

令和元年6月12日現在

機関番号：82502

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10407

研究課題名(和文)放射線障害に対する予防・治療標的分子の探索

研究課題名(英文) Investigation of target molecules for protection from radiation damage.

研究代表者

川野 光子 (Kawano, Mitsuko)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所 放射線障害治療研究部・研究員(任常)

研究者番号：90422203

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：重粒子線は生物学的効果が高く、照射深度の調節が容易であることから、正常組織障害を最小限に抑えてがん病巣に集中的に照射できる放射線治療技術である。しかしながら、周囲の正常組織への被ばくは皆無ではない。したがって、重粒子線による正常組織障害を予防・治療する技術があれば、これまで以上に重粒子線は癌治療のパワフルなツールとなり得る。申請者は、線維芽細胞増殖因子(FGF)に着目し、放射線障害に対する予防・治療効果を検討した結果、FGF1の細胞内移行能を増強したキメラタンパク質FGF1/PPP-Cが、重粒子線照射時における正常組織障害に対し防護効果を有することを見出し、その作用機序について解析を進めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2011年3月の福島第一原子力発電所の事故以降、放射線障害に対する予防・治療法の確立の必要性は社会的に広く認知され、その標的分子の探索は大変重要と考えられる。放射線障害は、放射能汚染に限られたことではなく、一般的に行われているがんに対する放射線治療によっても起こりうるものであり、副作用として後に残る炎症に悩まされている患者は少なくない。したがって、放射線障害の病態を理解する中で効率的に予防・治療標的を探索し、副作用の少ない新たな治療薬の開発を見据えた基礎研究を行った結果、特定の分子を見出したことは、放射線障害から正常組織を防護する観点から、その社会的意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：The clinical application of carbon ion (C-ion) beams is effective and safety cancer therapy. Because C-ion beams are concentrated to irradiate tumor region. However, this radiotherapy potentially causes adverse reactions. Some of FGF have protective effects against radiation injury. FGF1 is a candidate radioprotector for radiation-induced damage. FGF1/PPP-C chimeric protein was created to enhance the intracellular signaling mode of FGF1 instead of FGFR signaling. The present study investigated the protective effects of FGF1/PPP-C on the intestinal damage by C-ion radiotherapy.

The FGF1/PPP-C treatment promoted crypt survival after C-ion irradiation significantly through inhibition of C-ion-induced apoptosis and downstream signaling pathway of FGFRs, reduction of DSBs of DNA and suppression of the activation of cell-cycle regulatory molecules. These results suggest that the intracellular signaling mode of FGF1/PPP-C attenuates the intestinal adverse effects of C-ion radiotherapy.

研究分野：分子細胞生物学

キーワード：放射線防護 放射線障害 線維芽細胞増殖因子

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

2011年3月の福島第一原子力発電所の事故以降、放射線障害に対する予防・治療法の確立の必要性は社会的に広く認知され、その標的分子の探索は大変重要と考えられる。放射線障害は、放射能汚染に限られたことではなく、一般的に行われているがんに対する放射線治療によっても起こりうるものであり、副作用として後に残る炎症に悩まされている患者は少なくない。急性期の障害は、原則的に照射した部位に起こる炎症反応であり、治療後におさまることが多い一方で、晩期の障害は頻度は低いものの発症すると難治である事が多く、皮膚や消化管、骨髄等に症状が現れ、患者のQOLを著しく低下させている。したがって、放射線障害の病態を理解する中で効率的に予防・治療標的を探索し、副作用の少ない新たな治療薬の開発を見据えた基礎研究が必要である。

