

第7回 癌治療増感研究 シンポジウム

7th Symposium on Sensitization of Cancer Treatment in NARA

癌化学療法の新たな治療戦略

- 癌治療薬による新規併用療法の開発を目指して -

会期 平成 17 年 2 月 11 日(金・祝) -12 日(土)

シンポジウム会場
奈良市ならまちセンター
3 階 会議室 2-4

〒630-8362 奈良市東寺林町 38 TEL; 0742-27-1151

懇親会会場
ホテルサンルート奈良
地下 1 階 ウィスタリアホール

〒630-8301 奈良市高畑町 1110 TEL; 0742-22-5151

国際癌治療増感研究協会

平成17年2月11日(金・祝)

開会の挨拶

13:00 -13:05 国際癌治療増感研究協会会長・シンポジウム大会長挨拶

大西 武雄 (奈良医大)

13:05 -13:10 シンポジウム代表世話人挨拶

吉川 敏一 (京都府医大)

シンポジウム1 癌化学療法の新たな治療戦略

座長：西村 恭昌 (近畿大)

招聘講演

13:10 -13:40 メトロノミック化学療法 低用量化学療法による血管新生抑制

鬼塚 伸也 (長崎医療センター)

13:40 -14:10 抗癌剤と血管新生阻害剤の併用効果 胃癌腹膜播種モデルにおける検討

大谷 吉秀 (慶応大)

14:10 -14:40 進行肝細胞癌に対するIFN α 併用化学療法

永野 浩昭 (大阪大)

一般演題

14:40 -14:48 分子シャペロン研究の現状と展望

幸 和恵 (奈良医大)

14:48 -14:56 Survivinを標的としたsiRNAによる癌細胞の増殖抑制効果

辻 直樹 (札幌医大)

14:56 -15:04 癌化学療法とNF- κ B活性化阻害剤との併用療法の基礎的検討

古倉 聡 (京都府医大)

15:04 -15:15 休憩

シンポジウム2 癌化学療法と放射線療法

座長：芝本 雄太 (名古屋市大)

招聘講演

15:15 -15:45 進行下部直腸がんに対する術前化学放射線併用療法+Total mesorectal excisionの
primitive 報告：放射線照射増感として5-FU/5'-DFUR併用の意義

小口 正彦 (癌研病院)

一般演題

15:45 -15:53 進行上咽頭癌における定位・原体照射併用の放射線化学療法の経験

小泉 雅彦 (京都府医大)

15:53 -16:01 超選択的動注による抗癌剤と放射線照射の併用

家根 旦有 (奈良医大)

16:01 -16:09 抗腫瘍キノン薬剤と放射線照射の併用

鈴木 実 (京都大)

16:09 -16:17 5-FU抵抗性大腸癌細胞株に対するS-1を用いた化学放射線療法による
*in vivo*での抗腫瘍効果

仲田 栄子 (東北大)

- 16:17 -16:25 大腸癌に対する TS-1 併用化学放射線療法の臨床的有用性の検討
村山 千恵子 (東海大)
- 16:25 -16:33 エチニルシチジンによる移植固形腫瘍の放射線増感作用
安井 博宣 (北海道大)
- 16:33 -16:41 サバイビンを標的とした固形腫瘍の放射線増感
稲波 修 (北海道大)
- 16:41 -16:49 Geldanamycin 誘導体 17-AAG による放射線増感
窪田 宜夫 (茨城医療大)
- 16:49 -16:57 ヒト口腔癌における抗アポトーシス分子 Apollon の放射線治療の
分子標的としての可能性 福本 学 (東北大)
- 16:57 -17:05 Novel Strategies for Monitoring and Targeting Hypoxia-inducible
Factor-1 α -expressing Cells in Tumor Xenograft
原田 浩 (京都大)
- 17:05 -17:13 感受性腫瘍における化学療法と放射線療法の併用に関する
実験的および臨床的検討 長谷川 正俊 (群馬大)
- 17:13 -17:21 重粒子線治療に癌化学療法併用は必要か? 野島 久美恵 (放医研)
- 17:21 -17:30 休憩

シンポジウム3 癌化学療法と温熱療法

座長：上田 公介
(名古屋前立腺センター)

招聘講演

- 17:30 -18:00 RF誘電加温と夜間化学療法を併用した直腸癌術前放射線療法
浅尾 高行 (群馬大)

一般演題

- 18:00 -18:08 マイルド・ハイパーサーミアによる免疫能活性と抗癌剤効果の増強
長谷川 武夫 (鈴鹿医療大)
- 18:08 -18:16 抗酸化物質 α -phenyl-tert-butyl nitron による温熱誘発アポトーシスの増強
崔 正国 (富山医薬大)
- 18:16 -18:24 狭心症治療薬「硝酸イソソルビド」による温熱増感効果
松本 英樹 (福井大)
- 18:24 -18:32 CPT-11 の抗癌効果に対する温熱前処理の影響についての検討
坂元 直行 (京都府医大)

18:32 -19:00 休憩 (移動)

19:00 - 懇親会

平成17年2月12日(土)

シンポジウム4 癌化学療法の新規癌治療薬の開発 座長：堀 均（徳島大）

指定講演

9:20 - 9:45 癌特異的因子を標的とする抗腫瘍性プロドラッグの分子設計

西本 清一（京都大）

一般演題

9:45 - 9:53 DNA の特異的配列を認識する光活性化型プロドラッグの開発

城 幸弘（京都大）

9:53 -10:01 BNCT のための Tirapazamine ハイブリッド型新規低酸素毒性

ボロンキャリアーの分子設計

中畠 瞳（徳島大）

10:01 -10:09 TX-2068：マクロファージの低酸素指向性を利用した

低酸素細胞放射線増感剤の分子設計

宇都 義浩（徳島大）

シンポジウム5 癌化学療法の治療効果予測

座長：近藤 隆（富山医薬大）

招聘講演

10:09 -10:39 分子情報に基づく癌化学療法の治療効果予測

檜山 桂子（広島大）

指定講演

10:39 -11:04 ゲノム解析からの増感予測

播磨 洋子（関西医大）

一般演題

11:04 -11:12 マイクロアレイによる癌治療効果予測

石川 仁（放医研）

11:12 -11:20 6-ジメチルアミノプリンによるアポトーシス誘導の分子機構

マイクロアレイ法による解析

中島 正雄（富山医薬大）

11:20 -11:25 休憩

特別講演

座長：吉川 敏一（京都府医大）

11:25 -12:05 Tumor dormancy therapy(がん休眠療法)の概念と実際

高橋 豊（金沢大）

12:05 - 昼食

ランチョンセミナー

座長：松本 英樹（福井大）

12:22 -12:30 DNA 修復因子を標的とした siRNA によるヒト癌細胞の放射線/温熱増感

大西 健（奈良医大）

12:30 -13:00 遺伝子発現阻害による癌治療戦略

樋口 裕高（フナコシ株）

13:00 -13:10 休憩

総合討論 癌治療増感研究の将来展望

座長：吉川 敏一（京都府医大）

13:10 -13:25 癌化学療法の新たな治療戦略の将来展望

西村 恭昌（近畿大）

13:25 -13:40 癌化学療法と放射線療法の将来展望

芝本 雄太（名古屋市大）

13:40 -13:55 癌化学療法と温熱療法の将来展望

上田 公介（名古屋前立腺センター）

13:55 -14:10 新規癌治療薬の開発の将来展望

堀 均（徳島大）

14:10 -14:25 癌化学療法の治療効果予測の将来展望

近藤 隆（富山医薬大）

14:25 -14:55 総合討論

閉会の挨拶

14:55 -15:00 国際癌治療増感研究協会会長・シンポジウム大会長挨拶

大西 武雄（奈良医大）

メトロノミック化学療法 低用量化学療法による血管新生抑制

鬼塚 伸也

独立行政法人国立病院機構長崎医療センター・外科

従来の癌化学療法は、最大耐用量(maximum tolerated dose, MTD)による殺細胞作用を目的とした方法であり、副作用の出現や、予後の改善に寄与しないことも多く、必ずしも満足できる成績を得ているとは言えない。近年、癌の原発巣あるいは転移巣の増殖を休止状態に導き、癌との共存を図ることにより、延命効果や生活の質 (Quality of Life, QOL)の改善を得ようとするtumor dormancy therapyが提唱されている。一方、腫瘍の増殖に血管新生は必須であり、新生血管を分子標的とした新しい治療法も模索されている。我々は膀胱癌培養細胞上清から2種類の新規血管新生抑制物質である抗血管新生性アンチトロンビンIII(anti-angiogenic antithrombin III)およびビタミンD結合蛋白-マクロファージ活性化因子(Vitamin D binding protein-macrophage activating factor)の単離に成功した。これらを膀胱癌担癌マウスに投与すると、いずれも腫瘍の増殖を抑制し、投与開始時と同等の腫瘍体積が維持され、すなわちtumor dormancyが誘導されたものと考えられた。抗血管新生薬を用いた抗血管新生療法は、腫瘍の新生血管をターゲットにするため、副作用が少ない、耐性が生じにくい、長期投与可能などの利点を有し、癌化学療法の新しい治療戦略として有用であると考えられる。

近年、抗癌剤を少量、分割かつ長期間投与するメトロノミック化学療法が注目されている。動物実験において、通常の抗癌剤であっても低用量を頻回に持続投与することにより血管新生抑制作用を示し、腫瘍増殖を抑制したという画期的なデータが報告された。さらに抗血管新生薬との併用はより有効であったことも報告された。低用量、頻回の投与により血管新生抑制作用を示す薬剤として、5-FU、CPT-11、CDDPなどが報告されており、臨床的にもその有効性が確認されている。また、低用量持続投与により、免疫系の賦活やアポトーシス誘導といった効果も認められている。すなわち、抗血管新生療法、tumor dormancy therapy、メトロノミック化学療法の三者は相互に密接に関連しているといえよう。

メトロノミック化学療法は、従来のMTDを指標とした治療法に替わり、今後、種々の分子標的治療や個人に応じたテーラーメイド医療も視野に入れた新しい癌治療戦略になり得ると思われる。

抗癌剤と血管新生阻害剤の併用効果-胃癌腹膜播種モデルにおける検討

大谷 吉秀¹、才川 義朗²、吉田 昌²、久保田 哲朗²、熊井 浩一郎²、亀山 香織³、北島 政樹¹
慶應義塾大学・医学部・¹外科、²内視鏡センター、³病理

我々は癌が浸潤・転移する際の細胞外マトリックスの破壊や腫瘍増殖における血管新生に注目し、種々のマトリックス分解酵素阻害剤(R94138, マリマスタット、ノビレチン)の転移抑制作用について、動物モデルを用いて検討してきた。今回とくに、柑橘系フラボノイドであるノビレチンによる抗転移治療の可能性について、既存の抗癌剤との併用効果に注目しながら、SCID マウスヒト胃癌腹膜転移モデルを用いた治療成績を報告する。

【目的】近年、フラボノイドの薬理効果について関心が高まるとともに、さまざまな生理的活性が明らかにされている。今回、沖縄産シークワーサーから抽出された柑橘系フラボノイドであるノビレチンを用い、その薬理効果のうち、MMP 発現、細胞増殖、apoptosis 誘導、細胞周期に及ぼす影響について検討した。さらに既存の抗癌剤との併用効果を検討するとともに、SCID マウス転移モデルを用いて腹膜播種抑制効果を検討した。

