

Radiological Sciences

放射線科学

2008.08

Vol.51

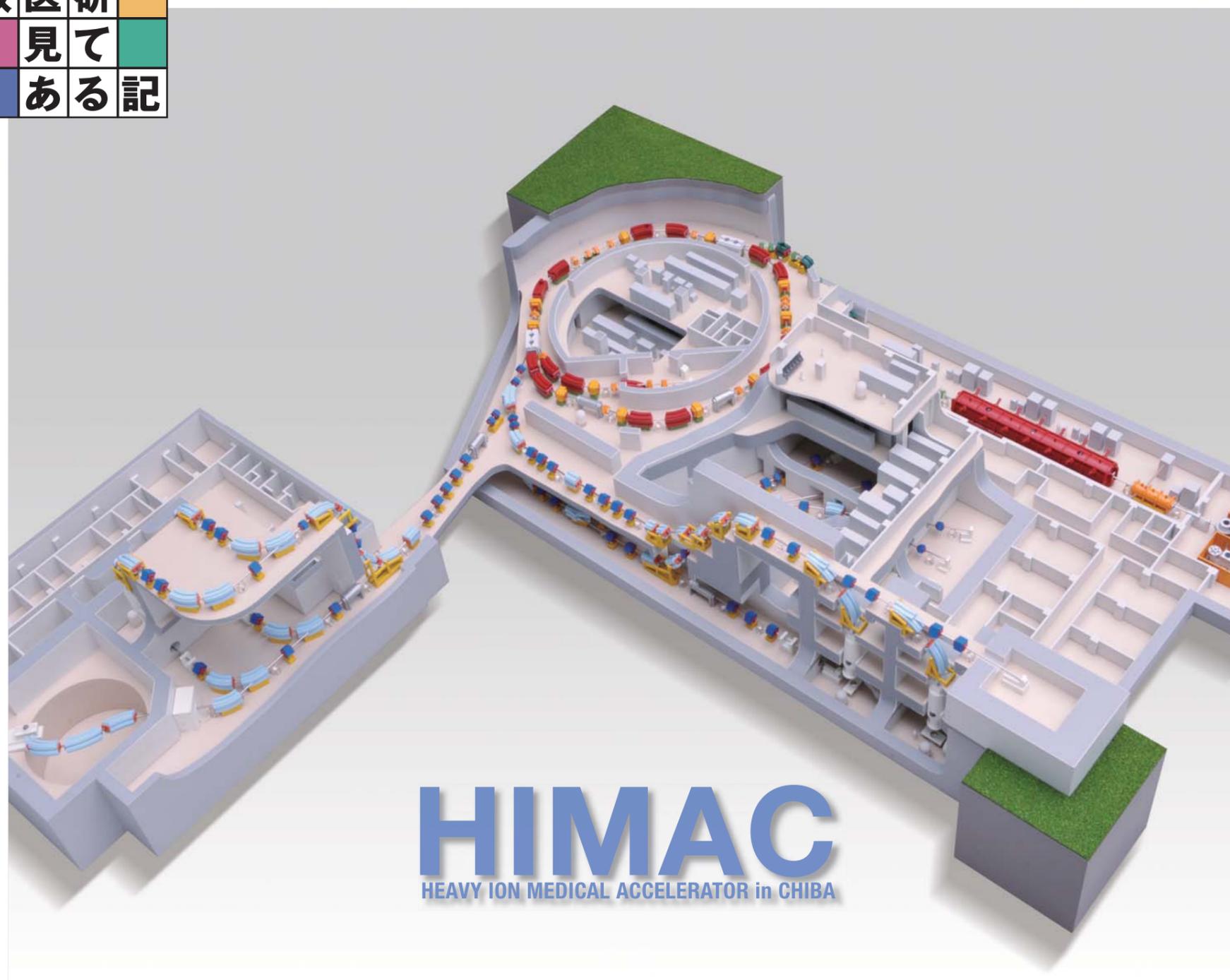
第51巻 第8号



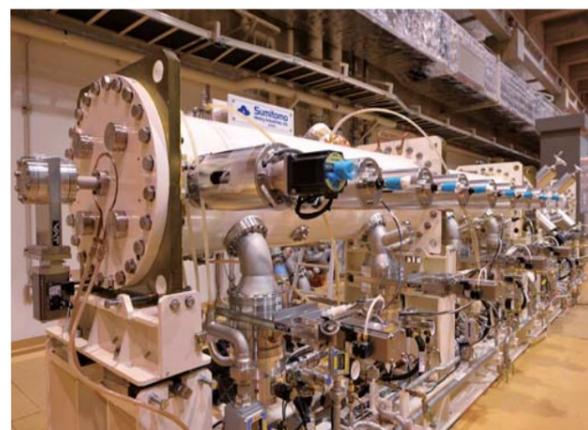
特集

次世代重粒子線照射システムの
構築に向けて

ISSN 0441-2540



▲ 重粒子医科学センター重粒子線(HIMAC)棟の第2治療棟計画を含む全体模型



◀ 高効率小型線形加速器:2台の加速器からなり、奥(上流側)がRFQ(Radio-Frequency-Quadrupole)と手前(下流側)がAPF(Alternating-Phase-Focusing)方式IH型DTL(Interdigital H-mode Drift-Tube-Linac)です。前段のRFQは炭素加速に最適設計することで小型化に成功しています(全長2.5m、外直径0.42m)。後段のAPF方式IH型DTLは、現HIMACのアルパシ型DTLに代わる全く新しい加速器で、小型(全長3.4m、外直径0.44m)かつ高効率(省電力)という特徴を有します。2台の線形加速器の全長は6m以下となり、現HIMACに比べ全長で約1/6と大幅な小型化が実現出来ました。ビーム試験により所期の性能を実証したこちら加速器は、現在HIMAC棟線形加速器室に移設され、HIMAC第2入射器として有効活用されるべく、整備作業中です。



▲ クリーンベンチ内で初代培養したマウスの表皮細胞に培養液を加える実験操作(広部チームリーダー提供;p22-p30)



▲ 位相差顕微鏡を用い培養したマウスのメラノプラストやメラノサイトの観察(広部チームリーダー提供;p22-p30)

Contents

特集

04 「次世代重粒子線照射システムの構築に向けて」

New Treatment Facility Project at HIMAC

重粒子医科学センター 次世代照射システム研究グループ
野田 耕司

最近の成果

22 「哺乳類のメラノサイトと放射線」

Mammalian melanocytes and radiations

放射線防護研究センター 生体影響機構研究グループ
発生・分化異常研究チーム
広部 知久

最近の成果

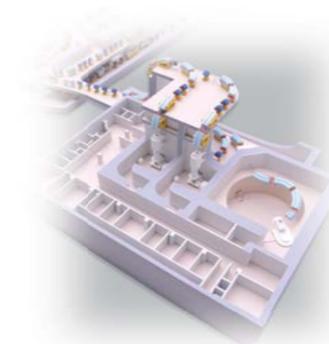
31 「重粒子線誘発バイスタンダー効果」

-照射された細胞から照射されていない周囲の細胞への情報伝達-

群馬大学大学院 医学系研究科
生体機能解析学講座
浜田 信行

42 随想 市川 龍資

43 編集後記



「次世代重粒子線照射システムの構築に向けて」

New Treatment Facility Project at HIMAC

重粒子医学センター・次世代照射システム研究グループ

- 野田 耕司 (グループリーダー/物理学部・加速器開発室長)
- 古川 卓司 (高精度治療計画システム開発チーム・研究員)
- 稲庭 拓 (高精度治療計画システム開発チーム・研究員)
- 岩田 佳之 (加速器開発研究チーム・主任研究員)
- 金井 達明 (普及装置高度化研究チーム/物理学部部長)
- 金沢 光隆 (加速器開発研究チーム・チームリーダー/物理学部・サイクロトロン運転室長)
- 兼松 伸幸 (高精度治療計画システム開発チーム・チームリーダー)
- 北川 敦志 (普及装置高度化研究チーム・チームリーダー/普及推進室長)
- 蓑原 伸一 (高精度治療計画システム開発チーム/物理学部・治療室システム開発室長)
- 森 慎一郎 (高精度治療計画システム開発チーム/研究員)
- 村上 健 (加速器開発研究チーム/物理学部・ビーム利用調整室長)
- 佐藤 真二 (高精度治療計画システム開発チーム/専門職)
- 白井 敏之 (加速器開発研究チーム/主任研究員)
- 高田 栄一 (加速器開発研究チーム/物理学部・重粒子運転室長)
- 武井 由佳 (高精度治療計画システム開発チーム/技術員)
- 取越 正己 (高精度治療計画システム開発チーム/物理学部・照射システム開発室長)

1.はじめに

炭素線を用いた HIMAC での臨床試行は、1994 年 6 月 21 日の開始以来、今年で 15 年目を迎え、これまで 4000 名以上のがん治療を行った。この間、我々は、呼吸に伴い変動する標的を照射する「2次元呼吸同期照射」¹⁾ や体表面近傍の正常組織への不要な線量を低減させる「積層原体照射法」²⁾ など、加速器技術や照射技術の研究開発により、治療精度の向上や治療の効率化を図り、大きな成果を上げてきた。しかしながら、治療開始から終了までの間に縮小していく腫瘍や空洞の影響で位置が日毎に変わる腫瘍（動態標的）に対する治療（オンデマンド治療）は行われていない。その理由として、その日の治療照射の直前に腫瘍の位置や形状の変化に即した治療計画を立て直す必要があるが、現在、HIMAC で用いられている拡大ビーム法では、腫瘍の形状に合った照射野を形成するためには、ボラスコリメータおよび患者コリメータが必要になり、その発注から完成まで数日を要することが上げられる。もし、ボラスコリメータおよび患者コリメータが不要な照射法があれば、この問題は解決に向けて大きく踏み出すことになる。実は、このような照射法は既に存在し、3次元スキャン法と呼ばれている。現在、ドイツ重イオン科学研究所 (GSI: ドイツ)³⁾、ポールシェラー研究所 (PSI: スイス)⁴⁾ などで治療に用いられている。しかしながら、呼吸や心拍とともに位置や形状が変動する腫瘍への3次元スキャン

法を用いた高精度治療照射は、世界的に見ても未だ実現されておらず、頭頸部腫瘍のような固定標的にだけ実用化されているだけである。従って、変動標的の3次元スキャン法の早急な実現が強く望まれている。このような背景のもと、重粒子医学センターでは、「次世代照射システム研究グループ」を組織し、2006年度より、呼吸性変動標的にも対応できる3次元スキャン照射装置と回転ガントリー照射装置からなる次世代重粒子線照射システムの開発研究をスタートさせ、次に示す目標を達成すべく研究開発を行っている。

3次元スキャン法

- 1) コリメータレスの高精度照射の実現。
- 2) 変動標的に対応した3次元スキャン法の実現。

回転ガントリー

- 1) 多門最適化による線量集中性の向上とそれによる治療成績の向上
- 2) 患者位置決め、治療照射時の患者負担の軽減。

本プロジェクトでは、HIMAC で現在行われている治療に支障をきたすことなく次世代照射システムを構築するために、HIMAC 棟からビームラインを延長し、新しい治療棟（第二治療棟）を計画している。図1に示すように、この第二治療棟は、3次元スキャン装置が搭載された水平・垂直照射ポートを備えた二つの照射室と

