

平成 30 年 6 月 26 日現在

機関番号：84420

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19881

研究課題名(和文) Super-SCIDマウスを用いた放射線のヒト正常肺組織への障害発生機構と防護

研究課題名(英文) Mechanism of radiation injury and its protection on human normal lung tissue maintained in Super-SCID mice

研究代表者

足立 成基 (ADACHI, Shigeki)

国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所・医薬基盤研究所 難治性疾患研究開発・支援センター・プロジェクト研究員

研究者番号：60379261

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：肺がんは、日本人におけるがん死亡率の1位である。近年、先端医療のひとつとして粒子線治療(主に、陽子線または炭素線)が、徐々に普及しつつある。肺がんに対する放射線治療の副作用(肺線維症等)の解明と防護のため、人体実験を避け、生きたままヒト臓器・組織の長期維持を可能とする我々独自開発のシステムを用いた。

ヒト正常肺移植Super-SCIDマウスに炭素線(1Gy、3Gy)を照射し、2週間後に摘出し遺伝子発現解析を行った。遺伝子プローブの4倍以上の変化は、線量依存的に増加していた。どちらの線量にも共通する遺伝子プローブ数は、4分の1以下に減少していた発現は22個、4倍以上の増加は6個であった。

研究成果の概要(英文)：Lung cancer is the top of cancer mortality in Japan. Recently, particle beam therapy (proton or carbon ion beam) is used as one of the most advanced cancer treatments. To elucidate the side effects (pulmonary fibrosis, etc.) and to avoid human experimentation, we established PDX (Patient-Derived Xenograft) of human normal lung tissue in Super-SCID mice. Human normal lung tissues transplanted to Super-SCID mice were irradiated with carbon ion beam (1Gy, 2Gy). After removal two weeks after irradiation, we analyzed gene expression. More than 4-fold expression change in gene probes increased dose-dependently. The number of gene probes common for both doses which decreased by more than 4-fold expression were 22 and the increased were 6.

研究分野：実験病理学

キーワード：炭素線 X線 ヒト正常肺移植 Super-SCIDマウス

1. 研究開始当初の背景

肺がんは、日本人におけるがん死亡率の1位である。治療法として、放射線療法は単独または化学療法/外科手術との併用でかなりの割合で行われている。放射線治療では、副作用として肺正常部に肺線維症がおこる。近年、先端医療のひとつとして粒子線治療(主に陽子線または炭素線)が、徐々に普及しつつある。粒子線は身体深部の標的部分にエネルギーピークを設定できるため、標的(腫瘍部)に選択的に放射線照射を行うことができる。それでも周辺部の肺組織に肺線維症がおこるため正常組織への影響研究は避けては通れない。

2. 研究の目的

肺がんに対する放射線治療の副作用(肺線維症等)の解明と防護のため、人体実験を避け、生きたままヒト臓器・組織の長期維持を可能とする我々独自開発のシステムを用いる。手術残余のヒト正常肺組織を Super-SCID マウスに皮下移植したヒト肺組織置換マウスに、X線および最先端医療である粒子線を照射する。

3. 研究の方法 (図1)

(1) ヒト正常肺移植実験を行うため、IgG および IgM 値が検出限度以下(<1 µg/ml)の C3H/HeJ-md+; scid/scid LPS マウスの生産を行った。

(2) 肺がん手術時にやむなく摘出されるがん周辺の肺正常組織を患者および倫理委員会の承認を得て、医療機関より提供を受けた。約 5mm の大きさに細切し、麻酔下にて Super-SCID マウスの左右下腿部に移植する。

(3) 正常肺移植 1 週間後、放射線を照射する。X線は、医薬基盤・健康・栄養研究所の装置を使用する(HITACHI, MBR-3520R-3)。250kvp, 20mA、線量率 ~ 1 Gy/min で照射する。肺がん治療線量に近い線量(高線量)を照射するため、Super-SCID マウスでの肺移植部左右下腿部にのみ局所照射する。それ以外の

