

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 10 日現在

機関番号：15401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K15822

研究課題名(和文)重粒子線治療法を利用した口腔がんの集学的治療法の確立

研究課題名(英文) Establishment of the multidisciplinary treatment for oral cancer using a heavy particle ion radiation therapy

研究代表者

藤井 万紀子 (Fujii, Makiko)

広島大学・医歯薬保健学研究科(歯)・教授

研究者番号：70406031

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：頭頸部がんは、特に外科的アプローチで配慮すべき器官が密集する部位に発生することもあり、重粒子線治療の存在は大きい。重粒子線治療は、従来の放射線治療に比べ、重粒子線(炭素線)の物理学的特性から、体深部のがん組織に対して線量を高精度に集中できる。さらに、生物学的効果比(RBE)が2～3倍と高く、酸素増感比(OER)が0.5倍と小さいため、従来の放射線に比べて重粒子線はより高い効果を発揮できる。本件研究では、頭頸部がんに対する放射線治療のin vitroの研究を行い、更に放射線医学総合研究所で実際に行われている重粒子線治療に基づき、治療成績向上に貢献できる方法を探索した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

重粒子線治療法は日本発の治療法であることが知られており、実際に日本の技術、施設が世界で最も充実しており、がん研究分野において世界に先んじて効果を上げている治療法の一つである。各種がん治療成績の向上に伴い、将来的に世界各国に重粒子線照射治療の施設が増えていくことは確実である。現在放射線医学総合研究所では、重粒子線照射装置の小型化にも取り組んでおり、海外への輸出や国内での施設増設も更に可能性が高まっていくと考えられる。今後重粒子線治療が特定の難治がんに対する標準治療法となる可能性を鑑みて、新規治療法の開発に取り組んでいく必要がある。

研究成果の概要(英文)：The National Institute of Radiological Science (NIRS) and National Institute for Quantum and Radiological Science and Technology have an ongoing and innovative patient treatment regimen using a "Heavy Ion Medical Accelerator" since 1994. Although the number of carbon-ion accelerator facilities are not abundant in Japan, though their numbers are still increasing, remarkably, the number of the patients treated at the NIRS is the largest in the world. Through ongoing efforts at such facilities, it is now known that carbon-ion therapy is an effective and low-invasive treatment option for a broad range of cancer cell types. In this research, we have searched new therapy which might contribute the improvement of patient prognosis.

研究分野：がんの分子生物学

キーワード：頭頸部がん 重粒子線治療法 口腔扁平上皮癌 放射線治療抵抗性 頭頸部粘膜悪性黒色腫

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

1. 研究開始当初の背景

口腔がんの治療は、主に手術療法、放射線療法の局所両方と、化学療法、免疫療法などの全身療法が用いられている。局所両方の中で、放射線療法は口腔がん患者にとって審美的、機能的保存の観点から、古くから用いられてきた。近年、重粒子線を用いたがん治療が開発され、臨床現場での治療の有効性が国内外で示されている。

申請者は、放射線による皮膚の創傷治癒に TGF- β のシグナル経路の Smad3 が関与しているという研究を行っていた経験がある (*Flanders KC Am J Pathol 160: 1057- 68, 2002*)。放射線は、皮膚に当てると炎症細胞浸潤が活発になり、種々のサイトカインが放出され線維芽細胞の増生が起こり、皮膚に損傷が与えられ、機能障害の原因ともなる。重粒子線治療の特徴は、従来の放射線治療に比べ体の深部組織に対して線量を高い精度で集中させることができ、更に細胞の殺傷能力が 2-3 倍高いことである。正常組織に与える影響を極力抑え、がん細胞のみを強力に殺傷することが可能となり、単独での根治術としての役割が期待されている。国立研究開発法人放射線医学総合研究所との共同研究により、重粒子線治療の口腔がんに対する治療法を検討することが重要と考えられた。

2. 研究の目的

本研究は口腔扁平上皮癌細胞に対して重粒子線治療が有効であることを調べることを目的とした。口腔がんに対する従来行われている放射線治療、重粒子線の有効性を検討し、アポトーシス誘導の機構を解明することにより、口腔がんの即効性のある治療法の選択肢としての重粒子線治療を検討した。

3. 研究の方法

ヒト口腔扁平上皮癌細胞株に対して X 線と重粒子線を照射し、増殖を抑制する線量をそれぞれ調べる。口腔扁平上皮癌細胞株では P53 の遺伝子欠失が認められるが、欠失によって放射線の感受性の変化が生じるかどうかを調べる。また、口腔扁平上皮癌の放射線抵抗性に影響を与える遺伝子があるかを検討する。さらにマウスにヒト口腔扁平上皮癌細胞株およびがん幹細胞を移植し、重粒子線を照射して *in vivo* での細胞増殖抑制効果を検討し、更に組織でのアポトーシス関連遺伝子の発現を調べることを目標とした。