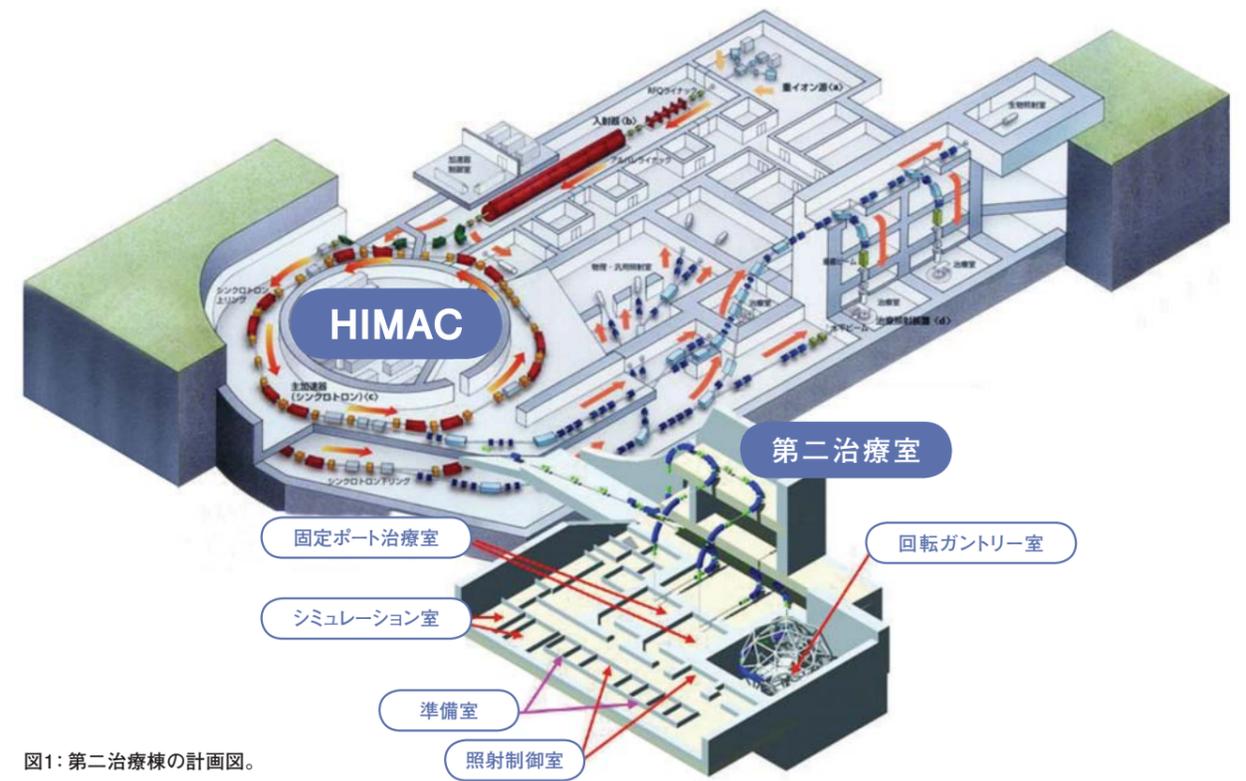


図1: 第二治療棟の計画図。

回転ガントリー照射室からなり、ビームは HIMAC の上サイクロトロンから供給する予定である。

ここでは、これまで行われた次世代照射システムの開発研究の概要を紹介する。

2.拡大ビーム法と3次元スキャン法

一般に、放射線治療では、腫瘍には必要十分な線量を均一に与え、かつ周辺の正常臓器への被ばくを最小限度に抑えることが治療成績を左右する。HIMAC や各地の粒子線がん治療施設で用いられる拡大ビーム照射法⁵⁾では、まず、加速器からの細いビーム（ペンシルビーム）を、散乱体およびワブラー電磁石で標的の断面形状を覆うように、同時にリッジフィルターで Bragg ピークを広げ、コリメータ及びボラスコリメータにより標的の形状に合わせて整形し、腫瘍内に均一な線量分布を形成する（図2の上図）。一方、3次元スキャン照射では、ペンシルビームを、標的を深さ方向に分割（スライスと呼ぶ）し、スライス平面上を塗

りつぶした後、次のスライス平面を塗りつぶしていくといった縦・横および深さの3次元方向に走査し、複雑な形状の標的を塗りつぶすように照射する（図2の下図）。従って、3次元スキャン法は、拡大ビーム照射法に比べて、(1) 異形標的に対応できる、(2) ボラス、コリメータが不要、(3) 線量分布の制御性が良い、(4) ビーム利用効率が高いなどの優れた特徴を持っている。

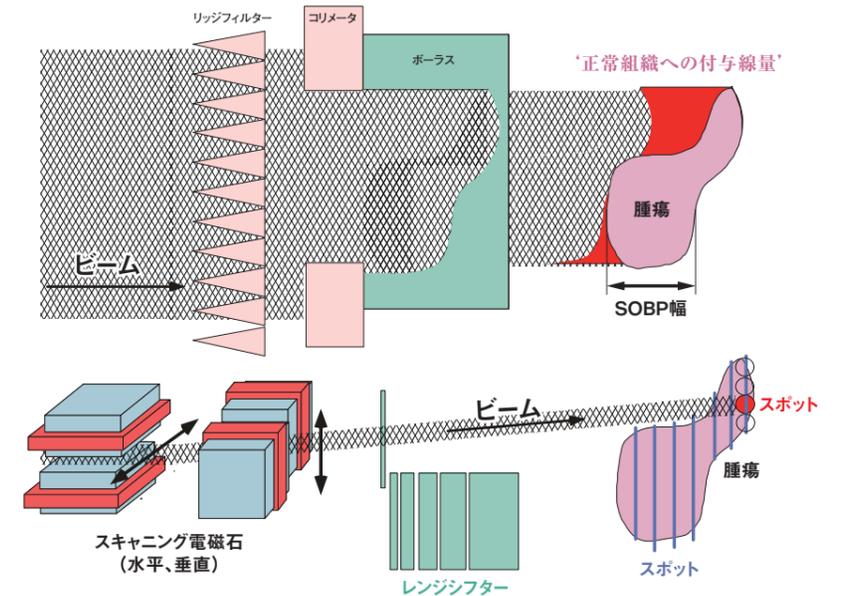


図2:(上) 拡大ビーム照射システムの模式図。ワブラー法で横方向に広げられたビームはリッジフィルターで深さ方向に広げられ、患者コリメータとボラスにより標的の形状に合わせられる。SOBP幅は標的の最大厚さに合わせるため、薄い腫瘍部の手前には、余分な照射線量を与えてしまう。(下) 3次元スキャン照射システムの模式図。スポットビームは腫瘍位置にスキャン電磁石とレンジフィルターにより3次的に走査されるため標的のみを照射することができる。

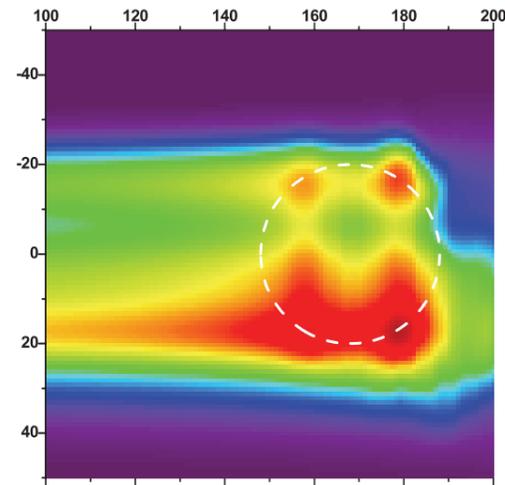


図3: 位置変動する標的に対する3次元スキャン法の線量分布。直径40mmの標的が振幅7mmの正弦波状に位置変動した場合のシミュレーション結果。線量分布が大きく乱れていることがわかる。

一方、照射中に標的が移動すると、異なるスポット位置に線量を与えることになり、線量分布を大きく乱すことになる(図3)。すなわち、3次元スキャン法は変動標的には不向きな照射法とも言える。

3.変動標的3次元スキャン法の開発

さて、どうすれば、変動標的に3次元スキャン法を適用できるようになるであろうか。ここで、我々は、(1)息を吐いたときの臓器の動きが小さい時だけ照射する方法(ゲート照射法)と(2)何度も重ね塗りすることで線量ムラを抑える方法(リペインティング法)を組み合わせることで線量分布の改善を試みた。しかし、図4に示すように、線量分布の十分な改善は図られなかった。これは、小さいとはいえ標的が移動するため、あるスライスを照射している時と別のスライスを照射している時にはスライスの位置が異なるためだと推測された。

そこで、“呼吸位同期リペインティング法⁶⁾(Phase Controlled Repainting: PCR)”を提案した。この方

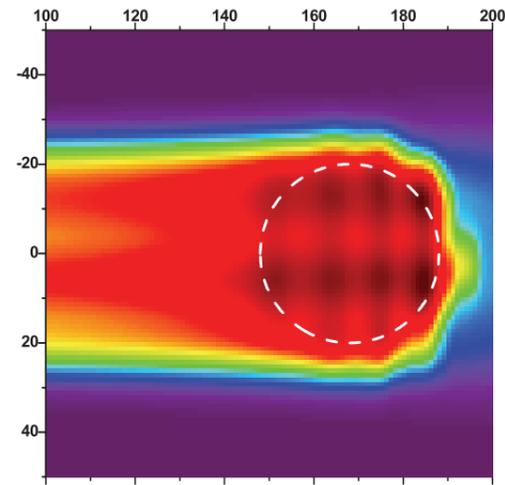


図4: ゲート照射法とリペインティング法を組み合わせた場合の線量分布のシミュレーション結果。まだ、線量分布ムラが観測される。

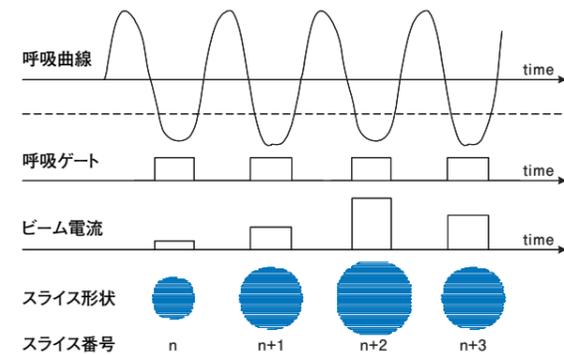


図5: 呼吸位同期照射法の概念図。

法は、図5に示すように、一つの呼吸ゲート内で一つのスライスの照射を完了する方法で、呼吸ゲート内で標的は動くものの、スライス毎の平均位置はほぼ一定に保たれる。さらに、何度も塗ることで線量分布ムラが平均化される結果、均一な線量分布が得られるものと予想された。この方法を検証するためにシミュレーションを行った。その結果を図6に示す。これから、PCR法により均一な線量分布が得られることがわかっ

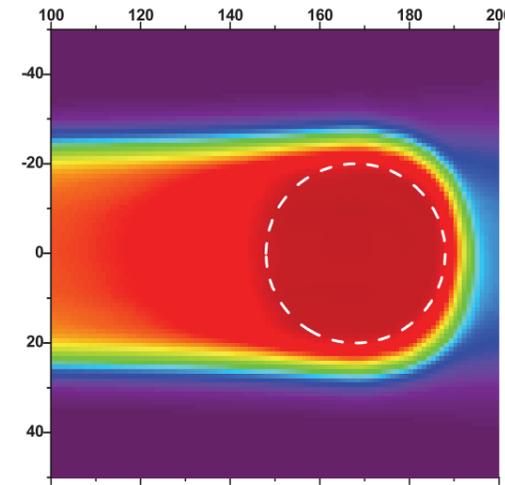


図6: PCR法による線量分布。リペインティング6回の場合。

た。そこで、照射実験を行った結果、2次元線量分布の測定ではあるが、シミュレーションで予想されたとおりの均一線量分布が得られた。ただし、このPCR法では、スライス毎にスライス断面積が異なるため、一定のゲート時間で照射を完了しようとすれば、ビーム強度をスライス毎に変化させる、いわゆる“ビーム強度変調”が必須となる。HIMACシンクロトロンでは、独自に開発したRF-KO法⁷⁾を用いているが、取り出しビームの全体的な時間構造を制御する振幅変調(AM)機能を用いて、取り出し強度を一定にすること、時間的に変化させることに成功した⁸⁾。その一例を図7に示す。

4.高速スキャン法の開発

PCR法によって、変動標的の3次元スキャン法の適用に明るい見通しがあった。しかしながら、PCR法では、同じスライス面を何度も照射するために、当然、通常の治療照射に比べて何倍も時間がかかることが予想された。従って、3次元スキャンの高速化が求められる。高速スキャンに向けた我々の戦略は、以下の三つを実現することで従来の100倍の高速化を図ることである。

- 1) 高速スキャンのための治療計画: 5倍
- 2) シンクロトロン の 擬似 直 流 運 転 : 2 倍
- 3) 高速スキャン電磁石の設計・製作: 10倍

