

機関番号：14401  
 研究種目：若手研究 (B)  
 研究期間：2008 ～ 2010  
 課題番号：20790910  
 研究課題名 (和文) 接着分子インテグリン伝達経路を標的とした放射線治療効果増強のための基礎的検討  
 研究課題名 (英文) Targeting adhesion molecule integrin signal transduction for improving radiation therapeutic gain  
 研究代表者  
 尾方 俊至 (OGATA TOSHIYUKI)  
 大阪大学・医学系研究科・特任助教 (常勤)  
 研究者番号：90460576

## 研究成果の概要 (和文)：

接着分子インテグリンに着目し、そのシグナル伝達経路を標的とした放射線治療効果増強のための基礎的検討を行った。がん細胞の増殖能や浸潤・転移能に大きく関与する integrin linked kinase の発現を阻害すると亜致死線量の放射線誘導性の浸潤・転移能が抑制されることを確認した。以上より、インテグリンからのシグナル伝達を明らかにすることでがんの浸潤・転移能の抑制を図り、放射線治療効果の増強に寄与する基礎的データを取得した。

## 研究成果の概要 (英文)：

The purpose of this study is to investigate targeting adhesion molecule integrin signal transduction as improving radiation therapeutic gain. We confirmed that inhibition of integrin linked kinase, a receptor-proximal effector of integrin, resulted in a marked reduction of radiation-induced invasion of cancer cells. Thus, blocking the integrin signal pathway is a highly promising approach to enhancing the efficacy of radiation.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009 年度	800,000	240,000	1,040,000
2010 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

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：インテグリン 放射線 転移 浸潤

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 近年放射線治療は、治療計画及び照射装置等の技術進歩により、良好な局所制御を得つつある。しかし外科療法と共に局所療法

であるため、次の段階でがんの浸潤・転移を抑制することは必須の課題である。また良好な局所制御の背景には、病巣に線量を集中できる高精度な物理的線量分布の照射実現に

よりほとんど得られていると考えられる。一部の症例においては、線量増加しても局所制御に限界が見られるものもあり、生物学的なアプローチから放射線治療効果増強を図り、これらの治療成績向上への貢献が期待される。また、これまでの放射線生物学の研究は、主に腫瘍に対する放射線感受性あるいは正常細胞の放射線防護効果を高めようとする試みがほとんどであり、局所制御が向上している現在の放射線治療において、放射線照射によるがんの浸潤・転移に対する研究の果たす役割は大きくなっていくと考えられる。

(2) 放射線照射と転移に関わる基礎実験の報告は数多くなされている。研究代表者はこれまで、放射線照射が及ぼすがん細胞の浸潤・転移能の研究を、接着分子インテグリンを中心に着目しながら行ってきた(基盤研究C平成13~14年度「放射線の照射野辺縁におけるがん細胞の浸潤能の解析」)。インテグリンは細胞外基質のレセプターであり、細胞はインテグリンにより細胞外の基質と接着している。がん細胞においては細胞外マトリックスと接着することで増殖、転移、浸潤という多面的な生物学的事象において重要な役割を果たすことが知られている。X線による亜致死線量の照射により、遊走・浸潤能の亢進やタンパク分解酵素であるMMPの活性およびインテグリン $\alpha V\beta 3$ 発現が上昇し、転移を促進させる結果が得られた。一方、粒子線である陽子線と炭素イオン線では、低線量においても遊走・浸潤能およびMMPの活性が抑制され、転移が抑制される結果が得られた。この研究では、生体内に幅広く存在するインテグリン $\beta 1$ の発現量に着目したもののX線と粒子線の比較では顕著な差を認めなかった。よって、インテグリンの発現量ではなくそのシグナル伝達の変化の違いによって、線質により転移能に与える影響が異なる結果が生じたのではないかというのが、着想に至った経緯の一つである。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、接着分子インテグリンに着目し、そのシグナル伝達経路を標的とした放射線治療効果増強のための基礎的検討を

行うことである。がん細胞ではインテグリンのシグナル伝達の下流にあるILKなどのタンパクの発現量は高く、がん細胞の増殖能や浸潤・転移能に大きく関与するとされており、これらの分子を標的とした治療の有用性が期待される。放射線照射により、特にILKの発現量と活性変化によりどのような細胞動態をもたらすのかを定量的に検討する。放射線照射によりILKを中心としたタンパクの発現量の変化を経時的に捉え、シグナル伝達機構への影響の解明を行う。またシグナル伝達に重要となる各タンパクのリン酸化をAktを中心に定量的に解析し、放射線によるリン酸化に与える影響のメカニズムを明らかにする。インテグリンの下流にあるタンパクは、それぞれ生存、増殖、遊走、浸潤、血管新生に影響を及ぼすものがあり多岐にわたる。放射線照射によりどのタンパクに最も影響を及ぼすのかを明らかにする。以上の結果を踏まえ、シグナル伝達を阻害することで放射線感受性の向上ならびにがんの浸潤・転移能の抑制を図り、放射線治療効果の増強に寄与する定量的データを提供することが最終目的である。

## 3. 研究の方法

(1) 放射線照射によるILKを中心としたシグナル伝達機構への影響の解明(図1)

ILKの発現の高さが予後に影響すると報告のある乳癌細胞MDA-MB-231と脳腫瘍細胞U87MGを用いて、放射線照射によるILKのタンパク発現量およびAktのタンパク発現量ならびにリン酸化量の変化についてwestern blot法にて検討した。

