

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10490

研究課題名(和文) 肺癌に対するEGFR発現相違に基づくオーダーメイド化学重粒子線療法の開発研究

研究課題名(英文) Basic research of custom-made chemo heavy-ion radiotherapy based on EGFR expression difference for lung cancer

研究代表者

高橋 健夫 (TAKAHASHI, TAKEO)

埼玉医科大学・医学部・教授

研究者番号：70241883

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：重粒子線(炭素線)は良好な物理学的線量分布に加え、生物学的効果比がX線に対して高く、特に放射線抵抗性腫瘍に対して有効である。頭頸部非扁平上皮癌や骨軟部腫瘍、など多くの放射線抵抗性腫瘍に対して良好な局所制御効果が報告され、一部で保険収載されている。今回、難治性である肺癌に対する化学療法併用重粒子線治療の基礎研究をヒト肺癌細胞を用いて行った。肺癌に用いられる抗癌剤と重粒子線照射の併用により、細胞致死効果が増強し、相乗効果が認められることが細胞実験で明らかとなった。EGFR変異の有無に関わらず相乗効果が顕著であった。相乗効果の機序には照射後早期のアポトーシスと照射3日後のセネッセンスが関与していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

重粒子線(炭素線)治療は難治性の放射線抵抗性腫瘍に対して有効であり、前立腺癌や骨軟部腫瘍、頭頸部癌(非扁平上皮癌)が保険適応となっている。物理学的線量分布と生物学的効果が極めて高い治療のため、局所効果が極めて良好で副作用の少ない治療が可能である。よって今後は死亡数の多く、局所制御効果が不良な局所進行肺癌に対しても、適応の拡大が期待される。標準的化学療法と重粒子線治療との併用の有効性が確立すれば、社会的な意義が高い。本研究では培養細胞実験で重粒子線(炭素線)と殺細胞性抗癌剤の併用効果を確認し、相互作用のメカニズムを解明する意義の高い研究である。

研究成果の概要(英文)：In addition to superb physical dose distribution, heavy-ion beam (carbon beam) has a high relative biological effectiveness against X-rays and is particularly effective for radioresistant tumors. A good local control effect has been reported for many radioresistant tumors such as head and neck non-squamous cell carcinoma and bone and soft tissue tumors, and some have been covered by insurance. In this study, we carried out a basic research of heavy-ion radiotherapy with chemotherapy for lung cancer using human lung cancer cells. It was clarified in a cultured cell experiment that the combined use of an anticancer drug used for lung cancer and heavy-ion beam irradiation enhances the cell killing effect and a synergistic effect is observed. The synergistic effect was significant with or without the EGFR mutation. The mechanism of synergistic effects involved early apoptosis after irradiation and senescence 3 days after irradiation.

研究分野：放射線治療生物学

キーワード：重粒子線 抗癌剤 非小細胞肺癌 放射線治療 アポトーシス

1. 研究開始当初の背景

重粒子線（炭素線）は優れた線量分布を有し、直接 DNA 障害を引き起こす直接効果が主体であることから細胞致死効果が大きく、X 線と比較して生物学的効果は大きく放射線抵抗性腫瘍に有用であるとされている。実際の臨床面においても重粒子線治療は臨床試験の結果から、有用性が明らかで普及の段階に入っている。ただし今後、治療適応が拡大するかは現在の臨床試験で確認されている前立腺癌や 期肺癌などに加え、局所進行癌（無治療例）で有用性が確認できるかによると考えられる。今までに私は重粒子線に対する感受性は p53 ステータスに依存せず、X 線に対して放射線感受性の異なる腫瘍細胞も、重粒子線照射（炭素線）においては同一の照射効果であることを明らかにした。さらに放射線抵抗性腫瘍においてトポイソメラーゼ 阻害剤(エトポシド)が重粒子線照射効果を増感させることを明らかにした(一方、X線で顕著な増感効果を示すシスプラチンで増感は見られなかった)。次に行うべき検討はヒト腫瘍を用いた重粒子線と抗癌剤の併用効果である。特にX線に対する放射線感受性の差異が報告されている EGFR ステータスの相違による重粒子線治療効果の検討は必須である。現在、直腸癌再発、悪性黒色腫、膀胱癌、等の軟治性疾患に対し抗がん剤の併用による治療プロトコルを検討しているが、加えて局所進行非小細胞肺癌に対しても同様のアプローチが期待される。肺癌は死亡率第1位であり、切除不能 期非小細胞肺癌の化学放射線療法による5年生存率は15-20%でしかなく、局所再発は40%程度にのぼる。この治療成績の向上が大きな課題となっている。