【方法】ノビレチンのMMP抑制効果を評価するため、TMK-1とマウス線維芽細胞株の共培養上清を用い、gelatin zymographyを行った。抗腫瘍効果を評価するために、*in vitro*においては各種ヒト胃癌株(TMK-1, MKN-45, MKN-74, KATO-III)を用い、MTT assayによる判定を行った。また、ノビレチンによる増殖抑制効果の機序を検討するため、TUNEL法によるアポトーシスの検討を行った。さらにフラボノイドの生理的機能の一つである細胞周期に及ぼす影響をみるため、flow cytometry法を用いたDNA histogramによる検討を行った。これらの結果を踏まえ、既存の抗癌剤との併用効果を観察する目的で、CDDPを用いて増殖抑制効果を検討した。

*In vivo*の系として、TMK-1によるSCIDマウス腹膜播種モデルを作成した。TMK-1投与後1週目にノビレチンをマウス背部皮下より浸透圧ポンプを用いて持続投与し、3週間目にマウスを犠死させ、腹膜播種結節の総重量を計測した。なおノビレチンは、東京薬科大学薬学部第一生化学教室伊東 晃教授より供与された。

【結果と考察】ノビレチンによりproMMP-9は濃度依存性に抑制された。*In vitro*において4種の胃癌株の増殖を濃度依存性に抑制し、その機序の一つとしてアポトーシスによる抑制が認められた。またflow cytometry法によって、ノビレチン投与24時間後においてG₁ blockを認めた。CDDPとの併用投与では、ノビレチン先行投与群で相乗効果を認めた。胃癌腹膜播種モデルにおいて、ノビレチン投与群で播種結節の形成が有意に抑制された。以上より、ノビレチンは細胞増殖抑制効果およびMMP-9の産生阻害を介して、ヒト胃癌株の腹膜播種形成を抑制することが示され、既存の抗癌剤との併用投与による胃癌治療の可能性が示唆された。

進行肝細胞癌に対するIFN α 併用化学療法

永野 浩昭

大阪大学・大学院医学系研究科・病態制御外科

門脈内腫瘍栓を認める進行肝細胞癌（VP3 以上）においては、病巣の完全摘出を施行しても早期の残肝再発のため予後不良である。この様な難治性進行肝癌では、既存の治療法が効果を示さず、また、仮に肝切除や肝移植を施行しえても、再発対策なしには治療としての意味がほとんどない。最近我々は、IFN 併用化学療法（FU Arterial Infusion and Interferon Therapy、以下、FAIT）を、既存の治療法が無効な進行肝細胞癌（VP3 以上、IM3）に対して施行し、さらには肝切除・肝移植の併用療法として応用し、その可能性について報告する。

【対象・方法】対象は門脈内腫瘍栓を伴う進行肝癌（VP3, 4）と肝移植施行症例、計 114 例。その内訳は（1）非切除症（Vp4, IM3）：55 例。（2）肝切除：進行肝細胞癌（VP3 以上）43 症例。肝切除施行症例は、肝切除術後の併用療法として FAIT 施行 38 例（A 群）と非施行 15 例（B 群）。A 群 38 例は、癌遺残のない切除を施行した 15 例（A-1 群）と、癌遺残のある減量肝切除を施行した 16 例（A-2 群）の 2 群とした。FAIT のプロトコールとしては、IFN（500 万単位 $\times$ 3 回/週・4 週）の皮下注と、肝動注化学療法（5FU を 300mg/mm²/日、5 回/週・2 週）を行った。（3）肝移植：肝機能不良などの理由により他治療を選択しえない肝細胞癌に対して生体肝移植を施行した 16 例。10 例に術前 TAE、14 例に術中全身化学療法、9 例に術前後の FAIT を施行した。

【結果】（1）非切除症例の治療効果は、肝内病巣について CR11 例、PR13 例、NC4 例、PD27 例で、奏効率は 44%であった。（2）肝切除：観察期間：8-60 ヶ月。A-1 群：1 年生存率は、A-1 群 100%、A-2 群 62%、B 群 41%。A-2 群での残存肝病巣への治療効果については、CR/PR が 11 例、NC/PD が 12 例であった。（3）肝移植：16 例中 11 例がミラノクライテリア逸脱。観察期間：1-34 ヶ月。16 例全例について生存中である。

【結語】進行肝細胞癌症例は、たしかに手術単独などの既存の治療法のみでは治療効果は期待しがたいが、たとえば FAIT のような治療法を基軸にすえて集学的治療を展開すれば、予後の改善とともに肝切除・肝移植などの治療の適応拡大が期待される。

分子シャペロン研究の現状と展望

幸 和恵¹、大西 健²、高橋 昭久²、大西 武雄²

奈良県立医科大学・医学部・¹耳鼻咽喉科、²生物

分子シャペロンとは不可逆的な凝集や間違った folding を起こしたタンパク質に結合して適切な folding に戻すはたらきをもった物質のことである。近年、多くの heat shock タンパク質が分子シャペロンとして働いていることが明らかになってきている。我々はこれまでに分子シャペロン効果をもつグリセロールが、変異型 p53 保有癌細胞および移植腫瘍において、抗癌剤および放射線に対する感受性を高めることを報告してきた。今回、グリセロールの変異型 p53 をターゲットとした増感効果と、現在報告されているシャペロン効果をもつ化学物質を概説する。他に現在までに報告されている変異型 p53 の機能を正常型に回復させ、癌治療に応用しようとしている物質は 8 種類ある。このうち Ellipticine というアルカロイドは CDK、topoisomerase II および casein kinase II の阻害剤として働く物質で、現在 phase 2 trial まですすんでいる化学シャペロンである。

Survivin を標的とした siRNA による癌細胞の増殖抑制効果

辻 直樹、浅沼 康一、小林 大介、渡辺 直樹

札幌医科大学・医学部・臨床検査医学

【目的】 Antisense oligonucleotide や ribozyme を用いて各種癌遺伝子の発現を抑制し、治療効果の向上を図る試みがされている。しかし、遺伝子発現の抑制率が必ずしも高くないことや、安定した結果が得られないなどの欠点があった。近年、これらの諸問題を克服する方策として small interfering RNA (siRNA) が報告された。そこで、今回我々は、抗アポトーシス分子 survivin の siRNA を作製し、癌細胞の増殖に及ぼす影響を検討した。

【方法および結果】 1) 24 例の正常大腸粘膜および大腸癌の各組織を対象とし、survivin mRNA 発現量を real time RT-PCR 法で定量的に解析した。その結果、正常粘膜組織における survivin mRNA の発現量が 0.93 ± 2.58 (mean $\pm$ SD) であったのに対し、癌組織では 31.88 ± 72.67 と有意に高値を示した ($p < 0.0001$)。2) SW480 細胞に survivin siRNA を導入し、経時的に survivin mRNA の発現量を検討したところ、導入 48 時間後に scramble RNA 導入細胞の約 10% まで抑制され、144 時間後も持続していた。また、同様の検討を 3 回行ったが、survivin mRNA の抑制率はいずれも 90% 以上であった。3) Survivin siRNA の導入により、survivin 蛋白の発現のみならず細胞生存率も、scramble RNA 導入細胞のそれに比べ著明に抑制された。4) Survivin siRNA 導入細胞では、細胞の膨化や多核化が認められるとともに、アポトーシスが誘導されていた。

【結語】 Survivin を標的とした siRNA を用いることにより、癌細胞の増殖を抑制できる可能性が示唆された。

癌化学療法と NF- κ B 活性化阻害剤との併用療法の基礎的検討

古倉 聡¹、石川 剛²、東原 博司²、坂元 直行²、中部 奈美²、内藤 裕二³、吉田 憲正³、吉川 敏一²
京都府立医科大学・¹生体安全医学講座、大学院医学研究科²生体機能制御学、³消化器病態制御学

【背景】ある種の抗癌剤投与により腫瘍細胞内で転写因子 NF- κ B が活性化し、それにより抗腫瘍効果が減弱することが報告され、このことが抗癌剤に対する耐性獲得の一つ機序であると考えられている。我々は、こうした抗癌剤により誘導される NF- κ B の活性化を抑制することで、抗腫瘍効果を増強できると考え、NF- κ B をターゲットとした抗癌剤増強作用薬の検索を行っている。今回、活性酸素消去剤の抗癌剤増強効果について検討した。

【方法】マウス大腸癌細胞株 colon26 を用いたマウス皮下腫瘍モデルと肺転移モデルにおいて、腫瘍発育抑制効果と肺転移抑制効果を検討した。治療としては、CPT-11 を5日ごとに計4回腹腔内投与し、臨床ですでに使用されているラジカルスカベンジャーのエ达拉ボンを併用投与した。

【結果】腫瘍の発育、肺転移とも、CPT-11 にエ达拉ボンを併用した群で、CPT-11 単独投与群に比べて、有意な併用増感効果を認めた。また、CPT-11 の抗癌作用の増感メカニズムについても検討を加えた。

【結論】CPT-11 に、エ达拉ボンを併用することで、CPT-11 の抗癌作用を増強することができる。

進行下部直腸がんに対する術前化学放射線併用療法+Total mesorectal excision の primitive 報告：放射線照射増感として 5-Fu/5'-DFUR 併用の意義

小口 正彦¹、山下 孝¹、大矢 雅敏¹、上野 雅資¹、山口 俊晴¹、水沼 信之¹、畠 清彦¹、木下 博勝²、
石川 雄一²、加藤 洋²、武藤 徹一郎¹

癌研究会附属病院・¹消化器 Cancer Board・大腸がんグループ（放射線治療科）、²病理部

下部進行直腸癌の術後局所再発頻度は高率（欧米：30-40%）である。局所再発は救済治療困難であり、疼痛を伴い著しくQOLを低下させるため、再発予防を目的とした補助治療が検討されてきた。放射線治療単独や化学療法単独では、局所制御率・生存率の向上は得られなかった。化学放射線併用療法（5-Fu 持続静注+照射 40Gy 以上）の臨床試験が行われ、局所制御率・生存率の向上が報告された。術前化学放射線治療と術後同治療のどちらが有効であるかについて、コンセンサスが得られていなかったが、これまでは術後化学放射線併用療法が標準治療とされていた。本年、ドイツから両者を比較する臨床試験が報告され術前治療の有効性が示され、欧米での下部進行直腸癌に対する標準治療は、「術前化学放射線同時併用療法」であるとパラダイムシフトをおこしつつある。一方、補助療法の必要性は、術後再発が 30%である従来の手術を前提に検討されたものであった。Total mesorectal excision の導入により、局所再発率は従来の 20-30%から 10-15%に減少したことから、補助療法の適応を再確認する必要がでてきた。

これまで局所再発率が低かった我が国では、補助療法を本格的に検討する試験は行なわれてこなかった。そこで、本院では上記の目的のため 2001 年より In house protocols を実施してきた。本院における遡及的研究報告では、Rb/P かつ T3/T4 例の術後局所再発率は 14.2% (32/226)（術後照射例を含む）であった。補助治療が必要な症例は「腫瘍深達度が a1 以深+進展範囲が Rb に及ぶ例である」と考えられた。また、術前化学放射線併用療法は、局所制御率を高め生存率を向上させるだけでなく、down-staging により肛門機能温存の可能性も検討できる利点があり、一方、術後化学放射線併用療法は、正確な病理診断が得られる利点があるものの、やや高めの照射線量を必要とし、肛門温存の適応を拡大することは困難である。以上の検討から、高危険群症例に絞って、術前放射線化学同時併用療法の有効性・安全性を証明する臨床試験を実施することに意義があると考えられた。