部分は、鉛板で遮蔽する。炭素線照射は放射線医学総合研究所の装置(HIMAC)を使用し、粒子線照射でも X線の照射野と同様の照射野を設定する。譲渡を受ける正常肺組織は、年 1~2 回の照射実験に合致する譲渡が極めて困難であるため、肺組織を特別なプログラムで凍結保存したものを扱い、炭素線照射および X線照射も行った。

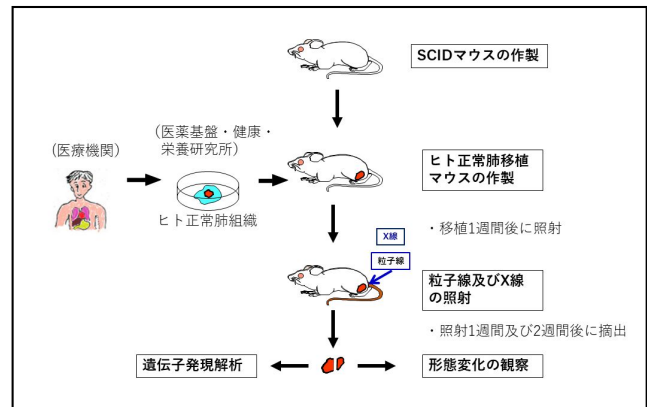


図 1. 研究の流れ

4. 研究成果

(1) 照射 1 週間および 2 週間後の遺伝子発現解析

手術直後のヒト正常肺組織を Super-SCID マウスに移植し、1 週間後に炭素線および X線を照射した。照射 1 週間(65 歳男性)および 2 週間後(64 歳女性)の遺伝子発現は、マイクロアレイ(Affymetrix, HG-U133A_2(遺伝子プローブ数 22232 個))解析で観察を行った。照射 1 週間後の遺伝子発現では、4 分の 1 以

	Decrease	Increase
Carbon 0.5Gy	32.5	49.3
Carbon 1Gy	27	55
X-ray 1Gy	22	37.5
X-ray 3Gy	29.5	22

表 1. 照射 1 週間後の遺伝子発現

	Decrease	Increase
Carbon 1Gy	135.5	85.5
Carbon 3Gy	176	108.5

表 2. 照射 2 週間後の遺伝子発現

下の減少、4 倍以上の増加に線量依存的な増加は見られなかったが(表 1)、照射 2 週間後では、線量依存的な増加がみられた(表 2)。

照射 2 週間後の遺伝子発現の 4 分の 1 以下の減少、4 倍以上の増加において、1Gy と 3Gy に共通する遺伝子の数は、減少は 22 個、増加では 6 個であった(表 3)。

Decrease	SERPINB3, SCGB1A1, C10orf81, LCN2, PROM1, IGHM, HLA-C, GABRP, Rheumatoid factor RF-ET12, CHIT1, Anti-thyroglobulin light chain variable region, immunoglobulin heavy locus, FAM20B, PLUNC, PLA2G2D, CD180, IGLC1, CKAP2, CYP4B1, IGH1, SLPI, TF
Increase	C10orf116, PPBP, ANGPTL4, ANGPT2, HMGA2, STC1STC1

表 3. 1Gy、3Gy に共通する遺伝子

(2)凍結保存を行ったヒト正常肺組織を用いた形態変化と遺伝子発現解析

特別なプログラムで凍結保存した肺組織(66 歳男性)を用い、ヒト正常肺組織を Super-SCID マウスに移植し、炭素線および X 線照射 2 週間後にヒト肺組織を摘出し形態変化と遺伝子発現解析の観察を行った。H.E 染色による病理組織像は、患者組織を一度凍結保存しているためか、肺胞内の空気もほとんどなく構造はなくなっていたが、細胞はよく維持されていた(図 2)。非照射組織と比べて、全体的に生存細胞(有核)の減少が少しみられ、X 線 3Gy でさらに減少がみられた。

