乳癌脳転移に対する全脳照射. 第 13 回日本乳癌学会総会. (平成 17 年 6 月 10,11 日、倉敷)
32. 福留美夏, 前林勝也, 那須佐知子, 篠田宏文, 関 香織, 橋本弥一郎, Rimma Shymanska, 三橋紀夫: 上皮細胞増殖因子受容体の二重阻害による放射線感受性増感. 第 44 回日本医学放射線学会生物部会学術大会. (平成 17 年 7 月 16 日、東京)
33. 福留美夏, 関 香織, 橋本弥一郎, 那須佐知子, 前林勝也, 三橋紀夫, 小原孝男: 乳房温存療法で腫瘍床へのブースト照射における摘出部位マーキングの有用性に関する初期検討. 第 33 回東京女子医科大学乳癌研究会. (平成 17 年 9 月 10 日、東京)
34. 渋谷清貴, 西井規子, 中島崇智, 百瀬 満, 近藤千里, 桑鶴良平, 三橋紀夫, 日下部きよ子, 笠貫 宏: 肥大型心筋症における TL-BMIPP dual SPECT の血流代謝パターンと心臓 MRI 遅延造影所見との対比. 第 45 回日本核医学会総会. (平成 17 年 11 月 11,12,13 日、東京)

35. 福島賢慈, 百瀬 満, 近藤千里, 日下部きよ子, 三橋紀夫, 笠貫 宏: 高血圧性心不全ラット摘出灌流心における Tc-99 sestamibi の心筋内動態. 第45回日本核医学会総会. (平成 17 年 11 月 11,12,13 日、東京)
36. 中島崇智, 渋谷清貴, 西井貴子, 作田晶子, 百瀬 満, 近藤千里, 桑鶴良平, 三橋紀夫, 日下部きよ子, 笠貫 宏:  $^{201}\text{Tl}+^{123}\text{I}$ -BMIPP 心筋 SPECT の集積低下と造影 MRI 遅延造影像との比較-不整脈と虚血性心疾患の検討- 第45回日本核医学会総会. (平成 17 年 11 月 11,12,13 日、東京)
37. 黒岡将彦, 羽生裕二, 大野 淳, 福岡美代子, 那須佐知子, 三橋紀夫: 統計解析を応用した IMRT 線量分布の定量的評価. 日本放射線腫瘍学会第 18 回学術大会. (平成 17 年 11 月 23,24,25,26 日、川越)
38. 関 香織, 村松博之, 唐澤久美子, 篠田宏文, 清塚 誠, 那須佐知子, 今井礼子, 前林勝也, 吉原俊雄, 三橋紀夫: 早期声門癌に対する 1 回 2.25Gy 照射法の治療成績. 日本放射線腫瘍学会第 18 回学術大会. (平成 17 年 11 月 23,24,25,26 日、川越)
39. 橋本弥一郎, 前林勝也, 那須佐知子, 清塚 誠, 福留美夏, 今井礼子, 村松博之, 関 香織, 三橋紀夫: FDG-PET にて異常集積を認め、診断に苦慮した子宮頸癌放射線治療後の一例. 日本放射線腫瘍学会第 18 回学術大会. (平成 17 年 11 月 23,24,25,26 日、川越)
40. 清塚 誠, 原 竜介, 篠崎雅史, 光野 譲, 直井国治, 布施雅史, 伊丹 純, 三橋紀夫: 前立腺癌に対する外部照射併用高線量率組織内照射 (1 日 1 回照射/2 回刺入) の初期経験. 日本放射線腫瘍学会第 18 回学術大会. (平成 17 年 11 月 23,24,25,26 日、川越)
41. 那須佐知子, 前林勝也, 関 香織, 橋本弥一郎, 清塚 誠, 福留美夏, 今井礼子, 村松博之, 三橋紀夫: 脳初発悪性リンパ腫の化学放射線治療成績. 日本放射線腫瘍学会第 18 回学術大会. (平成 17 年 11 月 23,24,25,26 日、川越)
42. 前林勝也, 関 香織, 藍原康雄, 田中雅彦, 橋本弥一郎, 福留美夏, 那須佐知子, 久保長生, 堀 智勝, 三橋紀夫: 頭蓋内胚細胞腫瘍の放射線治療. 日本放射線腫瘍学会第 18 回学術大会. (平成 17 年 11 月 23,24,25,26 日、川越)
43. 秋元哲夫, 野中哲生, 中野隆史, 三橋紀夫: Hsp90 chaperone complex as a molecular target for potentiation of radiation-induced cell death. 日本放射線影響学会第 48 回大会. (平成 17 年 11 月 15,16,17 日、広島)