プロトコル治療は以下である。術前化学療法は 1) 5-Fu 300 mg/m²/日 24 時間持続静注 週 4 日間 5 週間 2) 5'-DFUR 800 mg /日内服 6 週間のいずれかである。術前放射線療法は、照射野：骨盤腔かつ腫瘍から少なくとも 2 cm の範囲、照射方法：4 門照射、線量：50-50.4 Gy in 25-28 fx. over 5-5.6 weeks（1 回 1.8-2.0 Gy）である。手術は、Total mesorectal excision を基本とした。後治療として、術後補助化学療法：5-Fu+1-LV（レボホリナート）療法を 3 コース行うことを原則とした。上記はランダム化比較試験ではなく、Priority のある試験は 5-Fu 併用療法であり、5'-DFUR 併用療法は Optional protocol である。2004 年 12 月の時点で、登録は 5-Fu 併用療法は、23 例（登録後不適格例 1 例）であり、5'-DFUR 併用療法は 17 例である。短期的な有効性・安全性を報告する。

進行上咽頭癌における定位・原体照射併用の放射線化学療法の経験

小泉 雅彦¹、西山 謹司²、山崎 秀哉²、田中 英一²、西村 恒彦¹

¹京都府立医科大学・医学部・放射線、²大阪成人病センター・放射線治療

【目的】上咽頭癌は進行例では局所制御が困難で予後不良である。我々は‘99年後半より局所進行上咽頭に対し、局所制御を高め唾液腺障害を防ぐため、定位照射(SRT)または原体照射(CRT)併用の放射線化学同時併用療法を施行してきた。その初期の治療成績と有害事象を報告する。

【対象と方法】対象は‘99.9～’04.2に大阪成人病セで治療した上咽頭癌ⅡB期以上の17例。年齢は22～71(中間値45)歳。男13例、女4例。病期はⅡB期2例、Ⅲ期5例、ⅣA期5例、ⅣB期5例。病理組織は全例扁平上皮癌で、分化度はmod2例、poor10例、undiff2例、不明3例。RT開始の第1週と原則第4週目に同時化学療法として(CDDP10mg/m²+5-FU500mg/m²)/dX5d/wを投与した。RTは原則として全頸部に40～46Gy/20～23fr/4w後、脊髄をはずした頸部involved fieldへ26～40Gy/13～20frおよび原発巣へ30～40Gy/10～20fr/2～4wのS(C)RTによるブーストを行った。追跡期間は4～48(中央値28)ヶ月であった。生存分析はKaplan-Meier法で、晩期有害事象はRTOGで評価した。

【成績】原癌死2例、他(臓)癌死1例、担癌生存3、無病生存11例。原癌死は頸部リンパ節+肺転移および肺転移によるもので、担癌生存のうち1例は局所非制御、2例は肝転移であった。2年累積の局所制御率、粗生存率、原病生存率はそれぞれ86%、93%、100%。有害事象は全例2度以下の唾液腺分泌障害、頭痛、中耳炎のみと軽症で保存的に対処できた。

【結論】上咽頭に対する定位照射併用の放射線化学療法は、短期の経過観察からではあるが、有害事象も許容範囲で優れた抗腫瘍効果を期待させるものである。

超選択的動注による抗癌剤と放射線照射の併用

家根 旦有¹、中川 裕之²、不破 信和³

奈良県立医科大学・医学部・¹耳鼻咽喉科、²放射線科、³愛知県がんセンター放射線治療部

放射線治療に抗癌剤を併用することによって放射線感受性が増強することはよく知られている。しかし抗癌剤を全身性に投与した場合には腫瘍内に十分な濃度の抗癌剤が到達しないため、期待するほどの効果が得られていないのが現状である。むしろ抗癌剤を全身投与することによって全身性の副作用が生じ、患者のQOLを損なうことも多い。そこで、超選択的に腫瘍血管に抗癌剤を投与できれば、腫瘍のみに高濃度の抗癌剤を投与でき、全身性の副作用も軽減することが可能となる。近年、頭頸部癌に対して大腿動脈からのセルジンガー法によるシスプラチン大量療法が有用であるとの報告が多くみられる。しかし、大腿動脈からの動注は血栓による脳梗塞などの重篤な合併症は避けて通れない問題である。一方、外頸動脈の分枝である浅側頭動脈を用いた動注療法では脳血管障害などの重篤な合併症はなく安全に行うことが可能である。超選択的動注は、浅側頭動脈から逆行性にカテーテルを超選択的に挿入し腫瘍血管内に留置する方法を用いた。対側に及ぶ症例は両側に動注した。放射線治療と同時に、毎週1回CDDP20-30mg/m²をメイロンでpHを調節して動注し、末梢から中和剤としてチオ硫酸ナトリウムを経静脈的に投与した。

超選択的動注療法は優れたデリバリーシステムであり全身性の副作用を持つ薬剤でも投与が可能である。今後は新規開発される薬剤の投与方法としても有用と思われる。

抗腫瘍キノン薬剤と放射線照射の併用

鈴木 実¹、永田 憲司¹、木梨 友子¹、増永 慎一郎¹、小野 公二¹、C. W. Song²

¹京都大学・原子炉実験所附属医療基礎研究施設、²Radiation Biology Section, University of Minnesota

β -lapachone (β -lap)は、NQO1 蛋白が高発現している腫瘍細胞に強い殺細胞効果を示す。NQO1 蛋白は放射線照射によりその発現が増強することが報告されている。ヒト前立腺癌の DU145 を用い、放射線照射と β -lap の相互作用を colony formation assay を用いて *in vitro* study にて検討した。4 Gy 照射後、照射直後から 12 時間まで NQO1 蛋白の発現が増強することが、Western blotting によって確認された。 γ 線 4 Gy 照射から β -lap の投与間隔が 10 時間以内は、放射線照射と β -lap は synergistic な効果を示した。 β -lap が放射線照射による sublethal damage repair (SLDR) に与える影響を調べるために施行した Split dose の実験では、1 時間の照射間隔に β -lap が存在する場合、完全に SLDR が抑制されることが明らかになった。4 Gy 照射による SLDR は 1-2 時間で完了することは別の実験で確認しており、放射線照射後 4-10 時間後の β -lap 処理により認められた synergistic な効果は、放射線照射による NQO1 蛋白発現の upregulation による β -lap の殺細胞効果の増強によるものと考えられた。一方、照射直後に β -lap が存在する場合の synergistic な効果の機序は、 β -lap の SLDR の inhibition によるものと考えられた。

また、p53 status の異なった細胞に対する放射線照射に対する NQO1 蛋白の発現の差異について preliminary な結果も併せて報告する。

5-FU 抵抗性大腸癌細胞株に対する S-1 を用いた化学放射線療法による *in vivo*での抗腫瘍効果

仲田 栄子^{1,2}、福島 正和³、高井 良尋¹、小川 芳弘¹、神宮 啓一¹、根本 建二¹、山田 章吾¹
東北大学・¹医学部・放射線科、²先進医工学研究機構、³大鵬薬品工業

【目的】5-FU 抵抗性且つ放射線抵抗性の大腸癌細胞に対する S-1 (5-FU prodrug、大鵬薬品工業株式会社)を用いた化学放射線療法の有用性を検討した。

【方法】ヒト大腸癌細胞株 DLD-1、及び 5-FU 抵抗性・放射線抵抗性の DLD-1/FU 株を用いて次の実験を行った。(1)S-1 と XRT の投与時間間隔を 1hr~48hrs の間で複数とり、その腫瘍増殖速度を調べ、最適投与 timing を決定した。(2)マウスを control・S-1 単独・XRT 単独・S-1+XRT 群に分けて治療し、腫瘍増殖曲線を作成した。(3)治療した各腫瘍での免疫組織学的な解析を行った。(4)S-1 投与による癌細胞の放射線感受性を Clonogenic Survival assay 法で調べた。

【結果】(1)両細胞株で、XRT の 1hr 前に S-1 を投与した群が最大の腫瘍増殖遅延を示した。(2)DLD-1 株では S-1 と放射線の併用効果がみられなかったのに対し、DLD-1/FU 株では相乗的な併用効果がみられた。(3)DLD-1/FU 株では S-1+XRT 併用で TS、COX-2 の発現レベルの減少が顕著に認められた。(4)S-1 は細胞を放射線感受性にする効果のある事、しかもその効果は DLD-1/FU 株で特に大きいことがわかった。

【結論】S-1 もしくは放射線の単独治療が無効である癌においては、放射線と S-1 との併用療法を行う事により、優れた抗腫瘍効果を発揮する事から、臨床での応用が大いに期待される。

大腸癌に対する TS-1 併用化学放射線療法の臨床的有用性の検討

村山 千恵子¹、上條 あけみ²、大泉 幸雄¹、貞廣 莊太郎²

東海大・医学部・¹放射線治療科学、²消化器外科学

【目的】TS-1 の大腸癌に対する化学放射線療法における有用性を放射線治療実験モデルにて検討した。

【方法】ヒト結腸癌細胞 KM20C を下肢に移植されたヌードマウスに TS-1 (FT として 4, 8mg/kg) を 14 日間連日経口投与した。さらに総線量 8Gy を TS-1 投与開始 1~4 日目に腫瘍局所に分割照射した (2Gy/day)。照射は TS-1 投与の 40 分後に行った。治療効果は腫瘍増殖時間 (TGT: 腫瘍体積が実験開始時の 5 倍に達する時間) および増殖遅延時間 (GDT: $TGT_{\text{治療}} - TGT_{\text{非治療}}$) にて検討した。

【結果】TS-1 の 14 日間連日経口投与では 8mg/kg 群では腫瘍増殖遅延が得られたが、4mg/kg 群では効果は見られず、8Gy (2Gy/day) 照射でも腫瘍増殖遅延効果は小さかった。しかし TS-1/照射併用群では 4, 8mg/kg 投与群ともに顕著な腫瘍増殖遅延効果が得られた。

TS-1 (4mg/kg), TS-1 (8mg/kg), 照射 (XRT), TS-1 (4mg/kg)/XRT, TS-1 (8mg/kg)/XRT 各群の GDT は各々 2.0, 7.0, 5.0, 13.5, 18.5 であった。増感係数 $[(GDT_{\text{TS-1/XRT}} - GDT_{\text{TS-1}})/GDT_{\text{XRT}}]$ は、TS-1 (4mg/kg)/XRT, TS-1 (8mg/kg)/XRT で共に 2.3 であった。

【まとめ】大腸癌に対する化学放射線療法における TS-1 の臨床的有用性が示唆された。特に TS-1 単独では抗腫瘍効果は小さいが毒性も少ない低用量 (4mg/kg) TS-1 併用照射において高用量 (8mg/kg) TS-1 併用照射と同じ増感係数が得られた結果に対する臨床的意義は大きい。

エチニルシチジンによる移植固形腫瘍の放射線増感作用

安井 博宣¹、稲波 修¹、浅沼 武敏¹、飯塚 大輔¹、松田 彰²、桑原 幹典¹

北海道大学・¹大学院獣医学研究科・放射線、²大学院薬学研究科・創薬化学

【目的】エチニルシチジン(ECyd)は RNA 合成阻害を作用起点にもつ制がん剤として開発された薬剤である。我々はこれまで、*in vitro*において、腫瘍細胞に対して細胞死を誘導しない低線量 X 線と低濃度の ECyd を共存させると細胞死が観察されることを報告してきた。本研究では、マウス大腸腺癌由来 Colon26 移植固形腫瘍を作製し、ECyd と放射線の効果を検討した。

【方法】BALB/c マウスの後肢足底部に Colon26 細胞を接種することにより固形腫瘍モデル動物を作製した。併用処置は ECyd(0.1 mg/kg)を腹腔内投与し、3 時間後に 2 Gy の X 線を腫瘍部分のみ照射した。組織学的検討は、TUNEL 染色法、Ki-67 に対する免疫染色法ならびに電子顕微鏡像にて行った。

