

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 9 月 13 日現在

機関番号：32653

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461935

研究課題名(和文)炭素イオン線による新しい乳癌治療法開発のための基礎研究

研究課題名(英文)Basic Research for Carbon-Ion Radiotherapy for Breast Cancer

研究代表者

唐澤 久美子(Karasawa, Kumiko)

東京女子医科大学・医学部・教授

研究者番号：60214574

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：乳癌に対する炭素イオン線治療の有効性を、4サブタイプのヒト浸潤性乳管癌、非浸潤性乳癌、及び炎症性乳癌細胞株にて検討した。その結果、X線では細胞株によって感受性の幅が広がったが、炭素イオン線では狭かった。また、生存曲線のD10値で比較したX線に対する炭素イオン線のRBEは、2.3から3.4であることが明らかとなった。これらの結果から、炭素イオン線は乳管癌のサブタイプに関わらず、すべてに効果的であると推察された。

研究成果の概要(英文)：To estimate the impact of Carbon-ion radiotherapy(C-ion RT) for breast cancer, RBE of C-ion beams of various types of human breast cancer cell lines was evaluated.

Seven human breast cancer cell lines with different subtypes (MCF-7, BT-474, SK-BR-3, MDA-MB-468, HCC1937), ductal carcinoma in situ (MCF10DCIS.com) and inflammatory breast cancer (SUM149) were used. Radiosensitivities were assessed with survival curves created from colony-forming assay (CFA) and high-density surviving assay (HDS).

The differences between the D10 values were small with C-ion beams, and the survival curves were linear without shoulders for all cell lines except a small shoulder with MCF10DCIS.com. The RBE value of C-ion beams was 2.3 to 3.6, median 2.9 in all cell lines by CFA and HDS. RBE around 3 by C-ion beams was seen in many types of ductal cancer.

研究分野：放射線腫瘍学

キーワード：炭素イオン線 乳癌 重粒子線治療 放射線感受性 生物学的効果比

1. 研究開始当初の背景

乳癌は日本人女性が最も多く罹患する癌であるが、5年生存率は85%を越え、より良く治すことが課題となっている。

乳房部分切除 + 腋窩廓清と全乳房照射からなる局所療法は、乳房切除術と比較して患者の負担が軽減してはいるが、ボディイメージの変化や乳房痛などの有害事象により、更に負担が少ない治療法が求められている。これに対し、適応を厳選しての腋窩廓清の省略とセンチネルリンパ節生検の導入、加速乳房部分照射 (Accelerated Partial Breast Irradiation: APBI) などが取り入れられてきた。

陽子線、炭素イオン線などの粒子線は、線量集中性にすぐれ、生物学的効果からも有利で、光子線による強度変調放射線治療 (Intensity Modulated Radiation Therapy: IMRT) と比較しても、正常組織の有害事象が少なく、高い局所効果が期待できる。しかし、乳癌への粒子線利用の試みは、術後全乳房照射や腫瘍床へのAPBIにおいて、陽子線を利用した報告が米国などの数施設からあるのみで、粒子線治療分野においては世界をリードする立場であるわが国での研究は殆どなく、放射線医学研究所 (放医研) でも、いままで乳癌を取り上げて来なかった。その理由は、当初は他の治療法で治療成績が不良ながん腫を対象としていたこと、従来一般的な照射法であった全乳房照射では皮膚線量が高くなるなど炭素イオン線にデメリットがあると考えていたこと、乳癌の専門医が在籍していなかったことなどである。

乳房部分切除 + APBIによる乳房温存療法は、米国をはじめとする欧米諸国では、適応を限定して実臨床の一部となっている。炭素イオン線の他のがん腫や乳癌転移巣に対する抗腫瘍効果を勘案すると、乳癌原発巣に対する炭素イオン線の抗腫瘍効果は光子線と比較して良好であると考えられる。従って、炭素イオン線を使用したAPBIによる非手術の根治放射線療法の有用性は検討するに値する。APBI単独の局所療法は、手術との組み合わせによる従来の乳房温存療法に比べて、さらに整容性や患者のQOLを改善することが期待できる。

放医研では、早期乳癌に対する炭素線局所照射の臨床研究を2013年より開始した。この試験は、炭素イオン線を乳房腫瘍とその周囲

に4日間で照射し手術を行わずに根治を目指すプロトコルである。

しかし、その基礎となる乳癌細胞に対する炭素イオン線の感受性を検討した報告はMatsuzakiらの報告以外なく、サブタイプ別に放射線感受性を検討した報告もない。そのため、炭素イオン線の乳癌治療への有用性を裏付ける目的で、種々のタイプの乳癌細胞に炭素イオン線を照射して、光子線と対照させ生存率を検討する試験を計画した。

