

平成 22 年 6 月 16 日現在

研究種目： 若手研究（B）
 研究期間： 2008 ～ 2009
 課題番号： 20790908
 研究課題名（和文） 遺伝子解析による化学放射線治療感受性予測法の開発～腫瘍細胞を用いた基礎研究～
 研究課題名（英文） Development of prediction method for chemoradiation sensitivity by gene analysis -basic study with tumor cell line -
 研究代表者
 深田 淳一（FUKADA JUNICHI）
 慶應義塾大学・医学部・助教
 研究者番号：50338159

研究成果の概要（和文）：本研究の成果として、アンチセンス法からは、放射線照射および抗癌剤投与による蛍光発色により、遺伝子発現による定性的な治療効果予測が期待できることと、機能的画像診断法への応用も今後期待されることが挙げられる。その一方、定量的な遺伝子発現量の測定では、放射線投与量と遺伝子発現量の間用量関係は確認できなかったことから、治療効果の有効性の評価法としては不十分であり、さらなる検討が必要であると思われた。

研究成果の概要（英文）：As result of this study, anti-sense method with fluorescence color by radiation exposure and the anticancer agent is a qualitative curative effect prediction by the gene expression, and an expecting application to the functional diagnostic imaging. On the other hand, I could not find the quantitative relationship between gene expression and radiation dose. Further examination is warranted to establish the prediction method for radiation sensitivity.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,200,000	660,000	2,860,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：放射線・生物学・遺伝子

1. 研究開始当初の背景

最近では消化器癌、脳腫瘍、子宮・卵巣癌、整形外科系腫瘍などあらゆる部位の悪性腫瘍に化学放射線療法が行われるようになっており、生存率の向上が多く報告されている。

慶應義塾大学グループでも頭頸部腫瘍、食道癌などで多くの化学放射線療法症例を経験、検討し、その成績を報告してきた。一方では、化学放射線療法に対する反応が認められない上に、抗癌剤と放射線両者の副作用による

QOL の低下や、合併症による寿命短縮すら懸念される患者群が存在する。また、否定的な結果に終わった臨床試験は報告されない傾向にあるため、化学放射線療法の効果が実際より過大評価され、色々な種類の抗癌剤と放射線の組み合わせが、比較的安易に試されている実感もある。化学放射線療法施行においては、患者さんに対してはその間、局所の疼痛、食欲低下、免疫抑制をはじめとする様々な有害反応による身体的苦痛のみならず、多大となる治療費、入院費などによる経済的負担を増大させ、これは医療費の増大を招いている一因とも考えられる。また一方では医療スタッフ側に対してもその治療計画や、様々な合併症対策でその仕事を明らかに増大させる。これまで、放射線照射の腫瘍感受性を予測する方法は開発されておらず、照射前ないし、照射早期に治療効果を予測する意義ははかりしれない。悪性腫瘍の放射線治療に際して各種抗癌剤を併用する際に、治療開始前、あるいは治療開始早期に抗癌剤・放射線照射に対する腫瘍の感受性が予測できれば、感受性の良好な症例では抗癌剤・放射線量の軽減を図ることができ、一方、感受性の低い症例では別の有効な治療法（手術療法の併用など）の選択が可能となり、患者さんの無意味な被曝やQOL低下が避けられ、医療費の節約にも寄与する。遺伝子発現量測定による放射線照射効果の検討は新しい試みであり、今後、動物実験への応用も可能と考えられる。また、蛍光色素標識によるアンチセンスの視覚的評価は、放射性物質で標識することにより、今後、放射線感受性画像診断法開発へ発展することも期待できる。

2. 研究の目的

慶應義塾大学グループ（外科、放射線科）では、これまで抗癌剤に関しては腫瘍中に含まれるいくつかの物質の遺伝子発現量の変

化を測定し、抗癌剤投与早期での効果予測に関して検討してきた。胃癌細胞系においていくつかの遺伝子量が抗癌剤投与後に上昇していた。今回、同様の手技を用いて治療開始早期に放射線照射の効果を予測する方法を開発することを考えた。