4-1 高速スキャンのための治療計画

1) ビームモデルと最適化

3次元スキャン法では、一本のペンシルビームがどのような3次元の生物学的線量分布を与えるかを

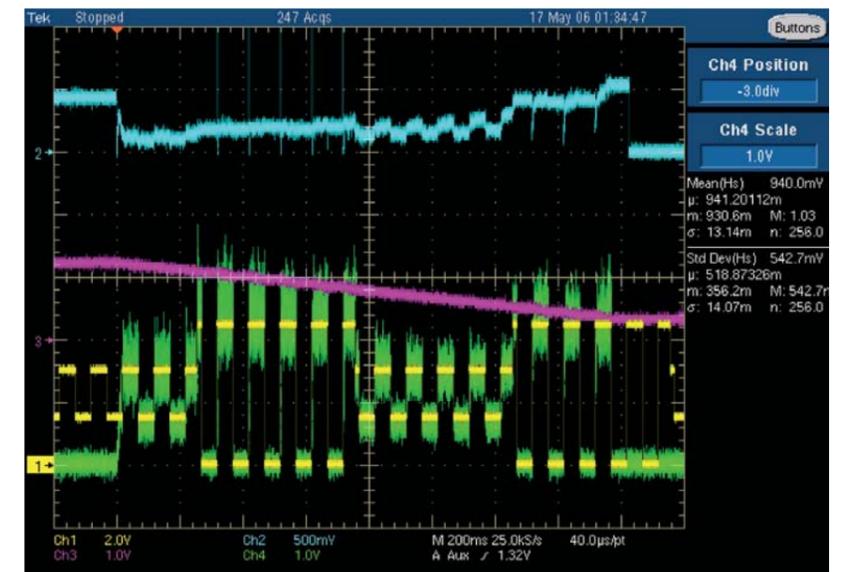


図7: HIMACシンクロトロンからの取り出したビームの時間構造。図中、黄線はビーム強度指令値、緑線は実際のビーム。強度指令信号に応じて50msごとの強度変調を行った場合。指令どおりビーム強度が変化しているのがわかる。

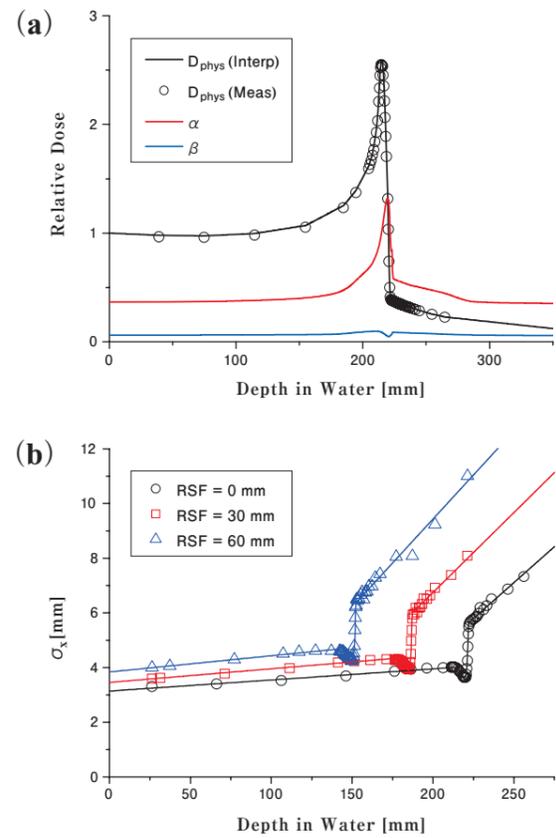


図8:(a) 深さ方向の物理線量分布と α および β 値の分布、(b) 横方向線量分布サイズ。

知ることが基本となる。本治療計画では、深さ方向と横方向の物理線量分布を測定し、HIMACで得られた α 値、 β 値から生物学的線量分布を求めている。図8(a)には、測定した深さ方向物理線量分布と α 値および β 値の分布を示す。また、図8(b)には、3種類のレンジシフターを挿入した場合の横方向線量分布サイズを深さの関数として示している。ある深さ以降、急激に線量分布のサイズが大きくなっているのはフラグメント核子の影響である。

このようにして得られたペンシルビームの線量分布を用いて、標的部に与えるべき生物学的線量を達成し、

周辺の正常組織にできるだけ線量を与えないように、ペンシルビームの配置を最適化している。現在は、入射した ^{12}C が停止するまで ^{12}C のまま存在すると仮定しているが、実際には、体を構成する原子核との入射核破碎反応により生じた二次粒子が ^{12}C とは異なるRBEを持つことから、この影響を吟味しなければならない。この影響がどの程度あるかは、現在、検討中である。

2) 漏れ線量の子測による高速化⁹⁾

これまでの3次元スキニング法では、スポット移動時にビーム供給を停止するか、移動時の付与線量(漏れ線量)を無視できるぐらいスポットの滞在時間を長くせざるを得なかった。すなわち、低いビーム強度でのスキ

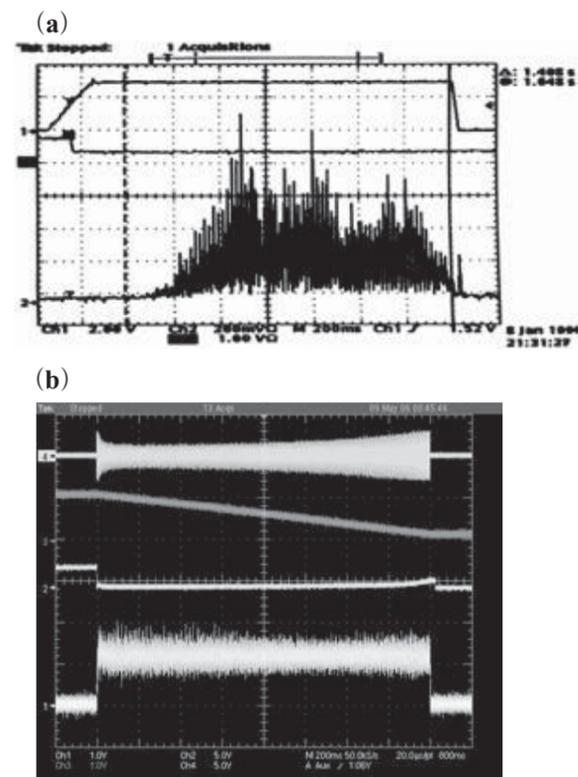


図9: 取り出しビームの時間構造。(a) HIMAC治療開始時の時間構造、(b) 現在の時間構造。(a) では0-100%でビーム強度が揺らいでいるが、(b) では揺らぎが±10%程度に低減されている。

ニングにしか対応できないために、高速スキニングは不可能であった。我々は、これを克服するために、漏れ線量を予測した上で、スポット毎にビームON/OFFを行わないラスタースキニング法を検討し、ビーム強度を上げても均一な線量分布が得られる高速3次元スキニング方法を提案した。この方法の成否を握るのは取り出しビーム(スピル)の時間構造であるが、これまでの開発の結果、図9に示すように、スピル時間構造の大幅な改善とその高い再現性が得られるようになった。そのことにより、漏れ線量の予測が可能になったのである。このラスタースキニング法を検証するために、1)で述べたように、スポット配置や重みを最適化する計算コードを独自に開発し、様々な形状や大きさの標的の治療計画を立て、ビーム試験を行った。この実験結果の一例を図10に示す。この実験では、HIMACで行われた骨軟部腫瘍の治療計画にそって高速スキニング法を適用したものである。この検証実験により、スキニング速度を従来の一桁以上高速化しても良好な線量分布が得られ、リベインティング法が適切な治療時間の範囲で実現できることを示すことができた。

3) ラスター軌道長の短縮(営業マン巡回問題)¹⁰⁾

ラスタースキニングでは、スポット移動時にビームのON/OFFをしないため、複雑な形状のターゲットに対し、同一スライス内でスキニング軌道をどのように決定するかは非常に重要である。従来は、図11(a)のように、ジグザグに軌道を選ぶようにしていた。このような場合、図から明らかなように、空白の点、すなわち照射しない点まで照射してしまっているのがわかる。

スキニング軌道と選び方と似た問題設定として、良く知られているものに巡回セールスマン問題(Traveling Salesman Problem: TSP)がある。TSPとは、多くの市と各市間の移動コストが与えられたとき、全ての市を一度だけ回って戻ってくるルートのうちコスト最小のものを求める問題である。しかし、都市数 n の場合、巡回路数は $(n-1)!$ となり、都市数が多くなると厳密解を直接求めるのは非現実的であり(例: 50都市で 3×10^{62} の巡回路)、TSPは、NP困難問題として知られている。TSPについては様々な応用例(配送計画、基盤配線など)もあり、色々なアプローチが研究されているが、ここでは、発見的解法(heuristic

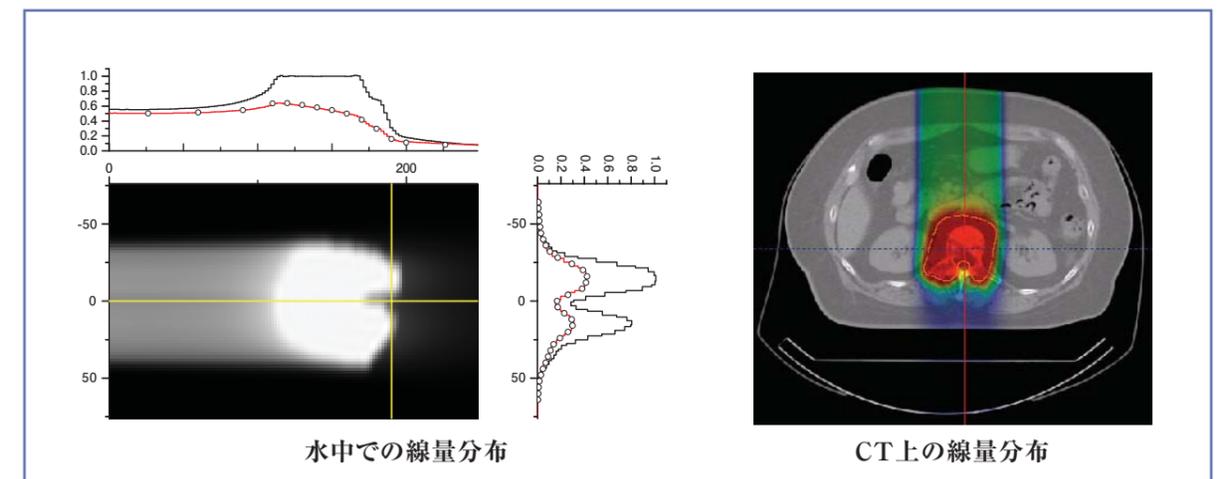


図10: 高速スキニング法で得られた線量分布。左: 水中での線量分布で、赤実線は所望の生物線量分布(黒実線)を得るための物理線量分布。右: CT画像上に焼きなおした線量分布。

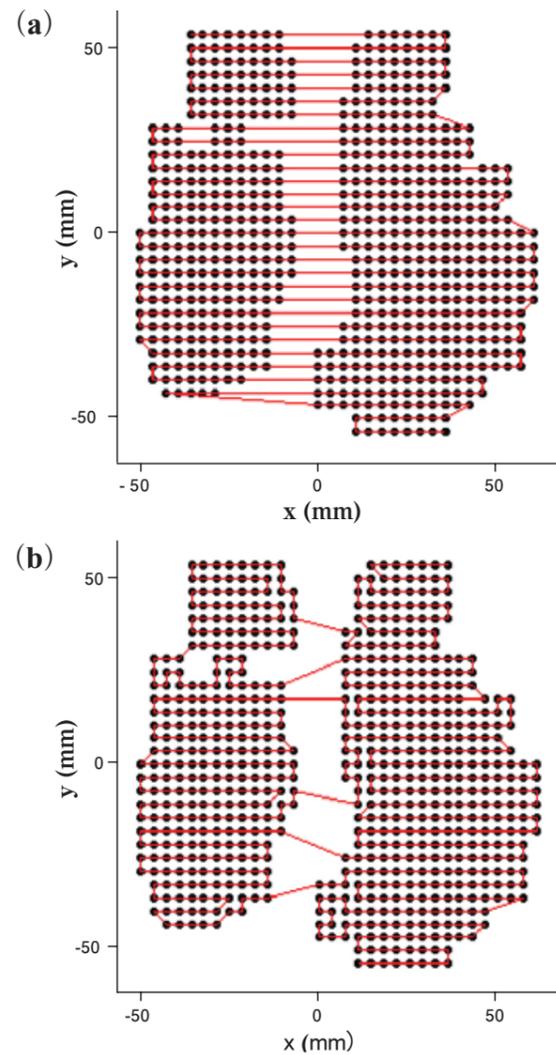


図11:(a)従来のジグザグ軌道、(b)最適化した軌道。

algorithm) であるシミュレーテッドアニーリング法 (Simulated Annealing : SA) を用いた。SA とは、金属を熔融状態からゆっくり冷却するとよい結晶が得られるという焼きなましをシミュレートする最適化手法である。また、通常の TSP とは、“巡回しない”という点が異なる。このため、受理判定基準に改良を加えている。移動コストについては、スキャン電磁石の仕様が水

平と垂直で異なるということを考慮し、垂直の移動回数になるべく少なくなるようにしている。また、初期値として、従来のジグザグ軌道 (図 11 (a)) を用いることとした。このため、低い温度を初期設定とし、効率的に最適化が行えるようになってきている。図 11 (b) に求められた最適解の一例を示す。この方法により、正常組織へのダメージを減らしつつ、軌道長を 20-30% 短くし、スキャンの高速化を図っている。

4-2 シンクロトロンでの擬似直流運転

一般に、シンクロトロンはパターン運転しているために、運転時間のうちビームを取り出せない入射、加速、減速時間が存在し、これがデッドタイムになる。HIMAC の場合は約 50% である。また、呼吸同期 3 次元スキャンでは、呼吸のうち標的の動きが小さい呼気のタイミングだけビーム照射を行う必要があり、取り出し可能な時間も制限されている。従って、照射効率が非常に低くなり、照射時間が極端に長くなる恐れもある。図 12 に示すように、もし、シンクロトロンで擬似的な直流運転が可能になれば、照射効率は著しく向上することになる。しかし、この運転方法では、一回の入射および加速で、一回の治療照射に十分な強度のビームを蓄積しておく必要がある。現在、HIMAC シンクロトロンでは、 2×10^{10}

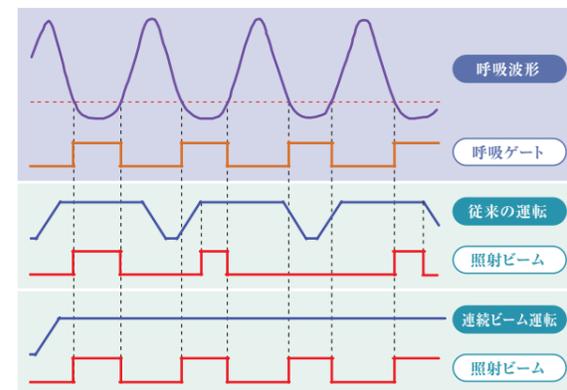


図12:シンクロトロンでの擬似直流運転による照射効率の改善。

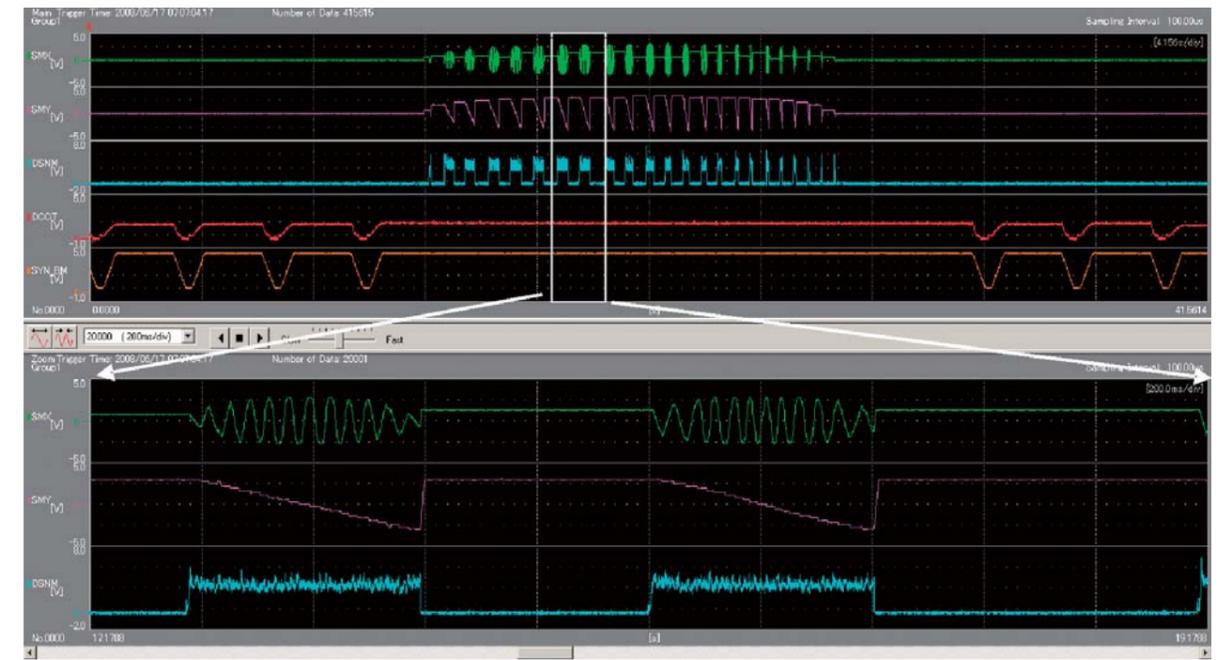


図13:HIMACシンクロトロンでの擬似直流運転。
上図:上から水平スキャン(緑)、垂直スキャン電磁石電流(ピンク)、取り出しビーム強度(水色)、RF周波数(赤)、電磁石パターン(オレンジ)。中央付近が擬似直流運転。
下図:上図の白枠部分の拡大図。上から水平スキャン(緑)、垂直スキャン電磁石電流(ピンク)、取り出しビーム強度(水色)。

個の炭素イオンを加速することが可能である。拡大ビーム法ではビーム利用効率が 10-20% と低く、上記ビーム強度でも不十分であるが、スキャン法のビーム利用効率はほぼ 100% であるために、 2×10^{10} 個は一回の治療照射に十分な強度といえる。そこで、一回の入射・加速のあとビームを使い切るまでビーム取り出し時間を延長する擬似直流運転を試みた。この実験結果を図 13 に示す。この方法と高速 3 次元スキャン法を組み合わせることにより、これまで 2 分程度かかっていた呼吸同期 3 次元照射が 15 秒程度に短縮できることが検証された。

4-3 高速スキャン電磁石

従来のスポットスキャン法では、スポットの移動速度は数 mm/ms (HIMAC2 次ビームコースのスポットスキャンシステムでは、水平方向 : 5mm/1ms、垂直

方向 : 5mm/2.5ms)¹¹⁾ である。この程度のスキャンスピードでは、リペインティング法による治療時間が非常に長くなってしまふ。そこで、水平 : 100mm/ms、垂直 : 50mm/ms と、これまでの 10 倍以上の高速化を検討した。このような高速スキャン電磁石の障害となるのが、渦電流による励磁時間遅れと渦電流損およびヒステリシス損による発熱である。渦電流による時間遅れは渦電流の大小で決まるため、結局、発熱の問題に行き着くことになる。そこで、電磁石の 3 次元的な熱解析を行った。この一例を図 14 に示す。図から、電磁石の端部で発熱が大きいことがわかる。これは磁束が端部から曲がって漏れ出すために鋼板の厚みが実効的に増加するためである。これを防ぐために、端部にスリットを入れ渦電流のパスを長くして抵抗を増加させている。また、真空ダクトは、渦電流が流れない非金属の FRP を使用する。

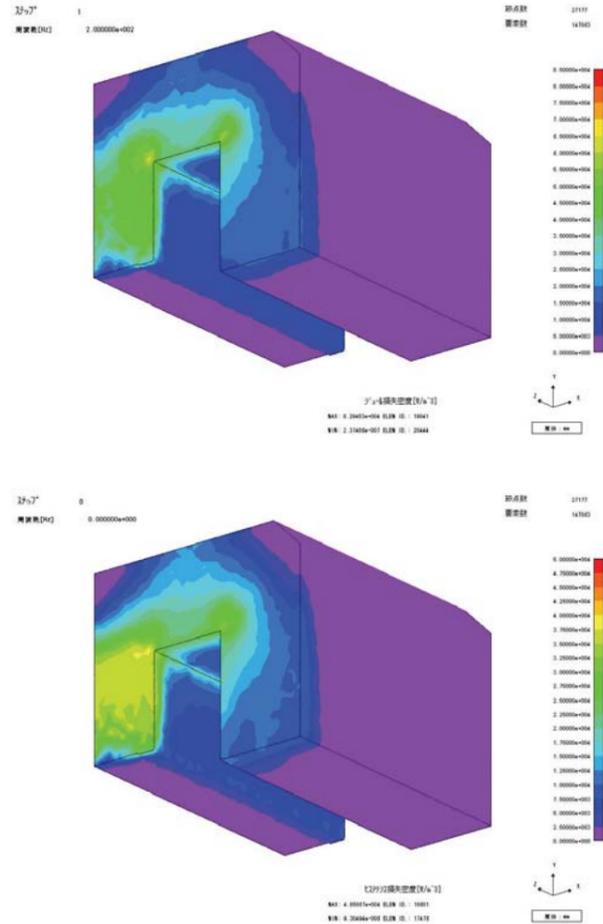


図14: 渦電流損とヒステリシス損による発熱の解析

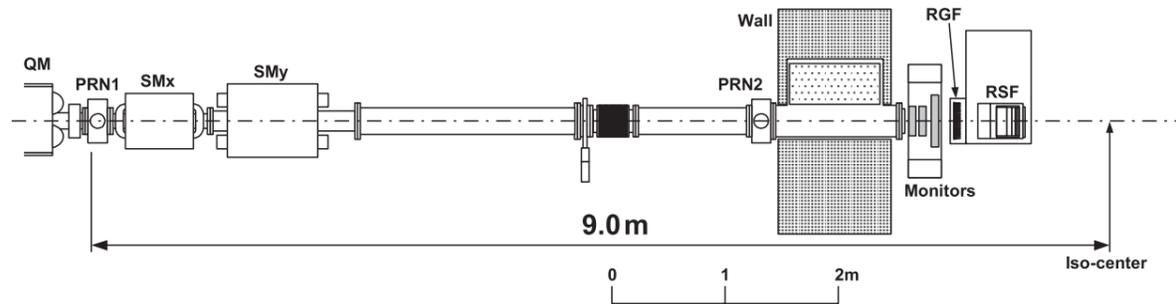


図15: スキャニングポートの概念図。

このような変動標的3次元スキャニング法を実際の条件で試験するために、スキャニング試験ポートの製作を行っている。この試験ポートは、図15に示す次世代照射システムの3Dスキャニングポートと同一の配置であり、ビーム軸だし用プロファイルモニター (PRN1&2)、スキャニング電磁石 (SMX,SMY)、正副線量モニター、位置モニター、リッジフィルター (RGF)、レンジシフター (RSF) から構成され、全長9mである。

今年の秋以降、HIMAC・物理汎用実験室に設置し、試験を開始する予定である。

5.炭素線回転ガントリーの開発¹²⁾

回転ガントリーを導入する利点は以下のとおりである。

- 1) 多門最適化による線量集中性の向上と周辺の重要臓器 (OAR: Organ at Risk) を避ける照射が可能となるために、頭頸部などのOARの多い部位の治療成績の向上につながる。
- 2) 患者位置決め時間の短縮や自然な姿勢による治療が可能となるために、患者負担の軽減や照射精度の向上につながる。

5-1.多門最適化

重粒子線治療では、腫瘍には必要十分な線量を与え、かつ周辺のOARへのダメージを許容値以下に抑えるために複数の方向から照射を行う。通常、この照射法では、各方向から腫瘍全体に均一に線量を与えるようにし、それらを複数の方向から重ね合わせることで治療を行う。一方、多門最適化とは、複数の方向から照射を行う際に、

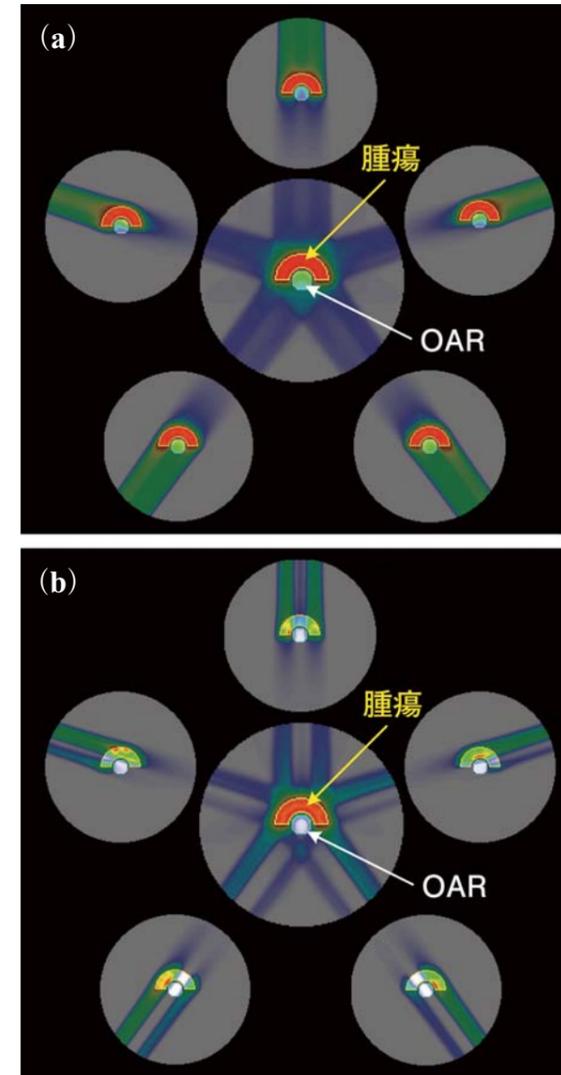


図16: (a) 単門最適化と (b) 多門最適化。

各方向から均一に線量を与えるのではなく、OARへのダメージを極力低く抑えるという条件の下で、複数の方向から部分的に線量を与え、全体として腫瘍全体に均一にダメージを与える方法である。円柱状のOARを取り囲むように位置する腫瘍に対して、5方向から照射を行うと仮定し、上記二つの方法により体内に与えられる線量分布を図16(a)、(b)に示す。前者では、各方向から均一に線量を与えられているのに対し、後者では、各方向からは不均一な線量を与えられているが、それらを5方向から重ね合わせることで、前者と同様に腫瘍全体に均一な線量を与えることができる。一方で、図17に示すように、前者に比べ後者では、OARに与えられる線量を約4分の1に抑えることができる。このように、多門最適化により、脳腫瘍などのように腫瘍近辺にOARがある場合でも、そこを避けながら腫瘍に線量を与えることができ、いっそう線量集中性を高めることが可能となる。炭素線回転ガントリーを導入することで多門最適化法を円滑に行うことができるようになり、脳腫瘍などの頭頸部治療の治療成績を大幅に向上できることが強く期待されている。

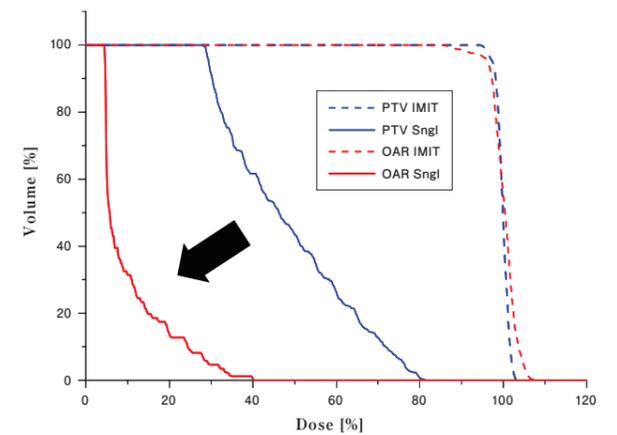


図17: 単門最適化法と多門最適化法のDVHの比較。点線: 腫瘍部のDVH。(青: 単門、赤: 多門)、実線: OARのDVH(青: 単門、赤: 多門)。腫瘍部DVH(点線)は単門、多門最適化でほぼ同じであるが、OARのDVH(実線)は、多門最適化することで1/4に低減できていることがわかる。

5-2. 患者負担の軽減

HIMAC での臨床試行の大きな成果の一つは照射分割回数の低減である。特に、肺癌における4門一回照射法の適用は、全線量を低減したにもかかわらず高い局所制御率を達成している。この一回照射法では、2時間以内に4門照射を終える必要があるため、迅速な患者位置決めが課題となる。これを解決する方法の一つが回転ガントリーである。回転ガントリーは、治療計画や位置決めを容易にするだけでなく、固定照射ポートでの位置決めの際に患者を回転固定させた場合の臓器の移動がないために照射精度が一層向上するという利点がある。また、図18に示すように、固定ポート照射では患者さんに不自然な姿勢を長時間強いることを、回転ガントリーでは避けることができるという利点も大きい。特に、骨軟部腫瘍の患者さんは痛みのために不自然な姿勢をとることが難しく、治療そのものを諦めざるを得ない場合も少なくない。このような患者さんにとっては、回転ガントリーは大きな福音となるであろう。



図18: 一回4門照射法での位置決め。放医研ホームページより。

5-3. 3次元スキャンニング搭載型炭素線回転ガントリーの設計研究

上述のように、3次元スキャンニング装置を搭載した炭素線回転ガントリーは大きな利点がある。しかしながら、回転ガントリーは、陽子線においても直径約10mと巨大であり、さらに3倍近い磁気剛性を持つ400MeV/nの炭素線では一層巨大な装置で且つ高コストとなる事が大きな欠点であった。回転ガントリーを小型化するための方策としては、照射ポートを短くすること、偏向電磁石の磁場をあげることが考えられる。後者としては超伝導化が挙げられるが、回転時の振動等によるクエンチの問題などまだまだ解決すべき問題も多く、現在、産学共同シーズイノベーション事業顕在化ステージの外部資金を得、放医研、京大、KEK および東芝の共同研究として基礎開発を進めている段階である。そこで、本設計研究では、通常の電磁石の範囲内で偏向磁場をできるだけ上げ(1.8T)、軸長をできるだけ短くするために立ち上がりの偏向角度を60度とした。また、重量を軽減するために、最終偏向電磁石(90度)を2分割し、その間にスキャンニング電磁石を配置する構造としている。概念設計の結果を図19に示す。全体の重量は約350トンでGSIのものに比べて約半分である。

3次元スキャンニング法の場合、ガントリー回転角度によってビーム形状や分布が変化するため、角度毎のビーム調整に多大な労力が必要とする。そのために、ビーム形状や分布の回転角度依存性をなくすビーム分布非対称性補償法を考案し¹³⁾、現在、HIMACで試験を進めている。

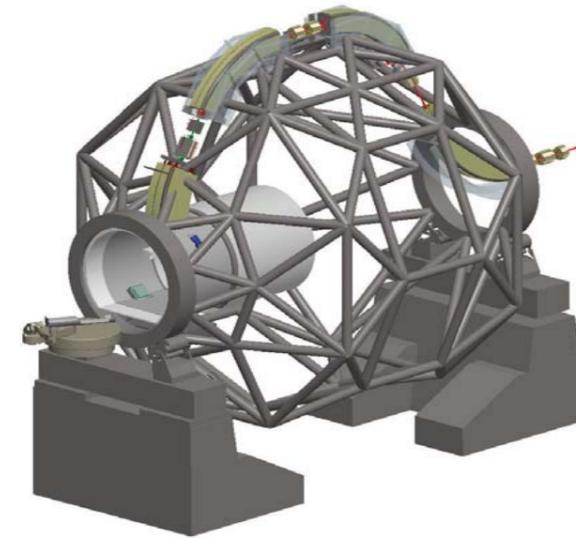


図19: 炭素線回転ガントリーの概念設計。

6. 次世代照射システムの建設に向けて

これまで述べた次世代照射システムの開発研究を実際の臨床に用いるための検討が進められており、その設計検討について簡単に紹介する。

6-1. 基本構想¹⁴⁾

1) 照射方法

照射方法としては、これまで述べてきた呼吸位相制御3次元スキャンニング法を用いる。

2) エネルギー、照射野サイズ

これまでHIMACで用いられてきた炭素イオンを主として考えるが、酸素イオンなどのより重いイオンも治療に使えるようにエネルギーを430MeV/nとした。

この場合、炭素イオンで30cm、酸素イオンで22cmの飛程が得られる。照射野サイズは、HIMACでの臨床をカバーできるように、横方向照射野サイズおよびSOBPを22cm×22cmおよび15cmとした。一方、回

転ガントリーでは、小型化、軽量化は図るために、エネルギーを400MeV/n、照射野サイズを15cm×15cm、SOBPを15cmとした。

3) 治療室数

治療室数は、年間治療患者数1000人以上を目標に決めた。①現在と同じ稼働時間(6時間/日×170日/年=61,200分)を仮定する。②患者のスルーputを向上させるために、エネルギー切り替え、コース切り替えを一分以内に行う設計であること、後述するFPDを用いた半自動位置決めを行うことで、現在のHIMACでの治療室滞在の平均時間25分を15分までに短縮することを仮定する。③平均分割回数を12回と仮定する。これらの仮定のもとでは、一室の年間治療患者数は340人(=61,200分/(15分×12回))と計算できる。従って、3室あれば、年間1000人以上の治療が可能となる。また、水平と垂直ポート利用の割合は、ほぼ5:4であることから、水平、垂直ポートを備えた治療室を2室、回転ガントリーを備えた治療室を一室とする構成にした。

4) 治療ホール

新治療棟および治療ホールの基本構想は、病院スタッフと議論しながら検討を進めている。治療ホールには、治療室以外に、待合室、シミュレーション室2室、準備室6室、制御室2室(固定ポート室用と回転ガントリー室用)が設けられている。シミュレーション室では、リハール、簡易治おおよび治療計画のためのCT撮影が行われる。患者さんは、まず、準備室に導かれ、搬送台車に固定あるいは固定直前状態にして載せられる。その後、治療室に搬送され、スカラー型ロボットアーム治療台にカプセルごと自動的に移され、位置決めが行われるといった流れとなる。

6-2.医療情報システム

現在のHIMAC治療と次世代システムでの治療に関する医療情報システムを統合する形で、病院スタッフ、医療情報課と共同して検討が進められている。現在までの案を図20に示す。患者予約に始まり治療フロー進捗状況をも把握する治療スケジュール管理システムは照射パラメータや治計パラメータなどの設定システムと情報をやり取りする。治療データについてもDICOMにより治療データ管理システムとの情報のやり取りを行い、統合的に医療情報を管理するシステムの構築を考えており、粒子線がん治療RISの雛形となるシステムの構築を目指している。

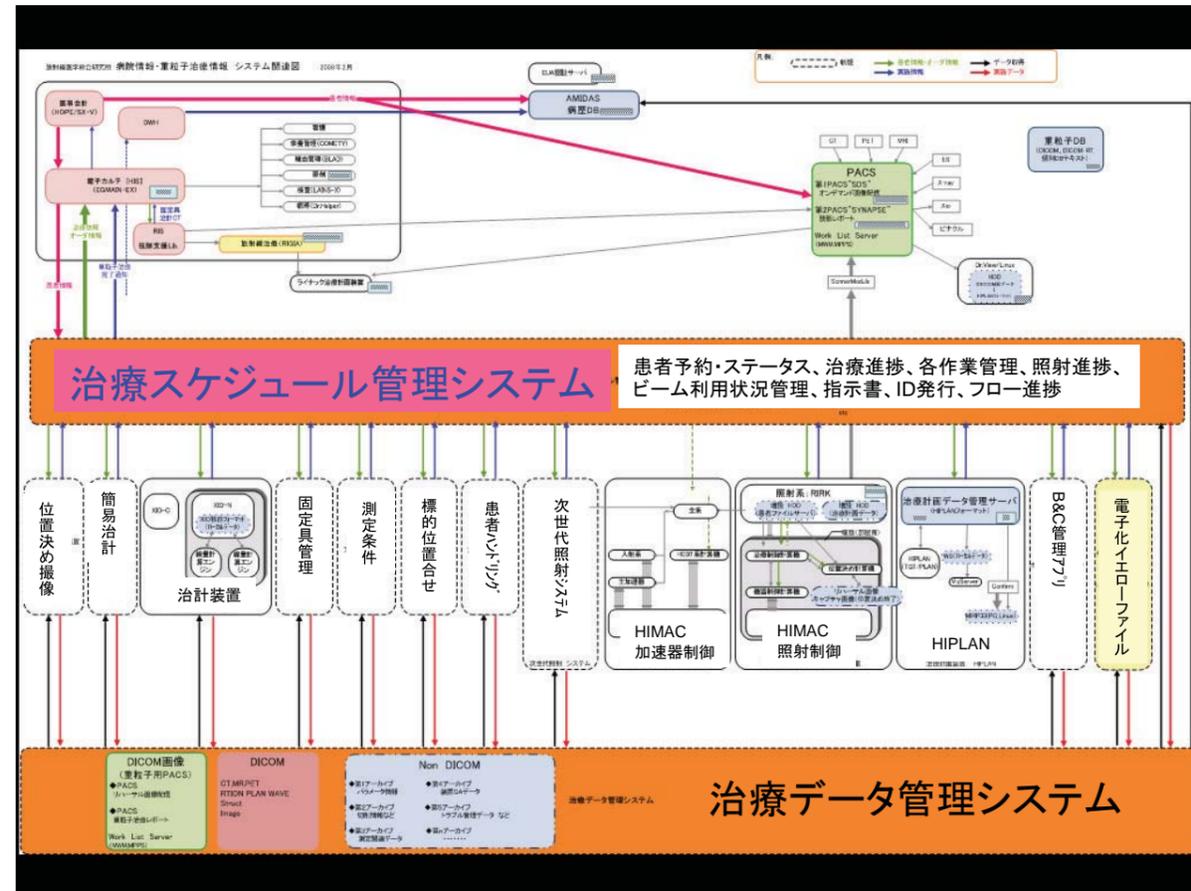


図20: 次世代照射システムの医療情報システム

6-3.治療計画装置

治療計画装置は、現在、設計・製作を進めている普及型治療計画装置に3Dスキャニング法による線量分布計算エンジンを搭載した形で検討を進めている。この治療計画装置は、XioをベースにDICOM通信により情報伝達を行う仕組みである。線量分布計算エンジンは放医研独自の開発であるために、Xioを変更したとしても対応可能となっている。この治療計画装置が完成すれば、通常ワブラー法、螺旋ワブラー法、3Dスキャニング法を搭載した幅広く対応可能な治療計画装置となる。図21に、この治療計画装置のブロック図を示す。

重粒子線治療計画・シミュレーションシステム

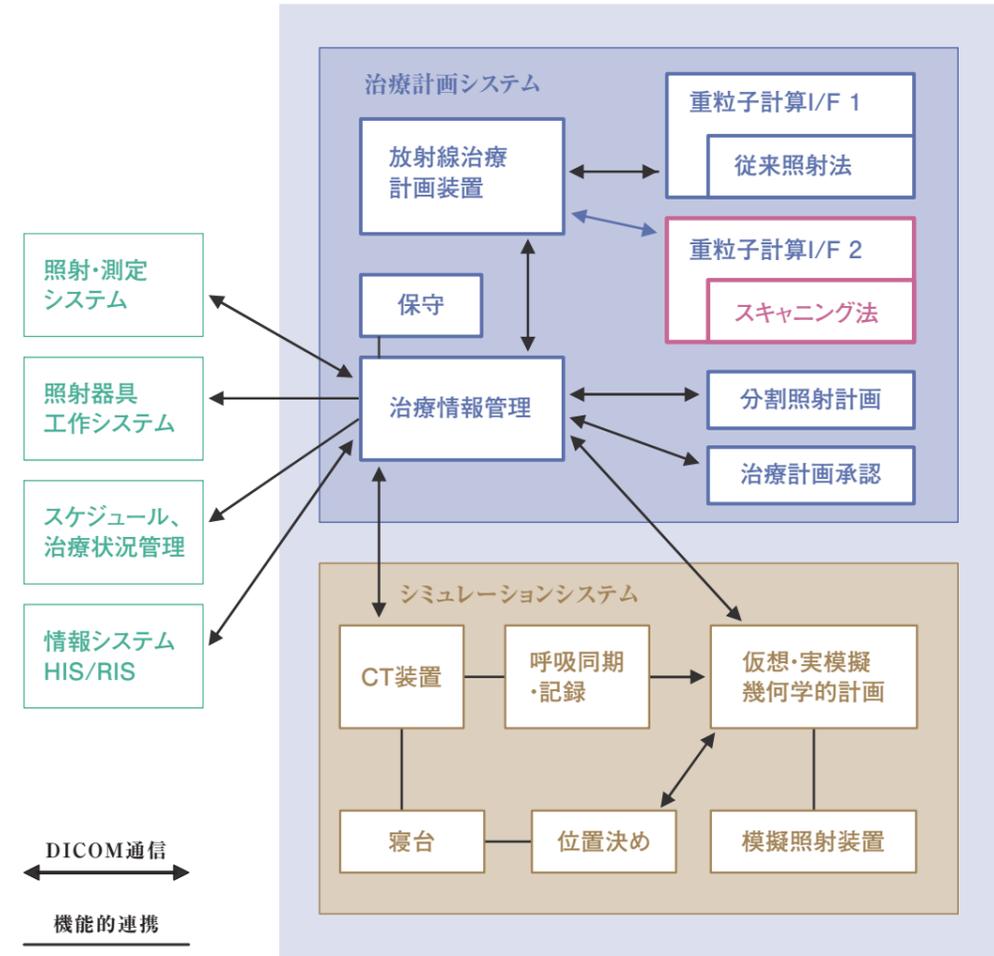


図21: 次世代照射システム・治療計画装置のブロック図。

6-4.患者位置決めシステムの開発

多くの施設では、治療計画時と照射時の患者位置の再現性を高めるために、治療室に設置されているレーザーポインタと患者の位置を合わせることが行われている。最近では、ビデオカメラを使用し患者の体表面の2次元情報を使用したり、X線を用いた透視画像を使用するなど、様々なモダリティを活用し、位置再現性を高めている。現HIMACでは、2方向からのX線透視画像を使用し、

診療放射線技師の判断により、患者位置決めを実施している。レーザーポインタを使用した1次元情報による位置決めと比べると、2方向からの2次元画像を使用する方法では、位置再現性の精度は大きく改善できる。しかし、位置決め対象部位により、位置決め完了までに数分から数十分の時間差がある。患者位置決め中にも患者の位置変化が生じることもあり、また、患者への負担を軽減するということから、位置決めの時間短縮は有用で

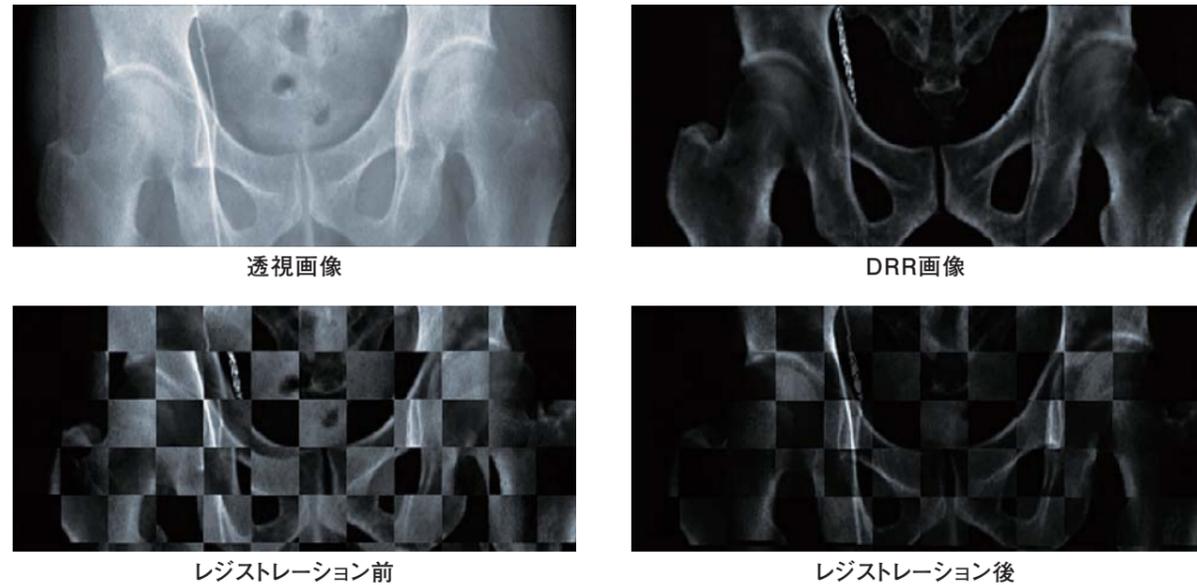


図22: 透視画像とCT画像を使用した骨盤部の画像レジストレーション
 上段左: 透視画像 (基準画像)、上段右: CT画像から作成したDRR画像、下段左: レジストレーション前の両画像を、格子状に表示、下段右: レジストレーション後の両画像を、格子状に表示。

ある。位置決め時間短縮の解決法として、計算機導入により自動的に位置ずれ量を算出することがあげられる。この技術は、1990年代には、別々のモダリティーにより取得された2次元画像(X線透視画像)と3次元画像(CT画像)の相関性の計算(レジストレーション)が紹介されている。従来の2次元画像どうしの位置決めでは、回転による画像面外へのずれ量を把握するのは難しいが、3次元画像を使用することで情報量が増加し、移動量と回転量をあわせた6軸方向の位置ずれ量を算出することが可能となる。透視画像とCT画像を使用し、骨盤部の位置ずれ量を計算した結果を図22に示す。図22左上段は、位置ずれ量を計算する基準となる透視画像である。右上段はCT画像を使用し、1対の仮想X線管と2次元検出器を配置し、2次元投影した画像(digitally reconstructed radiographs: DRR)である。図22の透視画像とDRR画像は、一見ほぼ同じ位置に存在するよ

うに見えるが、2つを格子状に相互表示することで、その位置ずれが理解しやすい(図22下段左)。仮想X線管-検出器の位置を変えつつDRR画像を作成し、透視画像とレジストレーションを行い、その位置ずれ量を算出する。その結果を補正し、透視画像とDRR画像を格子状に表示することで、精度よく位置ずれ量を補正できていることが理解できる(図22下段右)。

しかし、人間を対象とした位置決めでは、患者の状況を理解しつつ位置決めを行うことが重要であり、これは、診療放射線技師の経験によるところが大きい。計算機に診療放射線技師の経験即を学習させることはそう簡単ではない。そこで、これらを融合した方法(セミオート位置決め法)の開発を進めることで、治療計画時と治療時の患者の位置の「再現性」を保つことに取り組んでいる。

6-5.新ビーム輸送ライン

新ビーム輸送ラインのビーム光学設計は既に完了し、それに沿った電磁石の設計も完了している。ビームエネルギー切り替えやビームコース切り替えを効率よく行うために、渦電流による磁場設定時間の遅れを防ぐように、全ての電磁石は0.5mm厚の珪素鋼板を積層する構造とした。また、ビームモニターのコストを一桁程度下げることが目的にスクリーン型ビームプロファイルモニターの開発を進めている。現在、ダイナミックレンジ、線形性および長時間耐久テストなどを、既存のHIMACビームラインで行っている。

6-6.HIMACシンクロトン制御系の改良設計

HIMACシンクロトンの制御系は、個々のグレードアップは行ってきたが、大規模な更新はなされていない。一方、次世代照射システムでは3Dスキャンを採用するが、現在の計画ではスライス変更はレンジシフターを用いる予定である。しかしながら3Dスキャンイン

照射法ではエネルギースキャンによりスライス面の変更を行うことが理想である。このようなエネルギースキャンに向けてHIMACシンクロトンの改良設計を進めている。現在、一回の入射・加速に引き続くエネルギースキャンのビーム試験を行っている。その試験結果を図23に示す。この試験では、3面のスライス(幅:約2mm)を変えようとしてエネルギーを3段階変えている。図から、取り出しビームライン上に設置されたスクリーン型プロファイルモニターでのビーム位置がエネルギーに応じて変化している様子がわかり、エネルギー変更が設定どおり行われていることが検証できた。

6-7.建屋

第二治療棟建屋の基本設計および実施設計は既に完了している。この第二治療棟の概観を図24に示す。建屋は、周辺住民に威圧感を与えないように、屋上緑化、壁面緑化が計画されている。

HIMAC病院棟から、患者さんは回廊を通じて第二治

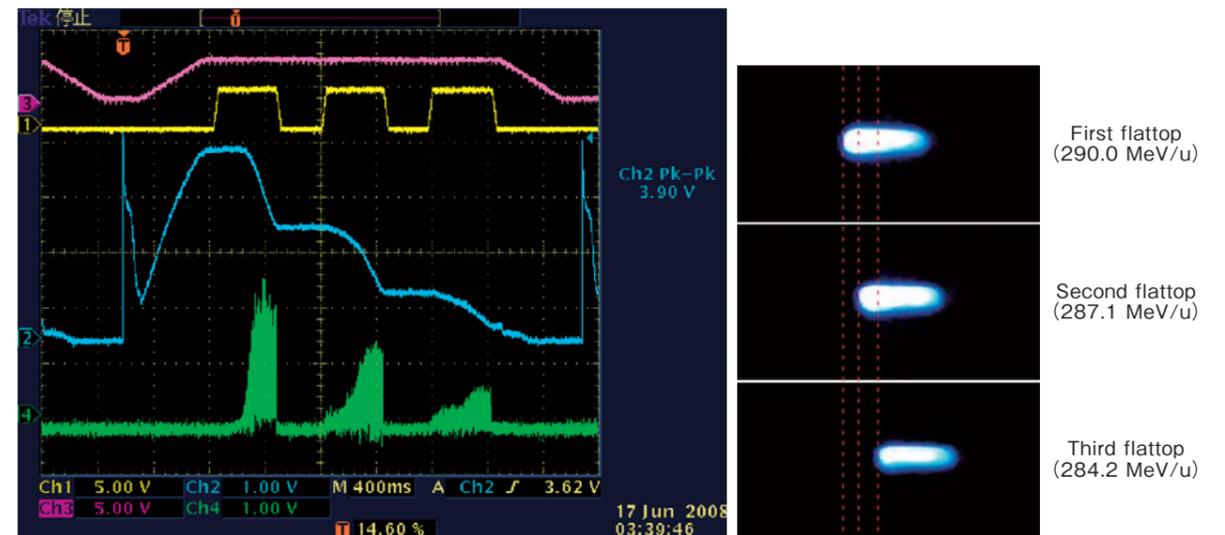


図23: エネルギースキャンに向けたビーム取り出し試験。
 左図: 上からシンクロトン電磁石・電流パターン、取り出し電磁石電流パターン、周回ビーム強度、取り出しビーム。取り出しビームのエネルギーは左から290.0MeV/n、287.1MeV/nおよび284.2MeV/nに設定されており、右図の取り出しビームライン上のスクリーンモニターでの位置変化として確認されている(取り出しビームラインの電磁石は一定磁場のためエネルギーが変化するとビーム位置も変化する)。



図24: 第二治療棟概観図

療棟へ移動する。一階は待合ロビーとなっている他、急な体調の変化にも対応できるように診察室も設けられている。また、将来、外来患者さんも受け入れられるように玄関ロビーと受付が設置される予定である。待合ロビーにいる患者さんは、自分の治療が近づくと、エレベータにより地下2階の治療ホールに移動し、そこの待合ロビーで待機することになる。

この新治療棟の大きな特徴の一つは、RFタグによる放射線管理区域への入退出管理である。通常、医療スタッフは患者さんの乗ったストレッチャーや車椅子を押ししたりしながら、治療ホールの放射線管理区域に入退出しなければならず通常のカードをかざしての入退出は非常に面倒であった。今回の設計では、そのような煩雑さを取り除くように、医療スタッフにRFタグを付けさせ、管理区域境界を通過するタイミングで自動的に入退出管理を行うシステムを計画している。

粒子線がん治療施設の建屋設計では、安全管理上だけでなくコスト低減の面からも放射線遮蔽設計が重要と

なる。HIMACの遮蔽設計時には、重粒子線による中性子発生のデータが十分でなく、あまり精度が高くない遮蔽計算であったために安全ファクターを大きく取らざるを得なかった。しかしながら、HIMACの共同利用研究などで中性子発生のデータが充実したため、それらを組み込んだPHITSコード¹⁵⁾で、第二治療棟の遮蔽設計を行った。その一例を図25に示す。この例はガントリー室の壁厚を決めたものであるが、80cmの壁厚で十分であることが計算により明らかになった。このような取り組みは、建屋コストの

低減に大きく貢献するものである。

7.おわりに

これまで述べてきたように、次世代照射システムの開発は、呼吸同期3次元スキャンニング照射法の実現だけではなく、治療期間の中で日々変化する腫瘍の形や位置の対応した“オンデマンド照射法”の実現のための第一歩であると考えられる。また、炭素線回転ガントリーと3Dスキャンニング法を組み合わせることによる多門最適化の手法を活かした強度変調型炭素線治療は、腫瘍近傍の重要臓器の線量付与を極力抑え、腫瘍のみに線量を集中させることが可能であるために、一層の治療成績の向上が期待されている。さらに、腫瘍の中でも放射線感受性の高い部分や低い部分に応じて線量を変える治療法やオンラインPET(オープンPET)¹⁶⁾での“見ながら治療”への挑戦も、分子イメージング研究と連携することにより現実味を帯びて来る日も遠くないと考えている。

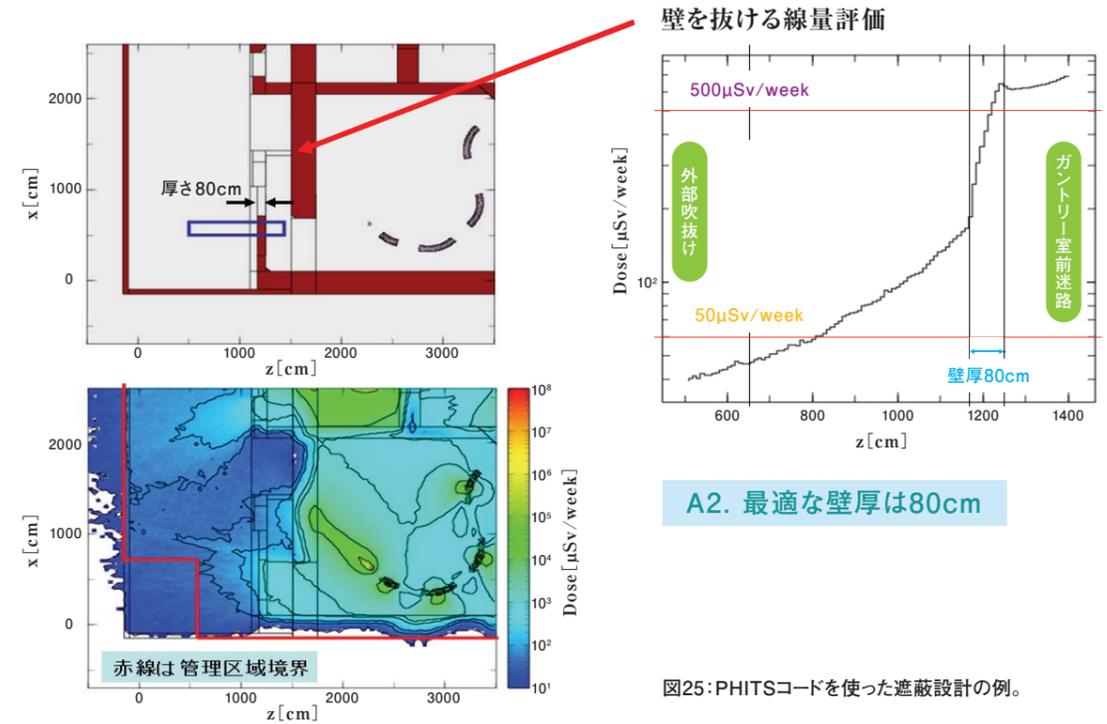


図25: PHITSコードを使った遮蔽設計の例。

参考文献

- 1) S. Minohara, *et al.*, Int. J. rad. Oncol. Bio. Phys. 2000 : 47 : 1097-1103.
- 2) T. Kanai *et al.*, Med. Phys. 33, 2989-2997 (2006).
- 3) E. Pedroni *et al.*, PSI-Bericht, Nr.69 : 1-8 (1989)
- 4) T. Haberer *et al.*, Nucl. Instru. Meth. A 330 (1993) 296.
- 5) W. T. Chu and B. A. Ludewigt, EUR 12165 EN : 295-328 (1988).
- 6) T. Furukawa *et al.*, Med. Phys. 34 (3) , 1085-1097 (2007).
- 7) K. Noda *et al.*, Nucl. Instrum. Meth A 374 (1996) 269-277.
- 8) S. Sato, T. Furukawa and K. Noda, Nucl. Instru. Meth. A 574 (2007) 226-231.
- 9) T. Inaniwa *et al.*, Med. Phys. 34 (8) , 3302-3311 (2007).
- 10) 古川卓司、他、HIMAC-Report-124, 2007.
- 11) E. Urakabe, *et al.*, Jpn. J. Appl. Phys. 40 (2001) 2540-2548.
- 12) T. Furukawa *et al.*, , Nucl. Instru. Meth. B 266 (2008) 2186-2189
- 13) T. Furukawa and K. Noda, Nucl. Instru. Meth. A 565 (2006) 430-438
- 14) K. Noda *et al.*, , Nucl. Instru. Meth. B 266 (2008) 2182-2185.
- 15) K. Niita *et al.*, JAERI-Data/Code 2001-007 (2001).
- 16) T. Yamaya *et al.*, Phys. Med. Biol. 53 (2008) 757-773.

「哺乳類のメラノサイトと放射線」

“Mammalian melanocytes and radiations”

放射線防護研究センター
 生体影響機構研究グループ
 発生・分化異常研究チーム チームリーダー
 広部 知久



広部 知久

1.はじめに

メラノサイト（メラニン産生細胞、色素細胞）は分化形質としてメラニン色素を合成し、これにより動物の皮膚の色や毛色を決めている細胞である。毛の基部には毛球と呼ばれる構造があって、メラノサイトが集中しており、メラニンがメラノサイトの樹枝状突起を通してケラチノサイト（ケラチン産生細胞、角質細胞）に供給され、毛色が表される（図1）。メラニンはメラノソームという特殊な細胞小器官に蓄積されてメラノサイトからケラチノサイトに送られる。メラニンはアミノ酸のチロシンに由来する物質で、チロシンがメラノサイト特有の酵素、チロシナーゼの働きによりドーパやドーパキノンになる。ドーパキノンは、ロイコドーパクローム、さらにドーパクロームになり、ドーパクロームタウトメラーゼ酵素（TRP2）の働きで5、6-ジヒドロキシインドール-2-カルボン酸になり、これがディカオキシダーゼ酵素（TRP1）の働きで黒色～黒褐色の黒色メラニン（ユーメラニン）となる。また、ドーパクロームから枝分かれ

して非酵素的に、5、6-ジヒドロキシインドールになり、これがチロシナーゼの作用で黒色メラニンとなる経路も知られている。一方、ドーパキノンから枝分かれして、これにシステインが加わって5-S-システニルドーパあるいは2-S-システニルドーパとなり、これらがベンゾチアジン中間物を経て重合し赤褐色～黄色の黄色メラニン（フェオメラニン）になる¹⁾。

メラノサイトにおけるメラニン合成の場であるメラノソームは、発達段階に応じ第I-IV期に分けられている。メラノソームの内部構造が形成され始めるのが第I期で、それが完成するのが第II期である。チロシナーゼ活性の出現によりメラニンが沈着され始めるのが第III期で、それが完成するのが第IV期である。ゴルジ体や小胞体から由来した第I、II期メラノソームに、ゴルジ小胞や被囊小胞からチロシナーゼが運ばれメラニン沈着が始まると考えられている²⁾。

哺乳類の表皮は重層扁平上皮で、主にケラチノサイトとメラノサイトから構成されている。ケラチノサイトは表皮の主たる細胞成分で、最下層は増殖する細胞層で基

底層と呼ばれ、上層に向かって有棘層、顆粒層、角質層（角化層）へと分化（角化）が進行する。最終的には角質層から剥離して失われていく。メラノサイトは主に基底層に存在しメラニン色素を産生する。大部分の表皮メラノサイトは毛包に移動し毛球に集中し、毛球メラノサイトを構成する（図1）。毛球メラノサイトは表皮において分化したメラノサイトに由来することから、表皮メラノサイトの増殖と分化の制御機構を明らかにすることは、毛球メラノサイトの増殖・分化の機構や毛球メラノサイトによる毛色発現の機構等を理解する上で重要である（図1）。マウスでは、耳（外耳）や鼻、足、尾など毛の少ない皮膚において、成体でも表皮にメラノサイトは存在し続けるが、それ以外の皮膚においては、表皮メラノサイトは出生後のわずかな時期に見られるだけである³⁾。