2. 研究の目的

種々のサブタイプの浸潤性乳管癌、非浸潤性乳管癌、炎症性乳癌細胞株に炭素イオン線照射を行い、X線照射と生存曲線を比較することで放射線感受性を検討し、生物学的効果比 (RBR) を求めた。

また、臨床試験より炭素イオン線の治療効果発現には約6か月を要することがわかったため、照射後の乳癌が転移を起こさないかの検討が必要になった。そのため、炭素イオン線照射が浸潤能に及ぼす影響を調べ、炭素イオン線照射が転移抑制に及ぼす影響を基礎的に検討した。

3. 研究の方法

細胞株間の感受性のばらつきを考え、臨床における乳癌 (浸潤癌) の予後や放射線感受性の関連因子によって分類されたサブタイプを念頭に下記に示す7種類の乳癌細胞株を用いた。

ルミナル-HER2-陰性: MCF-7

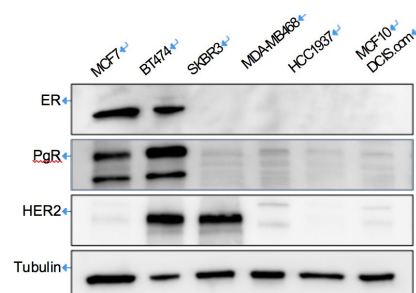
ルミナル-HER2-陽性: BT-474

Her2-陽性タイプ: SK-BR-3

Basal-like: MDA-MB-468 および HCC1937

非浸潤性乳管癌: MCF10DCIS.com

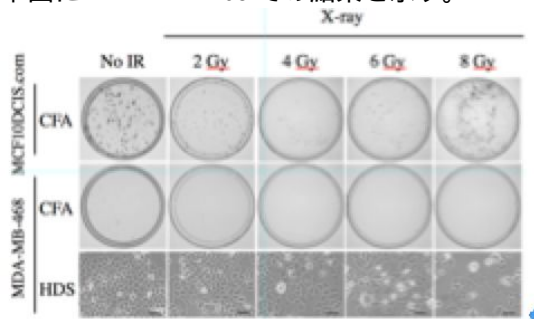
炎症性乳癌: SUM149 (ER-/PR-/Her2-)



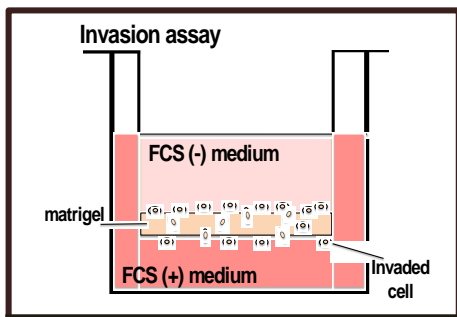
炭素イオン線は放医研の重イオン加速器 HIMAC を使い、290 MeV/u、MONO- peak、LET 80KeV/μm で 0、0.5、1.0、1.5、2.0 Gy の 5 点でプロットし、対照とした X 線は PANTAC HF320-S を使い、電圧：200 kVp、電流：20 mA、フィルタ：0.5mm Al + 0.5mm Cu、60 FSD を 0、1.0、2.0、3.0、4.0 Gy の 5 点でプロットした。

当初、コロニー形成法で検討を行ったが、乳癌由来細胞株は plating efficiency が非常に低く、従来のコロニー形成法で放射線感受性を評価する事は困難であった。

そのため、コロニー形成法よりも高い細胞密度で細胞生存率を評価できる High-density survival (HDS)アッセイ法を用い、X 線または炭素イオン線照射後の生存曲線を比較した。下図に MDA-MB-468 での結果を示す。