2. 研究の目的

(1)新たな戦略が期待される肺癌に着目して、ヒト腫瘍（肺癌細胞）、特に異なるX線効果を認めるEGFR 野生株、EGFR 変異株の2種のヒト肺腺癌細胞を用いて、重粒子線に対する細胞死機構の解明、ならびに抗癌剤併用時の増感効果の解明を分子生物学的に行う。さらに(2)放射線異感受性細胞における検討、と抗癌剤の併用効果の強度ならびに作用機序を明らかにする。(3)EGFR ステータスの相違が重粒子線・抗癌剤併用効果にいかに関与を及ぼすかを明らかにする。以上が目的である。今回の課題では特に臨床的に課題の多い、EGFR ステータスの異なるヒト肺癌細胞に焦点をあて抗癌剤との併用効果について作用機序を追求する。

3. 研究の方法

EGFR ステータスの相違により、重粒子線増感様式・程度が異なるかを invitro の実験系で検討する。ヒト肺癌細胞（A549(EGFR wild type)、HCC827(EGFR mutant type)）のX線照射ならびに重粒子線（炭素線）照射による細胞生存率をコロニー形成法で求める(D₀ 値, D_q 値 / 値)。X線照射は実験用X線照射装置を用いて行う。炭素線は6 cm SOBP(Spread-Out Bragg Peak)ビームを用いる。X線照射後のアポトーシス出現率、セネッセンス出現率、ならびにDNA修復蛋白(DNA-PK, Ku70, Ku80)の発現を見る。

次にヒト肺癌細胞 (A549、HCC827) と抗癌剤の併用効果をコロニー形成法による細胞生存率曲線から、増感の有無を調べる。抗癌剤は局所進行肺癌で放射線治療 (X線) と同時併用で標準的に用いられる、カルボプラチン、パクリタキセル、エトポシドを使用する。

まずIC₅₀ 量を用い、細胞生存率をコロニー形成法で求め (D₀ 値, D_q 値, / 値)、X線抗癌剤併用群の結果と比較検討し、RBE を求める。抗癌剤同時併用の X 線照射後のアポトーシス出現率、セネッセンス出現率、ならびに DNA 修復蛋白(DNA-PK, Ku70, Ku80)の発現を見る。EGFR ステータスの相違と炭素線に対する感受性の間の相関について、検討する。X線照射における増感効果と比較し、細胞生存率ならびにアポトーシス、セネッセンス出現頻度から RBE(Relative Biological Effectiveness)を求め検討する。