3. 研究の方法

検討する遺伝子の候補として、われわれのグループで従来行ってきた化学療法後に発現の著明な増加が認められた GADD153, p21, c-Jun の3者に注目した。これらの遺伝子は抗癌剤投与に反応して惹起される異なった経路の signal transduction により誘導されることが知られている。まずこの3者に放射線照射を行い、癌細胞から発現する遺伝子量を real-time PCR quantification system 法で測定する。癌細胞は、まず胃癌の細胞で試みるが、うまくいかない場合は、食道癌や肺癌細胞など他の癌でも検討する。その結果をコロニー法およびMTT法による細胞生存率と比較検討する。これによって化学放射線療法の効果を予測できると思われる遺伝子候補を選択特定する。また、当該遺伝子物質のアンチセンスを蛍光色素で標識して視覚的評価を行うとともに、フローサイトメーターを用いた細胞レベルでの蛍光量の定量的評価を行う。遺伝子候補を選択特定できたら、併用抗癌剤としてよく用いられているシスプラチン、5-FU (TS-1)、タキサン系にしばって前年度と同様の手法を用いて、放射線照射との併用による遺伝子発現量の変化を測定する。蛍光色素標識による、アンチセンスの視覚的評価、およびフローサイトメーターを用いた蛍光量の定量的評価も同様に行う。

4. 研究成果

2008年度は、胃癌細胞(MKN-45)に抗癌剤投与と放射線照射を行い、反応を期待できる遺伝子候補としてGADD153, p21, c-Junの3者を選択した。コロニー法での胃癌細胞への放射線照射、抗癌剤投与では、用量に依存した生存率曲線が得られた。当該遺伝子物質のアンチセンスを蛍光色素で標識したところ、一定量を越えたところで、抗癌剤投与、放射線照射で蛍光発色が観察された。3者の候補遺伝子の中では、GADD153が有望と考えられたため、real-time PCR quantification system法による定量的測定を行った。抗癌剤投与では、抗癌剤の投与量と遺伝子発現量(GADD153)の間に用量関係が観察されたが、放射線照射では期待した投与線量と発現遺伝子量の間は得られなかった。定性的には放射線照射および抗癌剤投与による遺伝子発現が確認できた。これは、治療効果予測という機能的画像診断法の基礎として期待できる。定量的な遺伝子発現量の測定では、放射線投与量と遺伝子発現量の間に用量関係は確認できなかった。

2009年度は、食道癌細胞に抗癌剤投与と放射線照射を行い、反応を期待できる遺伝子候補として、昨年同様にGADD153, p21, c-Junの3者を選択した。コロニー法を用いて、食道癌細胞への放射線照射を行ったところ、用量に依存した生存率曲線が得られた。当該遺伝子物質のアンチセンスを蛍光色素で標識したところ、一定量を越えたところで、放射線照射で蛍光発色が観察された。3者の候補遺伝子の中から、有望と思われたGADD153について検討した。real-time PCR quantification system法による定量的測定では、放射線照射では期待した投与線量と発現遺伝子量の定量的関係は得られなかった。

本研究の成果として、アンチセンス法からは、放射線照射および抗癌剤投与による蛍光

発色により、遺伝子発現による定性的な治療効果予測が期待できることと、機能的画像診断法への応用も今後期待されることが挙げられる。その一方、定量的な遺伝子発現量の測定では、放射線投与量と遺伝子発現量の間に用量関係は確認できなかったことから、治療効果の有効性の評価法としては不十分であり、さらなる検討が必要であると思われた。また、この結果から、抗癌剤、放射線投与の両者では、遺伝子発現機序の相違があることも推測された。

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 0件)

[学会発表](計 0件)

[図書](計 0件)

[産業財産権]

出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等
なし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

深田 淳一 (FUKADA JUNICHI)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号 : 50338159

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし