

X線および重粒子線照射に対する感受性に関与する遺伝子群の検索

丹沢秀樹¹、鶴澤一弘¹、武川寛樹¹、肥後盛洋¹、神津由直¹、河崎謙士¹、上杉尚子¹、
溝江純悦²、山本信治²、柴原孝彦³、野村 武³、薬師寺孝³、田中千早³

¹ 千葉大学大学院医学研究院臨床分子生物学

² 放射線医学総合研究所

³ 東京歯科大学歯学部口腔外科学

重粒子線とは放射線の一種で、X線や γ 線は光子の飛翔であるのに対し、重粒子線は電荷を持ったカーボン原子やネオン原子などである。これらの放射線が細胞に及ぼす影響を比較すると、重粒子線はX線に比べて、細胞致死効果の面においても、線量集中性の面においても勝っていることが知られている。また、重粒子線はX線と異なり、細胞致死効果が細胞の状態に左右されないという性質も持ち合わせている。この優れた特徴を利用して放射線医学総合研究所では世界で唯一、癌の臨床治療実績を積んできた。この過程で、X線、カーボン粒子線、ネオン粒子線など、線種が異なると癌に対する致死効果が異なること、癌の種類によりこれらの線種による治療効果が異なることなどが明らかにされた。しかしながら、それらの相違は物理学的特性のみでは説明できないことも明らかになった。分子生物学的、遺伝子レベル的手法により放射線照射後の細胞内の遺伝子変化を網羅的に検索し、それぞれの放射線の生物学的作用、感受性・耐性機構関連遺伝子等を明らかにし、癌患者治療に先立ち、最適な放射線種を選択することを目的とする。

【各種癌細胞に対する照射、生存曲線作成、核酸抽出・精製】

口腔扁平上皮癌由来細胞株 Ca9-22, HSC-2, HSC-3, および悪性黒色腫由来細胞株 G361 に異なる線量のX線(0, 2, 4, 8 Gy)、重粒子線(Carbon, 0, 1, 4, 7 Gy)を照射し、コロニー形成法・色素排除法により細胞生存曲線を作成した。また、各細胞株、各線種、各線量に対し、照射後1, 2, 4, 8, 12時間で核酸を抽出・精製し、マイクロアレイ解析に用いた。今回ここで紹介するデータは、各細胞の各線量照射後4時間における遺伝子の動きに絞り、また、遺伝子の具体的な名称は、論文投稿のすんでいるもののみを紹介することとした。これは特許や論文のために一部のデータしか発表できないためである。具体的には、重粒子線に関しては、扁平上皮癌のうち比較

的重粒子に耐性であったCa9-22と重粒子線に感受性が高い悪性黒色腫細胞株G361に絞ったデータの論文投稿中のものについてご紹介し、また、X線照射データについては、感受性の異なる扁平上皮癌細胞株3種類(高感受性HSC-3、中等度感受性Ca9-22、低感受性HSC-2)に関するデータの一部を紹介する。

【重粒子線(カーボン)照射後の遺伝子変動プロファイリング】

ヒト全遺伝子搭載 Affymetrix 社製 GeneChip™ を用いて、口腔扁平上皮癌細胞株 Ca9-22 と悪性黒色腫細胞株 G361 における重粒子線(Carbon-ray)照射後における遺伝子の発現変動プロファイリングの比較を行った。両細胞において照射線量が増加しても、常に発現増大していた遺伝子数と常に発現減弱していた遺伝子数を図1に示す。驚くべきことに、両細胞に共通して動く遺伝子は非常に少なかった。

図2にそれらの遺伝子の線量増加に対する発現変動の推移を示した。これら6種類の遺伝子は扁平上皮癌であるCa9-22細胞と悪性黒色腫であるG361細胞で、ともに線量の増加に伴って発現量が増加した。従って、重粒子線に対する何らかの共通の反応パスウェイを表しているものと考えられる。遺伝子発現量の相違が重粒子線感受性に関連したものかどうかを現在機能解析により検討している。図3はCa9-22細胞とG361細胞で発現状態の相違が明らかに認められた遺伝子の代表例である。このような遺伝子の動きの差が重粒子線感受性・耐性に関連する可能性があり、現在、さらに絞り込んでいるところである。

【X線照射後の口腔扁平上皮癌細胞株における遺伝子発現プロファイリング：特に重粒子線照射との比較】

X線に対する各細胞内の遺伝子の反応と、重粒子線

に対する各細胞内の遺伝子の反応の相違を調べることにより、それぞれの線種、細胞種における放射線感受性・耐性メカニズムを明らかにし、さらに癌に対する放射線治療時の線種の適切な選択法を開発する必要がある。Ca9-22細胞とG361細胞とにおいて共通に、常に高発現を示した図2に収載した6遺伝子について紹介する。図3に示すように、X線に対する感受性の異なる扁平上皮癌細胞株3種類（高感受性HSC-3、中等度感受性Ca9-22、低感受性HSC-2）で遺伝子発現の程度と推移が異なっており、これらの遺伝子がX線感受性・耐性に関連しているパスウェイを示している可能性がある。さらに、Ca9-22細胞における遺伝子発現状態に注目すると、図2と図4を比較してよくわかるように、重粒子線照射時とX線照射時で各遺伝子の反応が非常に異なっていることが明らかになった。これらの性質を利用すれば、より効果的な線種の選択が可能になることが期待される。

本項ではさまざまな制約があり、多くのデータを紹介することができなかった。しかし、現在、放射線耐性・感受性との関連という視点から非常に興味深い多数の遺伝子とその組み合わせが我々の実験からピックアップされており、実際の臨床で有用な判定法の確立のために、さらに絞り込みと機能解析を行っている。

文献

- 1) Yamamoto N, Nakamoto D, Numasawa T, Tanaka C, Yakushiji T, Nomura T, Uzawa K, Shibahara T, Tanzawa H, Mizoe J, Noma H. Study of DNA structural mutation induced by heavy charged particles (carbon ions) in head and neck malignant tumor cell lines. Abstracts of 6th Asia Congress on Oral and Maxillofacial Surgery. (Tokyo, Japan).

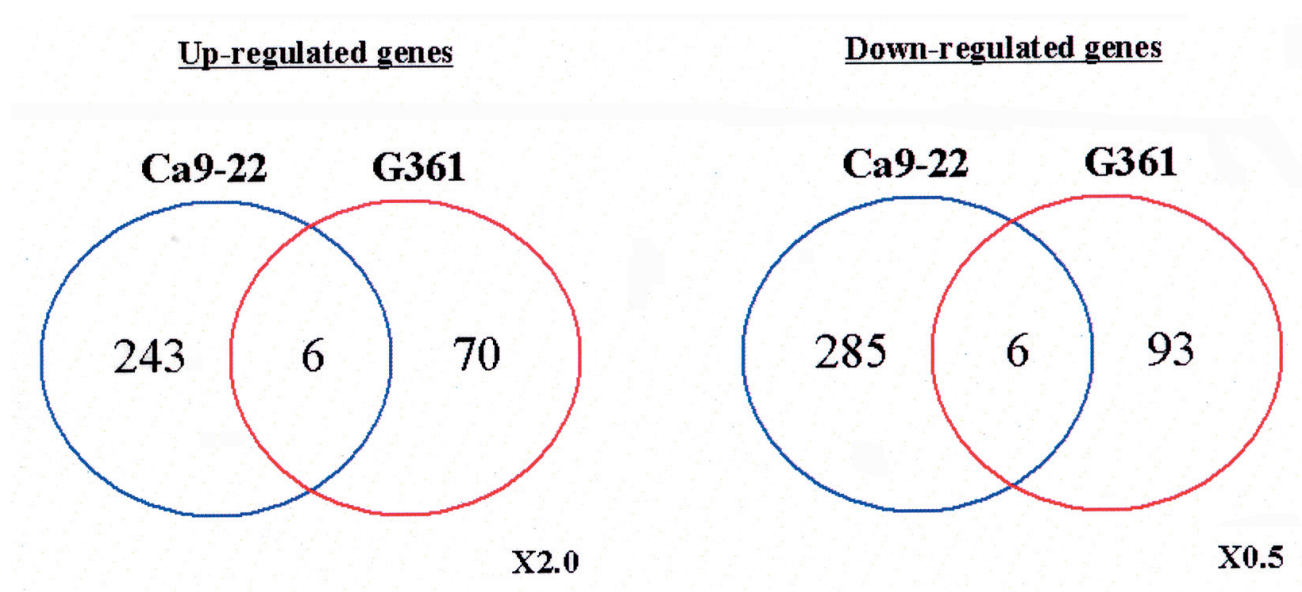


図1. Ca9-22細胞とG316細胞において、照射後常に高発現を保った遺伝子の種類と数の比較（Carbon-ray）

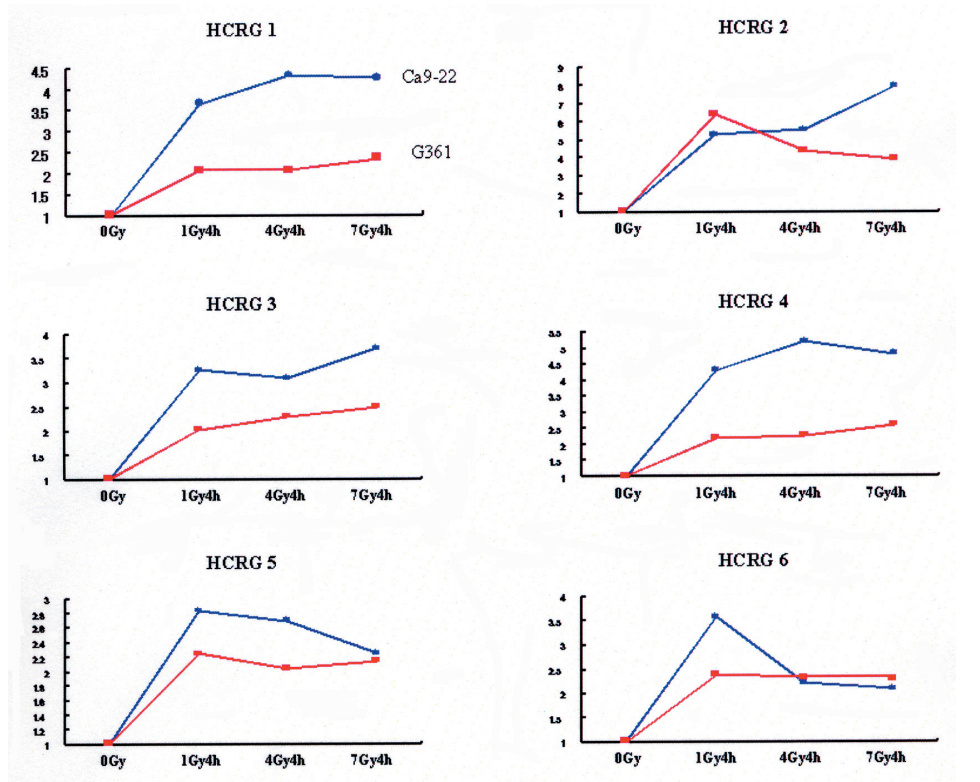


図 2. Ca9-22, G361 に共通して常に強発現した遺伝子の発現量の推移 (Carbon-ray)

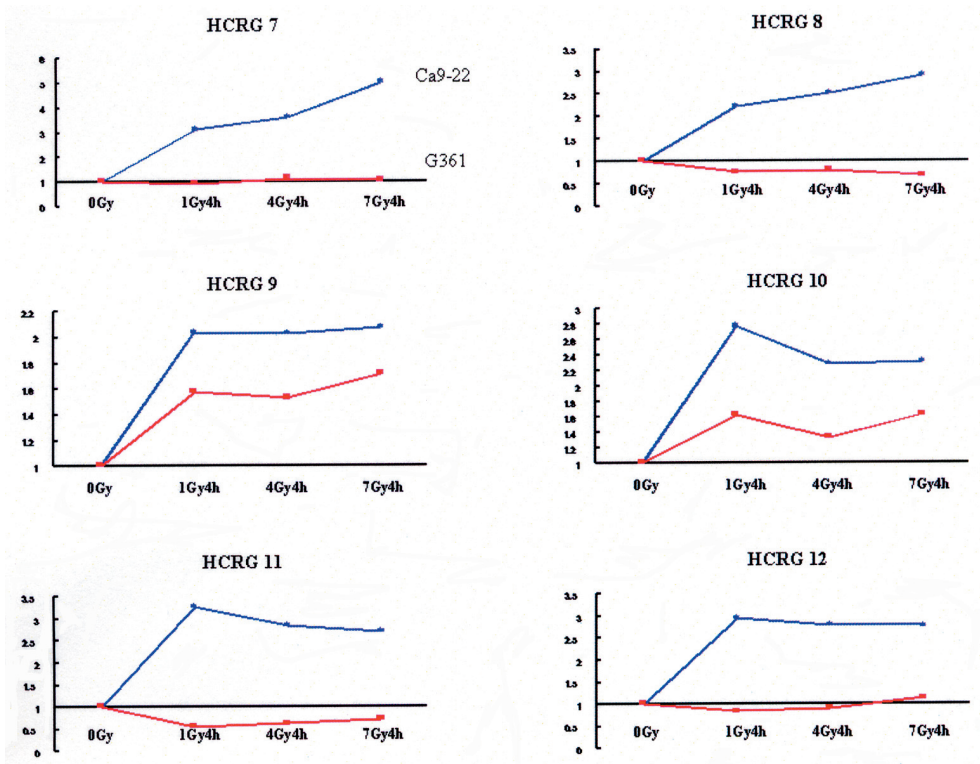


図 3. Ca9-22 と G361 で発現状態の相違が認められた遺伝子の代表例 (Carbon-ray)

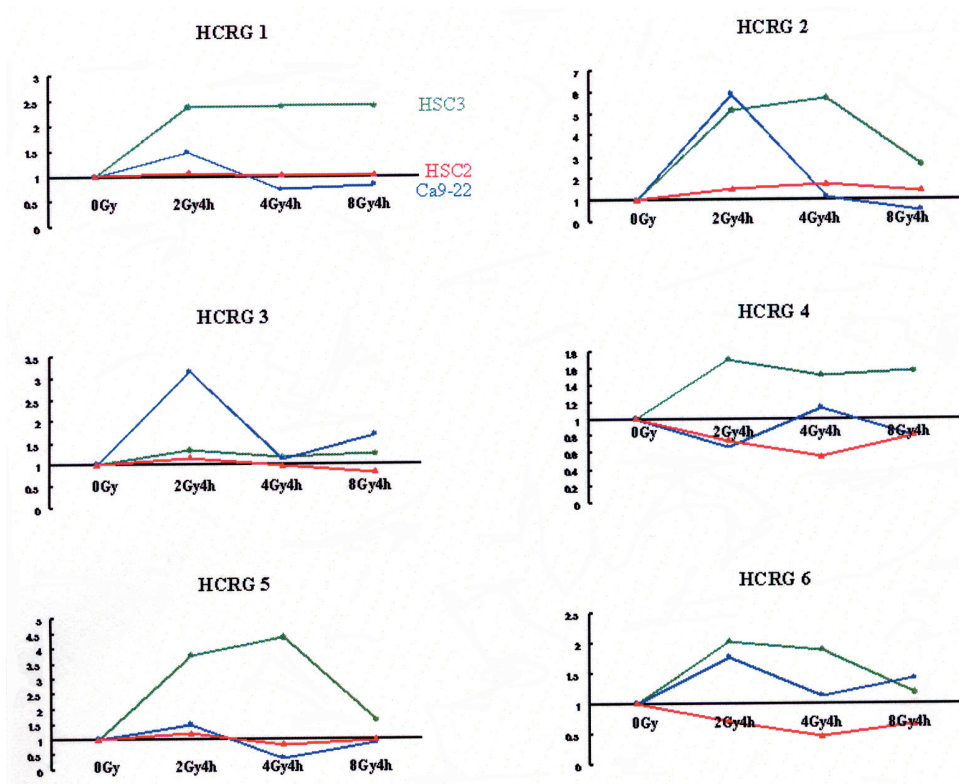


図4. 重粒子線照射時に Ca9-22 と G361 で共通に強発現を示した遺伝子のX線照射後の各遺伝子の発現状態の推移 (X-ray)