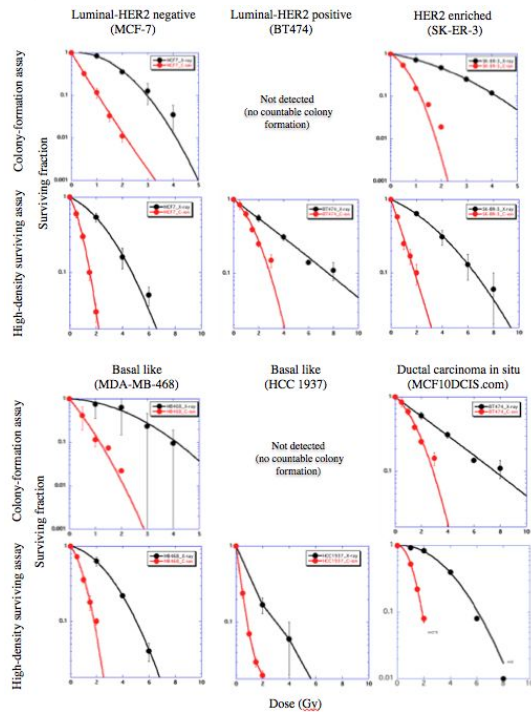
細胞遊走・浸潤能の評価は、Boyden chamber アッセイ法を用い、照射 48 時間後にアッセイを開始、その後 24 時間の間に遊走または浸潤した細胞の割合(%)を(遊走または浸潤した細胞 / マトリゲル上に蒔いた生存細胞数) X 100 で求めた。



4. 研究成果

ヒト乳癌細胞株の線量反応曲線を示す。X 線では細胞株により感受性の差が大きかったが、炭素イオン線では線量依存性に生存が抑制され、生存曲線の肩はなく直線的であった。また、生存曲線の D₁₀ 値で比較した X 線に対する炭素イオン線の RBE は、2.3 から 3.4 であることが明らかとなった。これらの結果

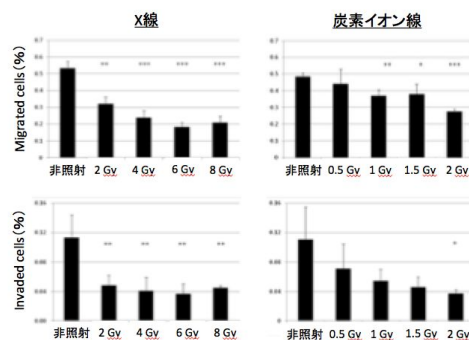
から、炭素イオン線は乳管癌のサブタイプに関わらず、すべてに効果的であると推察された。



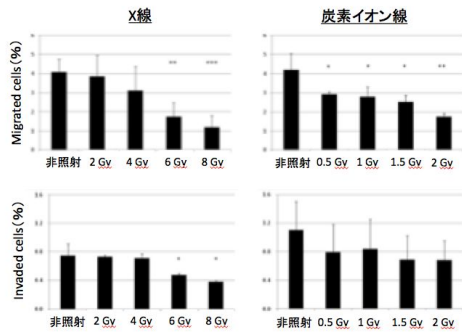
細胞株	Plating Efficiency (%)	倍加時間 (h)	Assay	D ₁₀ Value		RBE (X-ray/C-ion)
				X-ray	C-ion	
MCF-7	29.3 ± 7.9	24	CFA	3.0 ± 0.4	1.0 ± 0.1	3.0
			HDS	4.7 ± 0.5	1.5 ± 0.1	3.1
			NC	NC	NC	NC
BT474	< 1.0	48	CFA	7.6 ± 0.7	3.2 ± 0.3	2.4
			HDS	NC	NC	NC
			NC	NC	NC	NC
SK-BR-3	15.0 ± 6.6	30	CFA	6.5 ± 1.0	1.9 ± 0.4	3.4
			HDS	NC	NC	NC
			NC	NC	NC	NC
MDA-MB-468	5.8 ± 4.4	24	CFA	5.0 ± 0.2	1.8 ± 0.1	2.8
			HDS	NC	NC	NC
			NC	NC	NC	NC
HCC1937	< 1.0	40	CFA	3.0 ± 0.5	0.8 ± 0.1	3.3
			HDS	2.5 ± 0.1	1.1 ± 0.2	2.3
			NC	NC	NC	NC
MCF10DCIS.com	47.5 ± 8.9	12	CFA	6.0 ± 0.1	2.3 ± 0.1	2.6
			HDS	NC	NC	NC
			NC	NC	NC	NC
SUM149PT	4.5	24	CFA	NC	NC	NC
			HDS	4.4	1.8	2.4
			NC	NC	NC	NC