繊維芽細胞増殖因子(FGF)は、広範囲な組織での細胞増殖や分化において重要な増殖因子であり、現在までにヒトおよびマウスでそれぞれ22種類のリガンドと7種類の受容体が同定されている。その作用は多岐に渡り、創傷治癒(Komi-Kuramochi et al. J Endocrinol. 2005)、血管新生(Behr et al. PNAS. 2010)、毛成長周期制御(Kawano et al. J Invest Dermatol. 2005)、四肢形成(Scherz et al. Science. 2004)、神経系発達(Ozawa et al. Brain Res Mol Res. 1996)等が知られている。放射線障害に対する防御機能を持つリガンドとしては、FGF1(Nakayama et al. Exp Dermatol. 2009)、FGF2(Ader et al. Oncogene. 2002)、FGF4(Takahama et al. Oncogene. 2001)、FGF7(Khan et al. Radiat Res. 1997)、FGF12(Nakayama et al. Int J Radiat Oncol. 2013)、FGF20(Alvarez et al. Clin Cancer Res. 2003)が挙げられ、放射線によるアポトーシスの抑制や細胞内活性酸素除去に重要であるとされる。このように、生体において発生から高次機能の調節に至るまで多様な機能を持つFGFのうち、複数のリガンドが放射線障害に対する防御機能を持つことが明らかにされ、実際に米国では放射線療法に伴う口腔粘膜炎の治療薬としてFGF7が承認されており(パリフェルミン)臨床現場で使用されている。しかしながら、放射線に対する応答として、全FGFメンバーについての網羅的な解析はなされていない。

本研究提案では、放射線障害の病態を再現するマウスモデルを用い、放射線照射によりどのようなFGFが応答するかを網羅的・経時的に解析することで、放射線防御において重要な役割を果たす可能性の高いメンバーの絞り込みを行うこととした。また、FGFによる放射線防御に関して、これまでは皮膚および腸管における発現・機能解析が主であるが、他の組織(例えば、骨髄や血液、肝臓など)においても放射線防御因子として機能する可能性を探る。以上により、ヒトの放射線障害の病態に即したマウスモデルを用い、新たな予防・治療標的を効率的に探索し、組織特異的な治療薬の開発に向けた理論的基盤を確立することを目的とした。

2. 研究の目的

放射線障害に対する予防・治療標的の探索の必要性は、2011年3月の福島第一原子力発電所の事故以降、社会的に広く認知されている。また、放射線によるがん治療の現場においては、放射線障害は患者のQOLを低下させる要因となっている。放射線障害が懸念される場合、照射線量を制限せざるを得ず、放射線障害を抑制することができれば、これまで以上に放射線治療はがん治療のパワフルなツールとなり得る。本研究提案では、放射線障害の病態を再現するマウスモデルを構築し、放射線防御効果を有する分子の探索/開発を目指した。ターゲットとしては放射線障害に対する防御機能が報告されている繊維芽細胞増殖因子(FGF)群とし、これまでに関与が知られていないメンバーを見出し、安全性の高い新たな予防・治療薬開発に向けた基盤的研究の遂行を目的とした。

FGFは広範な細胞・組織でさまざまな生理活性を有することが知られており、放射線障害誘導時においても複数のFGFが関与することが示唆されている。しかしながらすべてのFGFメンバーについての網羅的な解析はなされておらず、放射線障害の予防・治療において機能する新たなFGFメンバーが存在する可能性は極めて高い。申請者はこれまでに、皮膚における全FGFメンバーの網羅的な発現解析を行っており(Kawano et al. J Invest Dermatol. 2004 & 2005)、スクリーニング手法は確立されている。したがって本研究提案では、マウスにヒトの放射線障害の病態を誘導し、照射前後におけるFGFメンバーの発現を網羅的かつ経時的に定量解析し、放射線照射の前後で発現量が大きく変動するなど、放射線障害の発症に関与することが予想されるFGFメンバーについて、組織特異性を含めて解析することとした。また、野生型のFGFだけではなく、キメラタンパク質など変異体の導入も視野に入れ、FGF受容体依存的/非依存的なシグナル伝達経路を特定し、放射線障害に対する予防・治療効果に寄与する可能性を検証することを目的とし、放射線障害の病態を鑑みた安全で確実な新たな治療薬開発の提案までを見据えた包括的な研究を展開した。

3. 研究の方法

本研究提案は、効果的な防護剤の探索/開発を通して、炭素イオン線を含む放射線によるがん治療の拡大を視野に入れたものであることから、線を用いた予備実験の結果を参考に、医療用重粒子加速装置(HIMAC)を用いて研究を行った。BALB/cマウスの全身に炭素イオン線を6.0~9.0 Gyにて単回照射を行い、ヒトのがん治療において起こりうる放射