【結果】ECyd 投与のみあるいは X 線照射のみ行った群では腫瘍成長に変化を引き起こさなかったが、ECyd と X 線を併用した群では有意な増殖の抑制が観察された。また一日おきに三回併用処置を行ったところ、半数のマウスに腫瘍の寛解が見られた。さらに Cytidine の同時投与により、ECyd の放射線増感効果は完全に阻害された。併用処置を行った群では、組織学的検討によりアポトーシスを起こした領域の拡大と腫瘍細胞の増殖停止が見られ、また電子顕微鏡像から萎縮を伴うアポトーシス細胞が観察された。これらの結果は ECyd による放射線増感が固形腫瘍でも起こり、このメカニズムに cytidine kinase、アポトーシスの増大および腫瘍細胞の増殖停止が関与している事が明らかになった。

サバイビンを標的とした固形腫瘍の放射線増感

稲波 修、網谷 誠、桑原 幹典

北海道大学・大学院獣医学研究科・環境獣医科学講座放射線学教室

本研究では IAP ファミリーのサバイビンが移植腫瘍系で放射線増感の標的となるか否かを明らかにする目的で、p34cdc2-サイクリン B1 によるリン酸化部位であるサバイビンの 34 番目のスレオニン (T) をアラニン (A) へ置換した T34A 変異サバイビンの N 末端に膜透過性ペプチド TAT 配列を付加した融合蛋白質を作成し、腫瘍治療における TAT ペプチドによる蛋白質導入技術の有効性と、T34A 変異サバイビンの colon26 マウス移植固形腫瘍モデルへの局所投与と放射線照射の併用による抗腫瘍効果について検討した。

TAT ペプチドを付加したサバイビン蛋白質は、腫瘍組織への直接投与で、短時間に腫瘍細胞内へ導入された。X 線 2 Gy の単独照射は、有意な腫瘍の増殖遅延を示さなかった。また、TAT 融合 T34A 変異サバイビンの腫瘍細胞への単独投与も、有意な増殖遅延を示さなかった。一方、X 線 2 Gy と TAT 融合 T34A 変異サバイビンの併用は顕著な増殖遅延を示した。組織学的な検索により X 線 2 Gy と TAT 融合 T34A 変異サバイビンの併用による抗腫瘍効果はアポトーシスの誘導によるものであることが示された。さらに、併用により腫瘍組織中の増殖細胞数の減少が観察されたことより、アポトーシス誘導は増殖細胞に特異的に起こることが示唆された。これらの結果から、TAT 融合 T34A 変異サバイビンと X 線 2 Gy の併用による抗腫瘍効果は X 線照射で生じる T34A 変異サバイビンによるアポトーシス誘導の増強であると考えられた。

以上の結果は、TAT ペプチドによる蛋白質導入技術が腫瘍治療において可能であり、T34A 変異サバイビンの投与は腫瘍の放射線治療において、放射線による抗腫瘍作用を増強することを示しており、放射線増感においてサバイビンは有力な標的となることを示唆している。

Geldanamycin 誘導体 17-AAG による放射線増感

窪田 宜夫¹、松本 孔貴²、町田 光¹、岡安 隆一²

¹茨城県立医療大学・保健医療学部・放射線技術科学、²放射線医学総合研究所

細胞の生存と死は、アポトーシス誘導シグナルと細胞生存シグナルのバランスにより決定されている。癌細胞の異常増殖、不死化はアポトーシス誘導シグナルの減少と生存シグナルの増強が深く関わっていることが明らかにされてきている。特に、生存シグナル伝達系のうちで PI3K/Akt に関わる分子は、多くの癌で遺伝子増幅、活性増強が報告されており、癌治療の良い標的であると考えられる。

一方、我々は Hsp90 阻害剤 Geldanamycin(GA)により、多くのヒト腫瘍細胞の放射線感受性が増強されることはすでに報告した。特に PI3K/Akt 経路にその生存を依存していると思われる腫瘍細胞では、放射線との併用により、Akt 活性の低下、アポトーシスの頻度の増加による相乗的細胞死が観察されたが、正常細胞では見られなかった。今回、抗癌剤として臨床試験が進行中の GA の誘導体である 17-AAG (17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin)と放射線の併用効果についてヒト腫瘍細胞のスフェロイドを用いて放射線との併用効果について検討した。結果はスフェロイドにおいても 17-AAG は Akt の活性低下と放射線感受性の増強を引き起こした。放射線と Hsp90 阻害剤の併用治療の可能性について考察する。

ヒト口腔癌における抗アポトーシス分子 Apollon の放射線治療の分子標的としての可能性

福本 学

東北大学・加齢医学研究所

口腔癌は世界的に高頻度にみられる癌のうちの1つである。機能の温存のために、放射線療法が外科的手術よりも有効である。癌周囲の正常組織が放射線治療により引き起こされる傷害にどれだけ耐性があるかによって、照射可能量は決まる。したがって、正常組織への傷害をおさえ、腫瘍に有効で、より少ない照射量の放射線治療法の確立が必要である。

Apollon (BRUCE/BIRC6) は、アポトーシスを阻害する分子である。治療前後における口腔癌組織の Apollon 蛋白の発現変化を免疫組織化学的に比較検討した。さらに、ヒト口腔癌細胞株である SAS の培養系およびヌードマウスへの SAS 細胞移植による腫瘍形成モデルを使用し、放射線と化学療法剤を併用した治療における Apollon 遺伝子発現も解析した。また、siRNA を用いた Apollon 発現阻害実験系において、放射線照射および化学療法剤に対する感受性を解析した。

口腔扁平上皮細胞癌に対する放射線治療は、Apollon 蛋白質の発現を増加させた。化学療法は癌細胞の Apollon 発現を有意に抑制した。口腔癌細胞株である SAS 細胞および、SAS をヌードマウスへ移植して形成された腫瘍の両方で放射線照射によって Apollon 遺伝子発現は亢進したが、化学療法剤の併用によってその亢進が抑制された。siRNA で Apollon 遺伝子発現を阻害した結果、放射線に対する増感効果がみられた。

以上から Apollon 蛋白質の高発現が放射線に暴露された癌細胞のマーカーになりうること、また腫瘍細胞の Apollon 発現を阻害することが口腔癌治療の有効な方法になる可能性が示唆された。

Novel Strategies for Monitoring and Targeting Hypoxia-inducible Factor-1 α -expressing Cells in Tumor Xenograft

Hiroshi HARADA^{1,2}, Shinae KIZAKA-KONDOH^{1,3}, Masahiro HIRAOKA¹

¹Therapeutic Radiology and Oncology, ²Horizontal Medical Research Organization and ³21st Century COE Project, Kyoto University Graduate School of Medicine

Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) is known as a master regulator of cellular adaptive responses to hypoxia, and is closely associated with tumor malignancy because HIF-1-induced genes cause myriad responses related to more malignant phenotypes such as metastasis, angiogenesis and evasion of apoptosis. Alpha subunit of HIF-1 (HIF-1 α) is fully responsible for the function of HIF-1 through the regulation of its protein stability, which relies on oxygen-dependent degradation (ODD) domain of HIF-1 α . Hence, to target and to monitor HIF-1 α -expressing cells in tumor xenografts, we established following novel strategies.

1) Targeting HIF-1 α -expressing cells

We constructed a novel fusion protein, Tat-ODD-Procaspace-3 (TOP3), whose stability is under the same control as HIF-1 α due to its ODD domain. We have already confirmed and reported that TOP3 is stabilized and activated in HIF-1 α -expressing cells after the penetration into cells by tat activity, resulting in the increase of caspase-3 activity and the induction of apoptosis.

2) Monitoring HIF-1 α -expressing cells

Using a HIF-1 α -responsive promoter, we established the cell line (HeLa/5HRE-Luc) expressing luciferase in response to intracellular HIF-1 α levels, and developed a system to detect HIF-1 α -expressing cells in real time in the tumor xenograft.

Using above two strategies, we successfully monitor the cytotoxic effects of TOP3 on HIF-1 α -expressing cells in HeLa/5HRE-Luc xenograft, and provide direct evidence that HIF-1 α plays an important role in tumor growth after radiotherapy.

感受性腫瘍における化学療法と放射線療法の併用に関する実験的および臨床的検討

長谷川 正俊¹、中村 勇司^{1,2}、桜井 英幸¹、鈴木 義行¹、秋元 哲夫¹、中野 隆史¹

¹群馬大学・大学院医学系研究科・腫瘍放射線学、²渋川総合病院・放射線科

化学療法と放射線の併用には種々の組み合わせがある。これまで既にいろいろな抗癌剤と放射線の比較実験を行ない、p53依存性、p53非依存性アポトーシスの関与する場合と関与しない場合があることを示唆してきたが、放射線生物学的には不明な点も多い。その一方で臨床的には、種々の悪性腫瘍に対して、相乗効果、相加効果、増感効果等を期待して化学放射線療法が広く行なわれているが、その機序は必ずしも明確ではない。

本研究では、放射線感受性腫瘍における化学療法と放射線療法の併用効果を明らかにすることを目的に、ヌードマウスに移植したp53野生型ヒト腫瘍に白金製剤とX線照射を行ない、その併用効果を検討した。また、臨床における感受性腫瘍の化学療法と放射線療法の関係についても検討した。nedaplatin (cis-diammineglycolatoplatinum, Shionogi)、4mg/kgを経静脈的に投与後、0、3、6、12、24、48、72時間に200 kV X線、1 Gy1回照射を行ない、腫瘍径を3日毎に計測して換算体積を算出し、増殖遅延（倍加時間）を検討した。また、経時的に摘出した標本では、アポトーシス、p53を検討した。薬剤単独では明らかな増殖遅延を認めなかったが、併用群では増殖遅延傾向がみられ、特に薬剤投与後6時間に照射した群の増殖抑制が最も顕著で、照射単独群に比して有意な増殖遅延を認めた。同群では、p53依存性アポトーシスの増加傾向も認められ、放射線感受性腫瘍の増感にp53依存性アポトーシスが関与する可能性が示唆された。

重粒子線治療に癌化学療法併用は必要か？

辻井 博彦、野島 久美恵

放射線医学総合研究所

重粒子線治療も10年をむかえ、これまでに2000人以上の患者さんの治療を行ってきている。粒子線は、そのエネルギーに応じてある一定の深さのところで放射線の量が大きくなる高い線量域（ブラッグピーク）を持つことが特徴である。さらに炭素線は、陽子線と違い周囲への散乱が少ないので、腫瘍の周囲にある正常組織への影響を最小限に防ぐことが出来る。また、他の重粒子と比較して入り口のプラトー部分とブラッグピーク部分の細胞致死効果の差が最も大きいことから放射線治療に最も適したビームであることがわかる。放医研のHIMACは、ブラッグピークを組み合わせたSOBPというビーム形状を使って腫瘍の大きさに応じて放射線を与える方法で治療を行っている。これまで得られてきた基礎実験の結果から、炭素線のRBEは、細胞の致死効果で比較すると、SOBPの中では、陽子線が約1であるのに比べて2～3と大きい。ビームの入り口のRBEは1～2であり明らかに細胞致死効果が大きいことが実験的にも証明されている。また、腫瘍の種類についても、X線などに比べて選択性を示さないことがわかった。