乳癌細胞の遊走・浸潤能変化を下図に示す。

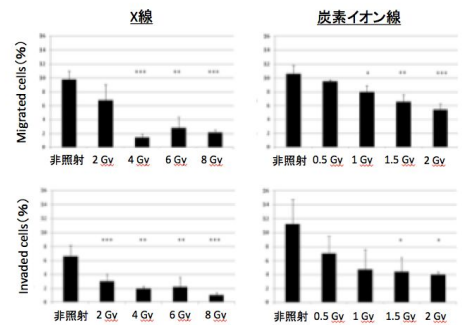
SK-BR-3



MDA-MB-468



SUM149PT



X線及び炭素線照射はSK-BR-3, MDA-MB-468, 及びSUM149PTの遊走や浸潤能の抑制に効果的であった。MCF7, BT474については、元々の遊走・浸潤能が検出限界以下と非常に低く、照射後も検出されないことから、放射線を受けても遊走・浸潤能は上昇しないことが示唆された。

本研究により、乳癌に対する放射線治療の有用性を示す基礎データが取得できた。

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4件)

1. Karasawa K, Fujita M, Shoji Y, Horimoto Y, Inoue T, Imai T. Biological Effectiveness of Carbon-Ion Radiation on Various Human Breast Cancer Cell Lines. *J Cell Sci Ther* 5:180. doi: 10.4172/2157-7013.1000180, 2014
2. Sai S, Vares G, Kim EH, Karasawa K, Wang B, Neno M, Horimoto Y, Hayashi M. Carbon ion beam combined with cisplatin effectively disrupts triple negative breast cancer stem-like cells in vitro. *Mol Cancer*. 2015 Sep 4;14:166. doi: 10.1186/s12943-015-0429-7.
3. Akamatsu H, Karasawa K, Omatsu T,

Isobe Y, Ogata R, Koba Y. First experience of carbon-ion radiotherapy for early breast cancer. *Jpn J Radiol*. 2014 32(5), 288-295

4. Harada M, Karasawa K, Yasuda S, Kamada T, Nemoto K. One shot of carbon-ion radiotherapy cured a 6-cm chemo-resistant metastatic liver tumor: a case of breast cancer. *Jpn J Radiol*. 2015 Sep;33(9):598-602.

[学会発表](計8件)

1. 唐澤久美子, 藤田真由美, 今井高志, 乳癌の炭素イオン線感受性の基礎的検討、第48回女子医大乳癌研究会 平成25年2月2日
2. 唐澤久美子, 藤田真由美, 今井高志 乳癌の炭素イオン線感受性に関する研究 HIMAC 共同利用発表会 平成25年4月22日~23日 ホテルポートプラザ千葉
3. 唐澤久美子, 藤田真由美, 今井高志 乳癌の炭素イオン線感受性の検討、第21回日本乳癌学会 平成25年6月27日~29日 オークラアクトシティホテル浜松
4. 唐澤久美子, 藤田真由美, 今井高志 A study of Carbon-Ion Radiosensitivity of Breast Cancer、日本医学放射線学会 平成26年4月11日~13日 パシフィコ横浜
5. 唐澤久美子, 藤田真由美, 今井高志, 乳癌の炭素イオン線感受性に関する研究、HIMAC 共同利用発表会 平成26年4月21日~22日 ホテルポートプラザ千葉
6. 唐澤久美子, 藤田真由美, 今井高志, 早期乳癌に対する重粒子線治療の初期成績、第15回乳癌最新情報カンファレンス平成26年8月21日(優秀演題賞受賞)
7. 唐澤久美子, 原田麻由美, 尾松徳彦, 福田茂一, 古場裕介, 鎌田正, 齋藤光江, 山田公人, 山本尚人, 荒川敦, **乳がん重粒子線治療の初期経験**、日本放射線腫瘍学会第27回学術大会、2014.12.11
8. Karasawa K, Fujita M, Shoji Y, Horimoto Y, Imai T. Biological effectiveness of carbon-ion radiation on various human breast cancer cell lines, ICRR Kyoto,

2015.5

6 . 研究組織

(1)研究代表者

唐澤久美子(KARASAWA, Kumiko)

東京女子医科大学・医学部・教授

研究者番号：6 0 2 1 4 5 7 9

(2)研究分担者

今井 高志 (IMAI, Takashi)

放射線医学総合研究所・重粒子医科学センタ

ー・先端粒子線生物研究プログラム・プロジ
ェクトリーダー

研究者番号：5 0 1 8 3 0 0 9

藤田 真由美 (FUJITA, Mayumi)

放射線医学総合研究所・重粒子医科学センタ

ー・先端粒子線生物研究プログラム・研究員

研究者番号：8 0 5 8 0 3 3 1

堀本 義哉(HORIMOTO, Yoshiya)

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号：4 0 4 2 4 2 4 6

徳田 恵美 (TOKUDA, Emi)

順天堂大学・医学部・助教

研究者番号：7 0 6 2 1 9 6 0