Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-05-19

良性・悪性組織における放射線抵抗性獲得の分子メカニズムに関する検討（助成研究報告）

佐々木, 良平
杉村, 和朗

(Citation)
神戸大学医学部神緑会学術誌,22:108-110

(Issue Date)
2006-08

(Resource Type)
departmental bulletin paper

(Version)
Version of Record

(JaLCDOI)
https://doi.org/10.24546/81007940

(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/81007940

助成研究報告——

良性・悪性組織における放射線抵抗性獲得の分子メカニズムに関する検討

神戸大学大学院医学系研究科生態情報医学講座放射線医学分野
佐々木　良　平（平5年卒），杉　村　和　朗（52年卒）

1．背景と目的

がんによる死亡率は増加の一途を辿り，特に高齢者のがん患者の急増は，大変重要な社会的関心事といえる．レントゲンが約110年前の1895年にX線を発見し，コバルト照射やリニアック照射などが発明されて以来，放射線治療は本邦でも約50年の歴史を持つ．CTを用いた治療計画が1980年代に臨床応用が可能となり，数多くのがんを放射線治療で治癒に導くことが可能になったこの時期を，小生は放射線治療の革命第一期と捉えている．まさに外科的治療でしか治らなかった数々の悪性疾患が，放射線治療の根治治療の対象として成績を挙げ始めた．近年では生物学的効果と空間線量分布のより優れた粒子線治療や，IMRT（強度変調照射）や3D-conformal Radiotherapy（3D-CRT）等の，正常組織への放射線の被照射体積を極めて少なくする放射線治療技術の画期的な改良から，それらの優れた治療法の選択する比率は急上昇し，根治的・放射線治療の適応はさらに急速に広がりつつある．この華々しい技術革新を放射線治療の革命第二期と捉えるが，その一方で，分子生物学分野でも様々な放射線治療に対する分子標的が明らかに成りつつある．物理的な技術革新と生物学的な放射線増感作用の融合こそが第三の革命をもたらす原動力になることに疑念の余地はない．

放射線治療とは，端的に表現すれば，悪性腫瘍と正常細胞の放射線感受性の差異を利用して病気を治癒に導く治療法である．正常細胞・正常臓器の放射線感受性はほぼ一定しており，治療を計画する上でも予測がある程度可能であるが，悪性腫瘍に関しては，放射線感受性の高い腫瘍から感受性の低い腫瘍までそのスペクトルは広範であり，その予測は困難な場合が多い．以前には低酸素効果など腫瘍細胞に対する環境因子が提唱され，様々な研究が進められているものの，分子生物学からの成果を反映した画期的な治療効果の改善は，現時点では臨床応用がなされていない．放射線治療が効きにくい腫瘍を放射線抵抗性腫瘍と表現するが，その機序の解明こそが放射線治療の適応をさらに広げ，その恩恵を受ける患者数の拡大につながると確信している．

本研究では，放射線抵抗性獲得という最も重要な腫瘍特性をNF-Kappa Bから解析・検討し，放射線抵抗性腫瘍に対する新たな治療法を検討する．

2．方法

2-1. John Hopkins大学のB. Vogelstein教授より供与されたp53遺伝子のwild type型とknockout型の2種類のヒト大腸がん細胞株（HCT116 p53+/+, HCT116 p53-/-）を用いて放射線抵抗性細胞株の樹立を試み，その細胞特性を検討した．

2-2. 喉頭がんに対する放射線治療後に再発をきたした腫瘍（＝放射線抵抗性腫瘍）の組織標本をNF-Kappa B（p65）の免疫染色にて比較検討した．

3．結果

3-1. p53遺伝子の発現型が異なる2種類のヒト大腸がん細胞に対して12Gyのガンマ線照射を施行し，放射線耐性細胞を作成し，そのサブクローニングにより，放射線抵抗性クローンを作成した．そのサブクローンを親株の放射線感受性と比較したところ，p53遺伝子wild type型（HCT116 p53+/+）では，より抵抗性に変化したのに対して，knockout型のHCT116 p53-/-では元々HCT116 p53+/+より放射線抵抗性であるものの，更に放射線抵抗性になることはなく，親株とサブクローンはほぼ同等の放射線感受性を示していた．（図1-A）

3-2. 次にHCT116 p53+/+, HCT116 p53-/-の親株と放射線抵抗性クローンのNF-Kappa Bの転写をDNA Binding Assay（EMSA）を用いて調べたところ，放射線感受性とNF-Kappa BのDNA bindingの程度はHCT116 p53+/+と抵抗性クローンの関係，及びHCT116 p53+/+, HCT116 p53-/-の親株同士の関係においても極めてよく相関しており，放射線抵抗性とNF-Kappa BのDNA bindingにおいては，極めて強い関係があることが確認された．

