

平成 22 年 6 月 18 日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2008 年度～2009 年度
 課題番号：20790879
 研究課題名 (和文) 食道癌の治療効果修飾因子の解析と新規治療薬剤の臨床応用に関する基礎的検討
 研究課題名 (英文) Application of a novel molecular-targeting agent for esophageal carcinoma in vitro.
 研究代表者
 野中 哲生 (NONAKA TETSUO)
 神奈川県立がんセンター 放射線腫瘍科 医長
 研究者番号：40375556

研究成果の概要 (和文)：

ヒト由来食道扁平上皮癌細胞株 (TE-1) およびヒト由来頭頸部癌細胞株 (LMF-4) での X 線照射後の細胞生残率を熱ショックタンパク 90 (Hsp90) シャペロンコンプレックス阻害剤である 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin (17-AAG) を併用し検討した。

照射に 17-AAG を併用すると細胞生残率は有意に低下し相加的な殺細胞効果が認められた。これは本薬剤による G2/M 期の遷延が一因であると思われた。本薬剤による放射線増感効果が得られたが、今後の臨床応用にはさらに検討が必要と思われた。

研究成果の概要 (英文)：

The radio-sensitization of the Hsp90 inhibitor, 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin (17-AAG) was investigated in two human squamous cell cancer cell lines. Two squamous cell carcinoma (SCC) cell lines, LMF4 (oral cancer cell line) and TE1 (esophageal cancer cell line) were used.

17-AAG showed radio-sensitization in cell killing of the two squamous cell lines. These results suggest that Hsp90 may be an appropriate target for selectively enhancing the radio-sensitivity of tumor cells.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 20 年度	2,500,000	750,000	3,250,000
平成 21 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：放射線医学，放射線生物学

科研費の分科・細目：生物系 医歯薬学分野 内科系臨床医学 放射線科学

キーワード：食道癌，放射線治療，放射線生物学

1. 研究開始当初の背景

進行期食道癌の治療成績は外科手術あるいは放射線療法でも満足する結果は得られていないのが現状である。これまでの臨床的検討から患者背景によって進行食道癌の治療成績に差があることは明らかになりつつあるが、個々の症例による放射線治療あるいは化学療法に対する感受性の違い、また治療後の予後の予測は現時点では困難であると思われる。また、本邦において食道癌に対する分子標的薬剤による治療成績の向上についての検討はいまだ不十分である。

2. 研究の目的

ヒト由来の扁平上皮癌細胞株を用いて熱ショックタンパク 90 (Hsp90) に注目し放射線照射に対する感受性について分子生物学的なアプローチから検討した。具体的には X 線照射後の細胞生残率を検討し、さらに Hsp90 シャペロンコンプレックス阻害剤をはじめ分子標的薬剤を併用し、照射後の DNA 修復タンパクの発現の変化やストレス応答における生存シグナル伝達への Hsp90 の関与について解析をおこなった。

3. 研究の方法

(1) 実験腫瘍

現有する培養系で増殖可能なヒト由来の食道癌細胞株 (TE-1)、および頭頸部扁平上皮癌細胞株 (LMF-4) を用いた。

(2) 放射線照射, 重粒子線照射

培養細胞に X 線あるいは重粒子線 (炭素線) を照射し細胞生残率, およびその修飾因子, メカニズムについて解析した。

①細胞生残率はコロニー形成法

②細胞周期はフローサイトメトリー

4. 研究成果

(1) 17-AAG による細胞毒性は時間および濃度依存性であった。

(2) X 線照射単独および 17-AAG (100nM) 併用による細胞生残率が 10%まで低下する線量 (D₁₀) は TE-1 で 7.09Gy, 4.49Gy, LMF-4 で 7.73Gy, 4.69Gy であり, 17-AAG による相加的な殺細胞効果が認められた (表 1-2)。

(3) 2 つの細胞株ともに X 線照射後, 細胞周期は G2/M 期に分布したが (G2 ブロック), その割合は照射線量依存性に増加した (図 1-2)。放射線照射に 17-AAG を併用すると照射線量依存的な G2/M 期の割合は増加しなかったが, TE-1,

LMF-4 ともに G2/M 期が有意に遷延していた (図 3-4)。

表 1

TE-1	D ₁₀ (Gy)
X線単独	7.09
X線+17-AAG	4.49
炭素線単独	1.38
炭素線+17-AAG	0.95

表 2

LMF-4	D ₁₀ (Gy)
X線単独	7.73
X線+17-AAG	4.69
炭素線単独	1.51
炭素線+17-AAG	1.32

(4) 炭素線照射による D₁₀は TE-1 で 1.38Gy, LMF-4 で 1.51Gy であったが, X 線照射でみられた 17-AAG 併用による感受性の修飾は認められなかった (表 1-2)。

図 1. 縦軸 : G2/M 期の細胞の割合, 横軸 : 時間経過 (TE-1)