線障害、特に腸管障害の病態を再現する照射条件を決定した。本研究ではがん治療時の正常組織障害の防護剤の探索/開発を目的とするため、低 LET 領域での照射を行い、その条件は 290 MeV/u, 6 cm-SOBP, 17 keV/um とした。防護剤の候補としては、FGF をターゲットとし、特に、FGF1 の細胞内移行能を高めたキメラタンパク質 FGF1/PPP-C を照射の 12 時間前に腹腔内投与し、炭素イオン線照射による腸管障害の防護効果について、クリプトアッセイにより評価した。また、 γ -H2AX 染色により DNA 二重鎖切断を、TUNEL 染色によりアポトーシスを検出し、それぞれ検討を行った。また、照射後の空腸サンプルから RNA を抽出し、アレイ解析により DNA 修復関連遺伝子および細胞周期関連遺伝子についての網羅的発現変動解析を行うとともに、タンパク質を抽出し、ウエスタンブロッティングにより細胞内シグナル伝達系の活性化状況を検討した。さらに、腸管上皮細胞株 IEC-6 を FGF1 または FGF1/PPP-C にて処理し、フローサイトメトリーにより細胞周期への影響を検討した。

4. 研究成果

FGF1/PPP-C 投与群では、照射後 3.5 日目における小腸クリプト数の減少を有意に抑制したことから、FGF1/PPP-C が炭素イオン線による腸管障害防護能を有することを確認した。FGF1/PPP-C 投与により、照射 6 時間目のクリプトにおける γ -H2AX 陽性細胞が有意に減少したことから、DNA 二重鎖切断の修復が促進されることが示唆された。これらの現象が FGF 受容体を介した反応であるか評価するため、細胞内シグナル伝達経路の活性化状況をウエスタンブロッティングにより解析した結果、野生型 FGF1 投与群では FGF 受容体下流の MAPK 経路が活性化されたのに対し、FGF1/PPP-C 投与群では抑制されたことから、FGF1/PPP-C は FGF 受容体を介さずに防護効果を発揮する可能性が示された。さらに FGF1/PPP-C の投与により、照射 4 時間目の空腸において、G2/M 移行に係わる分子の発現およびその活性化が抑制されることが示唆された。腸管上皮細胞株 IEC-6 を FGF1/PPP-C にて処理し、フローサイトメトリーにより細胞周期を解析したところ、G2/M 期の増加を確認した。以上の結果から、FGF1/PPP-C は、FGF 受容体下流のシグナル経路を抑制し、細胞周期を G2/M 期にアレストすることで DNA 損傷修復を促進し、炭素イオン線による腸管障害の防護に寄与していることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

1. Kawano M, Miura T, Fujita M, Koike S, Imadome K, Ishikawa A, Yasuda T, Imamura T, Imai T, and Nakayama F. (2018) The FGF1/PPP-C chimera protein protects against intestinal adverse effects of C-ion radiotherapy without exacerbating pancreatic carcinoma. Clin Transl Radiat Oncol. 14: 8-16.

〔学会発表〕(計 3 件)

1. 川野光子、三浦太一、石川敦子、小池幸子、今留香織、藤田真由美、今井高志、中山文明：細胞内移行型 FGF1 による重粒子線腸管障害防護効果について、日本放射線影響学会第 61 回大会、長崎、2018 年 11 月 8 日
2. 中山文明、川野光子、三浦太一、藤田真由美、小池幸子、今留香織、石川敦子、安田武嗣、今村亨、今井高志：FGF1/PPP-C キメラタンパク質による膵癌重粒子線治療の有害事象の予防について、第 91 回日本生化学会大会、京都、2018 年 9 月 25 日
3. 川野光子、三浦太一、小池幸子、今留香織、藤田真由美、今井高志、中山文明：細胞内移行型 FGF1 による重粒子線腸管障害防護効果について、日本放射線影響学会第 60 回大会、千葉、2017 年 10 月 25-28 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。