このように、腫瘍の局所制御に関して高い成績を収めている炭素線治療では、局所コントロールの成績は非常に良好であり、周囲の正常組織にはほとんど影響を与えず照射部位である腫瘍は完治する。しかしながら、身体のほかの部位に新たに転移が見つかる等の場合があるため、全体の治療成績を上げるためにはこのような転移を抑えるための化学療法や免疫療法などを組み合わせた総合的な治療が今後の課題となっている。

RF 誘電加温と夜間化学療法を併用した直腸癌術前放射線療法

浅尾 高行¹、山口 悟¹、井出 宗則¹、堤 莊一¹、野中 哲生²、北本 佳住²、塩谷 真里子²、
桜井 英幸²、桑野 博行¹
群馬大学・大学院医学系研究科・¹病態総合外科、²腫瘍放射線学

下部進行直腸癌の治療において欧米では照射療法併用した total mesorectal excision が一般的であるのに対して、本邦では側方リンパ節郭清に重点をおいた手術療法が主体で術前治療の報告例は少ない。しかし下部進行直腸癌の高い局所再発率と拡大郭清に伴う機能障害やストマ造設による術後 QOL の低下を考慮すると、何らかの術前治療を加味した治療戦略が必要である。我々は、これまでに温熱療法を付加した術前放射線療法を行い、可能な限り肛門温存術の適応を拡大するとともに自律神経温存術を基本術式としてきた。最近では術前放射線温熱療法に夜間化学療法（Chronotherapy）を付加することで病理学的 CR 例を経験するようになった。進行直腸癌に対する放射線増感効果につき報告する。

【対象および方法】進行下部直腸癌の術前治療症例 63 例（放射線温熱併用 47 例、夜間化学療法付加群 16 例）を対象に術前治療の効果、有害事象、局所再発率などにつき解析した。術前照射は 40—50Gy／20fr（10MW X 線前後対向 2 門）、温熱療法は RF 誘電加温を 1—3 回施行した。術前化学療法併用群では 5FU+Leucovorin を夜間 12 時間かけて投与した（週 5 日、第 2 週と 4 週）。手術は術前治療終了後 6 週以降に施行した。

【結果】(1) 放射線温熱療法のための群では組織学的効果で Grade3 となった症例はなかった（0／47）が、夜間化学療法を付加した群で腫瘍が瘢痕状となり生検で癌が検出されない症例が 5 例（5／16, 31%）認められた（非手術で経過観察 2 例）。経肛門的に切除し Grade2 の効果が認められた 2 症例が局所切除のみで経過観察を行っている。(2) 化学療法併用群で Grade3 以上の副作用は 1 例（下痢）のみであった。(3) 術後の有害事象として、直腸切断術後の会陰創の治癒が遅延したが超低位前方切除後の合併症の増加はなかった。(4) 術前治療例の 5%に局所再発が認められたが、いずれも断端再発もしくは仙骨前面の再発で側方リンパ節の腫大は伴わなかった。(5) 照射内のリンパ節転移残存例の局所再発率は 29%と有意に高く、再発の危険因子であった。(6) 術後の排尿障害は軽微で QOL は良好であった。

【結語】RF 加温と夜間化学療法を付加した術前照射療法は副作用が軽微で高い CR 率と QOL の温存が期待できる療法として有用であり、症例によっては手術自体が不要となる可能性も出てきた。欧米では、放射線化学療法著効例に対し局所切除のみで治療した報告例があるが、温熱と化学療法を併用した本療法において、これまでの照射単独治療では得られなかった抗腫瘍効果が認められた。今後、著効例に対する手術治療については局所切除による診断治療を含めた、新たな治療戦略が検討されるべきである。

マイルド・ハイパーサーミアによる免疫能活性と抗癌剤効果の増強

長谷川 武夫¹、前田 佳予子¹、福山 篤司¹、天野 守計¹、安藤 聡志¹、高橋 徹²、山本 五郎³

¹鈴鹿医療科学大学・大学院、²関西医科大学・R I、³山本ビニター・R F 研

【目的】臨床での温熱治療は一般的に42.5℃以上の温度が用いられている。本研究は42.5℃以下の40℃から41℃の温熱治療によって免疫能が活性化し、温熱による血流増加は化学療法薬剤の取込みを増強させ抗腫瘍効果が増強する事を確認したので、結果を報告する。

【材料及び方法】SCC VII腫瘍を大腿部皮下に移植したC3Hマウス（♂、6W）を用いた。マウスは無処理群、温熱単独群、化学療法併用温熱治療群に分類し、恒温水層によって40℃～41℃、30分間の温熱治療を大腿部に加えた。温熱処理後、Cr 51アッセイによるNK細胞活性、白血球、リンパ球変化、液クロマトグラフィー装置による各組織への薬剤集積量、腫瘍成長速度等を調べた。更に温熱を複数回行った場合に付いても各項目を測定した。

【結果】温熱治療後にNK細胞活性は無処理時の2倍以上に増加した。温熱処理3時間後からアポトーシスが観測された。複数回加温では毎日加温群は2日おき加温群よりも腫瘍成長に遅延を観測した。加温後に腫瘍内血流は3倍以上に増加し、シスプラチンの取込み量も無処理群より2倍も高値を示し、抗腫瘍効果も増強された。以上の結果より、マイルド・ハイパーサーミアによって免疫能の活性化が示され、血流増加に伴う薬剤の取り込みが増加し、抗腫瘍効果の増感が見られるため、マイルド・ハイパーサーミアは悪性腫瘍患者のQOL向上に役立つと考える。

抗酸化物質 α -phenyl-tert-butyl nitron による温熱誘発アポトーシスの増強

崔 正国¹、近藤 隆¹、松本 英樹²

¹富山医科薬科大学・医学部・放射線基礎医学講座、²福井大学・医学部・国際社会医学講座放射線基礎医学研究室

【目的】スピン捕捉剤である α -phenyl-tert-butyl nitron (PBN)が酸化ストレスにより一酸化窒素 (NO) を遊離することが報告されている。本研究では温熱誘発酸化ストレスとアポトーシス (Apo) に対する PBN の修飾効果を調べた。

【方法】ヒトリンパ腫細胞株 U937 を PBN 存在下で 44°C 10 分処理し、3 時間後の Apo 指標 (DNA 断片化、ホスファチジルセリンの細胞外膜発現、ミトコンドリアの膜電位 (MMP) の低下、カスパーズ -8、-3 の活性化、シトクロム C の遊離、細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$)、細胞内スーパーオキシド ($\text{O}_2^{\cdot-}$) の生成) および培養液中の亜硝酸塩/硝酸塩量を調べた。また、Apo 情報伝達に関連する蛋白質発現、Fas、Bcl-2、Bax、Bid、HSF1 および HSP70 等についても検討した。

【結果】PBN は温熱による Apo を顕著に増強した。MMP の低下、Bid の分解、シトクロム C の遊離、caspase -8、-3 の活性化は温熱と PBN の併用により増強された。併用処理により細胞内 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ は顕著に上昇し、一方 BAPTA-AM は Apo を部分的に抑制した。また、併用処理は Fas の細胞膜表面発現を増加させ、リン酸化 HSF1 と HSP70 の発現を減少させた。 $\text{O}_2^{\cdot-}$ は温熱処理により産生され、PBN により抑制された。NO 産生の指標となる亜硝酸塩/硝酸塩の産生は併用処理により顕著に増加した。NO 消去剤 (carboxy-PTIO) と ONOO 消去剤 (尿酸) は Apo、Fas 発現および $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の増加を著しく抑制した。一方、iNOS 阻害剤、L-NAME は無効であった。NO の特異的な蛍光色素、DAF-2-DA で染色すると併用処理時のみ細胞質に局在したスポットが認められた。

【結語】(1) 温熱処理により PBN から NO が遊離し、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ と反応して ONOO が発生する。(2) ONOO は Fas-mitochondria-caspase および $[\text{Ca}^{2+}]_i$ に依存した経路で Apo を増強する。(3) リン酸化 HSF1 と HSP70 の発現低下も Apo の増強に寄与する。

狭心症治療薬「硝酸イソソルビド」による温熱増感効果

松本 英樹¹、林 幸子¹、畑下 昌範²

¹福井大学・医学部・国際社会医学講座・放射線基礎医学研究室、²若狭湾エネルギー研究センター

【目的】

狭心症治療薬として臨床応用されている NO ラジカル発生剤「硝酸イソソルビド」の温熱増感剤としての適応の可能性を検討することを目的とした。

【材料と方法】

1. 細胞：p53欠損ヒト非小細胞肺癌 H1299 細胞に正常型 p53 あるいは変異型 p53 発現ベクターおよび対照ベクターのみを導入した H1299/wt p53 細胞、H1299/mp53 細胞および H1299/neo 細胞を用いた。
2. NO ラジカル発生剤：硝酸イソソルビド (Isosorbide dinitrate, ISDN, 0.3 mM) を用いた。
3. 温熱増感効果の解析：ISDN 単独処理、温熱単独処理 (44°C, 10 min) および ISDN/温熱 (44°C, 10 min) 併用処理による殺細胞効果についてコロニー形成法により検討した。
4. ISDN による Hsp70 誘導抑制効果の解析：ウェスタンブロット法により検討した。
5. アポトーシス誘導の解析：ISDN 単独処理、温熱単独処理 (44°C, 10 min) および ISDN/温熱 (44°C, 10 min) 併用処理によるアポトーシス誘導について蛍光色素染色法により検討した。

【結果】

1. ISDN による温熱増感効果が顕著に認められた。
2. この温熱増感効果は p53 非依存的に誘発されることが示唆された。
3. ISDN による Hsp70 誘導抑制効果は認められなかったが、蓄積した Hsp70 の衰退促進が p53 のステータスに関係なく認められた。
4. ISDN による温熱誘導アポトーシスの促進が p53 のステータスに関係なく認められた。

【結語】

心臓疾患等の治療薬である NO ラジカル発生剤が p53 非依存的温熱感受性増感剤として有効である可能性が示唆された。

CPT -11 の抗癌効果に対する温熱前処理の影響についての検討

坂元 直行¹、古倉 聡²、石川 剛¹、東原 博司¹、上田 美穂¹、中部 奈美¹、内藤 裕二³、吉田 憲正³、
吉川 敏一¹

京都府立医科大学・¹大学院・生体機能制御学、²生体安全医学講座、³大学院・消化器病態制御学

【目的】抗癌剤 CPT -11 により腫瘍細胞内で転写因子 NF - κ B の活性化が生じ、これが CPT -11 に対しての耐性を獲得する機序のひとつであると報告されている。温熱前処理がヒト胃癌細胞株を用いた *in vitro* で検討において、TNF - α による転写因子 NF - κ B の活性化を抑制し、TNF - α のアポトーシスシグナルが増強することを我々は以前に報告した。今回は、温熱前処理の CPT -11 の殺細胞作用に対する増強効果とそのメカニズムについて検討した。また、温熱化学療法併用時のタイミングについても検討した。

【方法】HT -29 (human colon cancer cell line) を単層培養し、温熱処理 (42°C, 60min) 直前、あるいは温熱前処理 (42°C, 60min) 終了 3 時間後に、SN38(active metabolite of CPT -11) を添加して 24 時間培養後、WST -1 assay で殺細胞効果を評価した。また、温熱処理後の heat shock protein(HSP)の発現を Western Blotting 法にて検討した。次に *in vivo* における検討として、マウス大腸癌細胞株 colon26 を BALB/c マウスの皮下に移植し、皮下腫瘍モデルを作成し、腫瘍移植 3 日目より CPT -11 30mg/kg の腹腔内投与、および、41°C、30 分の全身加温による温熱処理を週 2 回のペースで施行し、抗腫瘍効果、生存期間を評価した。なお、全身加温は、遠赤外線全身加温装置を用いて直腸温を 41°C まで加温した。

【結果】*in vitro* の検討において、温熱処理直前に SN38 を添加した群より、温熱前処理終了 3 時間後に SN38 を添加した群が、殺細胞効果は増強されていた。また、温熱処理 3 時間後に HSP70, HO -1, I κ B α の蛋白レベルでの発現が増強していた。*in vivo* の検討においては、コントロール群に比較して、温熱処理単独群、CPT -11・温熱療法併用同時施行群において、腫瘍発育は抑制され、生存期間は延長される傾向を示し、温熱処理を CPT -11 投与の 3 時間前に行った群では、抗腫瘍効果、生存期間の延長がさらに得られた。

【結論】温熱前処理は、CPT -11 の殺細胞作用を増強した。メカニズムとして、温熱処理後に発現した HSP などにより、CPT -11 による癌細胞の NF - κ B の活性化が抑制されたことが関与していると考えられた。

癌特異的因子を標的とする抗腫瘍性プロドラッグの分子設計

西本 清一

京都大・院工・物質エネルギー化学

2004 年 7 月、米国の国立癌研究所 (NCI) は「癌のナノテクノロジー・プラン (Cancer Nanotechnology Plan)」と題する文書を公表した。その冒頭には、次のように記されており、分子スケールないしは細胞スケールにおける癌の画期的な診断法・治療法・予防法の確立を目指し、ナノテクノロジーに大きな期待を寄せている。

To help meet the Challenge Goal of eliminating suffering and death from cancer by 2015, the National Cancer Institute (NCI) is engaged in a concerted effort to harness the power of nanotechnology to radically change the way we diagnose, treat and prevent cancer. Over the past 5 years, the NCI has taken the lead in *integrating nanotechnology* into biomedical research through a variety of programs. The results of these initial funding efforts have demonstrated clearly that melding nanotechnology and cancer research and development efforts will have a profound, disruptive effect on how we diagnose, treat and prevent cancer.

癌治療法については、標的機能を担う分子部位と治療機能を担う抗腫瘍薬剤との結合体、診断機能を併せもった抗腫瘍薬剤、局所加熱が可能な機能分子、活性酸素種を発生する機能分子など、多様な複合機能を備えたナノスケール素子の開発を目標に掲げている。

本シンポジウム 4 の話題提供として、ここでは癌細胞あるいは癌組織で発生する特異的な因子に注目し、これらを標的とする機能を備えた 3 タイプの新規癌治療用プロドラッグについて、分子設計の事例を紹介する。

- (1) 固形癌の内部で発生する低酸素状態や低 pH (弱酸性) 状態などの生理学的環境因子を標的として、所定の化学反応が選択的に起こる、あるいは著しく促進されることにより、抗腫瘍活性な薬剤を放出するプロドラッグ
- (2) 癌の発生に関与する変異 DNA 塩基配列のような特異的構造因子を標的として、これらの塩基配列を認識した場合にのみ所定の化学反応が起こり、抗腫瘍活性な薬剤を放出するプロドラッグ
- (3) 癌組織内で発現する特異分子を標的として、これらの標的分子を認識することにより高い選択率で化学反応が起こり、抗腫瘍活性な薬剤を放出するプロドラッグ

DNA の特異的配列を認識する光活性化型プロドラッグの開発

城 幸弘、田邊 一仁、八田 博司、西本 清一
京都大・院工・物質エネルギー化学

近年、ヒトゲノムの解読が完了し、その遺伝情報を基にして個々の患者に適した予防・治療を可能とするテーラーメイド医療の研究が活発に行われている。ヒトの遺伝子は約 30 億の塩基対から成っており、そのうち約 1000~2000 塩基に 1 塩基の割合で一塩基多型 (SNPs) と呼ばれる変異の存在が知られている。この種の塩基変異は薬効や副作用に個人差が生じる原因のひとつになると考えられている。このため、個々の患者に特有の遺伝子配列を認識し得る機能性薬剤の開発が重視されている。このような試みのひとつとして、DNA の高い塩基配列認識能を応用し、特定の塩基配列と二重鎖を形成した場合にのみ有効な薬剤を遊離する機能性核酸の開発が活発に行われている。

本研究では、標的となる塩基配列をもつ DNA、還元反応によって薬剤を放出する部位をもつ DNA、光増感還元剤をもつ DNA で構成される三成分系 DNA システムを構築し、標的塩基配列を認識した場合にのみ光誘起電子移動が起こって、薬剤を遊離する機能性核酸の開発を目指している (Figure)。光増感還元機能部位としてフラビン構造をもつ DNA (FL-DNA)、および還元反応による薬剤遊離機能部位としてインドールキノンをもち DNA (IQ-DNA) をそれぞれ合成し、これら 2 種類の機能性 DNA による光反応を追跡した。その結果、標的 DNA の存在下でのみ IQ-DNA から効率よく光誘起薬剤遊離反応が起こることを確認した。一方、三成分系 DNA のうち一成分でも欠ければ、光遊離反応は著しく抑制された。このことは FL-DNA と IQ-DNA が標的 DNA と二重鎖を形成し、その結果として空間的距離が近づくために効率のよい光誘起薬剤遊離反応が進行したことを示している。この研究成果に基づき、新しい遺伝子診断やがん治療への応用研究を展開する予定である。

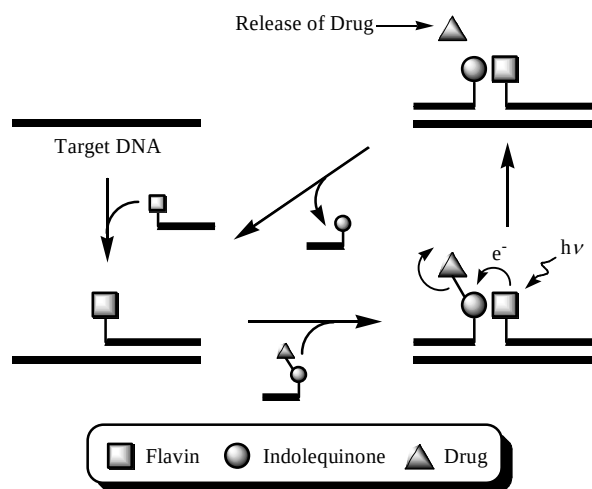


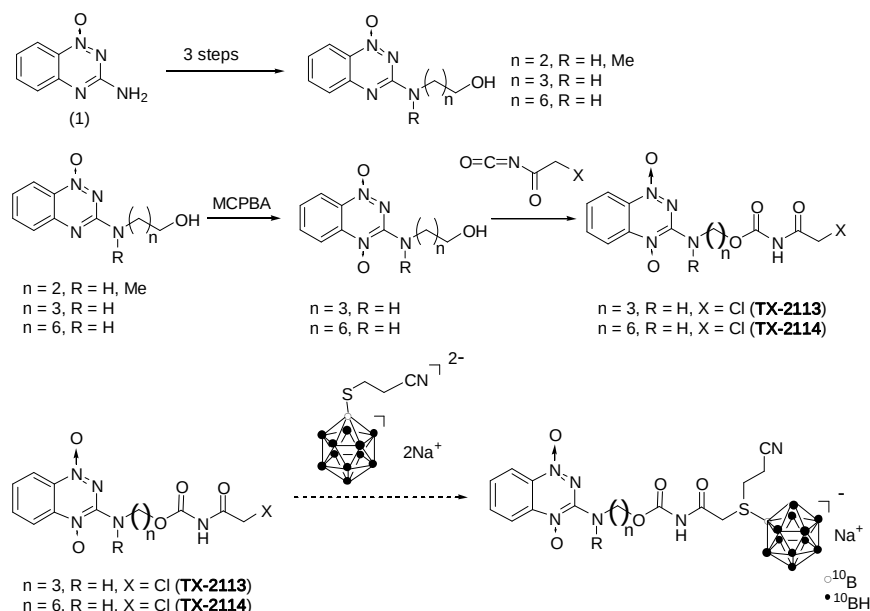
Figure. Photo-induced drug release from functionalized oligonucleotide in the presence of a target DNA that occurs selectively in the presence of a target DNA.

BNCT のための Tirapazamine ハイブリッド型新規低酸素毒性ボロンキャリアーの分子設計

中嶋 瞳¹、後藤 恵子¹、永沢 秀子¹、宇都 義浩¹、増永 慎一郎²、小野 公二²、堀 均¹

¹徳島大学・工学部・生物工学、²京都大学・原子炉

BNCT（ホウ素中性子捕捉療法）において腫瘍集積性の高い ^{10}B 原子の中性子捕捉分子の開発が求められている。Sodium borocaptate ^{10}B (BSH) は現在臨床で使用されているボロンキャリアーであるが、高親水性のため細胞内に取り込まれにくく、また腫瘍細胞への選択性が低いことが問題となっている。すでに我々の研究室で hypoxic cytotoxin である TX-402 と BSH がハイブリッドした化合物が合成されている。そこで今回、疎水性の異なる種々のリンカーを介して低酸素毒性を有する Tirapazamine (TPZ) と BSH を conjugate させることで低酸素毒性を併せ持つ新規 bifunctional な molecular beacon 様 Tirapazamine ハイブリッド型低酸素毒性ボロンキャリアー (Ref. 1,2) の分子設計及び合成を行った。合成としては、ニトロアニリンを出発原料とし 3-amino-1,2,4-benzotriazine mono-oxide (1) を合成した。1 級アミンをハロゲンに置換し、次いでアルコール側鎖の導入を行った。リンカー部のメチレン数は $n=2$ と 3 及び 6 のものを、また $n=2$ についてのみ $\text{R}=\text{H}$ の他に $\text{R}=\text{Me}$ も合成した。次に酸化反応を行い、 $n=3$ と 6 の化合物で 1,4-dioxide のアルコール体を得た。次にこのアルコール体が高い親電子性を有するハロアセチルカルバモイル基を導入した TX-2113 及び TX-2114 を合成した。現在、TX-2113 及び TX-2114 と BSH との縮合反応を行い、目的とする新規ホウ素中性子捕捉分子へ導く予定である。



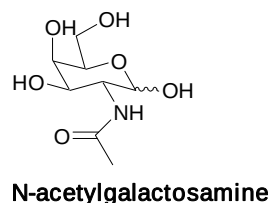
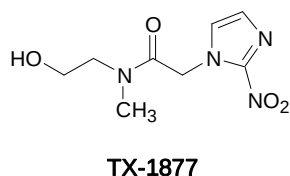
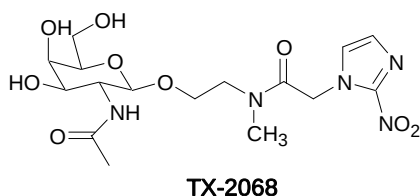
Ref.1. S. Masunaga., H. Nagasawa., et al., *Appl Radiat and Isot.* 61, 2004, 953-958

2. S. Masunaga., H. Nagasawa., et al., *Anticancer Res.* 24, 2004, 2975-2984

TX-2068：マクロファージの低酸素指向性を利用した低酸素細胞放射線増感剤の分子設計

宇都 義浩、佐々木 秀幸、中島 佳美、岡村 菜摘子、田中 彩子、中江 崇、村上 綾、永沢 秀子、堀 均
徳島大学・工学部・生物工学

ヒト固形腫瘍中に存在する低酸素がん細胞は放射線や抗がん剤に対する感受性が低い上、血管新生・浸潤・転移・遺伝子の不安定化などががん細胞特性に深く関わっていることが明らかとなってきた。我々はこの低酸素がん細胞を標的とする低酸素細胞放射線増感剤の開発を行ってきたが、低酸素がん細胞移行性が乏しいために有効な薬剤は未だ得られていない。そこでこの問題を踏まえ、新規癌治療薬として低酸素指向性マクロファージに対して結合能をもたせた低酸素がん細胞放射線増感剤の開発を試みた。本法は、低酸素指向性マクロファージを薬剤キャリアーとして利用することで従来の放射線増感剤を低酸素がん細胞に選択的に取り込ませることが期待できる。また同時に、低酸素指向性マクロファージを活性化させることでがん細胞への浸潤による殺細胞効果の向上が望める。この分子設計として、我々が既に開発した低酸素細胞放射線増感剤 TX-1877 とマクロファージ結合能をもつ N-acetylgalactosamine を組み合わせた薬剤を考案した。合成に関しては、N-acetylgalactosaminidase による切断が可能な O-リンク型と不可能な C-リンク型の 2 種類について検討した。現在、O-リンク型の増感剤 TX-2068 の合成に成功し、EMT6/KU 細胞に対する低酸素放射線増感実験の結果から TX-1877 (ER=1.75, 1mM) より高い増感活性 (ER=1.88, 1mM) を有することが分かった。今後、マクロファージ活性化能およびマクロファージ共存下での放射線増感実験を行う予定である。



分子情報に基づく癌化学療法の治療効果予測

檜山 桂子、谷本 圭司、西山 正彦

広島大学・原爆放射線医科学研究所・遺伝子診断・治療開発

2003 年 4 月、まだわずかな repetitive sequence の gap は残すもののヒトゲノムプロジェクトがヒトゲノム完全解読を宣言するに至り、人類は genetics から genomics そして proteomics、phenomics 解明の era に入った。このゲノム情報をもたらす最大の恩恵の一つに、癌をはじめ、いわゆる “common disease” と呼ばれる多因子疾患の効果・副作用予測に基づく個別化医療の実現がある。固形癌化学療法の成績は今なお芳しくないが、症例個々のゲノム情報により化学療法開始前に各薬物の効果・副作用を予測し、最適なものを至適量用いれば、重篤な副作用の出現は 0% に限り無く近づき、最大の効果が期待し得る。標的細胞（癌細胞）がさまざまな遺伝子変異・発現を有する固形癌にこそ、個々の遺伝情報に基づく個別化医療が特に有用と考える。我々は癌における pharmacogenomics として、ゲノム情報に基づく個別化医療の確立と、より癌特異的な分子標的治療薬の開発をめざしているが、当シンポジウムでは前者における我々の試みを紹介したい。

現在の癌化学療法においては、効果が期待される薬物を組み合わせて併用し、効果が乏しければ別の組み合わせに切り替えることが日々行われている。この投与する可能性のある複数の薬物すべてについて、個々の症例のゲノム情報に基づく効果・毒性をあらかじめ予測しておけば、一次選択のみならず、変更を要した場合の 2 次選択でもより良い選択が可能になる。この予測系を確立するため、我々はまずマイクロアレイによるさまざまなヒト癌細胞株の遺伝子発現プロファイルと MTT アッセイによる各種癌治療薬に対する IC_{50} 値とを比較し、その感受性を規定する可能性のある遺伝子を抽出した。この中から癌治療薬感受性との関連性について文献的に evidence が示された遺伝子を絞り込み、real-time RT-PCR で IC_{50} 値との関連性が確認された *ABCB1*, *ABCG2*, *CYP2C8*, *CYP3A4*, *DPYD*, *GSTP1*, *MGMT*, *NQO1*, *POR*, *TOP2A*, *TUBB*, *TYMS* の 12 遺伝子についてその相対的発現量を代入することにより、8 種の癌治療薬それぞれに対する感受性を同時に予測できる予測式を樹立した (Tanaka *et al.* Int J Cancer 111: 617-626, 2004)。この手段を応用し、臨床検体での発現レベルを代入することで治療効果・予後を推測する予測式、食道癌や卵巣癌など臓器別の予測式の樹立を試みる一方、マイクロアレイによる発現プロファイルからより的確な効果規定遺伝子を絞り込む手段として、MTT アッセイにより得られた IC_{50} 値と発現量が相関するのみならず、 IC_{50} 値が高い細胞と低い細胞で有意に発現レベルが異なる遺伝子を抽出する試みも行っている。現在臨床検体において再現性を検証するとともに、臨床応用にむけた簡便化をめざしており、これらが確立されれば、今尚不良である進行癌の予後改善につながると信じている。

ゲノム解析からの増感予測

播磨 洋子

関西医科大学・医学部・放射線科

我々は子宮頸癌に対する放射線治療単独施行例と温熱放射線治療施行例の予後予測を検討するためにゲノム解析を用いて観察した。放射線治療単独施行例は III 期 11 例、IV 期 8 例の計 19 例で、温熱放射線治療施行例は III 期 12 例、IV 期 7 例の計 19 例であった。組織型は全例扁平上皮癌であった。p53 の点突然変異を SSCP 法で、ヒトパピローマウィルス(HPV)感染の有無を PCR 法で調べ、全例 p53 遺伝子は野生型で、HPV 陽性であった。

(1)放射線治療単独施行例におけるゲノム解析：クラスター解析では 62 個の遺伝子が選別され、予後予測スコアでは CR 群・NC 群の 2 群が識別された。放射線高感受性癌にはレチノール酸(RA)の合成とレチノールの輸送に関与する ALDH1 遺伝子と RBP1 遺伝子の高発現が観察された。RA を加えた子宮頸癌細胞は放射線感受性が高くなるとの報告があり、さらに、RA は c-Myc を誘導させアポトーシスを引き起こすとの興味深い報告もある。放射線抵抗性の子宮頸癌において XRCC5 遺伝子が感受性癌に比べて有意に高く発現した。

(2)Ku80 蛋白の免疫組織染色：XRCC5 遺伝子産物である Ku80 蛋白の免疫組織染色を施行してゲノム解析の結果を検証した。1994 年 6 月～2001 年 5 月までに放射線治療を施行した 89 例 (I 期 3 例、II 期 11 例、III 期 52 例、IV 期 23 例)を対象とした。Ku80 陰性率は 29.2%(26 例)で、Ku80 陽性率は 70.8%(63 例)で、Ku80 発現と年齢、病期、腫瘍径には相関がなかった。Ku80 陰性症例の抗腫瘍効果は CR19 例、PR3 例、NC4 例で、Ku80 陽性は CR25 例、PR22 例、NC16 例で、Ku80 陰性症例は有意に良好な抗腫瘍効果を示した($P=0.01$, χ^2 検定)。さらに、Ku80 陰性症例の累積生存は Ku80 陽性に比べて有意に良好であった($P=0.04$)。DNA2 本鎖切断が生じた際、Ku80 は Ku70 とヘテロダイマーを作り、DNA-PKcs と結合して DNA 末端を覆い、エンドジョイニングを引き起こして切断部位を修復する。Ku80 陽性症例が抗腫瘍効果、生存率が不良であったのは、癌細胞において DNA2 本鎖切断の修復機能が強く放射線に抵抗性を示したと考えられた。

(3)温熱放射線治療施行例におけるゲノム解析：我々は子宮頸癌の治療成績を改善する目的で IIIB 期を対象に放射線治療単独施行群と温熱放射線治療施行群の 2 群に分けて無作為臨床試験を施行した。その結果、温熱放射線治療施行群は局所制御生存率が放射線治療単独施行群に比べて有意に良好であった。しかし、温熱放射線治療を施行しても治癒しない症例を認め、これらの症例はより治療抵抗性を有する遺伝的背景を呈していると考えられた。そこで、温熱放射線治療施行例のゲノム解析を行い検討した。クラスター解析では 35 個の遺伝子が選別され、予後予測スコアでは無再発生存群・癌死群の 2 群が識別された。無再発生存群にはアポトーシスを誘導する BIK 遺伝子が高発現した。反対に癌死群にはアポトーシスを阻害する TEGT 遺伝子や、低酸素誘導遺伝子 (HIF1A)、腫瘍の浸潤、血管新生に関与する遺伝子 (PLAU, CD44)が含まれていた。

本研究により抽出された遺伝子群は進行期子宮頸癌の治療抵抗性を診断する有力な手掛りとなり、予後を改善するための薬剤の開発に有力な知見を与え、今後の癌化学療法の糸口になる可能性があると考えられた。

マイクロアレイによる癌治療効果予測

石川 仁¹、大野 達也¹、加藤 真吾¹、若月 優¹、辻井 博彦¹、岩川 真由美²、野田 秀平²、
今井 高志²、秋元 哲夫³、桜井 英幸³、中野 隆史³、三橋 紀夫⁴
放射線医学総合研究所・¹重粒子医科学センター病院、²放射線感受性遺伝子プロジェクト、
³群馬大学大学院・腫瘍放射線学、⁴東京女子医科大学・放射線医学教室

【目的】網羅的なマイクロアレイ解析は照射後の遺伝子発現の変化を把握でき、さらに照射効果を予測できる可能性がある。今回、放射線治療前・治療中の生検組織材料を用いて、炭素線治療・化学放射線療法・放射線単独療法を施行した各群に応答する遺伝子群の同定および治療前材料から転移関連遺伝子群の選別を目的にマイクロアレイ解析を行ったので報告する。

【方法】子宮頸癌 25 例の放射線治療前及び照射開始後 7 日目 (A:X 線 9 Gy (11 例) B:X 線 9 Gy+CDDP 投与 (12 例) C:炭素線 12 GyE (2 例)) の生検材料について検討した。遺伝子発現はコードリンク TM オリゴマイクロアレイ及び Resolver ソフトウェアを用いて各群固有の発現変化を呈する遺伝子群を解析した。また、治療前の生検材料が得られた CDDP 併用群 14 症例については、非転移群 10 例と転移出現群 4 例に 2 群化し解析した。

【結果】3 群すべてで有意な変化 (増加あるいは減少) を示す遺伝子群のうち、放射線単独療法群と CDDP 併用群では、多くの遺伝子で共通の変化を示したが、炭素線治療群では逆の発現変化 (減少: 6 個の遺伝子、増加: 38 個の遺伝子) を認める遺伝子群があった。また、炭素線治療群固有の応答遺伝子群約 200 個の中には、CDKN1A、FDXR、BAX、MAO3K12、SIVA、CALM など炭素線照射効果のメカニズムを示唆する遺伝子群も見られた。次に、放射線治療前生検試料を用いた転移関連遺伝子群については、約 300 個の遺伝子群に絞り込む事ができた。

【結語】腫瘍組織を用いたアレイ解析は放射線応答のメカニズムの解明に有用であり、治療効果を予測できる可能性が示唆された。さらに、現在研究中である放射線抵抗性株での遺伝子発現の変化についての基礎的実験の結果も併せて報告する。