## 目的

放射線治療は臓器温存が可能な治療法としての特徴を有しているため、本邦でもがん治療に放射線療法を選択する割合が年々増加している。しかし、放射線治療単独では局所制御が困難な症例はいまだ多く存在し、その原因としては、1) 本来腫瘍細胞が有する放射線感受性の相違(内的要因)、2) 腫瘍細胞以外からなる腫瘍内部ならびに腫瘍周囲の環境の相違(外的要因)の 2 つが主として考えられる。我々はこれまでに腫



瘍細胞が有する放射線感受性の違いを中心に研究を行ってきており、X 線による放射線感受性、特に照射後早期に起こるアポトーシスの多寡が p53 status ならびに細胞周期やアポトーシス関連遺伝子のシグナル伝達機構に関連していること、また上皮細胞増殖因子受容体 (EGFR) やいわゆる“生のシグナル”と考えられる Akt などの発現が放射線感受性に影響していることを明らかにしてきた (Int J Radiat Oncol Biol Phys. 1999 Jun 1;44(3):677-82, Cancer Lett. 1999 Dec 1;147(1-2):199-206, Cancer Lett. 2000 May 1;152(2):157-62)。しかし、臨床で放射線治療を行っている悪性腫瘍症例の場合にもアポトーシスの多寡や腫瘍細胞が本来有する放射線感受性に関連すると考えられているシグナル伝達機構のみで放射線感受性を説明するのが困難な症例が少なからず存在し、外的要因の代表とも言える低酸素・栄養飢餓環境下の細胞で放射線感受性が低下することは広く知られている。古典的放射線生物学では、低酸素環境下の細胞が放射線抵抗性になってしまう解釈として、酸素の存在が放射線の間接作用を修飾し DNA 鎖の障害を引き起こすため、低酸素状態では DNA 鎖の障害の確率を低下させることに起因すると考えられてきた。しかし、近年になり低酸素状態が細胞に及ぼす影響として、細胞の増殖抑制や分化誘導とアポトーシスを誘導し、in vivo においては腫瘍内部の壊死形成や腫瘍の増殖遅延として観察されることが知られてきている。また、最近の分子生物学的アプローチからは、低酸素環境下で MAPK cascade の中心である p42/p44 ERK の発現が増強し、それに誘導される Hypoxia Inducible Factor(HIF-1)  $\alpha$  も活性化され、さらに HIF-1 は腫瘍血管新生を促進する VEGF を誘導することが明らかとなってきている。このように低酸素環境下で生存している細胞は、分化誘導や p42/p44 ERK の発現増強・VEGF 誘導の様な“生のシグナル”とアポトーシスの促進や増殖抑制の様な“死のシグナル”の微妙なバランスの上で生存し、さらにこれらの “生のシグナル”や“死のシグナル”の発現が低酸素環境下で腫瘍細胞ごとに異なっているものと考えられ、これらのシグナル発現の違いが低酸素環境下での腫瘍細胞の放射線感受性の違いとなると予測される。しかし、現在までのところ低酸素細胞分画の測定や評価ならびに低酸素環境下での細胞動態やシグナル伝達の変化については多くの検討がなされてきているが、低酸素環境下での放射線感受性の先行指標を検索する検討は報告されていない。そこで、“生存シグナル”や“死のシグナル”の発現ならびに放射線感受性が低酸素環境下でどのように修飾されるかについて明らかにするために、“生存シグナル”や“死のシグナル”の変化について検索するとともに、臨床材料を用いて低酸素で誘導される中心分子として転写因子である HIF-1  $\alpha$  の発現や癌細胞の増殖や血管新生を刺激する COX-2 の発現と子宮頸癌 III 期の放射線治療成績との関係について検索した。

