

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 15 日現在

機関番号：32612
 研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23791445
 研究課題名（和文） 悪性膠芽腫における放射線感受性の予測法開発と最適な線量分割法の基礎的検討
 研究課題名（英文） Initial investigation of predicting radiosensitivity and optimal dose fractionation against glioblastoma.
 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）：悪性膠芽腫のセルラインにそれぞれに線量の異なる単回照射（2Gy、4Gy、8Gy、16Gy）を行い生存曲線を作成した。特に野生型である LN229 では、8Gy を超える高線量の照射において、低下が顕著であった。このことから、PTEN と p53 の変異の有無が細胞レベルの生存率に関与することが推測される。

研究成果の概要（英文）：Various single dose irradiation was performed to several malignant glioma cell lines to obtain survival curves. Radiation sensitivity was significantly high in LN 229 cell line (wild type) by high dose irradiation exceeding 8Gy. Gene mutation of PTEN and p53 may be involved in cellular survival response to irradiation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	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：膠芽腫、低分割放射線治療

1. 研究開始当初の背景

膠芽腫は脳腫瘍の中でもとりわけ予後不良の疾患である。手術療法、化学療法、放射線

治療を組み合わせた集学的治療が行われているが、中央生存期間は1年を超える程度である。膠芽腫に対する標準的な線量分割法は経験的に決定されたものであり、一回線量を

高くした小分割照射について、臨床での定位放射線治療やサイバーナイフなど高精度放射線治療の発展に伴い注目されており、米国では前立腺癌に対しても臨床試験が行われている。臨床的に投与可能な生物学的有効線量の範囲内で、最適な放射線生物学的効果を得られる線量分割についての基礎的検討が重要と考えた。

放射線治療感受性についての基礎的検討では、照射による細胞死の大部分を占めるとされる分裂死のみを指標とすると細胞レベルでは臨床で認められるほどの差異が見られず、比較的低線量でも間期死が誘導されると考えられるようになってきた。アポトーシスは間期死の一部であると考えられるようになっており、放射線照射によって誘導されるアポトーシスの過程に関与しているがん遺伝子や遺伝子関連物質が明らかにされてきている。p53 蛋白の機能については、研究が進んでいるが、これに依存しないアポトーシスについても近年注目されている。

2. 研究の目的

悪性膠芽腫における最適な放射線生物学的効果を得られる一回線量、総線量について検討する。放射線治療感受性の予測法開発のため、これと並行して照射によって誘導されるアポトーシス過程に関与しているがん遺伝子や遺伝子関連物質の発現量の変化について基礎的検討を行うのが本研究の目的である。

3. 研究の方法

(1) 膠芽腫のセルラインに対し異なった 1 回線量による照射を行うことで放射線感受性を測定する。がん遺伝子や遺伝子関連物質の発現条件が異なるセルラインを複数選定する。照射線量については、定位照射等で注目されている 1 回大線量低分割治療への応用も念頭に、大線量照射も含め細胞の生存率を測定する。異なった線量処方におけるほぼ等価となる生存率をもとに、セルラインの α/β 値を算出する。算出法として、FE プロット法で直線近似を行い近似が有意であるか検討する。一般的な悪性腫瘍の α/β 値と比較する。