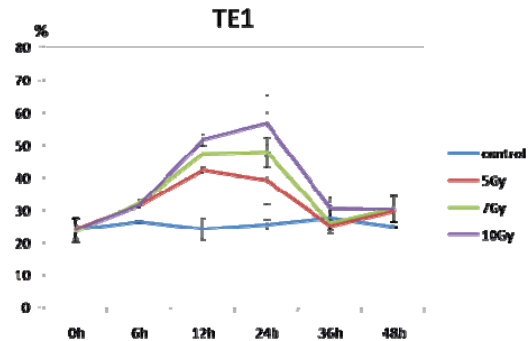


図 2. 縦軸 : G2/M 期の細胞の割合, 横軸 : 時間経過 (LMF-4)

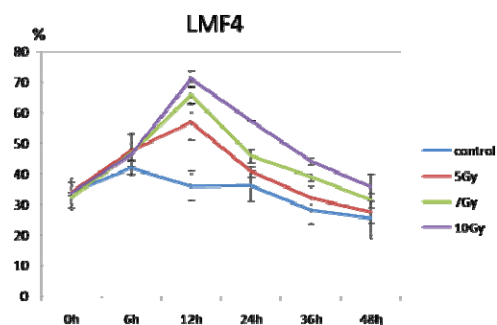


図 3. 縦軸：G2/M 期の細胞の割合，横軸：時間経過（TE-1）

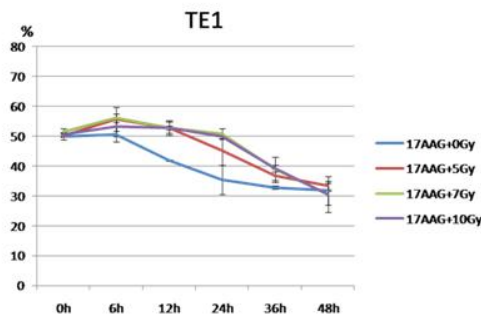
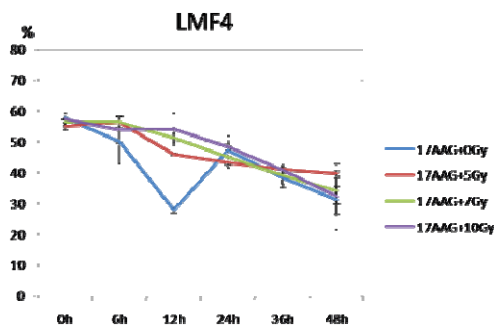


図 4. 縦軸：G2/M 期の細胞の割合，横軸：時間経過（LMF-4）



放射線照射に 17-AAG を併用すると有意に細胞生残率の低下が認められたが，その機序として G2 ブロックの延長が一因であると思われた。このことから今後，本薬剤の臨床応用により食道癌の治療成績の向上が期待できると思われた。また炭素線による殺細胞効果は従来の X 線照射よりも高くこの生物学的な特性についてはさらに検討が必要と思われた。

図，表の説明

表 1

TE-1 に X 線照射および炭素線を照射した際の D₁₀。また，それぞれに 17-AAG (100nM) を照射の 24 時間前から接触させた。

表 2

LMF-4 に X 線照射および炭素線を照射した際の D₁₀。また，それぞれに 17-AAG (100nM) を照射の 24 時間前から接触させた。

図 1-2

X 線照射後の G2/M 期にある細胞の分布。照射線量依存性にその割合が増加し，TE-1 (図 1) では 12-24 時間後，LMF-4 (図 2) では 6-12 時間後にピークが認められた。

図 3-4

X 線照射に 17-AAG を併用した際の G2/M 期にある細胞の分布。17-AAG 併用によって G2/M 期の割合は増加しなかったが，G2/M 期の遷延が認められた。

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 1 件)

1. Harada K, Nonaka T, et al. Heavy-ion-induced bystander killing of human lung cancer cells: Role of gap junctional intercellular communication. Cancer Science, 査読あり, Apr;100(4), 2009, p684-688.

[学会発表] (計 2 件)

1. Musha A, Nonaka T, et al. An interaction of X-ray irradiation and heat shock protein inhibitor, 17-AAG, for squamous cell carcinomas in vitro. 国際細胞ストレス学会, 平成 21 年 10 月 6 日-9 日, 札幌市.

2. Nonaka T, et al. The impact of concurrent chemoradiotherapy for patients with stage II-III squamous cell carcinoma of the esophagus. 米国放射線腫瘍学会, 平成 20 年 9 月 21 日, ボストン (米国).

〔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〕

特になし

6. 研究組織

(1)研究代表者

野中 哲生 (NONAKA TETSUO)

神奈川県立がんセンター

放射線腫瘍科 医長

研究者番号：40375556

(2)研究協力者

武者 篤 (MUSYA ATSUSHI)

群馬大学大学院医学系研究科 病態腫瘍制

御学講座 腫瘍放射線学

研究者番号：09016000065BY