## 研究成果の概要

### 1) 生存シグナルの放射線による活性化と阻害剤による増感効果

放射線による細胞死や細胞生存に関与するシグナル伝達経路が明らかになりつつあり、放射線感受性増感の新たな分子標的として期待が高まっている。そこで、上皮細胞増殖因子受容体 (EGFR) ファミリーを定常酸素下で二重阻害することで相乗的な放射線感受性の増強が出現するかどうか検討したところ、EGFR の阻害剤である ZD1839 ならびに HER2/*neu* の阻害剤である Trastuzumab とともに明らかな細胞増殖抑制効果が認められ、併用によって抑制効果はさらに増強された。3Gy の照射によって EGFR ならびに HER2/*neu* とともにリン酸化が誘導されたが、細胞周期に明らかな変化が認められない濃度の阻害剤と 3 時間接触させることによって照射によって誘導される EGFR のリン酸化は ZD1839 で、HER2/*neu* のリン酸化は Trastuzumab で抑制された。また、ZD1839 は EGFR のリン酸化の抑制とともに HER2/*neu* のリン酸化をも抑制した。HER family 受容体を起点とするシグナル伝達経路の下流に位置する Akt と Mek1/2 は 3Gy の照射で EGFR や HER2/*neu* と同様に活性化されたが、ZD1839 と Trastuzumab を併用することで抑制された。放射線増感効果をコロニー形成能で比較すると、いずれの阻害剤によっても放射線増感効果を示したが、二重阻害では相乗的な放射線増感効果が認められた。以上の結果から EGFR ならびに HER2/*neu* を起点とする Akt と MEK1/2 のリン酸化を抑制し、生存シグナルの下流への伝達をブロックしていることが、放射線増感の機序の 1 つと考えられた。また、ZD1839 が EGFR のリン酸化のみならず HER2/*neu* のリン酸化も抑制したことから、2 つの受容体を起点とするシグナル伝達機構にはクロストークが存在する可能性が示唆された。低酸素下でも同様の現象が認められるかどうか検証中である。

## 2) 低酸素下での放射線感受性の修飾

A549 細胞を用いて低酸素による放射線感受性の低下を *in vitro* の系で検索した。低酸素の条件として 5%O<sub>2</sub> ならびに 1%O<sub>2</sub> を選択した。細胞増殖能は 5%O<sub>2</sub> 下では抑制されなかったが、1%O<sub>2</sub> 下では明らかな増殖抑制が認められた。照射 24 時間前から細胞を低酸素環境下に置き、放射線感受性をコロニー形成能で検討したが、5%O<sub>2</sub> 下ならびに 1%O<sub>2</sub> 下ともに PE に変化は認められず生残率の増加も認められなかったことから、低酸素によって放射線抵抗性を獲得した証左は得られなかった。しかし、1%O<sub>2</sub> 下では明らかに小さなコロニーの数が増加していた。

## 3) 子宮頸癌組織の HIF-1 $\alpha$ と放射線治療成績

放射線単独治療を施行した子宮頸癌 III 期例での HIF-1 $\alpha$ , p53, bax, bcl-2 の強発現の頻度は、45%, 58%, 39%, 39%であった。また、28%の症例に HPV の感染が認められた。HIF-1 $\alpha$  の発現とその他の蛋白ならびに HPV 感染との間に相関は認められなかった。また、HIF-1 $\alpha$  の発現と患者の年齢、全身状態、リンパ節転移の有無、ヘモグロビン値、SCC 抗原値との間にも有意な相関は認められなかった。大