4. 研究成果

ヒト肺癌細胞 A549(EGFR wild type)ならびに HCC827(EGFR mutant type)ともに炭素線照射の細胞致死効果は同等であった。A549 ならびに HCC827 はカルボプラチン、パクリタキセル、エトポシドのいずれの併用においても、炭素線照射単独に対して相乗効果を示すことが明らかとなった。この現象はX線照射の場合と同様に認められた。増感効果はそれぞれ RBE (Relative Biological Effectiveness)が 1.2~1.4 程度で同等であった。細胞生存率曲線、細胞増殖能力測定いずれの解析法でも同様の相乗効果を示した。細胞死のメカニズム解析においては照射後数時間のアポトーシスと照射 3 日後のセネッセンスが X 線照射時に比べ増加していた。アポトーシスならびにセネッセンスのいずれにおいても炭素線照射と抗がん剤併用で有意な増強が認められた。その機序としては炭素線照射とカルボプラチンもしくはパクリタキセルの併用で p21 ならびに p53 の発現増強が認められたことに関連すると考えられた。また Ku70, Ku80 発現の増強がいずれの炭素線、X線いずれの群においても認められた。EGFR ステータスの相違による影響は明らかにできなかった。今後の化学重粒子線治療を局所進行肺癌に適応するうえで重要なデータが得られた。治療レジメンの開発に結びつく研究成果である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Soda R, Hatanaka S, Hariu M, Shimbo M, Yamano T, Nishimura K, Kondo S, Utsumi N, Takahashi T	4. 巻 28
2. 論文標題 Evaluation of geometrical uncertainties on localized prostate radiotherapy of patients with bilateral metallic hip prostheses using 3D-CRT, IMRT and VMAT: A planning study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Xray Sci Technol	6. 最初と最後の頁 243-254
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/XST-190598	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Mizuno N, Yamauchi R, Kawamori J, Itazawa T, Shimbo M, Nishimura K, Yamano T, Hatanaka S, Hariu M, Takahashi T	4. 巻 12
2. 論文標題 Evaluation of a new commercial automated planning software for tangential breast intensity-modulated radiation therapy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 10.1007/s12194-019-00515-9	6. 最初と最後の頁 249-259
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12194-019-00515-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kodama T, Saito Y, Hatanaka S, Hariu M, Shimbo M, Takahashi T	4. 巻 20
2. 論文標題 Commissioning of the Mobius3D independent dose verification system for tomotherapy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Applied Clinical Medical Physics	6. 最初と最後の頁 12-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/acm2.12572	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Murata H, Okamoto M, Takahashi T, Motegi M, Ogoshi K, Shoji H, Onishi M, Takakusagi Y, Okonogi N, Kawamura HY, Okazaki A, Asao T, Kuwano H, Nakano T	4. 巻 38
2. 論文標題 SUVmax-based Parameters of FDG-PET/CT Reliably Predict Pathologic Complete Response After Preoperative Hyperthermo-chemoradiotherapy in Rectal Cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 5909-5916
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticanres.12935	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamano T, Takahashi T, Ueno S, Iigima Y, Nishimura K, Washizu K, Soda R, Utsumi N, Hondo M, Shimbo M, Hatanaka S, Haryu M	4. 巻 9
2. 論文標題 Evaluation of Quality of Life and Psychological Response in Recurrent and Metastatic Tumors Treated with Palliative Radiotherapy.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Cancer Therapy	6. 最初と最後の頁 351-361
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4236/jct.2018.94032.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hatanaka S, Shimbo M, Hariu M, Nakajima G, Todoroki K, Hosaka K, Watanabe T, Washizu K, Utsumi N, Yamano T, Nishimura K, Takahashi T.	4. 巻 26
2. 論文標題 Simple index for validity of the evaluation point for dosimetric verification results of intensity-modulated radiation therapy using a Farmer-type ionization chamber.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of X-Ray Science and Technology.	6. 最初と最後の頁 473-480
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/XST-17339	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Watanabe T, Miyashita H, Notake R, Todoroki K, Nakajima G, Washizu K, Utsumi N, Hatanaka S, Hariu M, Yamano T, Nishimura K, Shimbo M, Takahashi T.	4. 巻 41
2. 論文標題 Retrospective analysis of multi-institutional, patient-specific treatment planning results of high-dose-rate intracavitary brachytherapy for gynecological cancer using V100.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Australasian Physical & Engineering Sciences in Medicine.	6. 最初と最後の頁 1069-1074
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13246-018-0701-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakamura N, Kawamori J, Takahashi O, Shikama N, Sekiguchi K, Takahashi T, Kato S, Ogita M, Motegi A, Akimoto T.	4. 巻 48
2. 論文標題 Palliative radiotherapy for breast cancer patients with skin invasion: a multi-institutional prospective observational study.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Jpn J Clin Oncol	6. 最初と最後の頁 555-558