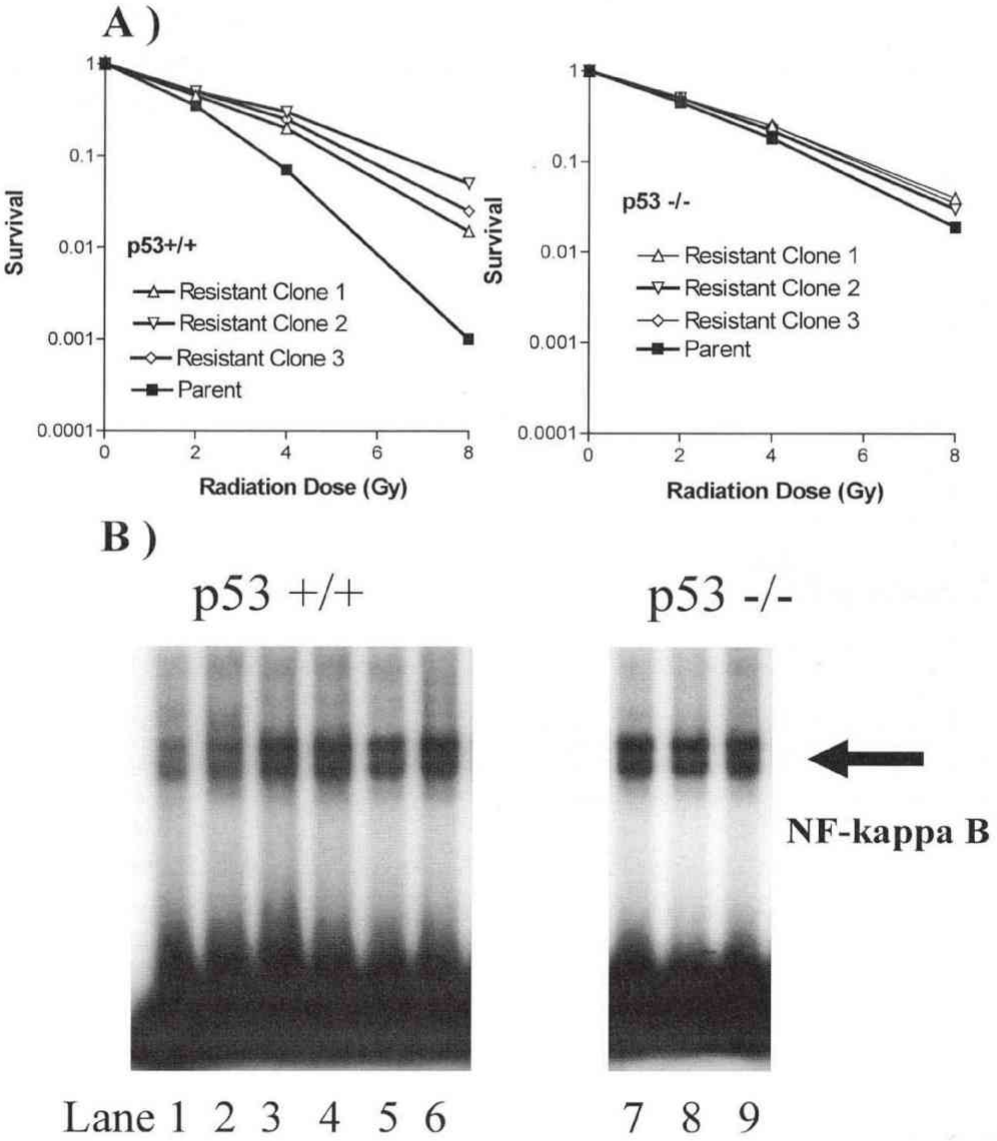

図1．A）ヒト大腸がん細胞の親株（HCT116 p53+/+, p53-/-）と放射線抵抗性クローン（Resistant Clones）との放射線感受性の比較.
B）同：NF-Kappa B の DNA binding activity (EMSA Assay) の比較.
Lane 1: Cold probe, Lane 2: HCT116 p53+/+, Lane 3-6:HCT116 p53+/+ Radioresistant Clones, Lane 7: HCT116 p53-/-, Lane 8-9: HCT116 p53-/- Radioresistant Clones

3-3. 放射線抵抗性と NF-Kappa B との関連は，細胞実験レベルで相関が示されたため，臨床検体での解析を行った．一般に喉頭がんの早期癌では放射線単独治療が選択され，T1N0M0 では 80-90%，T2N0M0 では70-80%の局所制御率が得られており，当院での成績に関しても既存の報告と比べても見劣りがしない．その臨床経験の中で約10%の再発例が経験されるが，治療前の再発時の双方の組織標本が得られた13例と，再発がなかった15例の NF-Kappa B の中で p65 蛋白の Immunoreactivity にて比較解析した．再発時腫瘍＞再発症例の治療前腫瘍＞非再発腫瘍と NF-Kappa B の中で p65 蛋白の Immunoreactivity に関して明らかな発現量の差が確認され（図2），実際の臨床症例においても NF-Kappa B が放射線抵抗性に強く関与していることが確認された．

4．考察および結論

NF-Kappa B は TNF-α によって活性化される主たる転写因子であり，近年では腫瘍の増殖や抗がん剤との治療効果との関連が報告されている．[1] 一方で放射線感受性との関連を明らかにした報告は稀有であり，今回の研究のように実際にがん細胞や腫瘍組織が放射線抵抗性を獲得していく過程で NF-Kappa B の活性化を確認した報告はない．放射線抵抗性には NF-Kappa B 以外にも，AKT や p53 遺伝子など様々分子

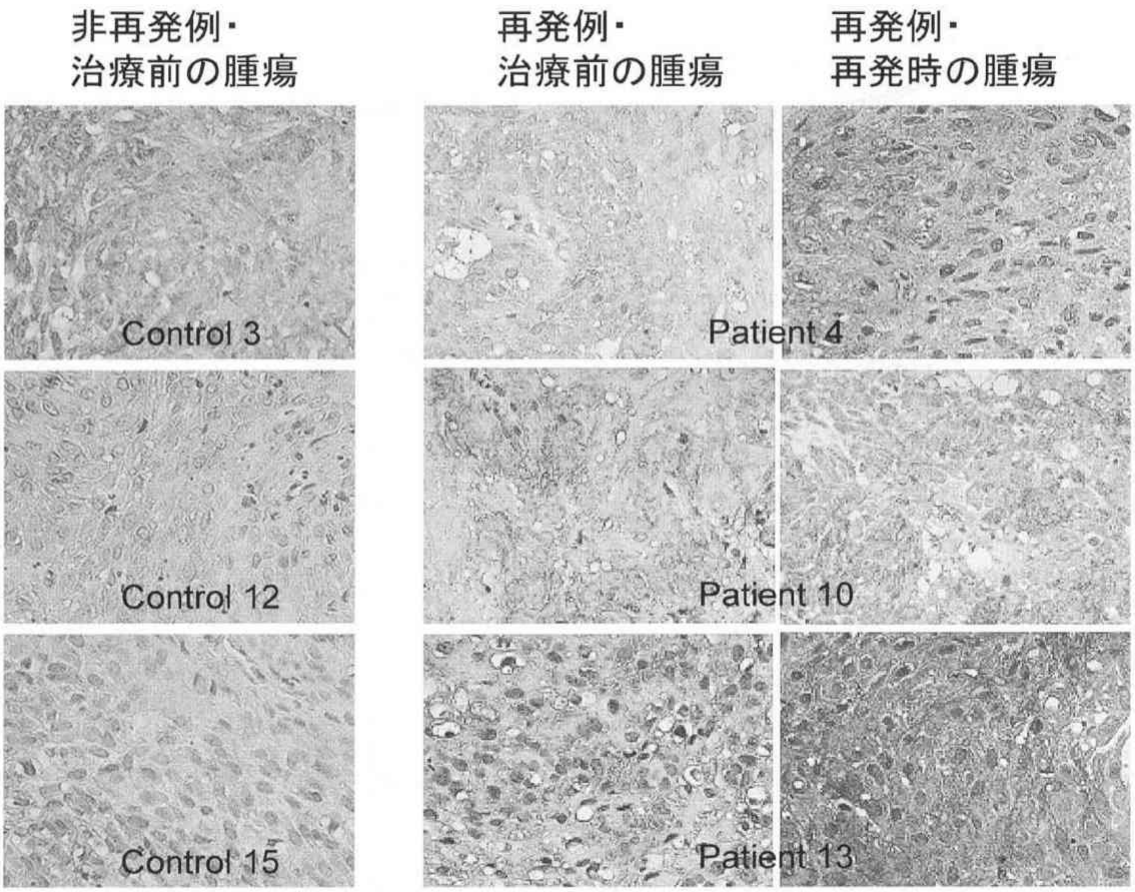

図２　喉頭癌（T1N0M0, T2N0M0）の臨床症例における NF-Kappa B の免疫染色での検討.
再発例・再発時の腫瘍（右列）＞再発例・治療前の腫瘍（中列）＞非再発例・治療前の腫瘍（左列）の順で NF-Kappa B (p65) の免疫染色での濃染が強くなっていることが確認された.

標的が関与しているが[2]，その主たる原因にはミトコンドリアにおける Reactive Oxygen Species（ROS）とその修復機構が深く関与していることが報告されている.[3] その克服により放射線治療の適応が更に広がり，次世代のがん治療に広く貢献していくことが望まれる.

文　献

1）Amit S and Ben-Neriah Y. (2003) NF-kappaB activation in cancer: a challenge for ubiquitination- and proteasome-based therapeutic approach Semin Cancer Biol. 13(1), 15-28.

2）McKenna WG and Muschel RJ. (2003) Targeting tumor cells by enhancing radiation sensitivity. Genes Chromosomes Cancer. 38(4), 330-338.

3）Achanta G and Sasaki R, Huang P. (2005) Novel role of p53 in maintaining mitochondrial genetic stability through interaction with DNA Pol gamma. EMBO J. 24(19), 3482-3492.

謝辞：末筆になりましたが，本研究において貴重な臨床検体での検討をさせて頂いた神戸大学大学院医学系研究科頭頸部腫瘍外科・丹生健一教授と様々な研究指導をして頂いた，同皮膚科・尾藤利憲先生に深謝致します.