

Radiological Sciences

# 放射線科学

2010.02

Vol.53

第53巻 第02号



特集

放医研第9回重粒子医科学センターシンポジウム

## 「先端科学と社会の接点」

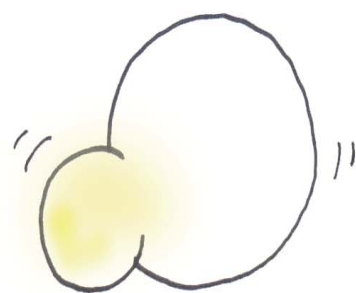
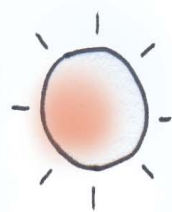
連載

知財を知る(2)

「知的財産」・「産学連携」が  
「安心」・「豊か」な社会をつくりだす

ISSN 0441-2540





独立行政法人  
**NIRS** 放射線医学総合研究所

第9回 重粒子医科学センターシンポジウム

# 先端科学と社会の接点

粒子放射線生物研究の展開と先進治療



特集/放医研第9回重粒子医科学センターシンポジウム 「先端科学と社会の接点」

## Contents

04	はじめに～シンポジウム開催にあたって～ 重粒子医科学センター 先端遺伝子発現研究グループ シンポジウム実行委員長 安倍 真澄	22	Analysis of DNA Double Strand Break Repair Following Heavy Ion Irradiation 重粒子線照射後のDNA二重鎖切断修復の解析 Angela T. Noon <sup>1,2</sup> , Takamitsu Kato <sup>2</sup> , Ryuichi Okayasu <sup>2</sup> , Penny A. Jeggo <sup>1</sup> 1: Genome Damage and Stability Centre, University of Sussex, Brighton BN1 9RQ, UK 2: Heavy-Ion Radiobiology Research Group, Research Centre for Charged Particle Therapy, National Institute of Radiological Sciences, Chiba, Japan 国際オープンラボラトリー 粒子放射線分子生物学ユニット及び重粒子医科学センター 放射線生物研究グループ
<b>I. 幹細胞研究</b>			
06	iPS細胞の出現を捉える 重粒子医科学センター 先端遺伝子発現研究グループ 荒木 良子 Possibility of Cancer Stem Cell Targeting Heavy-Ion Radiotherapy	27	ポリADP-リボシル化と放射線応答、放射線感受性 国立がんセンター研究所 生化学部 益谷 美都子、白井 秀徳、荻野 秀樹、橋本 安希、杉村 隆
08	がん幹細胞をターゲットとした重粒子線がん治療の可能性 Sei Sai and Ryuichi Okayasu Heavy ion Radiobiology Research Group, Research Center for Charged Particle Therapy, National Institute of Radiological Sciences, Chiba, Japan. 重粒子医科学センター 粒子線生物研究グループ 崔 星、岡安 隆一	<b>IV. がん治療における放射線治療と重粒子線治療の位置づけ</b>	
12	がん幹細胞ニッチを標的としたイメージング・内用放射線治療の可能性 福井大学 高エネルギー医学研究センター 吉井 幸恵、古川 高子 <sup>2</sup> 、藤林 靖久 <sup>1,2</sup> 1: 福井大学 高エネルギー医学研究センター 2: 放射線医学総合研究所 分子イメージング研究センター	29	オーバービュー 重粒子医科学センター 鎌田 正
<b>II. 放射線感受性の個人差を解明する</b>			
14	ゲノムサイエンスを用いた放射線治療最適化へのアプローチ 重粒子医科学センター ゲノム診断研究グループ 道川 祐市、岩川 真由美、今井 高志	30	医療現場のニーズと物理工学的対応 重粒子医科学センター 物理工学部 蓑原 伸一
16	生命情報工学の医学への応用 —細胞特性予測と化学物質影響診断の最前線— 独立行政法人産業技術総合研究所 生命情報工学研究センター 細胞機能設計チーム 藤測 航	31	臨床と物理工学に呼応する生物学研究 重粒子医科学センター 粒子線生物研究グループ 古澤 佳也
<b>III. 放射線感受性の分子機構: 損傷応答および損傷修復</b>			
18	重粒子線照射によって試料内に生じる活性酸素種の分布とその解析 重粒子医科学センター 粒子線生物研究グループ 松本 謙一郎	<b>V. 放射線科学と社会との接点</b>	
20	Homologous Recombination Repairと重粒子線によって作られる複雑な損傷 重粒子医科学センター 粒子線生物研究グループ 加藤 宝光	32	オーバービュー 重粒子医科学センター 丹羽 太貫
		33	臨床家の夢 重粒子医科学センター 鎌田 正
		34	物理屋の夢 重粒子医科学センター 物理工学部 白井 敏之、野田 耕司
		36	連載/知財を知る(2) 「知的財産」・「産学連携」が「安心」・「豊か」な社会をつくりだす 国立大学法人千葉大学産学連携・知的財産機構 片桐 大輔
		38	お知らせ 第16回 公開講座 特別編
		39	編集後記



特集/放医研第9回重粒子医学センターシンポジウム「先端科学と社会の接点」

はじめに～シンポジウム開催にあたって～

重粒子医学センター  
先端遺伝子発現研究グループ グループリーダー  
シンポジウム実行委員長  
安倍 真澄



安倍 真澄 (Masami Abe)

2009年12月18-19日多くの方々、163名(所外32名、所内131名)、ご参加を頂き、第9回重粒子医学センターシンポジウムが、「先端科学と社会の接点 粒子放射線生物研究の展開と先進治療」をテーマに開催されました。

慶應義塾大学医学部教授・岡野栄之先生により、ESおよびiPS細胞の再生医学への利用に関する最新の研究の御講演が行なわれました(第1日目午前9時半よりiPS細胞を用いた神経再生戦略)。これまで、それぞれ多能性を有し、違いが無いと思われてきた異なる細胞から樹立されたiPS細胞株が、実は、発がん性など重要な点において明らかに異なることを明らかにされる一方で、「iPS細胞そのものは再生医療へ用

いることができる」と強く感じさせられる情報を次々に生み出されていました。iPS細胞およびES細胞の確かな可能性を改めて認識させるとともに、一方で、これらの細胞の(事前)評価が如何に重要かを再認識させるものでした。(臨床使用に)適当な、即ち、将来問題を起こさないであろうiPS細胞、ES細胞を予め選ぶことが可能になれば、再生医学に向けた、大きな困難のひとつが克服されることになります。これら多能性幹細胞を用いた再生医学への道筋がしっかり見え始めているという、聞く者にとって興奮を抑えることの出来ないご講演でした。

シンポジウム全体としては、着実に実績が蓄積し、世界のスタンダードになりつつある重粒子線治療とそ

れを支える物理工学部門のアクティビティーを紹介し、生物系基礎部門が、このアクティビティーに将来貢献出来そうであることをアピールすることを、そして、これら先端科学を基盤とする先端医療と我々個々の将来にわたる豊かな関係をイメージし、感じていただくことを目標としました。重粒子線効果が実際に分子生物の言葉で語られ始めたことは印象的でした。又、癌幹細胞にフォーカスした最先端の確かな成果が、一方でゲノムワイド研究による、より具体的な目標への

取り組みも紹介され、生物研究の医学への貢献が、そのリアリティーを急速に増しつつある現状が、御講演いただいた先生方からたまたみ掛けられるように紹介されたのは、将来における生物学の重粒子線治療への貢献を確信させるものでした。一方で、重粒子治療の本体である臨床及び物理工学部門は、既に着実に成果をあげられるレベルを超え、世界のスタンダードへ、そして、質的に次のレベルへの挑戦を始めていることを確かな実績をもとに紹介しました。

プログラム

第1日目 12月18日(金)		
時間	セッション及び演題	座長・演者
9:25-9:30	開会の辞	米倉 義晴(放医研 理事長)
9:30-10:30	特別講演 iPS細胞技術と神経研究	座長 安倍 真澄 岡野 栄之(慶應大)
10:30-10:45	コーヒーブレイク	
I. 幹細胞研究		座長 丹羽 太貫(放医研)
10:45-11:15	iPS細胞の出現を捉える	荒木 良子(放医研)
11:15-11:45	がん幹細胞をターゲットとした重粒子線がん治療の可能性	崔 星(放医研)
11:45-12:15	がん幹細胞ニッチを標的としたイメージング・内用放射線治療の可能性	吉井 幸恵(福井大)
12:15-13:30	昼 食	
II. 放射線感受性の個人差を解明する		座長 今井 高志(放医研)
13:30-14:00	ゲノムサイエンスを用いた放射線治療最適化へのアプローチ	道川 祐市(放医研)
14:00-14:40	生命情報工学の医学への応用:細胞特性予測と化学物質影響診断の最前線	藤瀨 航(産総研)
14:40-15:00	コーヒーブレイク	
III. 放射線感受性の分子機構:損傷応答および損傷修復		座長 岡安 隆一(放医研)
15:00-15:30	重粒子線照射によって試料内に生じる活性酸素種の分布とその解析	松本 謙一郎(放医研)
15:30-16:00	Homologous recombination repair と重粒子線によって作られる複雑な損傷	加藤 宝光(放医研)
16:00-16:30	Analysis of DNA double strand break repair following heavy ion irradiation	Angela Noon(放医研)
16:30-17:10	ポリADP-リボシル化と放射線応答、放射線感受性	益谷 美都子(国立がんセンター)
17:10-17:30	全体討論	座長 岡安 隆一(放医研)
17:30-19:30	懇談会(於重粒子推進棟1階食堂)	

第2日目 12月19日(土)		
時間	セッション及び演題	座長・演者
IV. がん治療における放射線治療と重粒子線治療の位置づけ		座長 鎌田 正(放医研)
10:00-10:30	オーバービュー	鎌田 正(放医研)
10:30-11:10	医療現場のニーズと物理工学的対応	荻原 伸一(放医研)
11:10-11:50	臨床と物理学に呼応する生物学研究	古澤 佳也(放医研)
11:50-13:20	昼 食	
V. 放射線科学と社会との接点		座長 清江 純悦(放医研)
13:20-13:50	オーバービュー	丹羽 太貫(放医研)
13:50-14:20	臨床家の夢	鎌田 正(放医研)
14:20-14:50	物理屋の夢	白井 敏之(放医研)
14:50-15:00	閉会の辞	鎌田 正(放医研)



岡野先生(慶應大)による特別講演の様子



## 特集／放医研第9回重粒子医学センターシンポジウム「先端科学と社会の接点」

I. 幹細胞研究  
iPS細胞の出現を捉える

重粒子医学センター  
先端遺伝子発現研究グループ  
荒木 良子  
a\_ryo@nirs.go.jp



荒木 良子 (Ryo Araki)

iPS細胞化は、遺伝子導入による体細胞から多能性を有する胚性幹細胞への細胞系譜の転換であり、最初に、マウス胚性繊維芽細胞 (mouse embryonic fibroblast: MEF) に4遺伝子、Oct3/4、Klf4、Sox2、c-Mycをレトロウイルスベクターを用いて導入することにより示された。この現象は「生物学」が追い求めてきた「cell lineage conversion: 細胞系譜転換」そのものであり、これが遺伝子導入で達成できるという点からも、この理解を大きく進める可能性を有している。その後、癌遺伝子であるc-Myc遺伝子を用いない方法や、ゲノムへ傷をつけないプラスミドを用いた生成法が見出された。一方で、組織幹細胞など、ある程度幹細胞化が進んでいるものでは、4種類全て用いる必要がないことも示された。

このように、より「安全なiPS細胞」の作成に向けて多くの研究が急速に進む一方で、iPS化の分子機構そのものは未だほとんど明らかになっていない。その主な理由が、iPS細胞の生成が、極めて低い頻度で、かつ、ランダムに起こるストカスティックな現象ということに起因している。マウス線維芽細胞 (MEF) を用いた場合、iPSコロニーは遺伝子を含むレトロウ

イル感染後約2週間でほぼ千個に1個程度の割合で出現する。また胚性幹細胞 (以下、幹細胞) マーカー遺伝子の発現を指標にすることで、2週間待たずとも、感染後8~9日目にその出現の確認が可能である。更に遡ると感染5日目ぐらいに幹細胞マーカーのひとつであるアルカリフォスファターゼで染色される細胞がかなりの数観察されるようになり、その後、その一部に、やはり幹細胞マーカーのひとつであるSSEA1を発現する細胞が出現する。そしてそのまた一部が上述のごとく2週間後にiPS細胞コロニーを形成する。一方、iPS細胞のオリジンを初期にエンリッチすることが不可能な為、感染MEF全体を用いた解析ではあるものの、遺伝子発現を指標にした研究も進められ、感染後4日目には幹細胞マーカー遺伝子の発現が、確認されている。

このように、最も興味深い、cell lineage conversionプロセス、即ち、線維芽細胞が幹細胞へ転換する瞬間は未だ捉えられておらず、感染後三日間は、全くのブラックボックスのままである。我々は、この三日間に起こる現象を捉えることを試みた。期待できるのは「先祖線維芽細胞: ancestral fibroblast」の発見と「線

維芽細胞 → 幹細胞への cell lineage conversion の瞬間」を突き止めることである。

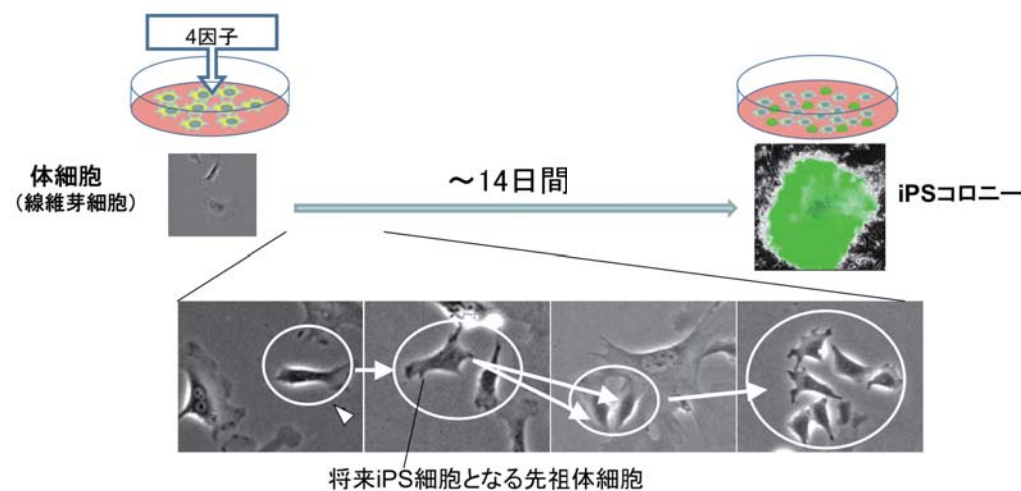
この目的の為に我々は既存のtime-lapse装置を改良した。従来のTime-lapse装置は、特定の細胞を時系列で追いかけて、その変化を観察するものである (数時間から長くても数日)。一方我々の装置は、3,000~10,000の繊維芽細胞をまとめて2週間観察する能力を有する。その結果、蓄積される情報は数千ギガから1テラバイトの膨大な量となる (従来の1,000~10,000倍)。このようにしてレコードした情報を2週間後に出現したiPSコロニー (3~10個のiPSコロニーの出現が期待される) から、ウイルス「感染時」まで遡ることで、iPS出現の瞬間を捉えようとした。60分間隔での観察により、2週間目に出現したiPSコロニーから感染後「3日目」まで遡ることができた。興味深いことに、この段階では、細胞は未だ「繊維芽細胞」の形状を呈し、巣籠もり状の小さな細胞塊を形成していた。ただし、少し小さく、動きが鈍っているように見えた。このような我々の観察は、遺伝子発現解析でも支持された。この感染後「3日目」、即ち72時間後のMEFから調製したRNA画分に幹細胞マーカーであるFgf4の存在が確認されたのである。しかしながら、iPS細胞出現時と時を同じくして膨大な数の球状の小さな細胞が、iPS出現の「場」に出現することが見出され、更なるバックトラッキング、即ち、感染後2日目以前まで遡ることは困難であった。そして、この細胞の出現はcMyc遺伝子の導入によることも見出された。そこで、我々は細胞数を1/4にするなど、観察条件の最適化を試みた。更に60分間インターバル観察では、正確にバックトラッキングできないことが明らかになった。即ち、繊維芽細胞からiPS細胞への「細胞系譜転換」を細胞レベルで追跡する為には、一つ一つの細胞の増殖過程を正確に連続的に追えることが必須であった。この為には更に短い時間間隔 (7.5分間~12分間以下) が要求された。このような観察条件の最適化の結果、100個以上のiPSコロニーの観察に、更にそのうち約30個については感染時まで遡ることに成功し、ついに「先祖線維芽細胞」を見出した。その結果これまで予想されていたような形態上の不当分裂はみられず、線維芽細胞が形態的な等分裂を生じ、その一方の子孫は線維芽細胞のまま何度か分裂しそのほとんどが感染2週間後までに死んでいくのに対し、他方の子孫は、線維芽細胞の形状を有したまま、数回の分裂の後、徐々にiPS細胞状へと変化した。なかには「不等分裂」を経ないiPS化もあるように

見えた。そして、何より驚いたことに、そのほとんどはウイルス感染後「48時間」、即ち2日以内に細胞系譜の転換が始まっていた (この段階では繊維芽細胞の形状) のである。更にそのうちかなりのものは24時間以内にその転換を開始していた。

今回、我々はiPS生成の最初の「三日間」に何が起きているかを初めて明らかにするとともに、体細胞から幹細胞への「細胞系譜転換」の可視化に成功した<sup>1)</sup>。今回開発した観察技術は、iPS化のみならず、シャーレ内で再現できるのであれば、夢であった、「発癌過程」「分化の決定過程」を観察することを可能にするだろう。現在でも、明視野に加えて、複数の蛍光観察が可能となつて、特定の遺伝子に着目した経時変化の情報も形態変化情報に加えて解析することが可能である。また、我々は観察中に、最終的にiPSにならないコロニーのかなりのもので、途中でiPSになろうとして失敗した産物であることも明らかにした。現在、iPSプロモーター因子の探索において激しい競争が世界で展開されているが、今回示した観察システムはこのような因子の高感度スクリーニングへの大きな貢献も期待できる。

## 参考文献

1) Araki R, Jincho Y, Hoki Y, Nakamura M, Tamura C, Ando S, Kasama Y, and Abe M. Conversion of ancestral fibroblasts to induced pluripotent stem cells, Stem Cells, 28, 213-220, 2010



## I. 幹細胞研究

## Possibility of Cancer Stem Cell Targeting Heavy-Ion Radiotherapy

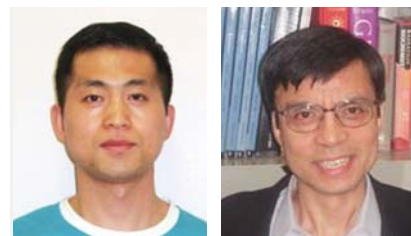
がん幹細胞をターゲットとした重粒子線がん治療の可能性

\*<sup>1</sup>Sei Sai and <sup>1</sup>Ryuichi Okayasu

<sup>1</sup>Heavy ion Radiobiology Research Group,  
Research Center for Charged Particle Therapy,  
National Institute of Radiological Sciences, Chiba, Japan.  
Corresponding Author: \*Sei Sai, e-mail address: sasei@nirs.go.jp

重粒子医学センター 粒子線生物研究グループ  
崔 星

重粒子医学センター 粒子線生物研究グループ  
岡安 隆一



崔 星 (Sei Sai) 岡安 隆一 (Ryuichi Okayasu)

## Abstract

To determine the effects of carbon ion radiation on cancer stem cells and its relation to radiocurability, human colon cancer cells HCT116 were used in vitro and in vivo. The xenograft tumors re-grew after 60 days when irradiated with 15 Gy carbon ion, but all the tumors were eradicated without relapse in the 90 days follow-up when irradiated with 30 Gy. In comparison, the tumors were suppressed for 31 days with 30 Gy and eradicated with 60 Gy X-ray radiation. The relative biological effectiveness (RBE) value of carbon ion relative to X-ray was 3.82. FACS analysis showed that the percentage of cancer stem cell markers such as CD133, EpCAM, and CD44 were more significantly increased after X-ray compared to carbon ion radiation. At an isodose of 30 Gy, carbon ion radiation predominantly suppressed expression of CD133, EpCAM, and CD44, whereas X-ray increased expression of those cancer stem cell markers in xenograft tumors. In conclusion, heavy ion radiation can effectively disrupt cancer stem cells compared to conventional X-ray, implying that heavy ion radiation can be a powerful cancer stem cell targeting therapeutics.

## Introduction

Radiation therapy is an effective nonsurgical intervention for colon cancer, but most of the tumors

invariably recur after radiation therapy. Therefore, determination of the mechanisms of recurrence and radioresistance in these tumors and others could lead to advances in the treatment of cancer. Recently, cancer stem cells, a minority subpopulation of cells that have the capacity to self-renew, have been identified in a growing number of solid tumors, and are typically recognized by virtue of the expression of cell surface markers, such as CD133, CD44, and EpCAM<sup>1)</sup>. Over the past decades, heavy ion radiotherapy has been successful in treating many kinds of human cancers, including lung, liver, prostate, sarcoma etc.<sup>2)</sup>. However, there is no report about the effects of heavy ion radiation on cancer stem cells regards to tumor control. In the present study, we try to explore the influences of carbon ion radiation on expression of cancer stem cell markers and its relationship to radiocurability of xenograft tumors in nude mice.

## Materials and Methods

## Cell lines

The colon adenocarcinoma cell line HCT-116 was cultured in Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) (Invitrogen) supplemented with 10% with heat-inactivated 5% (v/v) fetal calf serum, 100 unit/mL penicillin and 100 μg/mL streptomycin (Invitrogen) in a 37°C with 5% CO<sub>2</sub>-in-air. The medium was changed every other day.

## Animals and Xenograft transplantation

BALB/cAJcl-nu/nu male mice (5-week-old) were purchased from CLEA Japan, Inc. Tokyo, Japan. All surgical procedures and care administered to the animals were in accordance with the NIRS Animal Care and Use Committee.

## Radiation

Mice were irradiated with carbon ion beams accelerated by the HIMAC at NIRS in Japan. The details concerning the beam characteristics of carbon ion beams, biological radiation procedures, and dosimetry have been described elsewhere (2). As a reference, mice were also irradiated with conventional 200 kV<sub>p</sub> X-ray (Pantac HF-320S, Shimadzu Co., Tokyo) at NIRS.

## Gross Morphology and Histopathology

Xenograft tumors from different groups were fixed in 10% neutral formalin and processed in paraffin-embedded followed by sectioning (4 μm) onto slides. Sections were stained with hematoxylin and eosin (HE) and assessed microscopically.

## Tumor Growth Delay and Relative Biological Effects

The tumor growth delay (TGD) of xenograft tumors after treatment with X-ray or carbon ion was estimated at the tumor volume of 600 mm<sup>3</sup>. The relative biological effectiveness (RBE) of carbon ion at the middle of a 6-cm SOBP relative to X-ray was calculated by Kaleidagraph software.

## FACS Analysis

FACS analysis for the cells irradiated with X-ray or carbon ion was performed according to the manufacturer's protocol (FACS; Aria, BD Bioscience).

## Immunohistochemistry

Immunohistochemical study was performed by the avidin-biotin complex (ABC) method using Vectastain rabbit IgG kit (Vector Laboratories). Anti-CD133 (AC133, human monoclonal, Miltenyi Biotec), anti-CD44 (mouse monoclonal, BD Transduction Labs), and anti-EpCAM (mouse monoclonal, Acris Antibodies GmbH) were used.

## Western blotting

Western blot analyses were performed as previously described. The monoclonal antibodies used were anti-CD133, anti-EpCAM, anti-CD44, and anti-b-catenin.

## Statistical analysis

One-way ANOVA and Bonferroni multiple comparison tests were used when mean differences between the groups were evaluated by StatView software. For all comparisons, *p* values less than 0.05 were defined as significant.

## Results

## Tumor Growth Control by Carbon ion vs X-ray Radiation

At an iso dose of 30 Gy, Treatment with X-ray radiation only suppressed tumor growth for 31 days, whereas carbon ion radiation increased tumor size at the initial 6 days and then gradually decreased. The tumor was finally disappeared after 90 days follow up without relapse.

## Tumor Growth Delay and Relative Biological Effects of Carbon ion relative to X-ray Radiation

The tumor growth delay of xenograft tumors after treatment with 15 Gy and 30 Gy of X-ray was 5 and 28 days, whereas treatment with 5 Gy and 15 Gy by carbon ion was 12 and 82 days, respectively, when estimated at the time of tumor regrew to a volume about 600 mm<sup>3</sup>. The RBE value of carbon ion at the middle of a 6-cm SOBP relative to X-ray was calculated as 3.82.

## Gross Morphological and Histopathological Changes after Carbon ion vs X-ray Radiation

Carbon ion radiation predominantly induced colon cancer cell cavitations, fibrosis and most of the cells were killed and the duct-like architecture was completely disrupted. In contrast, X-ray radiation only partially destroyed colon cancer cells and the duct-like architecture still remained.

## Expression of CD133, EpCAM, and CD44 after Carbon ion vs X-ray Radiation

In vitro study by FACS analysis showed



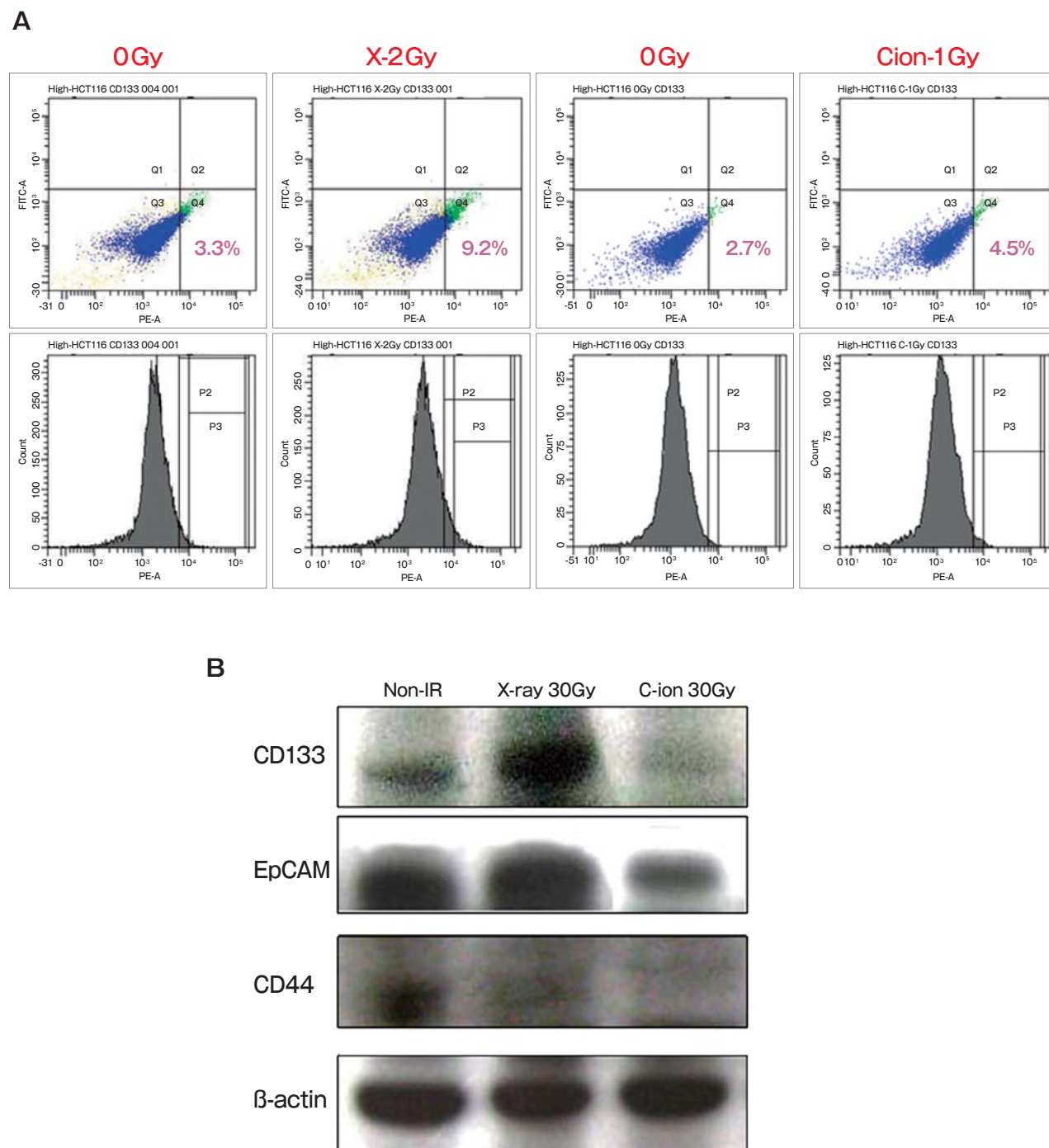


Figure 1  
 A: Representative figures of *in vitro* study by FACS analysis of CD133 after 72 h X-ray or carbon ion radiation.  
 B: Expression changes of CD133, EpCAM and CD44 in the HCT116 xenograft tumours after treated with carbon ion or X-ray radiation for 1 month.

that the percentage of cancer stem cell markers such as CD133, EpCAM, and CD44 were more significantly increased after X-ray compared to carbon ion radiation. At an isodose of 30 Gy, carbon ion radiation predominantly suppressed expression of CD133, EpCAM, and CD44. In comparison, X-ray significantly increased expression of those cancer stem cell markers in xenograft tumors.

### Discussion

FACS analysis of *in vitro* study clearly showed that the percentage of cancer stem cell markers, CD133, EpCAM and CD44 were more significantly enhanced by X-ray in a dose dependent manner compared to carbon ion radiation. Western blotting and immunohistochemistry of *in vivo* studies demonstrated that carbon ion radiation significantly

suppressed expression of cancer stem cell markers CD133, EpCAM as well as CD44, whereas X-ray radiation remarkably increased these protein levels in xenograft tumors at an isodose of 30 Gy. We also found that carbon ion radiation predominantly induced colon cancer cell cavitations, fibrosis and completely disrupted duct-like structure, whereas X-ray radiation only partially disrupted colon cancer cells and the duct-like structure still remained, when the xenograft tumors histopathologically examined after one month. The RBE value of carbon ion relative to X-ray was 3.82, suggesting that heavy ion radiation have more than 3 times of biological effects on the tumor control capability. All together, our findings presented here highlight the potential benefits of utilising heavy ion treatment for effectively targeting otherwise highly resistant cancer stem cells.

### References

- 1) Zou GM. Cancer initiating cells or cancer stem cells in the gastrointestinal tract and liver. *J Cell Physiol.* 2008, 217 (3) : 598-604.
- 2) Kanai T, Matsufuji N, Miyamoto T, *et al.* Examination of GyE system for HIMAC carbon therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006 ; 64 : 650-6.

### 和訳

近年、大腸癌、膵臓癌、グリオーマなど多くの腫瘍において癌幹細胞の存在が確認され、再発や転移、化学療法や放射線抵抗性と強く関与することが報告されている。

重粒子線はX線や抗癌剤抵抗性の種々のがん治療に有効であることから、今回、ヒト大腸癌由来HCT116細胞を用い、*in vitro* 及び *in vivo* にて、炭素線照射 (290MeV/u、50keV/um、SOBP中心) とX線照射による癌幹細胞への影響及び移植腫瘍増殖遅延、治癒との関連について検討した。X線15、30Gy照射ではそれぞれ5、28日間の腫瘍増殖遅延が認められ、60Gyでは腫瘍の治癒が認められた。一方、炭素線5、15Gy照射ではそれぞれ12、82日間の腫瘍増殖遅延、30Gy照射では腫瘍の治癒が認められた。

腫瘍増殖遅延曲線からX線に対する炭素線のRBEは3.82と算出された。*In vitro* 及び *in vivo* における

FACS解析では、癌幹細胞マーカーであるCD133+、EpCAM+、CD44+細胞の割合は、炭素線照射に比べX線照射は線量依存的に有意に増加させることが認められ、またそれぞれマーカーのタンパク発現はX線30Gy照射により増強されるが炭素線30Gy照射により有意に抑制されることが*in vivo* 実験にて確認された。

以上より、癌幹細胞をターゲットとしたより有効な癌細胞死滅効果が重粒子線がん治療の高い治癒率をもたらしていると考えられる。



特集／放医研第9回重粒子医科学センターシンポジウム「先端科学と社会の接点」

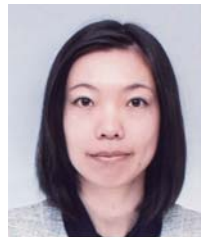
I. 幹細胞研究

がん幹細胞ニッチを標的とした  
イメージング・内用放射線治療の可能性

福井大学 高エネルギー医学研究センター  
吉井 幸恵  
yukiey@u-fukui.ac.jp

古川 高子<sup>2</sup>、藤林 靖久<sup>1,2</sup>

1:福井大学 高エネルギー医学研究センター  
2:放射線医学総合研究所 分子イメージング研究センター



吉井 幸恵 (Yukie Kohji)

がんの固形腫瘍内部には酸素が十分に供給されない低酸素領域が存在し、がんの悪性化に関与していることが知られている。我々はこれまでに、こうしたがんの低酸素領域に集積性を示す Positron Emission Tomography (PET) 用放射性薬剤 <sup>64</sup>Cu-diacetyl-bis (N<sup>4</sup>-methylthiosemi-carbazone) (<sup>64</sup>Cu-ATSM) を開発し、研究を進めてきた<sup>1-3)</sup>。一方、これまでの臨床研究から、Cu-ATSM 集積腫瘍は高い治療抵抗性を示し、転移能も高いことが報告されている<sup>4,7)</sup>。これらの高

い治療抵抗性、転移能といった特性は、近年研究が進みつつある「がん幹細胞」が示す特徴的な性質でもある。こうしたことから、<sup>64</sup>Cu-ATSM 集積領域は、腫瘍内において「がん幹細胞の居場所」(いわゆる「がん幹細胞ニッチ」) になっているのではないかと考えられた。本講演では、我々の最新の研究成果に基づき、<sup>64</sup>Cu-ATSM による腫瘍内がん幹細胞局在領域を標的としたイメージング並びに内用放射線治療の可能性についてお話ししたい。

がん幹細胞ニッチを標的とした  
イメージングに関する研究

これまでに <sup>64</sup>Cu-ATSM の集積特性について明らかになっているマウス大腸がん (Colon26) 腫瘍モデルを用い、腫瘍内における <sup>64</sup>Cu-ATSM の分布とがん幹細胞の分布をオートラジオグラフィ法及び免疫組織染色法を用いて検討した。がん幹細胞マーカーとしては、CD133 を用いた。その結果、<sup>64</sup>Cu-ATSM 高集積領域では、他の領域に比べ、CD133<sup>+</sup> 細胞の割合が比較的高いことが明らかとなった。また、Colon26 細胞において CD133<sup>+</sup> 細胞が高コロニー形成能・高腫瘍形成能・低酸素耐性といったがん幹細胞様の性質を有することを確認した。以上のことから、<sup>64</sup>Cu-ATSM は腫瘍内のがん幹細胞局在領域を標的としたイメージングに有用である可能性が示された。

がん幹細胞ニッチを標的とした  
内用放射線治療に関する研究

放射性 <sup>64</sup>Cu は、PET 検出できるポジトロン核種であると同時に、細胞に障害を与える β<sup>-</sup>線を放出する核種でもある (左図)。こうしたことから、<sup>64</sup>Cu-ATSM は、腫瘍内がん幹細胞局在領域を標的と

したイメージングのみならず、内用放射線治療にも応用できると考えられた。そこで、上述の Colon26 腫瘍モデルを用い、<sup>64</sup>Cu-ATSM の内用放射線治療への応用の可能性について検討した。その結果、<sup>64</sup>Cu-ATSM 治療量投与により、腫瘍サイズが縮小すること、がん幹細胞比率が減少すること、転移能が抑制されることが明らかとなった。これらのことから、<sup>64</sup>Cu-ATSM のがん幹細胞局在領域を標的とした内用放射線治療への応用の可能性が示されたと考えられる。

参考文献

- 1) Obata et al. (2001) Ann Nucl Med. 15, 499-504.
- 2) Obata et al. (2003) Nucl Med Biol. 30, 535-9.
- 3) Tanaka et al. (2006) Nucl Med Biol. 33, 743-50.
- 4) Dehdashti et al. (2003) Int J Radiat Oncol Biol Phys. 55, 1233-8.
- 5) Dehdashti et al. (2008) J Nucl Med. 49, 201-5.
- 6) Grigsby et al. (2007) Mol Imaging Biol. 9, 278-83.
- 7) Dietz et al. (2008) Dis Colon Rectum. 51, 1641-8.

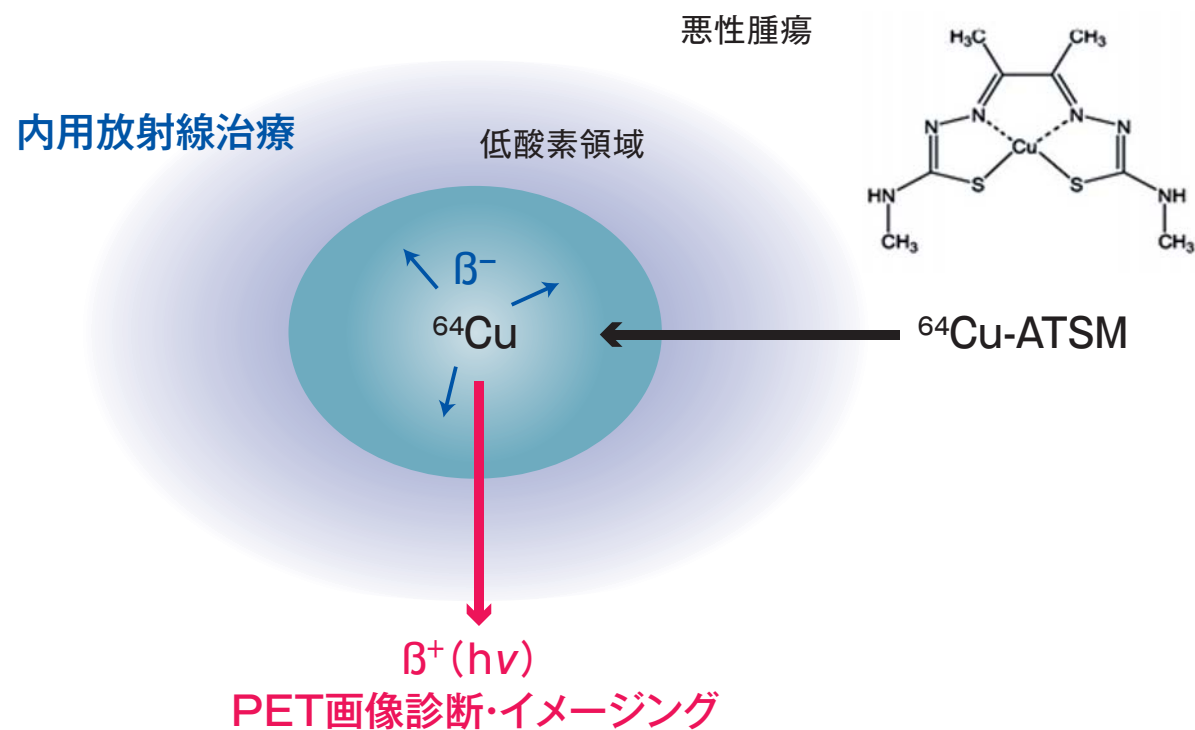


図: <sup>64</sup>Cu-ATSMによるイメージングと内用放射線治療の概念図



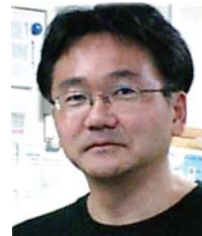


## 特集／放医研第9回重粒子医学シンポジウム「先端科学と社会の接点」

II. 放射線感受性の個人差を解明する  
ゲノムサイエンスを用いた放射線治療最適化へのアプローチ

重粒子医学センター ゲノム診断研究グループ  
道川 祐市  
y\_michi@nirs.go.jp

重粒子医学センター ゲノム診断研究グループ  
岩川 真由美、今井 高志



道川 祐市 (Yuki Michikawa)

## 緒言

癌患者の放射線感受性には多様性があり、個人毎に放射線治療制御効果や有害反応の重篤度が異なる。近年の研究結果から、癌患者の遺伝的多様性が放射線感受性の多様性に影響を及ぼしていることが明らかになってきた。筆者が所属している研究グループでは、そのような多様性に着目することで放射線治療に資する遺伝子群を同定し、将来的な放射線治療最適化へと展開することを目指している(図1)。本稿ではこれまでの研究戦略と成果、そして今後の展望を概説する。

## 大規模候補遺伝子アプローチ

培養細胞や実験動物などのモデル実験系と全ゲノム発現解析技術を利用した基礎研究により解析対象遺伝子を選出し、その後の臨床ゲノム疫学研究で各遺伝子上の多型マーカーと臨床因子多様性との関連性を統計学的手法で検証するアプローチである。モデル実験系では放射線を照射する際の制約が少ないために研究手法の機動性が高く、放射線応答に関与する遺伝子を大規模にかつ詳細に解析することができる。これまでに基礎研究により選出した候補遺伝子137個の中から、細胞分裂時の核染色体分配に関わる *PTTG1* 遺伝子

や細胞間相互作用に関与する細胞膜表面糖タンパク質 *CD44* 遺伝子等6遺伝子の1塩基多型(SNP)マーカーが乳癌患者399名の光子線治療による有害反応と統計学的に有意な関連を示すことを明らかにした<sup>1)</sup>。また、前立腺癌患者の炭素線治療後に誘発される泌尿器系の有害反応には乳癌と異なる5遺伝子のSNPマーカーが関連性を示した<sup>2)</sup>。

## 全ゲノム網羅的アプローチ

ヒトゲノム解読直後から着手されたゲノム全体を網羅する多型マーカー解析手法が近年になり整備されてきたことから、個々の遺伝子に関して事前の知見を必要とせずに臨床ゲノム疫学研究を遂行できるようになった。筆者の研究グループでは、SNPマーカーよりも多様性の大きいマイクロサテライト多型マーカーを利用して全ゲノム網羅的な解析を進めた。その結果、47個の領域に位置するマーカーが光子線治療による有害反応と有意な関連性を示すことを明らかにした。その中には神経軸索伸長制御や血管形成制御、細胞死制御など多様な生理機能を有することで着目されている *Semaphorin3A* 遺伝子の転写調節領域に位置するマーカーが存在していた。ヒト培養繊維芽細胞における *Semaphorin3A* 遺伝子の発現量を siRNA により抑制してみたところ、有意な放射線抵抗性の向上が認められた(論文投稿中)。

## 今後の展望

これまでの成果から放射線治療に資する遺伝子はヒトゲノム上に数多く存在することが判明しており、特定の遺伝子にのみ着目することでは不十分かもしれない。放射線治療に資する遺伝子群の全貌を明らかにするために、今後もボトムアップ型大規模候補遺伝子研究とトップダウン型全ゲノム網羅的研究の両方を併用して進めることが大切である。さらに個々の遺伝子多型の組み合わせが細胞・個体システム全体に及ぼす影響のメカニズムを、インフォマティクス手法等の駆使により正しく理解することが必要である。また、将来的な放射線治療最適化のためには、臨床現場で簡便にかつ迅速に利用できる多型マーカー解析技術<sup>3-6)</sup>の整備も必要と考えている。

## 文献

- 1) Suga T, *et al.* (2007) Haplotype-based analysis of genes associated with risk of adverse skin reactions after radiotherapy in breast cancer

patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 69 : 685-693.

- 2) Suga T, *et al.* (2008) Influence of multiple genetic polymorphisms on genitourinary morbidity after carbon ion radiotherapy for prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 72 : 808-813.
- 3) Michikawa, *et al.* (2006) "Reliable and fast kinetics allele-specific extension of 3'-LNA modified oligonucleotides covalently immobilized on a plastic base, combined with biotin-dUTP mediated optical detection." *Analytical Sciences*, 22, 1537-1545
- 4) Michikawa Y, *et al.* (2008) "Visible genotype sensor array." *Sensors*, 8, 2722-2735.
- 5) Michikawa Y, *et al.* (2008) "Visible haplotype-tagSNP typing array device for human radiation sensitivity-associated genes." *Oligonucleotide Array Sequence Analysis*, Nova Science Publishers, New York, 3-14.
- 6) Michikawa Y, *et al.* (2008) "In-gel multiple displacement amplification of long DNA fragments diluted to the single molecule level." *Analytical Biochemistry*, 383, 151-158

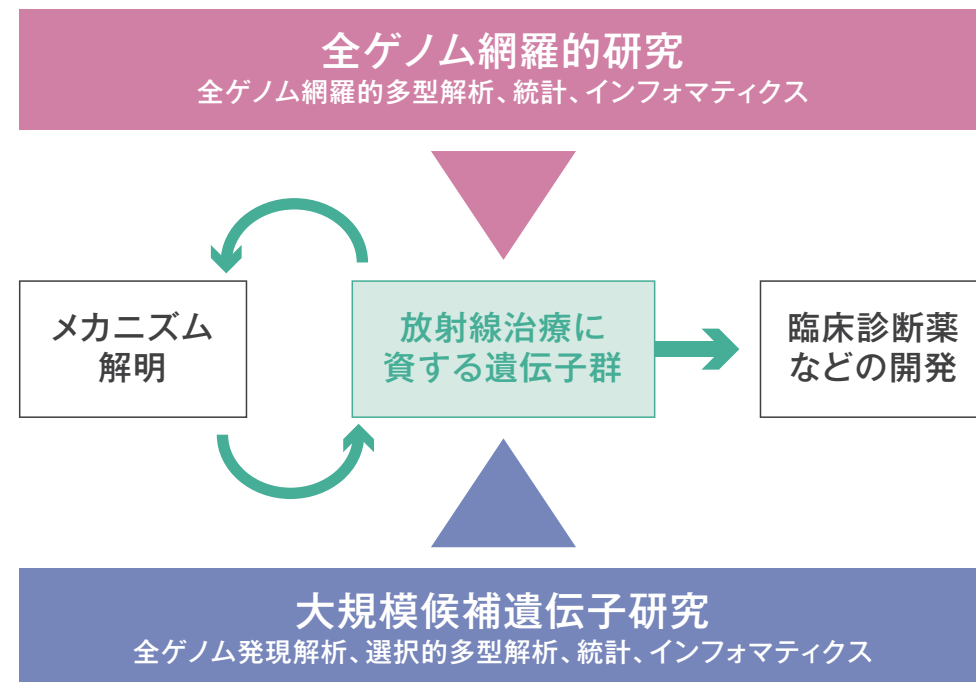


図1: 放射線治療最適化へのアプローチ  
基礎科学的知見を積み上げるボトムアップ型大規模候補遺伝子研究と、既存の知見にとらわれず全ての可能性から絞り込むトップダウン型全ゲノム網羅的研究の両方が目的を達成するために不可欠。





## 特集／放医研第9回重粒子医学センターシンポジウム「先端科学と社会の接点」

II. 放射線感受性の個人差を解明する  
生命情報工学の医学への応用

## -細胞特性予測と化学物質影響診断の最前線-

独立行政法人産業技術総合研究所 生命情報工学研究センター  
細胞機能設計チーム

藤渕 航

w.fujibuchi@aist.go.jp

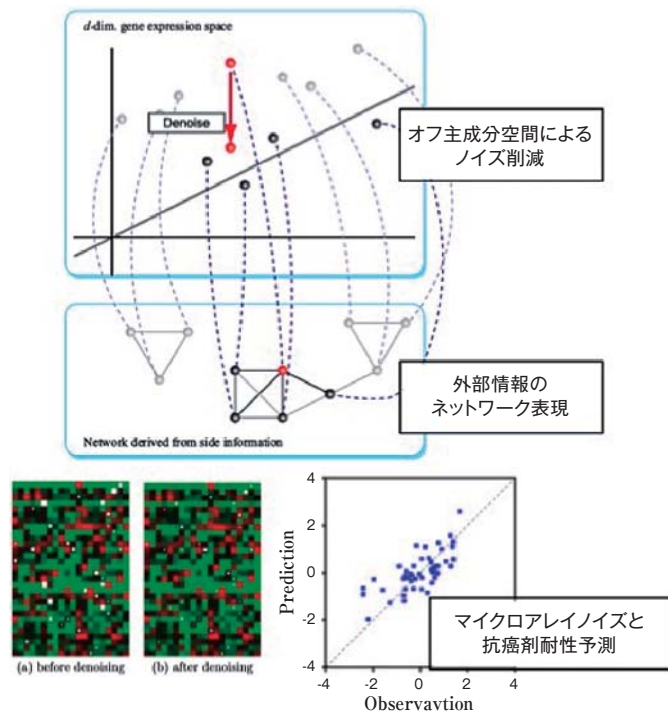
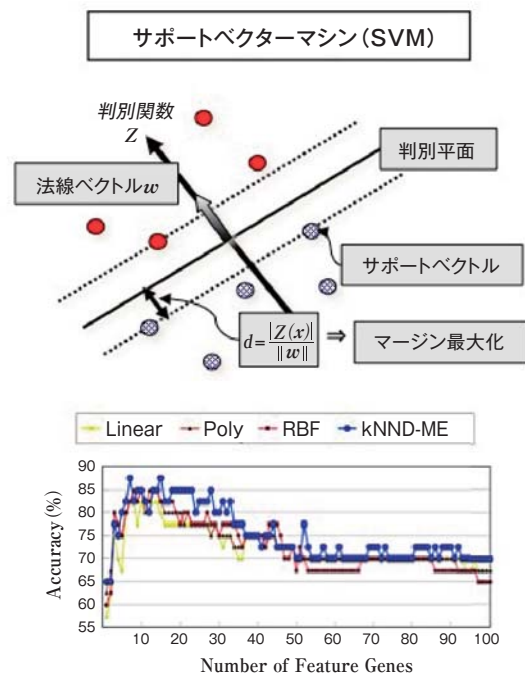


藤渕 航 (Wataru Fujibuchi)

1 細胞の網羅的機能解析をテーマとした文部科学省特定領域研究「ライフサーバイヤ」(H17~20)が終了し、時代は今やES細胞やiPS細胞など細胞をターゲットとする「細胞中心(Cell-centered)」的研究が多くなったように感じられる。アカデミックな分野での「細胞とは何か」、「どのような原理で細胞が出来上がっているのか」と言った様な根本原理の抽出も然ることながら、工学的な「細胞を転換・設計するにはどうするのか」や、医学的な分野での「細胞の持つ性質を利用した治療を行う」などの問題をテーマに研究する時代が到来した。

我々の所属する生命情報工学研究センターは、日本最大のバイオインフォマティクス拠点であり、数年も以前から「Cell-centered」な時代の到来を予見して理

論的な研究を進めて来た。特に医学への応用としては、①癌細胞サブタイプへの抗癌剤耐性予測<sup>1)</sup>や、②機械学習による癌の転移予測<sup>2)</sup>などを手がけており、近年、iPS細胞の標準化など細胞判定が重要となってきたため、データマイニング的なテーマとしては、③重み学習による細胞検索<sup>3)</sup>の高性能化を図っている。また、これら3つは全て細胞を安定なものもしくは準安定と見ての解析であるが、細胞は環境に反応して内部の状態を変えることも知られている。特に、最近では、環境ホルモン等の外部科学物質による細胞の攪乱が、動植物だけでなく、ヒトにも大きな問題となっている。この様な観点で④細胞外物質を細胞に暴露した時の応答反応の分類と機械学習による予測をテーマとした報告が始まっている。我々も厚生労働

インフォマティクスを用いた  
細胞特性予測に基づく医療診断例(a) 遺伝子の外部情報を用いた  
抗癌剤耐性予測(b) サポートベクターマシンを用いた  
遺伝子発現からのがん転移予測

省のプロジェクトによるヒトES細胞への毒性予測の研究を今年度より開始した。初年度のためまだ十分なデータや手法が出揃ってはいないが、必要とされる準備や問題点が見え始めており、講演では最新の情報を積極的に紹介する予定である。

以下には、それぞれのテーマについての目的、現状、問題点などの要約を示した。

## 1) 抗癌剤耐性予測

米国NIHのNational Cancer Instituteには60種の癌細胞株の遺伝子発現データと大規模な化学物質への反応データベースのプロジェクトがある。これを用いて患者の癌組織からの遺伝子発現データが得られた場合の抗癌剤効果の予測をするものである。しかし、変数である遺伝子の数が数1,000もあるのに対し細胞数は60で抗癌剤の効果当てるための方程式を見つけることは基本的に難しい。また回帰問題ではデータ中のノイズが大きく予測値に影響する。このため、我々はこれまでのノイズ除去法を改良し、タンパク質相互作用や代謝マップなど外部情報を利用したノイズ除去法を開発した。

## 2) 機械学習による癌の転移予測

患者から抽出した病理組織には様々な情報が含まれている。癌組織の遺伝子発現パターンから癌が転移しているかどうか予測できれば、診断上大変重要な情報となる。しかし、転移に関する原発組織の遺伝子の変化は複雑で簡単な判別法では予測することが難しい。我々は、非線形の空間に遺伝子発現情報を一度マップしてから線形判別を行う手法で、白血病のサブタイプ予測<sup>4)</sup>にも使用されたカーネル・サポートベクターマシン法を用いて癌の転移予測を行っている。しかし、稀な癌の転移の場合には症例が集まらず、様々なラボからのデータを統合して使用しなくてはならない。この様な混合データに対しても十分な精度を持つカーネルマッピング法として最大エントロピーカーネルを利用した手法を開発した。

## 3) 重み学習による細胞検索の高性能化

成人には約200種類の細胞が存在すると教科書的には記されているが、果たして本当だろうか。現在、iPS細胞の開発が進んでいるが、作製されたiPS細胞には少しずつ性質の異なるものが存在することがわかってきた。これは、細胞が持つ準安定状態の存在を示すものであり、iPSに限らず、どのような細胞で

も類似したフェノタイプを持つ細胞が存在すると考えることが可能である。この様に類似細胞が含まれる遺伝子発現データから同一の細胞を見つけ出すことは容易ではない。我々は、遺伝子重み学習に基づく、細胞検索システム「セル・モンタージュ」を開発し、的確に細胞を判定できるようになった。iPS細胞の標準化では期待が持たれている。

## 4) 細胞外物質の暴露時の応答分類と予測

近年、環境汚染が問題となっている。特に、環境ホルモンなどが性差に及ぼす影響は多大であるとされている。人工的に合成された化合物を産業化する前に生体への影響を調査し、水俣病やサリドマイド児など胎生時に誤って吸収すると重症をきたす物質を環境に放出しないことが重要である。このような晩発性の疾患を予測することは、たとえヒトES細胞を用いても難しく、ましてやマウスなどを用いて外挿することは困難を極める。我々は、すぐに影響が出ない場合でも遺伝子群としては何らかの変化をきたしているネットワークを検出し、これを学習することで予測ができないかを検討し始めている。本プロジェクトは厚生労働科学研究費により、国立環境研究所および東京大学と共同でバイオインフォマティクス技術を駆使した研究を行っている。

## 参考文献

- 1) Network-based de-noising improves prediction from microarray data., Kato T, Murata Y, Miura K, Asai K, Horton PB, Koji T, Fujibuchi W., BMC Bioinformatics. 2006 Mar 20 ; 7 Suppl 1 : S4.
- 2) Classification of heterogeneous microarray data by maximum entropy kernel., Fujibuchi W, Kato T., BMC Bioinformatics. 2007 Jul 26 ; 8 : 267.
- 3) CellMontage : similar expression profile search server., Fujibuchi W, Kiseleva L, Taniguchi T, Harada H, Horton P., Bioinformatics. 2007 Nov 15 ; 23 (22) : 3103-4. Epub 2007 Sep 25. Erratum in : Bioinformatics. 2008 Jun ; 24 (9) : 1223.
- 4) Molecular classification of cancer : class discovery and class prediction by gene expression monitoring., Golub TR, Slonim DK, Tamayo P, Huard C, Gaasenbeek M, Mesirov JP, Coller H, Loh ML, Downing JR, Caligiuri MA, Bloomfield CD, Lander ES., Science. 1999 Oct 15 ; 286 (5439) : 531-7.



## 特集/放医研第9回重粒子医学センターシンポジウム「先端科学と社会の接点」

III. 放射線感受性の分子機構: 損傷応答および損傷修復  
重粒子線照射によって試料内に生じる  
活性酸素種の分布とその解析

重粒子医学センター 粒子線生物研究グループ

松本 謙一郎

matsumok@nirs.go.jp



松本 謙一郎 (Kenichiro Matsumoto)

## はじめに

HIMAC による重粒子線がん治療が開始されてから既に 15 年が経過した。登録患者数も年々増加しており 2009 年 7 月 31 日の集計では 4800 名を超え、重粒子線の有用性を示す多くの成果が得られている。臨床でのがん治療の傍ら、HIMAC を利用して生物・物理・化学の基礎研究も同時に進行しており、多くの重要な知見が得られてきた。重粒子医学センター・粒子線生物研究グループ・放射線効果修飾チームでは、放射線のがんへの治療効果を増強する放射線増感剤や正常組織への放射線の障害を少なくする放射線防御剤を使って、更に有効な重粒子線がん治療の方法を提案するための研究を行っている。それには先ず、重粒子線がん治療が他の放射線に比べてなぜ有効なのかを生物学的に充分に理解することが重要であろう。

水に放射線を照射すると、水分子の電離によって反応性の高い分子種が生じ、さらにこれらと水に溶けている酸素とが反応して、いわゆる活性酸素種を生じる。X 線や  $\gamma$  線の生物学的効果の約 80% が活性酸素を介して起こると考えられており、事実、放射線の生物学的効果は試料内の酸素濃度に依存して変化する。これは放射線の酸素効果と呼ばれているが、従来、重粒子線は酸素効果が X 線や  $\gamma$  線に比べて少ないと考えられ、あまり酸素効果が問題視されていなかった。しかし近年の HIMAC を利用した基礎研究からは、重粒子線がん治療においても酸素効果を意識する必要性を示す報告も出てきている。重粒子線の場合もともと活性酸素の生成量が X 線や  $\gamma$  線に比べて少ないので、活性酸素を積極的に利用してがん細胞により多くのダメージを与えるよりも、むしろ、活性酸素から確実に正常組織を保護することが効率的な重粒子線がん治療に繋がっていくと考えられる。

放射線治療での患者さんの負担を減らすためには、なるべく照射回数を減らすことが重要と思われるが、少ない照射回数で同じだけの効果を得るためにはどうしても一回の治療線量を大きくする必要が生じて

くる。がん組織はもともと酸素濃度が低い場合が多く、酸素効果はむしろ正常組織への有害な影響を考える上で重要で、治療線量が大きくなれば、がん組織の周囲に存在する正常組織への有害な影響も酸素効果によって大きくなる。そのため今後の重粒子線がん治療の高度化を目指すためには、抗酸化物質などを重粒子線がん治療に併用して、がんの周囲に在る正常組織を保護すること等が必要になってくるものと思われる。

重粒子線ではその LET と線量が、照射した試料内部で特徴的な変化をするので、重粒子線を照射した試料の何処にどれだけの活性酸素が生じるのかを単純に予想することが難しい。そのためイメージング技術を使って、活性酸素の発生量を視覚的に捉えることが重要となる。我々は MRI の造影剤効果を持つニトロキシラジカルが活性酸素種と反応することを利用して、炭素線を照射したゼラチン試料内部で生じる活性酸素種の分布を、EPR または MRI で可視化しようと試みた。

## レドックス感受性MRI造影剤

ニトロキシラジカルは分子上に不対電子を一つ持つ常磁性種で、水溶液中などに単独で存在する場合は非常に安定であるが、ヒドロキシラジカル ( $\bullet\text{OH}$ ) やスーパーオキシド ( $\bullet\text{O}_2^-$ ) が生じるような場合にはそれらによって酸化されてオキソアンモニウムカチオンとなる。この時、オキソアンモニウムカチオンと還元型グルタチオン (GSH) が共存すると、安定な非常磁性の複合体を生成する。またオキソアンモニウムカチオンと NAD (P) H が共存する場合には、オキソアンモニウムカチオンが NAD (P) H が水素を受け取り、オキソアンモニウムカチオンはヒドロキシラジカルとなる。我々は最近、ニトロキシラジカルの水溶液に比較的高線量の放射線を照射すると GSH や NAD (P) H が共存しない場合でも EPR シグナルの減衰が見られ、この EPR シグナルの減衰には

過酸化水素 ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) が関与することを見出した。生体にニトロキシラジカルを投与すると比較的速やかに常磁性が失われることは古くから良く知られており、これはオキソアンモニウムカチオンを介してヒドロキシラジカルへ還元される反応が酵素的に行われていると考えられている。一方、ヒドロキシラジカルが酸化的な雰囲気下で比較的容易に酸化されてニトロキシラジカルとなり常磁性を取り戻すことことも良く知られている。

ニトロキシラジカルは EPR で直接測定することも可能であるが、1980 年代の始め頃には  $T_1$  短縮型の MRI 造影剤としても研究が進められていた。しかし、生体内で比較的速やかに常磁性を失うことと、不対電子が分子上に一つしかないので造影効果があまり高くないということから、臨床で造影剤として使われることは無かった。これらの酸化還元反応によってニトロキシラジカルの常磁性が失われたりあるいは回復したりする様子を EPR や MRI で観察すれば、レドックス反応を検出し、更には可視化することが可能となる。反応条件を限定すればレドックス反応にかかわる活性酸素種を抽出して可視化することもできる。

## 重粒子線によって水溶液中で生じる

## 活性酸素種の検出

上で述べた反応をそれぞれ観察することによって、活性酸素種をある程度限定して検出することができる。重粒子線は試料内部の LET と線量の分布が特徴的な変化を見せるため、生成する活性酸素種の分布を検出するためには反応溶液をゼラチンで固定して、これに重粒子線を照射した後、試料の一部を採取して測定するか、あるいは丸ごとの試料を MRI で撮像する。我々はこの方法によって、活性酸素種 ( $\bullet\text{OH}$  と  $\bullet\text{O}_2^-$ ) の総合的な生成 (ニトロキシラジカルと GSH を含む反応溶液中でのニトロキシラジカルの消失を観察)、 $\text{H}_2\text{O}_2$  の生成 (ニトロキシラジカルのみを含む反応溶液に比較的高線量を照射した場合のニトロキシラジカルの消失を観察)、 $\bullet\text{OH}$  の生成 (ヒドロキシラジカルからニトロキシラジカルへの酸化反応を観察) をそれぞれ区別して検出することに成功した。また活性酸素種の総合的な反応、および  $\text{H}_2\text{O}_2$  の生成については MRI による画像解析も可能であった。活性酸素種の総合的な反応は数百 nmol/L/Gy、過酸化水素の生成量も数百 nmol/L/Gy のレベルであったが、 $\bullet\text{OH}$  の生成を見ていると思われるヒドロ

キシラミンの酸化反応量は数 nmol/L/Gy と少なく、そのため画像による解析を困難にしている。活性酸素種の総合的な反応の分布、および  $\text{H}_2\text{O}_2$  の生成の分布は、試料の浅い部分からビームの終末付近まではほぼ一定で、ビーム終末付近で小さいピークを見せた。しかし  $\bullet\text{OH}$  の生成を見た場合には、ビーム終末付近に比較的是っきりとしたピークが見られた。 $\text{H}_2\text{O}_2$  の生成の分布は、別に測定した酸素消費量の分布と比較すると、非常に良く似た形状を見せた。ビームの終末よりも深い部分では、これらの反応は検出できなかった。

重粒子線が生成する活性酸素種の生成量と分布が見えたことは、重粒子線がん治療において活性酸素を制御するためには極めて重要な情報である。すなわち、ここで得られた結果に基づいて考えると、重粒子線がん治療で標的とする癌組織とそれよりも浅い部分の正常組織での活性酸素種の生成量がそれほど変わらないか、あるいは酸素効果によって多く、標的より深い部分での生成は殆どないと予想される。そのため治療の効率化を考える場合には、標的より手前の正常組織への影響を積極的に制御することが必要であろうと思われる。



特集/放医研第9回重粒子医学センターシンポジウム「先端科学と社会の接点」

III. 放射線感受性の分子機構: 損傷応答および損傷修復  
Homologous Recombination Repairと  
重粒子線によって作られる複雑な損傷

重粒子医学センター 粒子線生物研究グループ  
加藤 宝光  
tkato@nirs.go.jp



加藤 宝光 (Takamitsu Kato)

Homologous Recombination Repair (相同組み換え修復) は、細胞周期において、DNA 合成期以降に働き、DNA 二本鎖切断に対して、複製された DNA 鎖を用いて修復を行う。哺乳類の細胞では、もうひとつの修復経路である Non Homologous End Joining Repair (非同相末端組み換え修復) が、細胞周期を通じて DNA 二本鎖切断を修復しており、この非同相末端組み換え修復に異常のある細胞は、相同組み換え修復に異常のある細胞と比較し、放射線感受性が極めて高いことから、これまでは非同相末端組み換え修復が重要であるとされてきた。

高 LET 放射線である重粒子線では、これまで長年研究されてきた低 LET 放射線である X 線やガンマ線と比較し、電離分布が密であり、DNA 二本鎖切断が生成した際、そのまわりに塩基損傷、DNA 一本鎖切断、架橋が伴われる可能性が高く、これを複雑な損傷と呼ぶ。このことが原因で、高 LET 放射線は、同じ物理線量を照射した場合、より高い生物効果をもたら

すと考えられている。すなわち、高 LET 放射線は、複雑な DNA 損傷を生成し、細胞は DNA 修復を効率的に行うことができず、結果として欠失などを含んだ突然変異、また染色体レベルの転座を引き起こし、細胞死に至らしめる。これを高い Relative Biological Effectiveness (RBE) と呼ぶ。

これまでの知見で、低 LET 放射線の感受性は細胞周期によって大きく異なるとされている。一般に細胞は、長い G1 期を持つ場合は、G1 期の前期、また S 期の後期には放射線抵抗性をもち、G1 期と S 期の間、G2 期、M 期において放射線感受性であるとされている。しかし、高 LET 放射線である重粒子線においては、このような細胞周期依存的な放射線感受性は見られない。低 LET 放射線における細胞周期依存な放射線感受性は、相同組み換え修復によって、一部説明できる。つまり、S 期後期における放射線抵抗性は、常に発現している非同相末端結合修復に加え、相同組み換え修復の分の DNA 修復が行われるために、細胞は

多くの DNA 損傷に対抗できるという考え方である。また、長い G1 期における抵抗性は、放射線による細胞周期の停止に関係する可能性が高い。

これらの事実を踏まえ、実験系として、CHO (チャイニーズハムスター卵巣細胞) の DNA 修復欠損株を用いて、研究を行った。CHO 野生株、非同相末端結合修復欠損株 (V3.3) および相同組み換え修復欠損株 (51D1) をアメリカ、ローレンス・リヴァモア国立研究所との共同研究として入手し、これらの細胞を Mitotic Shake-off 法によって、細胞周期を同調し、各種の放射線を照射し、生物効果を調べた。生物効果は、コロニー法による生存率測定について述べる。

X 線照射時は、野生株は前述のような細胞周期依存的な放射線感受性を示した。V3.3 細胞は、全てにおいて野生型とほぼ同等の感受性であったが、その中でも G1 期において超放射線感受性であり、S 期は、G1 期より抵抗性で、相同組み換え修復が働いていることが確認できた。51D1 細胞は、G1 期において野生型と同程度の感受性を示すが、S 期に入り、徐々に感受性を増していった。重粒子線 (鉄線、LET200keV/μm) を照射した場合、野生型の放射線感受性は細胞周期に依らなくなり、V3.3 細胞でも見られた S 期における抵抗性も確認できなかった。51D1 細胞は、G1 期でも感受性となり、放射線感受性は、S 期においてさらに顕著になった (図1)。

ここで、LET-RBE 関係を確認するため、X 線、炭素線、ネオン線、シリコン線、アルゴン線、鉄線を用いて、G1 期あるいは S 期に同調した細胞を用いて生存率を測定した。10%生存率となる線量より、RBE を計算した (図2)。すると、CHO 野生株、非同相末端結合修復欠損株 (V3.3) および相同組み換え修復欠

損株 (51D1) の全てにおいて、RBE は S 期において高いことがわかった。特に、相同組み換え修復欠損株では、G1 期においては、RBE の上昇は LET30keV/μm から起こるが、S 期においては、RBE の上昇は LET30keV/μm 付近から起こることが確認できた。非同相末端結合修復欠損株では、G1 期において RBE は LET に依存せず、ほぼ1のままであった。S 期においては、RBE の上昇が LET50keV/μm で確認できた。これらのことから、高 LET 放射線は低 LET 放射線と比較して、G1 期の細胞よりも S 期の細胞に効果が高いことがわかった。つまり、S 期での相同組み換え修復は、低 LET 放射線で作られた傷を治すことは得意であったが、重粒子線で作られた複雑な損傷はあまり得意でないということである。また、相同組み換え修復欠損株では、さらに S 期において感受性が増すことから、相同組み換え修復は、重粒子線で作られる複雑な損傷を治すのは得意ではないが、必要であることがあることがわかった。

LET-RBE 曲線を野生株 S 期、相同組み換え修復欠損株 S 期と比較すると、RBE は相同組み換え修復欠損株において高いことは、相同組み換えの欠損によって、重粒子線に対して感受性なることから、理解できる。しかし、野生株 G1 期、相同組み換え修復欠損株 G1 期を比較しても、同様に RBE は相同組み換え修復欠損株において高い。このことは、G1 期において、相同組み換えが働かないことに一致しない。そこで、G1 期に同調した野生株、相同組み換え修復欠損株に対して、様々な LET の放射線を照射し、M 期における染色体損傷を確認した。すると、DNA 二本鎖切断によって作られる Chromosome-type 染色体損傷において有意な差は見られなかったが、DNA 一本鎖切断、塩基損傷などに依存する Chromatid-type 染色体損傷が相同組み換え修復欠損株において、高 LET になるに従って顕著に観察された。野生株では、Chromatid-type 染色体損傷が高 LET 放射線では、わずかに観察されたが、その頻度は相同組み換え修復欠損株と比較して少なかった。このことは、重粒子線によって作られ、修復が難しい複雑な損傷は DNA 二本鎖切断型だけでなく、一本鎖切断や塩基損傷の複合体もありうることを示唆しており、これらの非同相末端結合型複雑な損傷が G1 期に生成した場合、DNA 合成期において、相同組み換え修復によって修復されているが、これがない場合、DNA 二本鎖切断となり、M 期において Chromatid-type 染色体損傷となり、細胞生存率を下げると思われる。

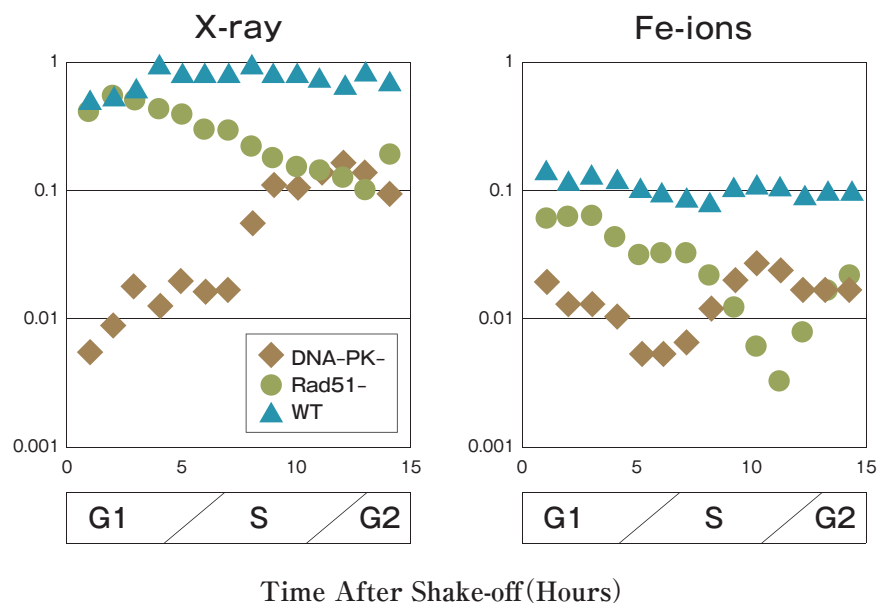


図1: 細胞周期と放射線感受性

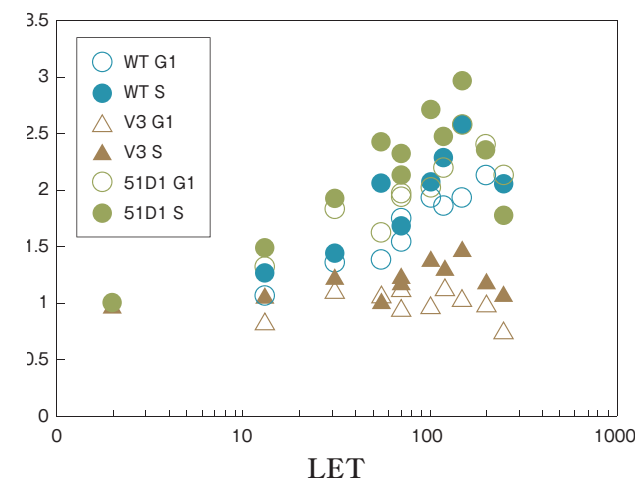


図2: LET-RBE曲線



## III. 放射線感受性の分子機構: 損傷応答および損傷修復

## Analysis of DNA Double Strand Break Repair Following Heavy Ion Irradiation

重粒子線照射後のDNA二重鎖切断修復の解析

Angela T. Noon<sup>1,2</sup>  
anoon@nirs.go.jpTakamitsu Kato<sup>2</sup>, Ryuichi Okayasu<sup>2</sup>, Penny A. Jeggo<sup>1</sup>1: Genome Damage and Stability Centre, University of Sussex,  
Brighton BN1 9RQ, UK2: Heavy-Ion Radiobiology Research Group,  
Research Centre for Charged Particle Therapy,  
National Institute of Radiological Sciences, Chiba, Japan  
国際オープンラボラトリー 粒子放射線分子生物学ユニット及び  
重粒子医学センター 放射線生物研究グループ

Angela T. Noon

Two major DNA DSB repair pathways function in mammalian cells: Non-Homologous End Joining (NHEJ) and Homologous Recombination (HR). NHEJ dominates repair in G1 phase of the cell cycle, and also contributes substantially to DSB repair in G2 phase. Core NHEJ factors include DNA Ligase IV, XRCC4, DNA-PK and the Ku70/80 heterodimer. In G2 phase HR is an alternative pathway that contributes to resolution of DSBs through a process involving strand invasion of a homologous sister chromatid. Repair by HR requires proteins including nucleases to produce a single stranded region of DNA, proteins to catalyse and perform strand invasion into the sister chromatid and DNA polymerases/ligases to re-synthesise the lost sequence and restore an intact DNA molecule.

The relative contribution of each repair pathway in G2 phase and the mechanism that dictates which pathway is utilised has been a subject of much debate. Recently, Lohrich and colleagues (Beucher et al., 2009) demonstrated that following X-ray irradiation, NHEJ constituted 80-90% of DSB repair during G2 phase, with HR resolving the remaining fraction of 10-20% of DSBs. The authors extended these findings to demonstrate that the DSBs that are channelled into HR in G2 are those associated with regions of heterochromatin.

Heterochromatin is a dense, transcriptionally silent form of chromatin, found at loci of developmental genes and at mammalian centromeres. It has also been shown that ATM, the nuclease Artemis and ATM signalling proteins including, 53BP1 are required to facilitate repair of DSBs in heterochromatin in G1 and G2 phase cells (Goodarzi et al., 2008; Beucher et al., 2009).

While DSB repair has been extensively characterised in the case of low LET radiations such as X- and gamma- rays, repair kinetics following high LET charged particles such as Carbon and Iron (Fe) ions have been less thoroughly explored. Existing studies have shown that DNA damage caused by heavy ions is repaired much more slowly compared to X- and gamma- induced damage. This is likely explained by the clustered nature of the damage with numerous lesions residing within a single DNA region of ~1-2 helical turns. Evaluating the exact nature of the damage contained within these clusters has remained a challenge due to the fragility and complexity of the lesions.

Of relevance to our studies, evidence is now emerging to support the notion that radiation quality may affect repair pathway choice during G2 phase of the cell cycle. Following photon irradiation with X- and gamma- rays, in the region of 10-20%

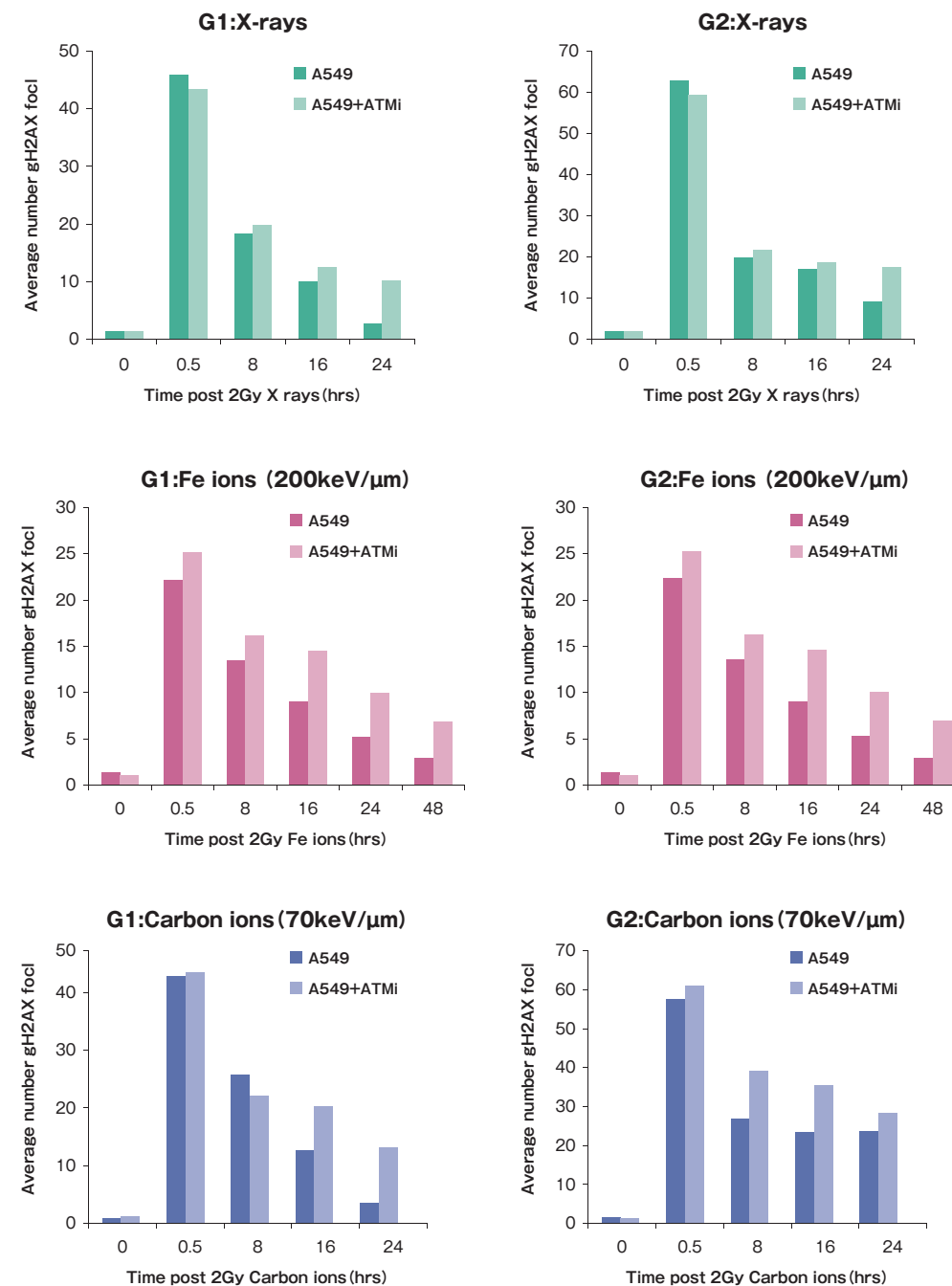


Figure 1:  $\gamma$ H2AX analysis following irradiation by X-rays, Iron ions and Carbon ions. A549 lung carcinoma cells were irradiated with X-rays, Iron ions (Fe: ~200 keV/ $\mu$ m) or Carbon ions (~70 keV/ $\mu$ m). Cells were incubated for the indicated time prior to fixation and staining. Antibodies recognising phosphorylated histone H2AX ( $\gamma$ H2AX) and centromeric protein CENPF were used to enumerate DNA DSBs in G1 (CENPF negative cells) and G2 (CENPF positive cells).

of DSBs were found to be resected in G2 phase and to undergo repair by HR (Beucher et al., 2009). These DSBs have now been shown to reside in heterochromatic regions of chromatin suggesting that breakage in regions of chromatin complexity may be channelled into the HR mediated repair pathway. In G1 heterochromatin associated breaks are effectively repaired by NHEJ in what is termed the slow component of DSB repair (Goodarzi et al., 2008). Why these breaks are handled by HR

in G2 is unclear. It has been proposed that HR is a less error-prone repair pathway due to the use of a template strand for re-synthesis of lost genetic material. This has raised the possibility that cells may channel certain types of damage or damage residing at specific chromatin loci for repair by HR when this alternative pathway becomes available in G2 phase.

Analysis of DSB repair following high LET heavy ion irradiation shows kinetics distinct from



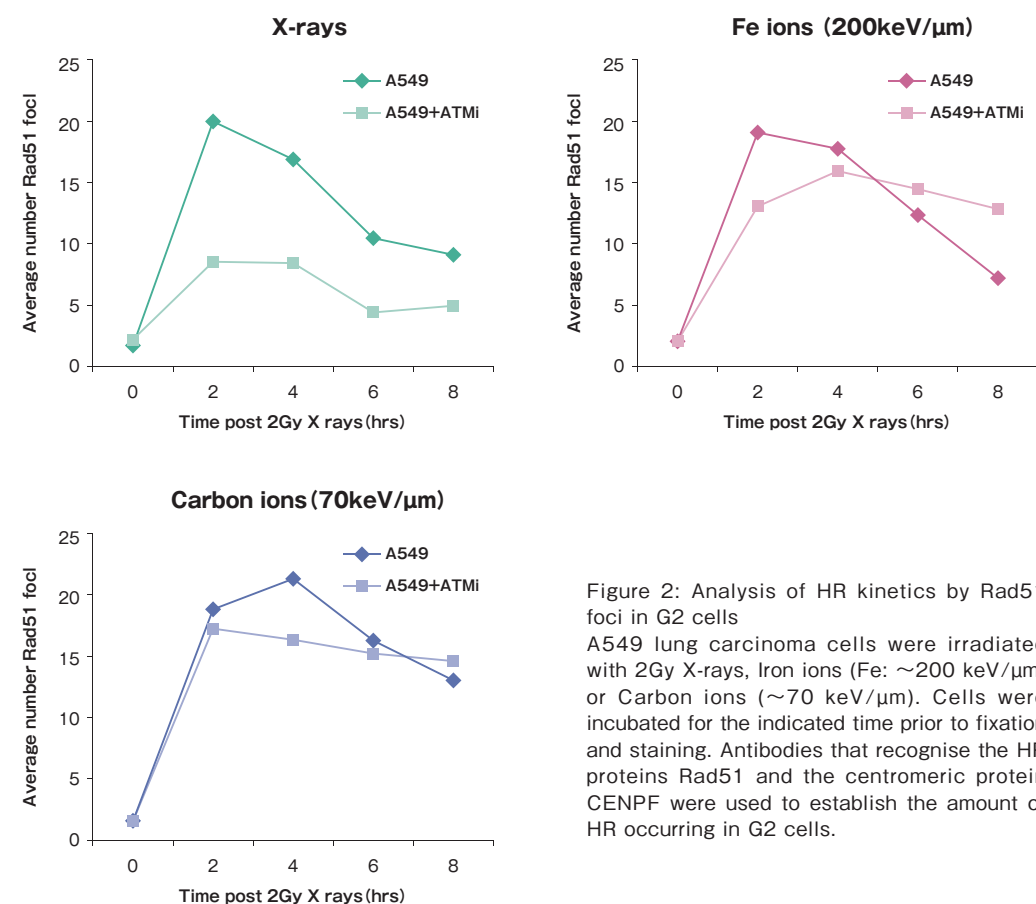


Figure 2: Analysis of HR kinetics by Rad51 foci in G2 cells  
A549 lung carcinoma cells were irradiated with 2Gy X-rays, Iron ions (Fe: ~200 keV/μm) or Carbon ions (~70 keV/μm). Cells were incubated for the indicated time prior to fixation and staining. Antibodies that recognise the HR proteins Rad51 and the centromeric protein CENPF were used to establish the amount of HR occurring in G2 cells.

those following X-ray induced damage. The number of DNA DSBs observed in G1 and G2 phase cells are substantially reduced following Fe ion irradiation compared to the same dose of X-rays (Figure 1). In addition, repair kinetics are slower in G1 and G2 phase cells (Figure 1). It has been previously shown that repair following X-ray irradiation is comprised of two repair components comprising fast and slow DSB repair. It has now been demonstrated that the slow component (~ 8-24 hours post IR) corresponds to repair of heterochromatin associated DSBs which require extra processing prior to repair. We have observed that DSBs are resolved more slowly following heavy ion irradiation. This could suggest that clustered complex lesions such as those induced frequently by heavy ions are resolved as part of the slow component of repair. In G2, the heterochromatin associated DSBs are repaired by HR during the slow repair component, thus it is possible that clustered lesions are also repaired by HR in G2. Consistent with other reports,  $\gamma$  H2AX foci were significantly larger in size following Fe ion exposure indicative of clustered multiply damage

at a single DNA locus (Reviewed in Hada and Georgakalis, 2008). Interestingly, the amount of DSBs being channelled into HR was similar to that of X-rays. However, the exact fraction of induced DSBs that undergo HR is difficult to establish due to the clustered foci potentially containing >1 DSB. DNA DSBs induced by Carbon ions were also repaired at a slower rate than X-ray induced lesions (Figure 1). The number of DSBs induced by 2 Gy Carbon ions was comparable to that of X-ray treated cells however a moderate yet significant increase in resected DSBs was observed (Figure 2).

Previously, the amount of resection occurring in G2 phase has been correlated to the amount of DSBs residing within heterochromatin. Thus, following X-ray irradiation, approximately 10-20% of DSBs reside in heterochromatin and we see approximately this fraction of breaks being repaired by HR (Beucher et al., 2009). Thus if indeed chromatin structure is the decisive factor in pathway choice, heavy ions should theoretically induce a similar amount of resection in G2 cells. However, more of the DSBs appear to be resected

and repaired by HR following heavy ion treatment.

ATM, Artemis and the mediator protein 53BP1 have been demonstrated to function in repair of heterochromatin associated DSBs in G1 and G2 phase (Goodarzi et al., 2008). To further elucidate the contribution of HR to DSB repair following heavy ions we utilised an ATM inhibitor to address the effect of repair and HR following heavy ion irradiation. As expected addition of an ATM inhibitor to A549 cells leads to an unrepaired fraction of DSBs in both G1 and G2 phase cells following X-rays. Similar kinetics were also observed in primary human AT1BR cells (data not shown). Following Fe or Carbon ion exposure, addition of the ATM inhibitor further slowed DSB repair in G1 and G2 phases. A repair defect was observed following heavy ion exposure suggesting ATM is still important for heterochromatin DSB repair (Figure 1). However, the remaining fraction of DSBs did exceed 25% of the induced damage following Fe ions, either indicative of a higher dependence on ATM for repair of these breaks, or simply that the clustering of foci lead to inaccurate enumeration of breaks induced. Following Carbon ion irradiation, G2 repair seemed to be slower still, even compared to Fe ions.

Analysis of resection by Rad51 foci also highlighted differences in DNA repair following high LET irradiation. Following X-ray damage approximately 25% of induced DSBs are resected with numbers of Rad51 foci peaking at 2 hours post damage induction (Figure 2). Following Iron ion exposure resection also peaked at 2 hours post induction, however the number of Rad51 foci observed at 30 minutes was in the region of 60-70% of the induced  $\gamma$  H2AX foci (Figure 2). Current work is focused on assessing the number of Rad51 foci per  $\gamma$  H2AX focus to help establish the number of breaks within a cluster. Following Carbon ion irradiation there is also an increased number of Rad51 foci, accounting for almost 50% of the DSBs induced in G2 cells (Figure 2). Interestingly, addition of the ATM inhibitor produced a more pronounced effect after X-rays than Iron or Carbon ions, perhaps indicating ATM in a role separate from

that of heterochromatin DSB repair following heavy ions. We are currently confirming these results in an ATM deficient cell line. Indeed, accurate analysis of the amount of resection occurring following heavy ion irradiation is complicated by the nature of the breaks themselves. The characteristic clustered lesions induced by high LET make analysis by immunofluorescence problematic. In the case of Fe ions and potentially also Carbon ions it is quite probable that each cluster contains >1 DSB. Thus it is difficult to concisely calculate the number of DSBs that are channelled into undergoing HR. Additional analysis must be performed to try to elucidate the number of breaks within a cluster and the effect this structure has on determining repair pathway choice.

## References

1. Beucher, A. et al. ATM and Artemis promote homologous recombination of radiation-induced DNA double-strand breaks in G2. *EMBO J.* 28 (21) : 3413-27, 2009
2. Goodarzi AA, Noon AT, Deckbar D, Ziv Y, Shiloh Y, Löbrich M, Jeggo PA. ATM signaling facilitates repair of DNA double-strand breaks associated with heterochromatin. *Mol Cell.* 25 : 31 (2) : 167-77, 2008
3. Hada M, Georgakilas AG. Formation of clustered DNA damage after high-LET irradiation : a review. *J Radiat Res (Tokyo)* 49(3) : 203-10, 2008

## 和訳

哺乳類の細胞には2種類のDNA二重鎖切断(double strand break: DSB)修復経路、すなわち非同源末端結合 non-homologous end joining (NHEJ) と相同組換え homologous recombination (HR) がある。細胞周期のG1期ではNHEJが、ほとんどのDSBの修復を行い、G2期でもNHEJがかなりの部分の修復を行うが、選択肢としてHRが働く。HR修復ではnucleaseが一重鎖の部分を作り、そこがシスタークロマチドに侵入して行き、その後ポリメラーゼ、リガーゼによって修復が完成する。

G2期でどちらの修復機構がどのように働くかは、いまだに多くの議論がある。LöbrichらによるとX線照射後では80-90%がNHEJであり、残りがHRとの報告がある。(Beucher et al 2009) さらに彼らはこ



のHRによる修復がヘテロクロマチンの部分に関連していると結論している。ヘテロクロマチンは凝縮した、転写が行われない部分のクロマチンで染色体のセントロメア部分等に多くある。シグナル伝達で有名なATM蛋白、nucleaseのArtemis、53BP1らの蛋白がG1, G2のヘテロクロマチンでの修復に必要なことが示されている。(Goodarzi *et al* 2008, Beucher *et al* 2009)

X線やガンマ線等のいわゆる低LET放射線で作られるDSB修復はかなりよく研究されているが、高LET重粒子線(炭素線、鉄線等)によるDSBの修復はそのスピードが遅いということは分かっているが、まだ不明なことも多い。一つの理由として考えられることは、重粒子線によって生じるDNAの損傷の多くがクラスター化(多くの損傷が一つのDNA領域(1-2のhelical turn)に存在する)しており、このような複雑な損傷を解析することは容易ではないことにある。

Fig.1は肺がんの細胞(A549)をX線と重粒子線(鉄線LET 200keV/μm、炭素線LET 70 keV/μm)で照射し、その後のG1及びG2期細胞でのDSB修復経過をγ H2AXフォーカス手法で測定したものである。前から知られているように、このアッセイでも重粒子線の修復は遅いことがわかる。一般的に放射線照射後の修復には早い相(fast repair)、遅い相(slow repair)があることが知られており、ヘテロクロマチンでの修復は遅いほうだとされている。そうすると、重粒子線が多く生じるクラスター的な損傷はslow repairのほうで処理されると想像される。G2期ではヘテロクロマチン上のDSBはHRで修復されると思われるので、クラスター損傷はHRで処理される可能性がある。他のデータと同じように鉄線等の重粒子線照射後のγ H2AXのフォーカスはかなり大きいことが報告されている(Hada and Georgakalis 2008)。興味深いことに重粒子線照射後HRで処理されるDSBはX線による場合と同じような数になるが、ダメージがクラスター(1フォーカスに複数のDSB)になっているので正確な比率を求めることは難しい。炭素線照射の場合、X線と比べてやはり修復は遅延するが、初期のDSBの数はこのアッセイではX線と似ている。しかしながら、炭素線ではより多くの切り込み(resection)が行われているようである(Fig. 2)。

これまでの研究からG2細胞でのresectionの量はヘテロクロマチン上のDSBの量と相関があることが示されており、X線照射後では10-20%のヘテロクロマチン上のDSBがHRで処理される(Beucher *et*

*al* 2009)。もしクロマチン構造が修復経路を選ぶ決定要素なら、重粒子線照射後も同じような比率のresectionがG2期の細胞でなされるはずであるが、実際にはより多くのDSBが切り込まれ、HR経路で処理されているようである。

先に述べたようにATM蛋白がヘテロクロマチン上のDSB修復に関係してくることから、ATM特異的な阻害剤を用いて重粒子線照射後、修復カインेटクスを測定した。A549細胞ではG1及びG2期細胞とも、修復されない細胞の割合が増えた。(これはAT細胞AT1BRでも同様) ATMの阻害剤を入れた細胞では、重粒子線照射後ではさらにその修復が遅くなった。このことはATMがヘテロクロマチン上のDSB修復にやはり重要な役割を示していることが提案できる。しかしながら、鉄線照射後では、残存の傷が初めの傷の25%を超えており、このことはATMに頼る傷の割合が高いのか、あるいはクラスター損傷のために数量化に問題があることが考えられる。炭素線照射後のG2のデータではこの割合がさらに多くなっている。

高LET重粒子線照射後の修復はRad51蛋白のフォーカスによるresectionの解析でも行われる。X線照射後では照射後2時間でピークになり、大体25%程のDSBが切り出される(Fig.2)。鉄線照射後もピークは2時間後であるが、Rad51のフォーカスの数は照射後30分のH2AXフォーカス数の60-70%にもなる。現在の研究はクラスター内でいくつのRad51フォーカスがH2AXフォーカス内にあるかに焦点を当てている。炭素線の後はやはり多くのRad51フォーカスが観察でき、約50%のDSBがresectionされているような結果である(Fig. 2)。興味深いことに、重粒子線照射後に細胞をATM阻害剤で処理すると、X線の時に比べ、より大きな効果がみられる。このことは重粒子線照射後のATMがヘテロクロマチン上の修復以外の役割をしていることを示唆している。現在このことをATM欠陥の細胞で確かめている。これらの正確な解析は重要ではあるが、重粒子線照射後のDSB損傷の性質により複雑になっている。重粒子線によるクラスターになっているDNA損傷の免疫染色での解析には問題があるようである。鉄線でも、また炭素線照射後の細胞では、ひとつのクラスターは一つ以上のDSBを含んでいるようである。それ故、どれぐらいのDSBがHRで修復されるかを正確に決めることは容易ではない。この問題を解くには一つのクラスター内の数を決定できるような、より以上の解析が必要となる。(文責:岡安隆一)

## 特集/放医研第9回重粒子医学シンポジウム「先端科学と社会の接点」

### Ⅲ. 放射線感受性の分子機構: 損傷応答および損傷修復 ポリADP-リボシル化と放射線応答、放射線感受性

国立がんセンター研究所 生化学部  
益谷 美都子  
mmasutan@ncc.go.jp

国立がんセンター研究所 生化学部  
白井 秀徳、荻野 秀樹、橋本 安希、杉村 隆



益谷 美都子 (Mitsuko Masutani)

蛋白質の翻訳後修飾ポリADP-リボシル化反応を触媒するポリ(ADP-リボース)合成酵素(Parp)-1は、DNA鎖切断などにより活性化され、自己およびヒストンなどの蛋白質を修飾する<sup>1)</sup>。ポリ(ADP-リボース)の主要な分解酵素ポリ(ADP-リボース)グリコヒドロラーゼ(Parg)は、ポリ(ADP-リボース)のリボース・リボース結合を切断しADP-リボースに分解する。

*Parp-1*欠損(*Parp-1*<sup>-/-</sup>)ES細胞及び*Parp-1*欠損マウス<sup>2)</sup>ではガンマ線およびアルキル化剤処理に対して致死感受性が亢進する。*Parp-1*欠損マウスでは小腸絨毛の短縮、骨髄抑制が亢進し、脾臓での髄外造血が低下し、腺胃及び精巣間質などでの出血傾向を示した<sup>3)</sup>。*Parp-1*欠損マウスではアルキル化剤処理後の発がん感受性が上昇する。*Parp-1*欠損マウスにおいてアルキル化剤処理後、挿入/転位を伴う欠失型変異頻度が増加する<sup>4)</sup>が、ガンマ線照射後、野生型マウスで観察された欠失型変異頻度の増加は*Parp-1*欠損マウスでは認めなかった。従って、ガンマ線照射後、*Parp-1*欠損下では欠失型変異につながる不正確なnon-homologous end-joining repairが起きにくいことが示唆された。Parp阻害剤はDNAを標的とする抗がん剤の増強剤として臨床試験が行われつつあるが、アルキル化剤抗がん剤よりは放射線療法での増強剤としての方が、変異を誘発しにくく、二次発がんのリスクが低くなる可能性が考えられる。

樹立したマウス*Parg*欠損(*Parg*<sup>-/-</sup>)ES細胞株ではポリ(ADP-リボース)の分解活性は野生型ES細胞の約10%に低下し、核、ミトコンドリアの*Parg* isoformの量は共に低下した。細胞増殖能は野生型及び*Parg*<sup>-/-</sup>ES細胞株の間で差異を認めなかったが、*Parg*欠損細胞ではガンマ線照射後、アルキル化剤及びcisplatin処理後の致死感受性は野生型に比較

して亢進していた<sup>5)</sup>。*Parg*欠損細胞ではガンマ線処理後、一過性にポリ(ADP-リボース)の蓄積が増加した。早期の細胞死過程は野生型と変わらなかったが、DNA断片化が遅延性に亢進していた。これは*Parg*欠損細胞におけるアルキル化剤処理後の、p53のリン酸化亢進を介する早期の細胞死過程の亢進と異なっていた。*Parg*の特異的阻害剤は、放射線治療に対する効果増強に有用である可能性が示唆される。重粒子線がん治療への*Parg*阻害の応用の可能性についても論じる。(共同発表者: 笹本 絵里香、阿部 正浩、Anna Poetsch、前田 大介(国立がんセ・研・生化)、岡安 隆一(放射線医学総合研究所))

#### 参考文献

- 1) Nozaki T, Masutani M, Akagawa T, Sugimura T, and Esumi H. Suppression of G1 arrest and enhancement of G2 arrest by inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase: possible involvement of poly(ADP-ribosyl)ation in cell cycle arrest following g-irradiation. *Jpn. J. Cancer Res.*, 85: 1094-1098, 1994.
- 2) Masutani M, Suzuki H, Kamada N, Watanabe M, Ueda O, Nozaki T, Jishage K, Watanabe T, Sugimoto T, Nakagama H, Ochiya T, and Sugimura T. Poly(ADP-ribose) polymerase gene disruption conferred mice resistant to streptozotocin-induced diabetes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96: 2301-2304, 1999.
- 3) Masutani M, Nozaki T, Nakamoto K, Nakagama H, Suzuki H, Kusuoka O, Tsutsumi M, and Sugimura T. The response of Parp knockout mice against DNA damaging agents. *Mutation Res.* 462, 159-166, 2000.



- 4) Shibata A, Kamada N, Masumura K, Nohmi T, Kobayashi S, Teraoka H, Nakagama H, Sugimura T, Suzuki H, and Masutani M. *Parp-1* deficiency causes an increase of deletion mutations and insertions/rearrangements in vivo after treatment with an alkylating agent. *Oncogene*, 24: 1328-1337, 2005.
- 5) Fujihara H, Ogino H, Maeda D, Shirai H, Nozaki T, Kamada N, Jishage K, Tanuma S, Takato T, Ochiya T, Sugimura T and Masutani M. *Poly (ADP-ribose) glycohydrolase* deficiency sensitizes mouse ES cells to DNA damaging agents. *Current Cancer Drug Targets*, in press.



## 特集/放医研第9回重粒子医学センターシンポジウム「先端科学と社会の接点」

### IV. がん治療における放射線治療と重粒子線治療の位置づけ オーバービュー



鎌田 正 (Tadashi Kamata)

重粒子医学センター  
鎌田 正  
t\_kamada@nirs.go.jp

1981年以降、がんは日本人の死因の第一位となり、現在ほぼ日本人の3人に一人はがんで亡くなっている。がんは老化と深く関連し、我が国では、平均寿命の延伸や団塊の世代の高齢化など急速な人口の高齢化が進みつつあることから、このまま行けば、がん罹患率は現在の年間約50万人から2015年には90万人近くに達すると推定されている。また発展途上国においても、感染症の克服、社会資本の整備などが進むにつれてがん治療が大きな問題となりつつある。一方、がんの基礎研究、最先端技術の診断あるいは治療への応用が試みられているが、手術、放射線、抗がん剤、いずれをとってもがん治療として完全なものはないのが現状であり、がんの克服を目指しての研究が絶え間なく続けられている。

近年の放射線治療の歴史を振り返ると1960年代のX線治療用直線加速器の導入、更に1970年代のCTの出現、その治療応用である3次元治療計画の確立、その後の定位照射、強度変調放射線治療の出現、普及など目覚ましいものがある。更に最近では呼吸に伴う腫瘍の移動に対応した照射技術が開発され (time adapted radiotherapy)、また腫瘍内の生物学的な性質を加味した照射技術も開発されつつある (biological adapted radiotherapy)。以上のようにX線治療は、いわゆる空間的な線量分布の改善を目指したアプローチから時間、生物学的なアプローチへと進んで来たと言える。一方、重粒子線はBragg peakを持ち、最初から優れた空間的な線量分布とさらに高LET放射線としての強い生物効果も期待できるもので、その治療応用は、1980年代から放射線医学総合研究所 (放医研) が中心となって研究開発を進め、1993年には世界初の重粒子線治療専用装置 (HIMAC) を完成した。1994年臨床試験の開始後、X線治療にさきかけて呼吸同期照射技術を確立するなど、これまでに50近くの重粒子線がん治療臨床試験を実施し、2003年には (高度) 先進医療として承認されている。また治療件数は年を追うごとに増加し2008年度には年間700件を大きく超え、2009年8月までの重粒子線治療総数は5000症

例に達している。現在、重粒子線治療は放医研を中心に国内外4カ所で実施されているが、3カ所は治療専用装置によるものである (1カ所は物理実験用装置の治療応用)。さらに重粒子線治療専用の装置を建設中あるいは建設開始予定の施設が国内外で10ヶ所程度存在している。このような重粒子線治療あるいはX線定位照射や強度変調照射の登場は、ともに根治治療として広い意味での“放射線治療”の可能性を大きく広げるものであり、がん治療における“放射線治療”の寄与という面で大きく貢献しているといえる。

X線はその特性そのものは重粒子線には及ばないが、画像技術との融合、IT技術の導入による革新的な治療技術、医療機器が国内外で開発・実用化されており、X線治療の次世代化が進んでいる。現在、臨床現場に急速に普及しつつあるが、その評価は未だ十分とは言えない。また、重粒子線治療が有利な腫瘍はある (骨軟部腫瘍、悪性黒色腫など) が、いわゆる common cancer に対する有用性について十分なコンセンサスは得られていない。放医研では肺がん、肝臓がん、前立腺がんなどに対して重粒子線による短期照射法を開発し、治療成績だけでなくQOLや医療経済的な面における有用性についても明らかにすべく研究を実施している。今後、Common cancer に対する重粒子線治療の役割をどう評価するかが、必要な施設数を考える重要な因子となろう。

重粒子線治療により多くの疾患で治療成績の向上が期待できるが、十分な知識と高度の技術を要する治療法であり、どこでも簡単にできるものではない。実施するためには (稼働中、新規ともに)、放射線腫瘍医や医学物理士などを中心とした体制の整備とともに、施設内および周辺医療機関の支援体制があって初めて可能である。これは最近の高精度X線治療についても同様であり、人材育成、基盤整備の推進が日本で“放射線治療”が根治治療としての本来の役割を担えるかどうかの最大の課題である。いずれにしても重粒子線とX線治療の両者の健全な発展ががん治療を行う上で重要であろう。



## 特集／放医研第9回重粒子医学センターシンポジウム「先端科学と社会の接点」

IV. がん治療における放射線治療と重粒子線治療の位置づけ  
医療現場のニーズと理工学的対応

重粒子医学センター 物理工学部

冀原 伸一

minohara@nirs.go.jp



冀原 伸一 (Shinichi Minohara)

HIMAC での炭素線治療の臨床運用開始から 15 年が経過したが、その中で医療現場から物理工学サイドに対するニーズも大きく変化している。基本的には「高精度で安定した炭素線治療システム」というのが医療現場のニーズであるが、臨床経験・扱う患者数と医療スタッフのバランス、関連する周辺技術の進歩によって、「高精度」や「安定」の意味合いが大きく変化している。

例えば現在、放射線治療分野では IGRT (Image Guided Radiotherapy) のもと、治療計画の段階では高分解能の CT、MRI、PET が利用され、また照射室では患者の位置決め・監視に高分解能の X 線撮影画像(撮影、透視、CT)が、オンタイムで利用可能となりつつある。約 15 年前、HIMAC ではオンラインでの 2 方向 X 線 II 管画像による患者位置決めを導入して治療を開始したが、これはまさしく IGRT であった。ただ当時のコンピュータ技術・開発環境(装置、エンジニアなど)では、現在家庭用パソコンで誰もが利用できている画像処理でさえ、開発に時間と費用が掛かり、現場からの改善要求を反映するのに苦慮した。この分野の装置・開発のコストパフォーマンスはこの 15 年で数百倍の差異と思われる。一方、そのようなコンピュータ技術の進歩を短期間で治療現場に導入できるかとなると、そう単純ではない。新施設であれば最新の技術をベースに装置やシステムの開発・製作が行えるが、現在の HIMAC 炭素線治療のように年間 700 人近い患者治療を高い品質で維持していくには、治療の継続性・臨床結果の連続性も要求される。医療現場のニーズとしてはこのほうが圧倒的に強く、その上にさらなる臨床成果の向上につながるための技術開発を行う必要がある。ややもすると新技術開発だけが研究成果として目立ちやすいが、HIMAC での炭素線治療の成果を支えているのは、治療の継続性を維持しながらの地道な改良の積み上げ(現場からの要望と、照射系のみならず加速器を含めた理工学的対応)によるところが大きい。