(2) ILKシグナル阻害による放射線治療効果への影響の検討

ILKの発現をsiRNAで阻害することにより放射線感受性ならびに浸潤・転移能に与える影響を検討した。放射線感受性、遊走能、浸潤能の評価を、それぞれcolony formation assay、Boyden chamber assay、Matrigel invasion assayにて行った。

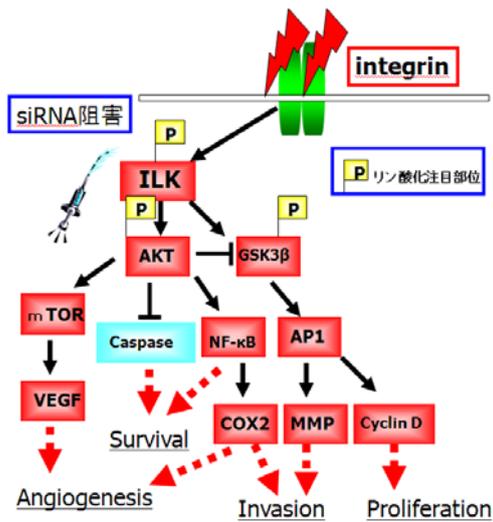


図1. ILK を中心としたシグナル伝達機構への影響の解明

#### 4. 研究成果

(1) 放射線照射による ILK を中心としたシグナル伝達機構への影響の解明

亜致死線量 (2 Gy) の放射線照射により、ILK のタンパク発現量が亢進し、その下流にあり生存シグナルに重要な役割を果たす Akt のタンパク発現量に変化は認めなかったもののそのリン酸化量の発現の亢進を確認した (図2)。

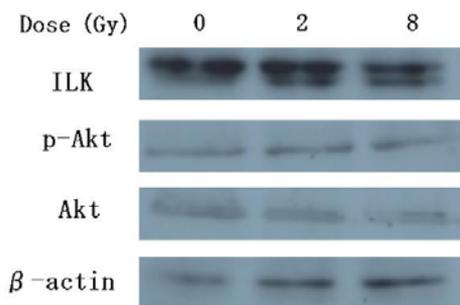


図2. MDA-MB-231 細胞における ILK、Akt に対する放射線照射の影響

(2) ILK シグナル阻害による放射線治療効果への影響の検討

colony formation assay にて放射線感受性を評価したが、ILK の発現を siRNA で阻害しても細胞の生存率には影響をほとんど与えなかった。

亜致死線量 (1 Gy) の照射により、ILK 発現を阻害しないがん細胞では、遊走能と浸潤能が亢進したが、ILK の発現を阻害すると抑制することを確認した (図3)。放射線を照射しない場合においても、ILK の発現を阻害すると遊走能と浸潤能は抑制されることを見出した。

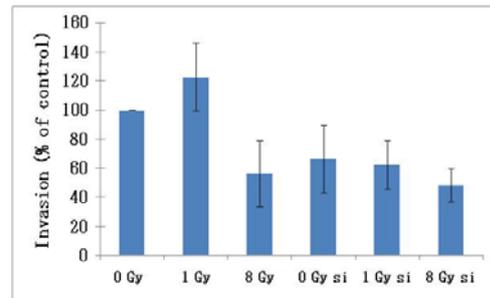
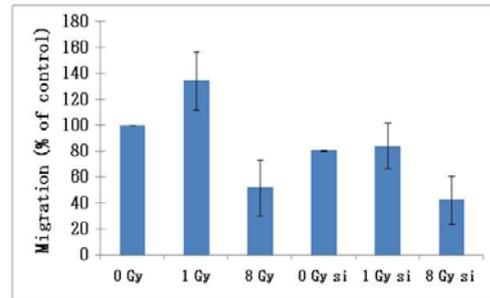


図3. MDA-MB-231 細胞における ILK 阻害による遊走能 (上) と浸潤能 (下) への影響  
si: siRNA ILK

#### 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3件)

- ① Ogata T, Teshima T, Inaoka M, Minami K, Tsuchiya T, Isono M, Furusawa Y, Matsuura N. Carbon ion irradiation suppresses metastatic potential of human non-small cell lung cancer A549 cells through the phosphatidylinositol-3-kinase/Akt signaling pathway. J Radiat Res, in press. 査読有
- ② Hamada N, Imaoka T, Masunaga S, Ogata T, Okayasu R, Takahashi A, Kato TA, Kobayashi Y, Ohnishi T, Ono K, Shimada

Y, Teshima T. Recent advances in the biology of heavy-ion cancer therapy. J Radiat Res, 51, 365-383, 2010, 査読有

③尾方俊至、手島昭樹、松浦成昭、光子線と重粒子線によるがんの転移過程と血管新生に及ぼす影響、特集（重粒子線治療生物学の進展）：総説 放射線生物研究、44、199-207、2009、査読無

〔学会発表〕（計1件）

尾方俊至、光子線と重粒子線によるがんの転移過程と血管新生に及ぼす影響、日本放射線影響学会 第51回大会、2008年11月19日、北九州国際会議場

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

尾方 俊至 (OGATA TOSHIYUKI)

大阪大学・医学系研究科・特任助教（常勤）

研究者番号：90460576