

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24659563

研究課題名(和文) 定位放射線治療の最適化における基礎研究

研究課題名(英文) Basic research for the optimization of stereotactic radiotherapy

研究代表者

板坂 聡 (ITASAKA, SATOSHI)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・非常勤講師

研究者番号：90378654

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではマウス腫瘍モデルを用い1回大線量の放射線治療後の腫瘍内低酸素の変化、HIF-1活性の変化、血管構築の変化を経時的に評価した。抗腫瘍効果との関連をみると同時に正常組織へ大線量照射の影響も評価し、治療の最適化および治療効果を増強する因子についての検討も試みた。HIF-イメージングを参照して治療効果が最大となる2回目の照射スケジュールの検討を開始し、抗腫瘍効果が最大となる最適スケジュールについて検討を行った。放射線治療の効果を増強する新たな治療標的の候補についても検討を行ったが、有意なものについては明らかにすることができなかった。

研究成果の概要(英文)：In this study, changes of intra-tumoral hypoxia, HIF-1 activity, and vasculature after a large dose single irradiation were evaluated, sequentially. Effects of large dose irradiation on tumors and normal tissues were evaluated at the same time. It was also tried to find factors that enhance the therapeutic effects. Human lung cancer cell line H441 transfected with HIF-1 responsible luciferase gene were implanted into the nude mice, subcutaneously. The temporal changes of intra-tumoral hypoxia were observed as HIF-1 activity change by optical imaging. Optimal timing of the second irradiation was evaluated using the HIF-1 imaging to maximize the therapeutic effects of irradiation. We could not identify new therapeutic targets that can enhance the effect of radiation therapy.

研究分野：放射線治療

キーワード：放射線治療 腫瘍内低酸素 定位放射線治療

1. 研究開始当初の背景

これまでも放射線治療の最適化について様々な生物学的研究が行われてきたが、いまだ確立していない。HIF-1 の放射線治療での重要性は明らかになってきており、それに注目することで定位放射線治療スケジュールの最適化、およびさらなる放射線治療成績向上の条件を明らかにすることを本研究の目標とした。

小さい標的に1回大線量の照射を行い治療成績の改善を試みる定位放射線治療の応用が脳だけではなく体幹部まで広がっており、特に Stage I の肺がん患者のうち、高齢や肺機能低下のため手術困難な患者では良好な成績が報告されてきている。しかしながら、いまだに最適な線量分割、総線量及び総治療期間については明らかになっておらず、臨床的にいろいろな線量分割での治療が試みられているが、具体的な生物学的根拠には乏しく評価が難しい。1回大線量の放射線治療で治療効果を大きく左右する腫瘍内低酸素の生物学的な効果への影響についてこれまでも研究が行われてきたが、HIF-1 を通した腫瘍の治療抵抗性、とくにその放射線治療後の HIF-1 活性の動態に本研究では注目した。さらに HIF-1 活性亢進している領域と pimonidazole 染色陽性の低酸素領域を区別して、HIF-1 にて制御されかつ放射線抵抗性に関連することが分かっている血管新生を検討するだけでなく、HIF-1 の上流、下流の因子を網羅的に解析することにより、治療スケジュールの最適化だけでなく放射線増感の新たな治療標的を明らかにすることを本研究の目標とした。また今後、期待される分子標的薬剤併用における理論的根拠に対して基礎的な情報を提供することができると期待され、臨床での定位放射線治療のさらなる治療成績の向上、および適応範囲の拡大に貢献することが期待された。

2. 研究の目的

1回大線量の放射線治療では通常の小線量の分割照射とは異なる生物学的効果がみられることが、臨床での治療効果および有害事象から推測されている。本研究では1回大線量の放射線治療の最大治療効果を得る生物学的な根拠の確立し、定位放射線治療の最適化を目指す。

3. 研究の方法

マウスに HIF-1 応答性のルシフェラーゼ遺伝子を導入した腫瘍細胞を移植、さまざまな線量および分割法で放射線を照射し、最適な治療スケジュールについて腫瘍細胞ごとに明らかにする。治療効果と HIF-1 の変動およびその下流の VEGF を含めた因子との関連を明らかにし、さらには放射線増感に向けた新たな治療標的についても検討する。また肺がんの肺同所移植モデル(図)を用いることにより、血管や周囲の正常肺組織への影響も合わせて検討を行い、治療効果を保ったまま副作用を押さえることによる治療の最適化に向けた検討を行う。また、HIF-1 阻害剤、血管新生阻害剤、上皮細胞増殖因子 (EGF) 阻害剤の併用も行い、放射線治療との併用スケジュールの最適化、および治療効果について評価する。



図 H441/5 HRE-Luc cells 左肺移植後7日目の HIF-1 イメージ

4. 研究成果

ヌードマウスに HIF-1 応答性のルシフェラーゼ遺伝子を導入したヒト肺がん細胞 H441 を皮下移植した腫瘍モデルを用い、移植腫瘍への局所放射線照射後の HIF-1 の経時的な変化を光イメージングで観察し、腫瘍内の低酸素領域の変化について検討した。放射線照射後、HIF-1 イメージングにて活性増加をみとめたがコントロールと比較して有意な違いは同定できず、HIF-1 イメージングを参照し、治療効果が最大となる 2 回目の照射スケジュールを決定することは困難であった。一方、血管新生阻害剤 Bevacizumab の投与後では有意な HIF-1 活性の増加をみとめ(図)、pimonidazole の免疫染色でも低酸素領域の拡大が確認され、HIF-1 イメージングの有用性は明らかになった。

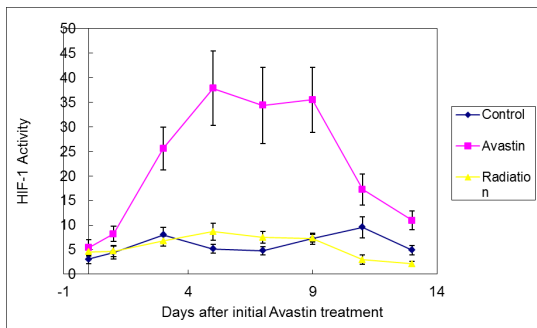


図 アバスタチン、放射線照射後の HIF-1 活性の変化

免疫染色にて放射線治療後の腫瘍内低酸素素の変化、HIF-1 活性の変化、血管構築の経時的な変化の検討を行い、放射線治療による血管破壊は同定されたが、この腫瘍モデルにおいての 2 回目の放射線治療の最適化は困難であった。

肺がんの同所移植モデルを用い、治療効果と同時に肺正常組織への影響も合わせた検討を開始した。同所移植モデルについてはすでにヒト肺癌細胞の移植後の経時的な増大および、HIF-1 イメージングにより腫瘍の低酸素領域の拡大をみとめていた。今回の研究

では胸部照射の手法についてマウスの専用固定具の開発を行い、基本的な手法の確立をはかった。皮下移植モデルでの最適化の検討に時間がかかったため同所移植モデルでの検討にまで及ばなかった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5 件)

1. Isobe T, Onn A, Morgensztern D, Jacoby JJ, Wu W, Shintani T, Itasaka S, Shibuya K, Koo PJ, O'Reilly MS, Herbst RS. *Evaluation of novel orthotopic nude mouse models for human small-cell lung cancer.* J Thorac Oncol. 2013 Feb;8(2):140-6.
2. Yoshimura M, Itasaka S, Harada H, Hiraoka M. *Microenvironment and radiation therapy.* Biomed Res Int. 2013;2013:685308. doi: 10.1155/2013/685308. Epub 2012 Dec 4.
3. Zhao T, Zhu Y, Morinibu A, Kobayashi M, Shinomiya K, Itasaka S, Yoshimura M, Guo G, Hiraoka M, Harada H. *HIF-1-mediated metabolic reprogramming reduces ROS levels and facilitates the metastatic colonization of cancers in lungs.* Sci Rep. 2014 Jan 23;4:3793.
4. Goto Y, Zeng L, Yeom CJ, Zhu Y, Morinibu A, Shinomiya K, Kobayashi M, Hirota K, Itasaka S, Yoshimura M, Tanimoto K, Torii M, Sowa T, Menju T, Sonobe M, Takeya H, Toi M, Date H, Hammond EM, Hiraoka M, Harada H. *UCHL1 provides diagnostic and antimetastatic strategies due to its deubiquitinating effect on HIF-1 α .* Nat Commun. 2015 Jan 23;6:6153. doi: 10.1038/ncomms7153.
5. Zeng L, Morinibu A, Kobayashi M, Zhu Y, Wang X, Goto Y, Yeom CJ, Zhao T, Hirota

K, Shinomiya K, Itasaka S, Yoshimura M,
Guo G, Hammond EM, Hiraoka M, Harada
H. *Aberrant IDH3a expression promotes
malignant tumor growth by inducing
HIF-1-mediated metabolic reprogramming
and angiogenesis*. *Oncogene*. 2014 Dec 22.
doi: 10.1038/onc.2014.411. [Epub ahead of
print]

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

板坂 聡 (ITASAKA, Satoshi)
京都大学・大学院医学研究科・非常勤講師
研究者番号：90378654