HIMAC に限らず粒子線治療装置は、一般の放射線装置に比べれば極めて巨大で複合的なシステムであ

り、多くの要素技術を総合的に積み上げて構築されている。個々の要素技術は異分野での技術発展に合わせて進歩していくが、これらの要素技術を、医療現場のニーズに応じて、ルーチンの臨床運用にどう展開・導入していくかも、理工学的対応にあたる。これが出来なければ、いずれ装置は時代遅れのものになり、少なくとも研究施設で粒子線治療を続ける意味はなくなる。一方、物理実験であれば新しい装置にトラブル・失敗はつきものであるが、臨床運用では装置トラブルによる誤照射は許されず、高品質の QA/QC のもとで導入・運用することが求められる。例えば、現在 HIMAC の患者治療で利用可能となっている積層原体照射法は、研究的には 1983 年に放医研から提案された方法であり、1994 年の HIMAC 治療開始時にも一部は設計に組み入れてあった。しかし最初の臨床利用は 2005 年で、さらにこの 2 年ぐらいでようやく定常的に利用できるようになった。この間、安全な治療照射の実現・安定した運用のための地道な開発・改良と QA/QC が積み上げられてきた。

発展的な粒子線施設を運営していくには、そのシステム設計の最初の段階で、その後の技術展開【必ず変化する】を受け入れやすいようにしておかなければならない。そのような視点から物理工学部では 2007 年に「普及型粒子線治療装置システムに関する検討」(HIMAC レポート No.122)としてまとめた。現在開発・建設を進めている次世代照射システムは、そこでのコンセプトに基づいている。

現在、炭素線治療の良好な臨床成績・QOL が、治療技術開発予算の呼び水にもなっており、安定した臨床運用と新治療技術導入の双方を今後ともスパイラル的に発展させていくことが我々の使命だと考えている。

本シンポジウムは「先端科学と社会の接点」がテーマであるが、放医研の理工学的対応は、炭素線治療の臨床成績・QOL の向上とその普及と言う形で常に社会からの視線を受けており、「接点」といよりもっと強く社会に密着しながら今後とも展開していくものと考え

## 特集／放医研第9回重粒子医学センターシンポジウム「先端科学と社会の接点」

IV. がん治療における放射線治療と重粒子線治療の位置づけ  
臨床と理工学に呼応する生物学研究

重粒子医学センター 粒子線生物研究グループ

古澤 佳也

furusawa@nirs.go.jp



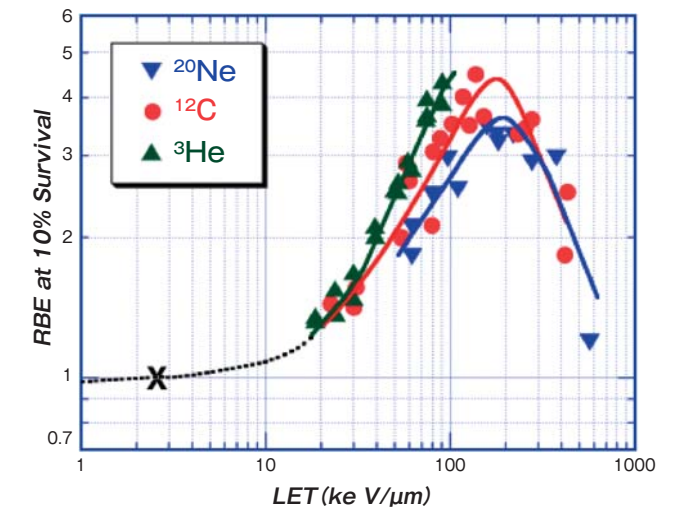
古澤 佳也 (Yoshiya Furusawa)

X 線を用いて始まった放射線治療は中性子や荷電粒子の利用に拡張され、癌組織 (PTV) に線量を集め正常組織の被曝を低減させる努力がなされてきた。現代では、光子線では定位・エネルギー変調・強度変調などの照射法が開発され、粒子線でも呼吸同期法やスポットスキャンなど様々な照射法が試されている。治療には放射線の生物学的効果を明らかにする事が重要で、重粒子線の物理的線質に依る生物効果データは、ビーム設計と照射線量の決定に関して特に重要である。

体内で線質の変化が少ない X 線の生物効果は線量だけに依存すると考えて良い。しかし重粒子線は体の表面からの深度に応じて線質が変化する。治療では強い生物効果を持つビームで照射される PTV と、比較的效果の弱いビームで照射される正常組織で構成されることを考慮すべきである。

粒子線の生物効果の特徴は高い生物効果比 (RBE) と低い酸素増感比 (OER) であり、これは物理線質の違いによる。体内では線質を示す線エネルギー付与 (LET) が上昇する。標準的な治療ビームは皮膚付近で 10 keV/μm 程度、PTV 近位で 40 keV/μm であったものが遠位では 100 keV/μm を越える。異なる LET の放射線に対する生物応答を X 線と比較して RBE という形で表現し、100-200 keV/μm では X 線の数倍の効果が観られる(図)。治療では PTV 内で均等な効果を持つビームを得たいため特別なビームの設計が必要で、RBE の LET 依存性のデータ<sup>1)</sup>が必要となる。治療に先立ちこの LET-RBE 分布を実験的に求め、SOBP ビームを設計し、複数の細胞で効果の平坦度を検証しつつ物理線量分布を決定した。

また SOBP 内の特定の位置が中性子線と等価な生物効果を示すことからこの点を参照点とし、臨床経験から炭素線の RBE が 2.38 であることを導き照射線量を決定した<sup>2)</sup>。その後の臨床試行で得られた治療曲線から 80% 治癒の RBE が 2.36 と計算され臨床 RBE と良い一致が確認された<sup>3)</sup>。

図: 各種ビームに対する LET-RBE<sup>1)</sup>

OER に関しては治療後の腫瘍再発に関して重要な問題であるとされている。実際には PTV 内の酸素濃度分布が測定できないことから、治療計画には取入れられていない。しかし PTV は OER の小さいビームで照射されるので、腫瘍内低酸素領域の放射線抵抗性が小さくなることから、効率よく癌治療が行われ、臨床で観察された急峻な腫瘍制御曲線の一因となっているであろう。将来、腫瘍内酸素分布が測定できるようになると、OER も治療計画に取り入れられるようになるであろう。

## 文献:

- 1) Furusawa *et al.* Radiat Res 154 (2000) 485-496.
- 2) Kanai *et al.* Int J Radiat Oncol Biol Phys 64 (2007) 650-656
- 3) Matsufuji N *et al.* J Radiat Res 47s (2006) A81-86.



## 特集／放医研第9回重粒子医科学センターシンポジウム「先端科学と社会の接点」

V. 放射線科学と社会との接点  
オーバービュー重粒子医科学センター  
丹羽 太貫  
oniwa@nirs.go.jp

丹羽 太貫 (Takaharu Niwa)

レントゲンにより1895年12月に発見された電離放射線は、さまざまな形で社会との接点をもっている。発見の当初は、なんでも透過する不思議な光線として、全世界を震撼とさせ、発見からわずか10ヶ月でわが国においても島津製作所がX線管球を作って実験を開始している。そしてその後数年ならずして、X線による組織傷害と発癌が報告されるにいたった。これらは、電離放射線の2つの性質を見事に現している。すなわち電磁波としての透過性と、高エネルギー光子のもつ電離作用である。放射線科学と社会との接点も、電離放射線の2つの性質のいずれかに由来する。

放射線科学も電離放射線の2つの性質をめぐって展開した。透過についての放射線科学は、非破壊検査などへの応用はあるが、主に医学における放射線診断分野として発展し、初期の未熟な診断技術開発に始まる長い研究開発の歴史をへて、近年のコンピュータ技術を取り入れたPETやCTに結実している。これらは今日の社会において、人々の生活のなかに深く浸透し不可欠な要素になっている。電離作用の放射線科学は、癌の放射線治療という医学利用として展開したが、これだけにとどまらず、基礎科学としてはまず1927年の放射線による突然変異作用の発見があり、これはその後も放射線恐怖症という社会現象の引き金となった。第二次世界大戦後の生物物理学・分子生物学の勃興期に遺伝子の大きさを決める技術として放射線による不活化を指標に、標的論やヒット理論が考えられ、これらはその後細胞の放射線感受性を記述するモデルとして展開し、さらにこれは微視的な電離からDNA損傷、それに続く細胞死と腫瘍の治癒、あるいは突然変異から発癌までを説明するモデルの基本として今も広く用いられている。またこれらのモデルは、社会との接点をもっとも顕著な放射線防護の領域でもリスク評価の基盤として用いられている。しかし近年の生命科学の急速な発展は、細胞内の標的であるDNAの電離で生じる損傷から細

胞死、あるいは発癌までの分子機構の一端を解き明かしつつある。このなかで当初機構モデルとして考えられていた上記のモデルは、記述モデルへとその地位を下げつつある。

従来の放射線科学はもっぱら光子放射線の科学であった。しかし近年の加速器技術の進歩は、粒子放射線の利用を可能にした。そして放医研は、世界に先駆けて重粒子線治療を完成させ、重粒子放射線科学を社会に結びつけることに成功した。癌治療では、癌細胞のみを特異的に攻撃することが理想である。粒子線治療は、ブラッグピークを利用して腫瘍特異的な線量集中をはかることができる。そしてこの治療の開発過程において、粒子放射線のもつ数々の特徴が明らかになってきた。粒子放射線では、光子放射線と個々の電離事象において変わらないものの、電離の空間分布が線質によって大きく変わる。そしてその線質の差は、生物効果の差となって現れ、粒子放射線の生命科学が光子放射線と違うこと、さらに核種やエネルギーによっても違うことがいまや明らかになりつつある。そしてこのような違いの背後にある分子機構は、徐々にではあるが明らかになりつつある。癌治療という社会との接点のきわめて多い成果とつながった新しい粒子放射線科学の誕生が放医研で始まっていると言えよう。



演者

## 特集／放医研第9回重粒子医科学センターシンポジウム「先端科学と社会の接点」

V. 放射線科学と社会との接点  
臨床家の夢重粒子医科学センター  
鎌田 正  
t\_kamada@nirs.go.jp

鎌田 正 (Tadashi Kamata)

がんにおいてだれしも考える夢は、がんにならない、あるいはがんという病気がなくなるということであろう。しかし、現実の世界では、ごく近い将来、日本人男性の2人のうち1人が、女性は3人に1人ががんになるといわれている。がんになることが避けられない状況で次に考える夢は、たとえがんになっても痛くも痒くもなく、すぐに元のとおりには治せてしまう治療法の実現かも知れない。現在、がんの治療としては外科切除、放射線治療、化学療法が実施されているが、いずれの治療もなお一長一短があり、完全なものとは言えない。それぞれにおいて絶え間なく研究開発が実施されており、新たな手技、技術、装置、薬物が導入され、がんの治療成績は着実に改善している。また免疫療法、あるいは再生医学のがん治療への応用も現実のものとなりつつある。

例えば、X線はその発見直後には、がん治療への応用が行われており、放射線治療は既に100年以上の研究開発の歴史があるが、最近の定位照射や強度変調放射線治療の研究開発とその臨床応用の成功は記憶に新しい。また、荷電粒子線のがん治療への応用も既に50年以上の歴史があるが、当初、物理研究用の加速器を治療に応用することで始まった荷電粒子線治療も

現在では治療専用の加速器開発が行われ、回転ガントリーがすでに導入され、スキニングあるいは粒子線による強度変調照射も検討されている。重粒子線治療は1994年の臨床試験開始以来、全世界で6000名以上に治療が行われ、治療施設数も増加しつつある。その経験から重粒子線治療によって初めて高い確率で局所制御が得られ、治癒に結びつくがんが存在していることが明らかとなった。また、重粒子線により短期間で安全に治癒が得られているがんも少なくない。すべてのがんを重粒子線で治癒に導くことはできないが、これらのがんでは重粒子線により痛みもなにも感じることなく、数日から数週間以内に元の通り治ることが現実のものとなっている。

今、臨床試験開始から15年を経て重粒子線治療は安全・確実ながん治療法としての地位を確立しつつある。また、痛くも痒くもなく、すぐに、元のとおりには治せてしまうがん治療法に近づいて来たといえる。がんが無くなる、あるいはがんにならないという夢がかなわないなら、せめて痛くも痒くもなく、すぐに、元のとおりには治せてしまうがん治療法の実現という夢に向かってさらに進んで行きたい。



座長



演者



特集／放医研第9回重粒子医学センターシンポジウム「先端科学と社会の接点」

V. 放射線科学と社会との接点  
物理屋の夢

重粒子医学センター 物理工学部  
白井 敏之  
t\_shirai@nirs.go.jp

重粒子医学センター 物理工学部  
野田 耕司  
noda\_k@nirs.go.jp



白井 敏之 (Toshiyuki Shirai)

1994年6月21日に開始されたHIMACの重粒子線がん治療は2009年で15年目を迎え、これまで5,000件以上の治療を行ってきました。その治療成績は、外科手術に匹敵するとも言われており、社会復帰が早いなど、QOL(=生活の質)の高い治療法として国際的にも高い評価を得ています。しかし、さらなる研究開発により治療成績の向上を目指し、日本各地にいる多くの適応対象のがん患者さんに、重粒子線がん治療技術を提供することが、放医研の大事な

使命といえます。

放医研で行っている炭素線がん治療の特徴のひとつは、がん細胞に集中して重粒子線を照射する技術で、これには図1(上)のような仕組みが使われています。HIMACの加速器で生み出される高速の炭素イオンビームは、リッジフィルターと腫瘍の形状に合わせて作られるコリメータやボラスを使って成形され、治療照射に用いられます。

しかしながら、治療開始から終了までの間に、腫瘍

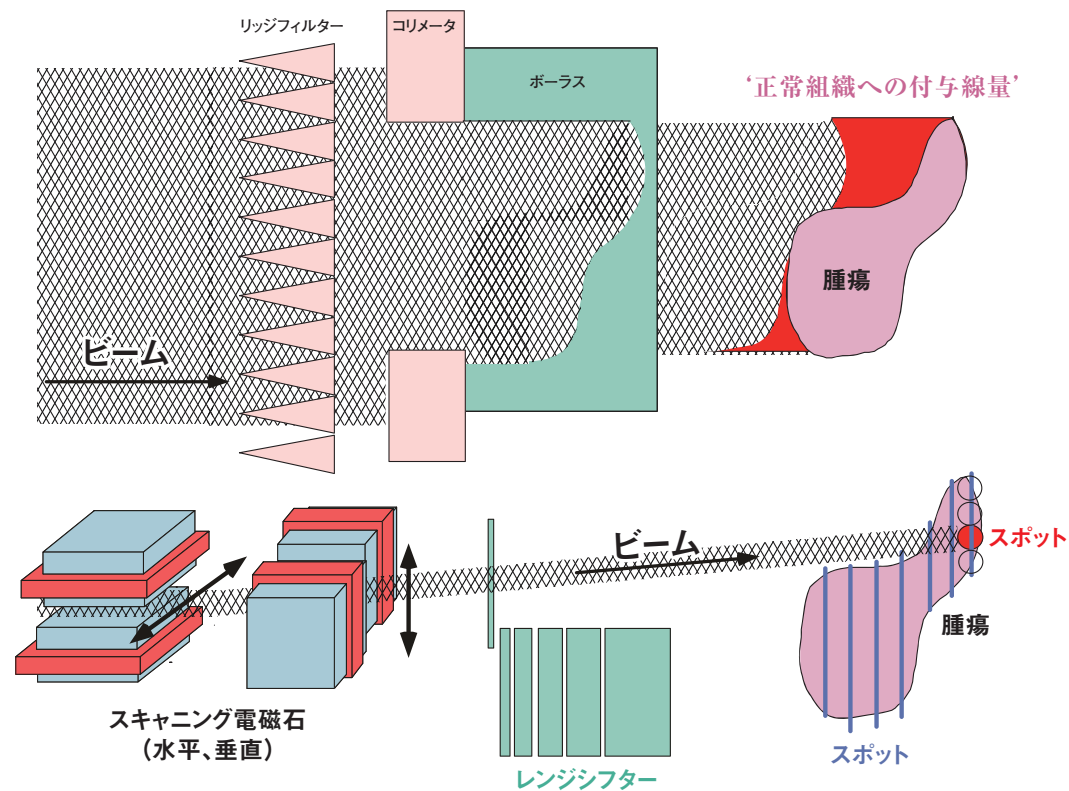


図1: 拡大ビーム照射法(上)と、3次元スキャン照射法(下)の模式図。

が小さくなっていき、その大きさや形が変わっていくものもあります。このような場合でも臨機応変に治療を行うために、ペンシルビーム・3次元スキャン法を中心とした次世代照射システムの開発を行ってきました。3次元スキャン法とは1 cm程度の細かいビームで、腫瘍の形に合わせて塗りつぶすように照射する方法です(図1下)。これは、拡大ビーム照射法のように、正常組織を照射することなく、また腫瘍の大きさが変化しても臨機応変に治療照射が行えます。これまで、この照射方法は頭頸部のがんなどの動かない腫瘍の治療に用いられてきましたが、呼吸のたびに動くがんの治療にも対応する必要がありました。そこで、我々はこれを可能とするために、「呼吸のタイミングに合わせて、何度も塗りつぶす」照射方法を開発しました。

このような基礎研究の成果を実際の臨床に応用するために、我々は第二治療棟の設計を行いました。その鳥瞰図を図2に示します。第二治療棟は、水平と垂直の3次元スキャン照射ポートを備えた治療室2室、炭素線回転ガントリーの治療室1室の3つの治療室を

備えています。建設工事は、2009年2月から始められ、2010年3月に完成予定です。

日本各地にいる多くの適応対象のがん患者さんに、HIMACのように大規模で高価な装置による炭素線がん治療を提供するのは容易ではありません。そこで、HIMACの性能を保ちつつ、より小型で、より低価格にすることを目指して、装置の小型化研究を行いました。ここで提案された装置は、HIMACに比べて、大きさと価格で約1/3を実現するというもので、群馬大では、2006年からその実証器の建設を行っています。このような開発研究を受けて、九州先端医療がんセンター(仮称)や神奈川県がんセンターでは、普及型重粒子線がん治療装置の導入に向けた取り組みが始まりました。現在、稼動中や建設中の施設とあわせて、数年後には、5つのセンターで重粒子線がん治療が行われる予定です。

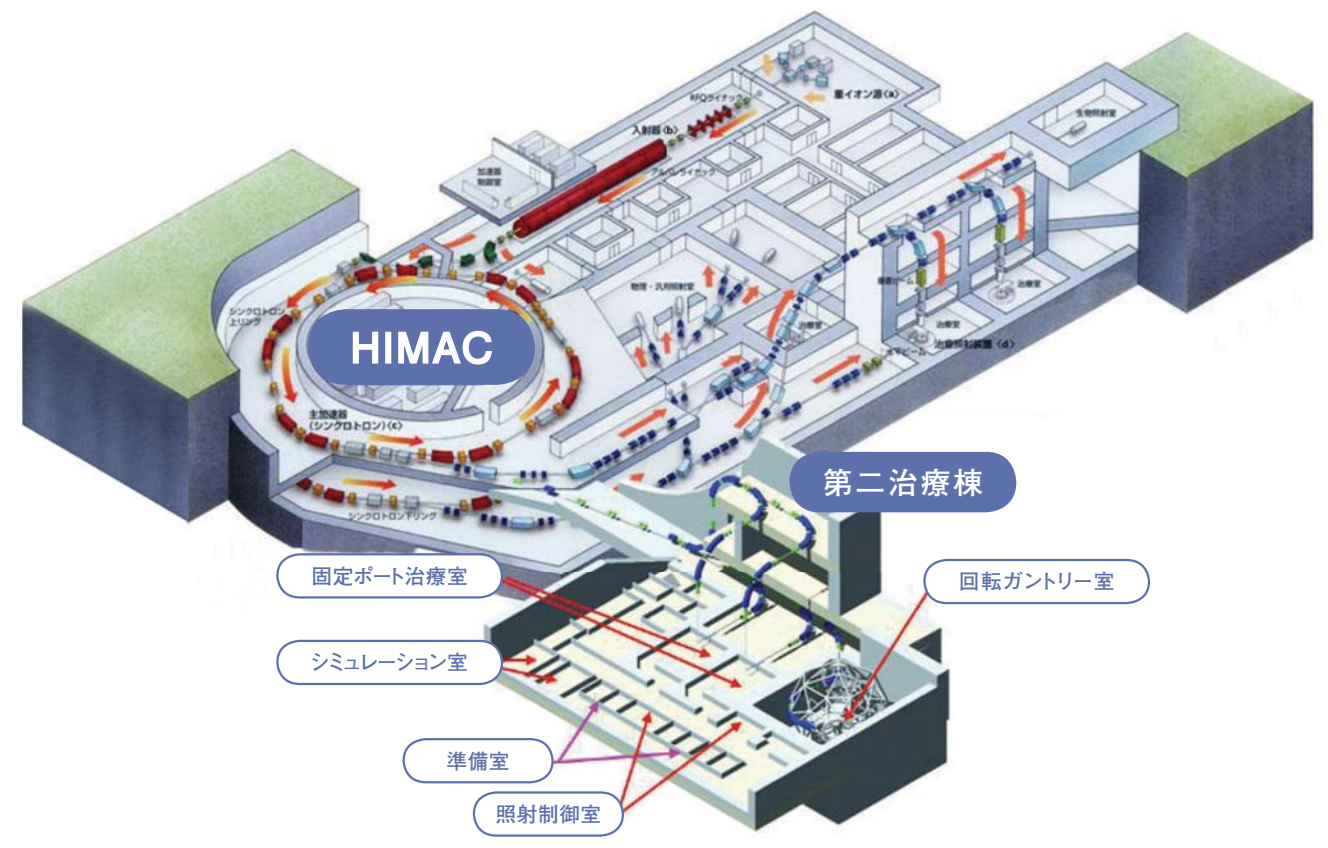


図2: 現在のHIMAC棟につながる第二治療棟の鳥瞰図。



## 連載／知財を知る(2)

## 「知的財産」・「産学連携」が「安心」・「豊か」な社会をつくりだす

国立大学法人千葉大学産学連携・知的財産機構  
特任准教授（薬学博士）  
片桐 大輔



片桐 大輔 (Daikoku Katagiri)

## はじめに

なぜ今、「知的財産」なのでしょう。どうして「産学連携」なのでしょう。実は、グローバルに激化する競争の中で、今も、そして、今の子供達が大人になる未来も、日本が安心して暮らせる豊かな社会であるためにはこの2つのキーワードがとても重要なのです。本文では、この「安心して暮らせる豊かな社会」を起点にして、「知的財産」および「産学連携」を考えてみようと思います。その後、「知的財産」および「産学連携」が「安心して暮らせる豊かな社会」を実現するために、今とるべき方策についても考えてみたいと思います。本文が、「知的財産」および「産学連携」に積極的に係わる動機づけの一助となれば幸いです。

## 安心して暮らせる豊かな社会は高い技術力から

健全な経済活動は国民に十分な雇用と所得を与え、その結果、国民の豊かな消費を可能にします。これら一連の流れは社会の安定に寄与し、経済社会全体においても富をもたらします。このような富は、さらなる経済活動の活力を生み、また、教育、社会保障の充実を促し、社会は「安心」、「豊か」をより高いレベルで享受することが可能となります。つまり、健全な経済活動は社会に安心と豊かさを与えるのです。では、健全な経済活動の源はいったい何でしょ

うか？それは「技術力」なのです。高度な技術力が新たな仕事を生み、そこに雇用と所得が生まれ、健全な経済活動を実現することができ、上述の良い循環をもたらすのです（図1）。

## 技術力と知的財産・産学連携

これまで、我が国は高い技術力を持った多数の企業が先進的な製品開発を行い、経済活動を牽引してきました。また、大学等の専門的な研究・教育機関は、高度にトレーニングされた人材を数多く社会へ輩出することで、我が国の技術力を支えてきました。しかしながら、技術力のみならず資本金や会計基準もグローバル化の波にさらされる中、これまでのように自前主義により開発コストを1社で負担し、高い技術力をもった製品をグローバルな競争に打ち勝つスピードで開発することは難しくなっています。

そこで、産学連携により、大学等に存在する高い新規性を有する技術を導入して、技術力、及び、開発スピードにおいてグローバル競争の優位に立とうとする取り組みが活発になっています。これに合わせて、大学等は技術が民間で活用されやすいように、技術の特許やノウハウといった知的財産として管理し、実用化の促進により一層努めるようになってきました。TLO（Technology Licensing Organization）が多数



図1：技術力が経済、社会を動かす

設立されたのもその一例です。本学においては、知的財産の円滑な管理・活用を目指し、平成18年に産学連携・知的財産機構（学内型承認 TLO）が設立されました。設立時の平成18年度に244件であった共同研究件数は、平成19年度で287件、平成20年度で293件と増加しております。受託研究においては、平成18年度が120件、平成19年度が144件、平成20年度が160件と、こちらも年度を重ねるごとに増加しております。さらに、企業と共同による特許出願、企業による大学保有特許等の実施、企業への特許譲渡の実績も増加しており、本学の実績値からも先進的な製品開発に産学連携が重要視されてきていることが伺えます。

しかながら、多くの場合、大学等に存在する高い新規性を有する技術は極度に基礎的領域のものであるため、製品化までのギャップが大きく、結果として実用化が進まない事例が少なくありません。では、今後は先進的な製品開発において、どのような方策をとっていくべきなのでしょう。

## 知的財産、産学連携がとるべき方策

そこで、大学発ベンチャーを含めた産学連携により、製品開発を進めることが重要です（図2）。大学発ベンチャーは高度な専門技術を持ち、これまで企業が埋めることが困難であった製品化までのギャップを埋めることのできる存在です。平成20年、北海道大学発ベンチャー・イーベック株式会社が北海道大学の完全ヒト抗体に関する研究成果を展開し、その後、ベーリンガーインゲルハイム社（本社：ドイツ/インゲルハイム）に対して約88億円でライセンス契約を締結致しました。この事例でも示されたように、大学 → 大学発ベンチャー → 民間企業と知的財産を軸に技術移転を介した産学連携により、グローバルな競争力を持った製品開発が既の実施されております。本学においても、（独）中小企業基盤整備機構を中心として、千葉県、千葉市と連携し、平成19年に千葉大亥鼻イノベーションプラザを設置致しました。大学の技術を実用化に向けて橋渡しできるベンチャーの育成、支援に取り組んでいます。代表的な例では、入居企業の一つである、千葉大学発ベンチャー・株式会社アミンファーマ研究所があげられます。千葉大学大学院薬学研究院の基礎研究成果を展開し、脳梗塞リスク評価事業を立ち上げ、人間ドック等での実用化に成功しております。今後は、さらなる産学連携の輪が広がり、より大きな事業となることが期待できます。

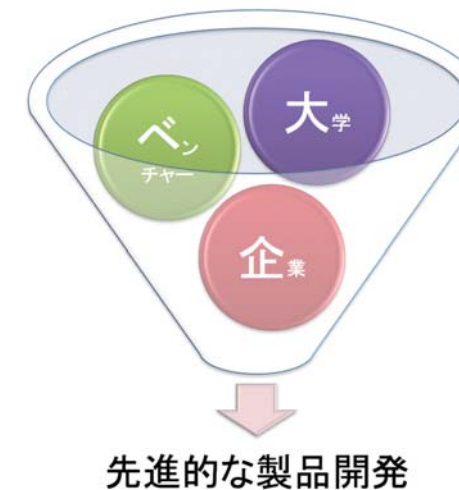


図2：大学発ベンチャー企業を含めた産学連携が先進的な製品開発を実現する

一方、今後の産学連携の中核を担うと考えられる大学発ベンチャーは、放っておけば次々に生まれてくるというものでもありません。高度な技術の実用化に果敢にリスクをとって取り組む大学発ベンチャーには、ベンチャーキャピタルだけでなく、基本技術を生み出した大学やその技術領域の企業がもっと積極的に資本参加を検討すべきだと考えます。先進的な製品開発においては、大学発ベンチャーが重要な存在であることを認識し、ともに開発コストに関するリスクを分け合い、事業を推進していく体制が必要です。そうすることで、企業は他者を圧倒する開発スピードで先進的な製品開発が可能となり、グローバル競争の勝者となることができるのです。また、大学は所有する知的財産から次の研究への原資となりうるリターンを得られるのです。

さらに、企業・大学間の積極的な人事交流も効果的であると考えられます。理念、目的、文化が異なる組織が共同で行うプロジェクト推進には困難が伴います。人事交流により、相互の立場を理解することで、円滑なプロジェクト推進が可能となります。どんなに先進的な製品開発も「人」が行うものですから、人と人との理解を深めることが重要です。

## おわりに

我々が望む「安心して暮らせる豊かな社会」を起点に、「知的財産」および「産学連携」を考えてきました。我が国の未来のために、本文を読まれた科学者、ビジネスマン、学生など技術開発に携わる多くの方々が、大学発ベンチャーを含めた産学連携を有効な手段であると認識し、上述のような新しい連携に次々に取り組み、先進的な製品開発により「安心して暮らせる豊かな社会」が末永く実現することを願っております。



**お知らせ**

独立行政法人放射線医学総合研究所  
第16回 公開講座 特別編

第16回  
独立行政法人放射線医学総合研究所 公開講座 特別編  
**医療関係者のための  
役に立つ公開講座**  
2010年3月13日(土)  
15:00~18:30

# 医療における放射線

～エビデンスに基づいて現場の質問に答える～

放射線は現在の医療には欠かせないツールであり、その利用技術はますます高度化しつつあります。一方で、患者、特に小児や女性の被ばくの影響を心配する声も聞かれ、医療の現場では放射線診療に対する患者の疑問や不安への対応が重要な課題になっています。今回の公開講座では、主に放射線診断に焦点を当て、専門家の講演と議論を通して、医療関係者がエビデンスに基づくより適切な放射線診療について考える機会を提供したいと思います。お問い合わせの上、ぜひご参加ください。

後援：文部科学省（予定）、千葉県、千葉市、日本放射線腫瘍学会、日本医学放射線学会、日本放射線学会、日本加藤会、日本看護協会、日本原子力学会、日本物理学会、日本放射線影響学会、日本放射線技術学会、日本放射線技術学会、千葉県医師会、日本保健物理学会、日本医学物理学会（協賛）

**プログラム**

- 開場**  
14:30  
**開会の挨拶**  
15:00-15:15 米倉義晴(放医研理事長)  
久住静代(原子力安全委員)  
文部科学省(予定)
- 第1部**  
15:15-16:30 「医療被ばくの現状と考え方」座長 米原英典(放医研)  
医療被ばくを取り巻く動向 酒井一夫(放医研)  
医療被ばくの現状 赤羽恵一(放医研)  
低線量被ばくの影響 島田義也(放医研)  
患者さんへの説明のポイント 神田玲子(放医研)
- 16:30-16:40 休憩
- 特別講演**  
16:40-17:20 座長 明石真言(放医研)  
『安全と安心の考え方』永田久雄  
(早稲田大学理工学術院客員教授)
- 17:20-17:25 休憩
- 第2部**  
17:25-18:25 パネルディスカッション  
「あなたは医療被ばくについて、患者の質問に答えられますか？」  
コーディネーター：神田玲子(放医研)  
パネリスト：北村善明(日本放射線技術学会会長)  
中村仁信(日本医学放射線学会理事/彩都友誼会病院長)  
上杉英生(国立がんセンター東病院看護部  
副看護部長/がん看護専門看護師)  
酒井一夫(放医研)、島田義也(放医研)
- 閉会の挨拶**  
18:25-18:30 辻井博彦(放医研理事)

**会場**

幕張メッセ国際会議場  
2F 国際会議室



〒261-0023 千葉市美浜区中瀬 2-1  
TEL : 043-296-0001 (代) FAX : 043-296-0529  
<http://www.m-messe.co.jp/>

**お申し込み・お問い合わせ**

独立行政法人 放射線医学総合研究所  
企画部 広報課  
TEL : 043-206-3026  
Eメール : kouza@nirs.go.jp

事前申し込みが必要となります。  
本講座は医療関係者を対象としております。

**入場無料 (先着 500 名)**

お申し込みはWEBまたは FAX で!!  
<http://www.nirs.go.jp>  
FAX 043-206-4062

主催 / 独立行政法人 放射線医学総合研究所

**編集後記**

読者の皆さん、お変わりなくお過ごしでしょうか。本誌2月号をお届けします。今年の冬は、当初の予報では暖冬とのことだったように記憶していますが、千葉でも少し雪の日があるなど冬らしい冬が続いているように思います。しかし、本号が皆さんの元が届きます頃には春の訪れを感じることが出来るようになってきていると思います。

本誌は読者の皆さんに親しみを持って読んで読みやすい誌面になることを目指し、誌面の体裁など少しずつ工夫を行っています。例えば表紙では1つだったコンテンツを増やして内容を分かりやすくしています。また本文においては、文字の拡大、写真・図版を随所に取り込むなど毎号改善を進めています。各頁の縦の柱には、英文のタイトルを加えたり、フッターには誌名・著者名・年・巻・号・頁などの情報を追記したりするなど目立たない箇所でも改良を行っています。そして、ウェブ時代に対応できるよう当所ホームページに掲載中の本誌デジタル版にも重点を置くため、従来のPDF版以外に、実際に冊子を手にとって読んでいるような感覚のある大変読みやすい形式でも掲載しています。

さらに、各号の記事の内容が検索できるようホームページにコンテンツの検索機能の強化を図るなど、本誌を常に進化させています。本誌は今後とも、当所の機関誌として私達の業務や研究の成果などの情報を読者の皆さんに分かり易くタイムリーに報せ、当所の研究成果や業務内容の“見える化”に力を注いでいきたいと思います。(OM)

**次号予告**

**特集** 第1回放医研-千葉県がんセンター合同シンポジウム  
「千葉県における難治性がんにおける  
診療・研究ネットワーク構築」

**最近の成果** 放射線治療と腫瘍免疫との蜜月  
聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター  
清野 研一郎

**印象記** 公開シンポジウム  
UNSCEARの最新動向と放射線防護研究の展望  
放射線防護研究センター 規制科学総合研究グループ  
三枝 新

《編集委員会》

- |           |       |       |
|-----------|-------|-------|
| 委員長 酒井 一夫 | 小橋 元  | 立崎 英夫 |
| 委員 白川 芳幸  | 長谷川純崇 | 鈴木 敏和 |
| 内堀 幸夫     | 菊池 達矢 | 杉森 裕樹 |
| 高田 真志     | 神田 玲子 |       |
| 玉手 和彦     | 石井 伸昌 |       |
| 金澤 光隆     |       |       |
| 事務局 岡本 正則 |       |       |



第9回重粒子医学センターシンポジウム会場で講演中の演者や参加者を暖かく包んだ会場の花

**放射線科学**

第53巻 第02号

2010年2月15日発行

《編集・発行》

独立行政法人 放射線医学総合研究所  
〒263-8555 千葉市稲毛区穴川 4-9-1  
電話 043(206) 3026 Fax.043(206) 4062 Eメール info@nirs.go.jp  
本誌 URL:<http://www.nirs.go.jp/info/report/rs-sci/index.shtml>  
(禁無断転載)





<http://www.nirs.go.jp>