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jjco/hyy054.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi S, Kinuya S, Nonomura N, Shinohara N, Suzuki K, Suzuki H, Nakamura K, Satoh T, Tateishi U, Yoneda T, Horikoshi H, Igawa T, Kamei T, Koizumi M, Kosaka T, Matsubara N, Miyake H, Mizokami A, Mizowaki T, Nakamura N, Nozawa M, Takahashi T, Uemura H, Uemura M, Yokomizo A, Yoshimura A, Takehi Y.	4. 巻 6
2. 論文標題 Japanese expert panel meeting on the management of prostate cancer with bone metastases.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncol Ther.	6. 最初と最後の頁 157-171
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s40487-018-0088-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shirai K, Saitoh J, Musha A, Abe T, Kobayashi D, Takahashi T, Tamaki T, Kawamura H, Takayasu Y, Shino M, Toyoda M, Takahashi K, Hirato J, Yokoo S, Chikamatsu K, Ohno T, Nakano T	4. 巻 108
2. 論文標題 Prospective observational study of carbon-ion radiotherapy for non-squamous cell carcinoma of the head and neck.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2039-2044
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13325	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 山野貴史、鷲巣佳奈、西村敬一郎、畑中星吾、新保宗史、上野周一、清水裕次、渡部渉、長田久人、本田憲業、高橋健夫	4. 巻 44
2. 論文標題 脳転移再発と放射線脳壊死の鑑別に苦慮し長期経過観察がなされた小細胞肺癌の2例	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 断層映像研究会雑誌	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Takahashi T, Yamano T, Nishimura K, Ueno S, Washizu K, Soda R, Kondo S, Utsumi N, Shimbo M, Hatanaka S, Hariu M
2. 発表標題 Hypofractionated stereotactic radiotherapy for inoperable arteriovenous malformations
3. 学会等名 ESTRO 38 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takahashi T, Murata H, Shoji H, Onishi M, Takakusaki Y, Okonogi N, Okazaki A, Nishimura K, Yamano T, Ogoshi K, Nakano T.
2. 発表標題 Prediction of preoperative hyperthermo-chemoradiotherapy response in locally advanced rectal cancer.
3. 学会等名 ESTRO 37 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yamano T, Takahashi T, Nishimura K, Washizu K, Soda R, Kurosaki H, Utsumi N, Shimbo M, Hatanaka S, Hariu M.
2. 発表標題 Clinical outcome of hypofractionated stereotactic radiotherapy for inoperable skull base meningioma.
3. 学会等名 ESTRO meets Asia 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nishimura K, Shimbo M, Hatanaka S, Yamano T, Washizu K, Utsumi N, Soda R,
2. 発表標題 Changes in Volume and Tumor Position during Stereotactic Body Radiotherapy of Lung.
3. 学会等名 JRS 77
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 2. Yamano T, Takahashi T, Nishimura K, Washizu K, Soda R, Utsumi N, Hatanaka S, Haryu M, Honda M, Shimbo M.
2. 発表標題 Therapeutic Efficacy of Hypofractionated Stereotactic Radiotherapy for Inoperable Arteriovenous Malformation.
3. 学会等名 JRS 77
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takahashi T, Yamano T, Nishimura K, Utsumi N, Shimbo M, Hatanaka S, Ueno S, Iijima Y
2. 発表標題 Evaluation of QOL and psychological response in patients treated with palliative radiotherapy.
3. 学会等名 European Society for Radiotherapy & Oncology 36 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Nakamura N, Kawamori J, Takahashi O, Shikama N, Sekiguchi K, Takahashi T, Kato S, Ogita M, Haga C, Ito R, Nishimura K, Yamano T, Yoshida K, Motegi A, Akimoto T
2. 発表標題 Palliative radiotherapy for breast cancer with skin invasion: A multi-institutional prospective observational study
3. 学会等名 Annual Meeting of the American Society for Radiation Oncology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yamano T, Takahashi T, Nishimura K, Washizu K, Souda R, Ueno S, Shimbo M, Hatanaka S, Iijima Y
2. 発表標題 Evaluation about quality of life and psychophysiological effect in patients treated with palliative radiotherapy for cancer recurrence of metastasis.
3. 学会等名 The 76th annual meeting of the Japan radiological society
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Honda N, Osada H, Watanabe W, Ohno H, Shimizu Y, Uehara T, Nishimura K, Yamano T, Takahashi T, Itoh T
2. 発表標題 Ventilation/perfusion ratio map by Dual-energy CT after Xenon inhalation and intravenous contrast media in patients with lobectomy.
3. 学会等名 The 76th annual meeting of the Japan radiological society
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 1. 日本放射線腫瘍学会教育委員会編集（高橋健夫,他）	4. 発行年 2018年
2. 出版社 秀潤社	5. 総ページ数 209
3. 書名 やさしくわかる放射線治療学	

1. 著者名 木崎昌弘、高橋健夫	4. 発行年 2017年
2. 出版社 中外医学社	5. 総ページ数 492
3. 書名 血液内科グリーンノート	

1. 著者名 大西洋, 唐澤久美子, 唐澤克之, 高橋健夫	4. 発行年 2017年
2. 出版社 秀潤社	5. 総ページ数 1255
3. 書名 がん・放射線療法2017	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考