6-ジメチルアミノプリンによるアポトーシス誘導の分子機構 マイクロアレイ法による解析

中島 正雄^{1,2}、崔 正国¹、田渕 圭章³、小嶋 康夫²、中野 隆²、近藤 隆¹

富山医科薬科大学・¹医学部・放射線基礎医学教室、³生命科学実験センターゲノム機能解析分野、

²富山県立中央病院・産婦人科

アルキル化剤は臨床で広く使用されている抗癌剤である。これは DNA をアルキル化し、アルキル化塩基を生成する。単独処理でアポトーシスを誘導するアルキル化塩基があるが、その分子機構は不明な点が多い。演者らは、U937 細胞で高いアポトーシスの誘導率を示す 6-ジメチルアミノプリン (6-DMAP) を用い、アポトーシスの分子機構について検討した。6-DMAP は時間および用量依存性にアポトーシスを誘導した。6-DMAP (5mM) の 16 時間処理時、DNA 断片化率は 78.7% であり、フローサイトメトリーによる解析では、早期アポトーシスは 37.1%、二次的ネクローシスは 26.7%、およびカスパーズ 3 の活性化を示す細胞の割合は 80.9% となった。また、ウェスタンブロット法にて Bax、Bid、チトクローム C 等の活性化と Bcl-XL の抑制も確認され、細胞内 Ca イオン濃度の上昇も認められた。早期の遺伝子変化をみるため、6-DMAP 5mM、3 時間でマイクロアレイ法を行ったところ、発現が抑制される遺伝子が多数確認された。リアルタイム PCR 法により、PCNA、Insulin induced gene 1、serine proteinase inhibitor 2、v-myc の mRNA の発現低下を認めた。メチル化された塩基が細胞内に取り込まれ、これによる細胞内の核酸代謝のバランスの破綻が原因と考えられる。

Tumor dormancy therapy(がん休眠療法)の概念と実際

高橋 豊

金沢大学・がん研究所・腫瘍外科

癌治療のゴールは言うまでもなく癌の完全消滅である。しかし、遠隔転移がある場合は、手術による完全消滅は不可能であり、次の目標は抗癌剤による延命となる。ところが、抗癌剤治療においては「縮小なくして延命無し」を金科玉条とし、そのため投与量は「more is better」という発想で Maximum tolerated dose (MTD: 最大耐用量)が唯一の決定法となった。しかし、この MTD では副作用が強い割に延命効果が少ないこともあり、多くの患者に受け入れられていないのが現状である。つまり、現在の抗癌剤治療は、なかなか縮小しないにもかかわらず、縮小のみを求めて無理矢理ヒトの限界の量を投与しているのが現状である。

我々は、癌患者の延命がどのように得られるかという点から検討し、継続する増殖抑制からも延命が得られることを初めて明らかにした (J Natl Cancer Inst 87)。さらに、Time to Progression (TTP: 増殖抑制期間) が長い NC(不変)症例の生存期間は、有効症例のそれに匹敵することを示した。つまり、従来の縮小のみを目的とする戦略から、増殖の抑制(縮小がなくとも)を長く継続するという治療戦略として Tumor dormancy therapy(TDT)を提唱し、これに合致した治療法の開発を訴えてきた。これまで癌治療の中心は、手術、放射線療法、MTD 化学療法であったが、TDT では①低用量化学療法、②抗血管新生治療、③免疫療法がその中心になる。さらに近年、これらの3つの治療は互に関連性が深いことが明らかにされ、延命につながるエビデンスが次々と出つつある。

我々は、①の一つとして、MTD に変わる投与量設定として「個別化最大継続可能量」を考案し、肺癌や胃癌でこれまでより longer survival with better QOL の成績が得られ、これを確認するための胃癌、肺癌、乳癌、悪性黒色腫に対する全国規模の臨床試験が開始された。②大腸癌で血管新生因子の一つである vascular endothelial growth factor (VEGF)が、転移や増殖に関わっていることを初めて報告したが(Cancer Res, 55)、多くの追試を経て抗体の臨床試験が進み、2003 年大腸癌で成功し、初めての血管新生抑制剤として臨床の場に登場することが決定した。我々はさらに動物実験を用い、大腸癌が浸潤、転移を開始する直前に血管新生が亢進する(Angiogenic switch)ことを明らかにするとともに、これを抗 VEGF 抗体により阻止し、転移の抑制を達成できることを明らかにした。③PSK を併用する臨床試験により、大腸癌術後の肝再発を有意に減少させることに成功した。特に、その機序として血行性転移が減少することを明らかにした。

さらに、TDT の最も大きな特徴は、副作用が悪化することなく併用できることであり、上記の3つを併用することも可能であり、今後大きな期待が寄せられる。

以上 TDT は、消滅できない癌に対しては、従来の治療に比べて、より患者に優しい治療にもかかわらず、癌との共存を通して、より長い延命が得られる治療戦略であることを紹介したい。

DNA 修復因子を標的とした siRNA によるヒト癌細胞の放射線/温熱増感

大西 健¹、岡本 倫朋²、高橋 昭久¹、大西 武雄¹

奈良県立医科大学・医学部・¹生物、²耳鼻咽喉科

【目的】NBS1 は DNA double strand breaks の修復系である Homologous recombination repair や Non homologous end joining repair で重要な役割を果たしていることが知られている。NBS1 を標的とした siRNA を細胞内導入し、これら修復系を阻害することでヒト癌細胞の放射線/温熱感受性を増強できるかどうか検討した。

【方法】*p53* 欠損ヒト非小細胞肺癌 H1299 細胞に正常型あるいは変異型 *p53* 遺伝子を導入した細胞 (H1299/wt*p53*, H1299/mp*p53*)、ヒト舌癌細胞 (SAS、正常型 *p53* 表現型) に変異型 *p53* 遺伝子あるいは *neo* コントロールベクターを導入した細胞 (SAS/mp*p53*, SAS/*neo*) を用いた。*NBS1* 標的 siRNA は X 線照射/温熱処理の 2 日前に liposome で細胞内に導入した。コロニー形成法で放射線/温熱感受性を、ウェスタンブロット法で NBS1 タンパク質等の細胞内蓄積量を調べた。

【結果】

1. H1299 および SAS 細胞株の *NBS1* 標的 siRNA により NBS1 タンパク質の細胞内蓄積量が特異的に減少した。
2. H1299 および SAS 細胞株で *p53* 非依存的に *NBS1* 標的 siRNA による放射線増感効果が明瞭に見られた。
3. SAS 細胞株で *NBS1* 標的 siRNA による *p53* 非依存的温熱増感効果が見られた。

【考察】*NBS1* 標的 siRNA は *p53* 非依存的な放射線/温熱増感作用を持つことが分かり、放射線/温熱癌治療の増感剤として有望であると考えられる。

遺伝子発現阻害による癌治療戦略

樋口 裕高

フナコシ株式会社

遺伝子の発現を特異的に阻害することができるアンチセンスや siRNA は、遺伝子の機能解析ツールとして幅広く用いられています。一方、これらは癌、ウイルス疾患などの治療薬としても期待されています。弊社では遺伝子発現阻害ツールとしてアンチセンス及び siRNA 関連製品を各種取り揃えていますが、今回は特に分化、発生の研究における遺伝子機能解析ツールとして、好評頂いております GeneTools 社 モルフォリノオリゴを中心に、その特性から癌治療への応用までをご紹介します。又、癌細胞に多く発現している遺伝子の探索ツールについても併せてご紹介いたします。

モルフォリノオリゴは GeneTools 社の創設者である Dr. Summerton により開発された核酸誘導体であり、ヌクレアーゼはじめ各種分解酵素に対して抵抗性を示すこと、RNA へのアフィニティーがオリゴ DNA よりも強いこと、特異性が非常に高いなど、アンチセンスとして機能するために必要な特性を十分に備えています。現在では siRNA とともに遺伝子発現阻害ツールとして世界的に幅広く使用されており、使用論文数も 700 を超えました。又、海外では癌、ウイルスなどをターゲットとした臨床試験が進行しています。

参加者一覧（五十音順）

浅尾 高行	群馬大・院医・病態総合外科
浅川 勇雄	奈良医大・医・腫瘍放射線医学
天谷 和夫	J.B.I.
石川 仁	放医研・重粒子医科学センター病院
板坂 聡	京都大・附属病院・放射線科
稲波 修	北海道大・院獣医・放射線学
上里 新一	関西大・工・生物工学科
上田 公介	名古屋前立腺センター・温熱免疫療法研
宇都 義浩	徳島大・工・生物工学
大谷 吉秀	慶応義塾大・医・外科
大西 健	奈良医大・医・生物
大西 武雄	奈良医大・医・生物
岡本 譜史	奈良医大・医・耳鼻咽喉科
小口 正彦	癌研病院・放射線治療科
鬼塚 伸也	国立長崎医療センター・外科
小野 公二	京都大・原子炉・医療基礎
河野 一典	鹿児島大・歯・歯科放射線学
犠我 直美	労働保険事務組合・創造科学技術研
窪田 宣夫	茨城医療大・保健医療・放射線技術科学
桑原 幹典	北海道大・院獣医・放射線学
小泉 雅彦	京都府医大・医・放射線科
古倉 聡	京都府医大・院医・消化器病態制御学
近藤 隆	富山医薬大・医・放射線基礎医学
崔 正国	富山医薬大・医・放射線基礎医学
坂元 直行	京都府医大・院医・生体機能制御学
芝本 雄太	名古屋市大・院医・量子放射線医学
鈴木 実	京都大・原子炉・医療基礎
高橋 昭久	奈良医大・医・生物
高橋 豊	金沢大・がん研・腫瘍外科
城 幸弘	京都大・院工・物質エネルギー化学
田邊 一仁	京都大・院工・物質エネルギー化学
田野かおり	鈴鹿医療科学大・東洋医学研
玉本 哲郎	奈良医大・医・腫瘍放射線医学
辻 直樹	札幌医大・医・臨床検査医学
中島 俊文	天理よろづ病院・放射線部
中島 正雄	富山医薬大・医・放射線基礎医学
仲田 栄子	東北大・医・放射線科
中蔦 瞳	徳島大・工・生物工学
永野 浩昭	大阪大・院医・病態制御外科
西村 恭昌	近畿大・医・放射線医学
西本 清一	京都大・院工・物質エネルギー化学
野島 久美恵	放医研・国際宇宙放射線医学研

長谷川 武夫	鈴鹿医療科学大・院・医用画像情報学
長谷川 正俊	群馬大・院医・腫瘍放射線学
畑下 昌範	(財)若狭湾エネルギー研
秦野 修	奈良医大・医・解剖
林 幸子	福井大・医・放射線基礎
原田 浩	京都大・院医・放射線医学(腫瘍放射線科学)
播磨 洋子	関西医大・医・放射線科学
東 庸太郎	(財)体質研
樋口 裕高	フナコシ(株)・営業本部
檜山 桂子	広島大・原医研・遺伝子診断・治療開発
平岡 真寛	京都大・院医・放射線医学(腫瘍放射線科学)
福本 学	東北大・加齢医学研
堀 均	徳島大・工・生物工学
前川 正信	前川泌尿器科
増永 慎一郎	京都大・原子炉・医療基礎
松浦 成昭	大阪大・院医・分子病理学
松本 英樹	福井大・医・放射線基礎
三橋 紀夫	東京女子医大・医・放射線医学
村山 千恵子	東海大・医・放射線治療科学
森田 隆	大阪市大・院医・遺伝子制御学
安井 博宣	北海道大・院獣医・放射線学
家根 旦有	奈良医大・医・耳鼻咽喉科
山川 延宏	奈良医大・医・口腔外科
山本 五郎	山本ビニター(株)
幸 和恵	奈良医大・医・耳鼻咽喉科
吉川 敏一	京都府医大・院医・生体機能制御学
吉川 智裕	学習院大・院自然科学・化学

平成 17 年 1 月 26 日までの参加申込者

<スタッフ>

北野 睦子	奈良医大 3 年
久保 卓也	奈良医大 2 年
田中 秀憲	奈良医大 3 年
辻中 大生	奈良医大 3 年
森 英一朗	奈良医大 2 年
紅谷 恵子	国際癌治療増感研究協会事務局
高木 昭美	(財)体質研