4. 研究成果

通常の X 線による放射線治療では、体表面で線量が高く、深いところで線量が低くなるが、一方で深部にも到達するため正常細胞や組織にも損傷を与えてしまう。陽子線、重粒子線は一定の深さで急に線量が高くなるピークがあり、それよりも進まない。エネルギー量をコントロールすることにより、腫瘍の形に合わせた照射を行うことができ、十分な範囲の切除が困難な口腔癌治療には、非常に有望であると考えている。重粒子線の細胞殺傷能力はその生物学的効果比 (RBE) が従来の放射線と比べて 2-3 倍高いことから、がん治療において大きな効果を発揮することは疑いようのないものである。

一方口腔がんは、その審美的、機能的観点から広範囲の切除が非常に困難であり、外科的手術の侵襲は多大で、咀嚼、嚥下などの生命活動の維持に対する影響のみならず、患者の社会的な生活、社会復帰にも影響は極めて甚大である。口腔扁平上皮癌は、外科的手術が困難な部位や機能回復に影響を与える部位での発生も多く、古くから放射線療法も含めた治療が行われてきた。口腔扁平上皮癌では EGFR の変異の他、P16 遺伝子の不活性化、P53 遺伝子の変異などが高頻度に認められる遺伝子変異として報告されている。治療法は、外科的切除が第一選択で、補助的に放射線療法、科学療法や免疫療法が行われている。そこに今回重粒子線による治療の可能性について検討する機会を得た。

今回、我々は重粒子線治療の効果を調べる前段階として、X 線治療に抵抗性を示す口腔扁平上皮癌細胞株について特性を調べた。その結果、E-cadherin を過剰発現した口腔扁平上皮癌細胞株では、X-線照射した際の増殖抑制効果に抵抗性を示すことがわかった。

一方、国立研究開発法人放射線医学総合研究所で重粒子線照射装置 HIMAC を用いた研究を開始した。2018 年 4 月より一部の頭頸部がんに対する重粒子線治療に公的医療保険が適用されることとなったが、これは従来の放射線治療に感受性の高い扁平上皮癌の患者ではなく、感受性の低い腺様嚢胞がん、粘膜悪性黒色腫の患者に対してであった。腺様嚢胞癌、粘膜悪性黒色腫に罹患する患者数は一般的には多くなく、特に粘膜悪性黒色腫は希少がんのひとつに数えられている。粘膜悪性黒色腫は皮膚由来悪性黒色腫と比較しても悪性度は非常に高く、腫瘍が小さい場合でも切除しない症例が多い。一方、腺様嚢胞がんは切除しきれない症例が重粒子線治療に適応される。

従って放射線医学総合研究所の共同研究計画について、重粒子線照射実験の対象を口腔扁平上皮癌細胞から、粘膜悪性黒色腫細胞に変更した。悪性黒色腫細胞株、粘膜悪性黒色腫細胞株を用いて小分子化合物のスクリーニングを行い、増殖に変化を与えるいくつかの候補を絞り、現在解析中である。一方、HIMAC 照射を用いた、悪性黒色腫細胞株および粘膜悪性黒色腫細胞株の RBE を測定するための実験も行った。粘膜悪性黒色腫細胞株に HIMAC を照射したところ、従来の放射線と比べて低い線量で効果的に細胞増殖能を抑制することができた。また、コロニーアッセイ法を行ったところ、重粒子線照射を行うと通常の X 線照射と比較して、非常に

低線量で、コロニー数の低下が認められ、細胞殺傷能力が高いことがわかった。通常の X 線照射では、DNA 2 重らせん構造の 1 本が切断されることが多く、DNA 修復機構が働くため細胞の致死率が低くなる。重粒子線照射では、2 本の DNA 鎖が切れることが多く、DNA 修復機構が働かずに細胞死を起こしてしまうのがその理由と考えられる。

さらに、重粒子線照射における細胞内シグナルの解析を進めている。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

1. Ikeno S, Nakano N, Sano K, Minowa T, Sato W, Akatsu R, Sakata N, Hanagata N, Fujii M, Itoh F, Itoh S. PDZK1-interacting protein 1 (PDZK1IP1) traps Smad4 protein and suppresses transforming growth factor- (TGF-) signaling. J Biol Chem. 2019; 294:4966-80 査読有
2. Nguyen PT, Nguyen D, Chea C, Miyauchi M, Fujii M, Takata T. Interaction between N-cadherin and decoy receptor-2 regulates apoptosis in head and neck cancer. Oncotarget. 2018 ; 9 :31516-30 査読有

〔学会発表〕(計 2 件)

1. 大森 さくら、湯徳 靖友、藤井 万紀子、小池 学：悪性胸膜中皮腫細胞に対するスタウロスポリンの細胞死誘導効果 第 77 回日本癌学会学術総会 2018 大阪
2. Hoang T.D. Nyuyen, 峯 裕一、関戸 好孝、藤井 万紀子：がん細胞における CTGF の役割 第 77 回日本癌学会学術総会 2018 大阪

〔図書〕(計 1 件)

1. 藤井 万紀子、小藤 昌志：重粒子線を主体とした頭頸部がん集学的治療の展望 BIO Clinica 34 (4) 2019 70-74

〔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：小池 学

ローマ字氏名：Manabu Koike

所属研究機関名：国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構

部局名：放射線医学総合研究所 重粒子線治療研究部

職名：主幹研究員 (定常)

研究者番号 (8 桁)：70280740

(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。