きな腫瘍の方が HIF-1 $\alpha$  の発現率が高かったが、症例数が少ないことから有意差に到達しなかった。HIF-1 $\alpha$  の発現と再発様式について検討したところ、HIF-1 $\alpha$  強発現例で再発率が有意に高かった。また、10 年無再発生存率ならびに 10 年無転移生存率は HIF-1 $\alpha$  低発現例で有意に良好であったが、10 年無局所再発生存率には差異は認められなかった。

#### 4) 子宮頸癌放射線誘発アポトーシスに対する COX-2 の影響

COX-2 と COX-2 が産生するプロスタグランディンは、がん細胞の増殖や血管新生を刺激するなど多くのメカニズムによって、がん組織の成長に重要な役割を果たしていることが多くの研究結果から明らかになっている。そこで、子宮頸癌の放射線治療前/中の生検材料を用いて、照射前の COX-2 発現と局所効果・放射線誘発アポトーシス・局所制御率に与える影響について検討したところ、COX-2 発現率と治療中のアポトーシスの出現頻度には有意な相関が認められた。また、COX-2 発現率 50%以上の症例では照射によるアポトーシス出現率が有意に低く、2 年累積局所制御率も不良であった。

#### まとめ (将来展望)

我々がこれまで行ってきた研究から、常酸素環境化にある培養腫瘍細胞株の放射線感受性は、照射後の細胞死および生存・増殖と増殖速度とそれに伴う関連因子 (内的要因) の違いにより決定されている可能性が示されてきた。また、放射線治療を施行した子宮頸癌の生検材料を用いた免疫組織化学的検討では低酸素と関連の深い HIF-1 $\alpha$  や COX-2 の発現と放射線による局所制御率との間には良い相関が認められ、腫瘍組織内に存在する低酸素細胞が放射線による局所制御率を低下させている可能性が強く示唆された。しかし、培養細胞において生体内で腫瘍細胞が置かれている低酸素下条件を再現することは難しく、今回の研究でも *in vitro* の系で低酸素細胞の放射線感受性の低下を立証することはできなかった。その原因の一つとしては、今回の実験では細胞は *acute hypoxia* の条件下で増殖能や放射線感受性を検討したことが挙げられる。生体内では腫瘍細胞は *chronic hypoxia* の環境下に存在していると考えられることからいかに *in vitro* の系で *chronic hypoxia* の環境を作り出せるかに真相究明の鍵があると考えられる。また、培養細胞は全てが細胞周期を回っている細胞であり、休止期細胞の低酸素下での細胞動態を解明する必要があると考えられた。

これまで低酸素細胞増感剤が多く開発されてきたが、今日まで臨床的に有効な増感剤は認められない。これまで放射線による細胞障害性を増強するためにターゲットは DNA であると考えられていたことから、DNA の損傷増強や DNA 損傷の修復阻害をターゲットとして放射線増感が考えられてきた。しかし、分子生物学の進歩により細胞死や細胞生存に関与するシグナル伝達経路が明らかに

なるにつれ、新しい放射線増感のターゲットとしてシグナル伝達経路の中間物質、転写機構、アポトーシス経路、タンパク質の安定性などといったDNA以外のターゲットの重要性がクローズアップされてきた。こうしたことから、放射線に分子標的薬剤を併用することで、放射線照射によって活性化されるシグナルや分子をターゲットとして放射線増感を図ろうとする試みがなされている。事実EGFRを起点とする細胞生存シグナルの阻害は有力な放射線増感の機序であることが明らかとなっている。低酸素環境下に生存している細胞はストレスを持続的に与えられている状況であると考え、生存シグナルがより活性化されて、放射線抵抗性になっているとも考えられる。そこで、低酸素環境下の細胞で多くのシグナル伝達機構が解明されれば、これまでと異なった機序をもった低酸素細胞増感剤の開発に繋がるものと考えられる。