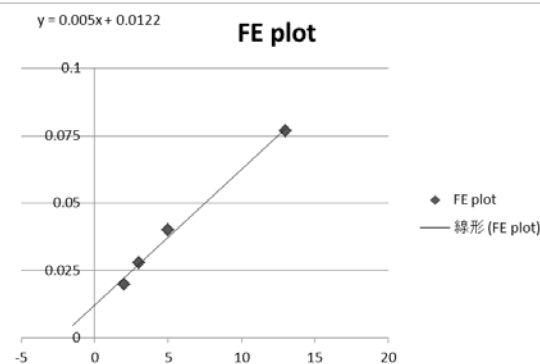


図 1. FE plot 法を用いた α/β 算出法
総線量の逆数を Y 軸、一回線量を X 軸にとり、異なる線量処方スケジュールによるグラフを作成する

X 切片の値が求める α/β となる

(2) アポトーシス誘導機構関連物質の発現量を測定する。今回、候補として p53 を直接介さないアポトーシス誘導機構関連物質とし

て AKT/PKB に注目した。AKT/PKB は Ras-PIK3 (phosphatidyl inositol 3-kinase) -PIP3(phosphatidyl inositol 3-phosphate) に続くシグナル伝達経路に位置しており、放射線抵抗性腫瘍では照射によりシグナル伝達経路が活性化され、アポトーシスを抑制することが知られている。また、PIP3 を分解する脱リン酸化酵素である PTEN の不活化が悪性膠芽腫で観察されている。さらにこの伝達経路の下流に存在する m-TOR 経路の活性化についても関連物質の発現量を測定することでシグナル経路阻害薬と放射線照射の併用による新たな治療戦略について発展応用させる。

4. 研究成果

(1) 悪性膠芽腫のセルラインとして、PTEN と p53 の変異の有無に着目して 4 種類を選択した。LN229 (PTEN wt/p53 wt) LN18 (PTEN wt/p53 mut) U87 (PTEN mut/p53 wt) U251 (PTEN mut/p53 mut) それぞれに線量の異なる単回照射 (2Gy、4Gy、8Gy、16Gy) を行い生存曲線を作成した。高線量において生存率の低下が観察されたが、特に野生型である LN229 では、8Gy を超える高線量の照射において、低下が顕著であった。このことから、PTEN と p53 の変異の有無が細胞レベルの生存率に関与することが推測される。

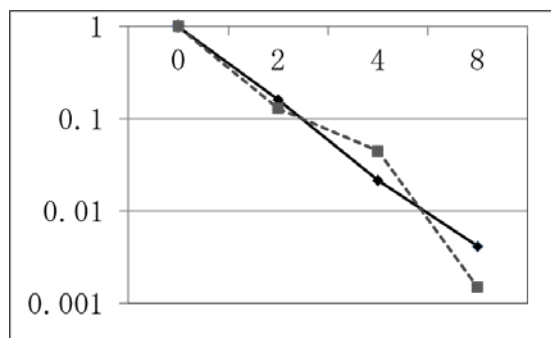


図 2. LN229 への 1 回照射における生存曲線

次に総線量 16Gy における細胞生存率を算出するため、単回照射で用いた 1 回線量で複数回の照射を施行した (2Gy×8 回/4Gy×4 回/8Gy×2 回/16Gy×1 回)。分割照射の間隔はこれまでの報告から 1 日で行った。この結果、1 回線量が高い照射スケジュール群で、細胞生存率が低いことが確認された。1 回高線量による低分割照射が可能であれば、悪性膠芽腫に対するより効果的な照射スケジュールの提案が可能となる。しかしながら、16Gy 照射群と同等の細胞生存率となるように、低線量照射群において、照射回数を増加させる実験を試みたが、結果のばらつきが大きく、整合性が得られなかったため、 α/β 値の算出に至らなかった。

(2) AKT/PKB に関与するシグナル伝達系と放射線照射の関係について、遺伝子発現をウェスタンブロット法で測定し、放射線照射によりリン酸化した mTOR 抗体の発現が観察され、治療抵抗性への関与が推測された。効果が得られる阻害剤を選択することと、前年同様に再現性の確認に日数を要したため、目標としていた放射線照射と阻害剤の同時投与まで至らなかったが、悪性膠芽腫の放射線照射に

おける mTOR の関与については引き続き検討する価値があるものと思われる。

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)

[学会発表] (計 2 件)

① 深田淳一，国枝悦夫，川口修，関智史，大平貴之，井上泰宏，柴秀行，小池直義，武居秀行，茂松直之 聴神経腫瘍に対する定位放射線照射の治療成績 日本放射線腫瘍学会第 25 回学術大会 2012 年 11 月 23 日～2012 年 11 月 25 日東京

② Tetsuya Kawata, C. Liu, N. Shigematsu, J. Fukada, Y. Furusawa, H. Ito, K. George, F.Cucinotta Enhanced repair fidelity under non-cycling conditions in X-ray irradiated fibroblasts accounts for increased potentially lethal damage repair but not in high-LET irradiated fibroblasts. 第 14 回国際放射線研究会議 2011 年 8 月 27 日～9 月 2 日ワルシャワ ポーランド

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