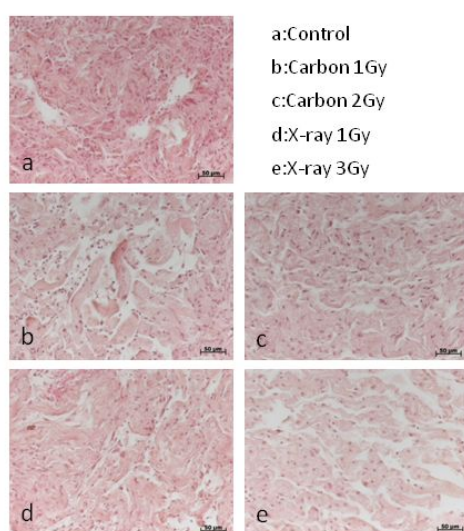


図 2. 凍結保存した正常肺組織を用いた形態観察

上記組織群の遺伝子発現の変化を観察したところ、非照射組織と比較して炭素線 1、

2Gy で 4 分の 1 以下に減少していたプローブ数は、77 個、39.5 個、4 倍以上の増加は 68 個、32.5 個であった。X 線 1、3Gy で 4 分の 1 以下に減少していたプローブ数は、55 個、76.5 個、4 倍以上の増加は 21 個、15 個であった(表 4)。手術摘出直後の新鮮な組織での遺伝子発現解析では、線量依存的に増加していたが、今回凍結保存組織を使用したためか、線量依存的な増加はみられなかった。

	Decrease	Increase
Carbon 1Gy	77	68
Carbon 2Gy	39.5	32.5
X-ray 1Gy	55	21
X-ray 3Gy	76.5	15

表 4. 凍結保存肺による遺伝子発現

本実験では、原子炉中性子線を照射したヒト甲状腺組織のように、線量に応じて遺伝子発現の増加が見られる結果(引用文献)がすべてにおいて得られたわけではなかった。凍結保存を行った組織での解析や、照射から摘出までの期間の違いにより、結果が異なるため慎重に条件を検討しなければならない。

< 引用文献 >

Shigeki Adachi, Haruko Ryo, Taisei Nomura, et al. Effects of Fission Neutrons on Human Thyroid Tissues Maintained in SCID Mice. *Mutat Res.*, 696, 107-113 2010.

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 2 件)

Transgenerational Effects of Radiation on Cancer and Other Disorders in Mice and Humans. Taisei Nomura, Larisa S Baleva, Haruko Ryo, Shigeki Adachi, Alla E Sipyagina, Natalya M Karakhan *J Radiat Cancer Res* 18(3), 123-134, 2017 (査読有)
DOI: 10.4103/jrcr.jrcr_30_17

野村大成、足立成基、梁 治子、坂巻 靖、鳥 正幸、吉留克英、辻本正彦、野々村祝夫、古澤佳也、鶴澤玲子。ヒトがん組織等移植 SCID マウスを用いた重粒子線治療の有効性・安全性の研究。放医研 平成 28 年度重粒子線がん治療装置等共同利用研究報

告書、I : 47 - 49, 2017 (査読無)

〔学会発表〕(計 1 件)

平成 28 年度 HIMAC 共同利用研究 成果発表
会

ヒトがん組織等移植 SCID マウスを用いた重
粒子線治療の有効性・安全性の研究。

野村大成、足立成基、梁 治子、坂巻 靖、
鳥 正幸、吉留克英、辻本正彦、野々村祝夫、
古澤佳也、鵜澤玲子

2017 年 4 月 16 日

〔図書〕 該当なし

〔産業財産権〕 該当なし

〔その他〕 該当なし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

足立 成基 (ADACHI, Shigeki)

国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研
究所・プロジェクト研究員

研究者番号 : 60379261

(2)研究協力者

野村 大成 (NOMURA, Taisei)

梁 治子 (RYO, Haruko)

吉留 克英 (YOSHIDOME, Katsuhide)

坂巻 靖 (SAKAMAKI, Yasushi)