マウスの皮膚のメラノサイトは神経冠と呼ばれる胚組織に由来する。神経冠は神経管が閉鎖する際に背側に現れる細胞集団であり、胎生8.5～9.5日頃背側から腹側に向けて移動を開始する。将来メラノサイトに分化する細胞は、表皮下を移動し、真皮を通過して体表全体に広がる。メラノサイトの前駆細胞をメラノプラストと呼ぶ³⁾。メラノプラストは、胎生11.5日頃、真皮から表皮へ移動し始め、増殖しながら13～14日には表皮メラノプラスト集団を完成する。胎生14日頃第I、II期メラノソームを持つメラノプラストが現れる³⁾。一方、チロシナーゼ活性を持つ分化した表皮メラノサイトは胎生16日頃現れ、生後急激に増加し、4日頃最大になり、その後は毛包に移動するにつれて減少する³⁾。しかしながら、未分化なメラノプラストは少数表皮に残り生存し続けると考えられる（図1）³⁾。

マウスの発生の過程におけるメラノサイトの増殖・分化は毛色遺伝子によって制御されていると考えられる⁴⁾。多くの毛色遺伝子によってメラノサイトの発生・分化の過程が巧妙に制御されている⁴⁾。また、メラノサイトを巻き取る組織環境、特に表皮のケラチノサイトや真皮の

繊維芽細胞がメラノサイトの増殖・分化を制御する物質を産生・放出し、巧妙に制御していることが明らかになってきた^{5、6)}。

その他の環境因子として、紫外線や電離放射線が重要と考えられる。紫外線や電離放射線は皮膚の発生の過程でのメラノサイトの増殖・分化に影響を与えると考えられる。皮膚に紫外線があたると、メラノサイトにおいてメラニン産生が高まったり、メラノサイトの増殖が促進されたりすることが知られている⁵⁾。このメラノサイト活性化の機構はメラノサイトを取り巻くケラチノサイトによっている。すなわち、紫外線が皮膚にあたるとケラチノサイトがメラノサイト増殖・分化促進因子を産生・放出してメラノサイトの増殖を促進したり、分化を促進したりすることが最近明らかになってきた⁵⁾。しかしながら、これらの研究は紫外線照射直後の影響（急性効果）について調べたもので、紫外線照射後長時間経過した皮膚への影響（晩発効果）についてはほとんど不明であった。一方、電離放射線は、分化したメラノサイトに相反する作用をし、選択的にメラノサイトの細胞死を引き起こしたり⁷⁾、メラニン産生を促進したりする⁸⁾ことが報告されている。また、マウスでは、胎生期にX線等が照射されると、腹部中央に白斑がみられたり、個体の毛色とは異なる色の斑点状の毛の部域（スポット）がみられる⁹⁾。これは電離放射線がメラノサイトの細胞死を引き起こしたり、メラノサイトに突然変異を引き起こしたりする可能性を示唆している⁹⁾。しかしながら、マウスの発生のどの時期に照射されると最も効果が強いのか、遺伝的背景の影響はあるのか等については不明であった。そこで本稿では、マウスの皮膚の発生の過程で紫外線の晩発効果や電離放射線がメラノサイトの発生・分化の過程にどのような影響を与えるか、及びその機構を詳細に研究した筆者らの研究を紹介する。なお、本稿の動物実験については、当所の（動物実験委員会の承認を得た）動物実験計画書に基づいて実施した。

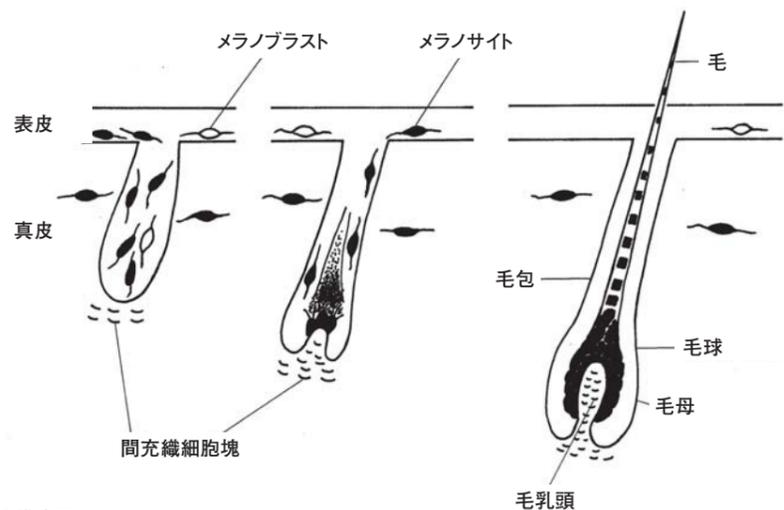


図1: マウスの毛の発生の模式図。
 毛は表皮の陥入に由来する毛包（毛芽）から形成される。その下に真皮の細胞が集まり（間充織細胞塊）、表皮の陥入がそれを包み込むように覆う。やがて、真皮の細胞塊が毛乳頭を形成する。この時、毛包の基部は肥厚し毛球を形成する。毛球の下半分を毛母と呼び、表皮から移動した未分化なメラノプラスト及び分化したメラノサイトが集中し、メラノサイトの分化が進み、メラニンを含んだ顆粒、メラノソームをケラチノサイトに送り毛が形成される。

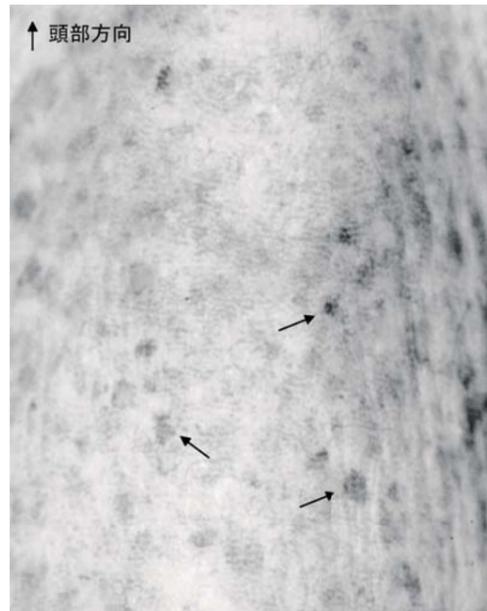
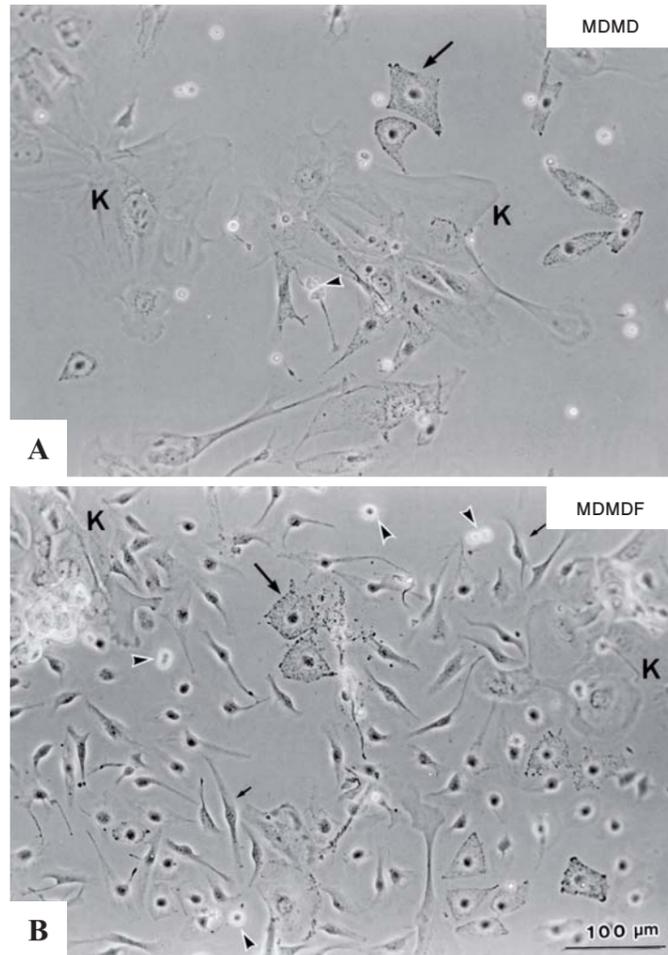


図2: 紫外線 (UVB) 照射後に見られた色素斑。
ヘアレスマウスにUVBを週3回、8週間照射し、照射停止後8ヶ月目に見られた色素斑。大きな黒い色素斑 (矢印) で背側皮膚に見られた。

図3: 培養したマウスの表皮メラノサイト、メラノプラストの位相差顕微鏡写真。
A: メラノサイト増殖培養液 (MDMD) で培養して7日目に得られたメラノサイト (大矢印) とケラチノサイト (K)。ケラチノサイトのコロニーの近くにメラノサイトが見られ、メラノサイトの分裂像 (白影付矢尻) も見られる。この後14日目にはケラチノサイトが死滅し、メラノサイトの純粋培養が得られる。
B: メラノプラスト増殖培養液 (MDMDF) で培養して7日目に得られたメラノプラスト (小矢印) とケラチノサイト (K)。ケラチノサイトのコロニーの近くにメラノプラスト (小矢印) が見られ、メラノプラストの分裂像 (白影付矢尻) も多数見られる。また、少数の分化したメラノサイト (大矢印) も見られる。この後14日目にはケラチノサイトが死滅し、メラノプラスト (約90%)・メラノサイト (約10%) の純粋培養が得られる。スケールは100ミクロン。



2. 紫外線とメラノサイト

哺乳類の皮膚に紫外線があたると、色素産生が増加することが知られている。それは、紫外線によりケラチノサイトからメラノサイト増殖・分化促進物質が多量に放出されるからと考えられる⁵⁾。しかしながら、これは紫外線の急照射の影響で、複数回の紫外線照射の晩発効果については不明であった。7週齢のヘアレスマウスの皮膚に紫外線B波 (UVB、99 mJ/cm²/日) を週3回、8週間繰り返し照射すると、照射停止約2ヶ月後には色素

形成を伴った色素斑が背側皮膚に形成され、8ヶ月後には大きな黒い色素斑 (図2) になる¹⁰⁾。この色素斑は、ヒトのシミ、ソバカス、老人性色素斑の動物モデルになりうる¹⁰⁾。この色素斑の表皮には多数の分化したメラノサイトが存在したことから、紫外線によってメラノサイトの増殖・分化が誘導された可能性が最初に考えられた。筆者は、ブラックマウス (C57BL/10JHir系統: 筆者がメラノサイト研究用にC57BL/10J系統を基に作出) の新生児の背側皮膚より表皮細胞浮遊液を得て、これを無血清培養液で、メラノプラスト¹¹⁾、メラノサイト¹²⁾ 及

びケラチノサイト¹³⁾ を初代純粋培養する方法を開発した。従来の血清を加えた培養系では、未分化なメラノプラストを培養できなかった。メラノサイト増殖培養液 (MDMD: ハムのF-10培養液にインスリン、ウシ血清アルブミン、エタノールアミン、フォスフォエタノールアミン、亜セレン酸ナトリウム、ジブチリルサイクリックAMPを添加) で培養するとメラノサイトの無血清初代純粋培養 (図3A、図4A) が得られ、MDMDに塩基性繊維芽細胞増殖因子を加えて (メラノプラスト増殖培養液=MDMDF) 培養することによりメラノプラスト (図3B、図4B) の無血清初代純粋培養が得られた。また、ケラチノサイト及びメラノプラストの無血清初代純粋培養系からそれぞれの細胞を得て、両者の混合培養系¹³⁾ を用いて調べたところ、メラノサイトの増殖・分化にケラチノサイトが重要な働きをしていることが明らかになった¹³⁾。この新生児ブラックマウス用の無血清培養液を改良 (MDMDやMDMDFに新たに上皮増殖因子とトランスフェリンを加えた) し、成体のヘアレスマウスの皮膚から表皮メラノプラスト、メラノサイトを培養することができ、メラノプラスト、メラノサイトの増殖性が色素斑の形成に伴って増加することを明らかにした¹⁴⁾。次に、色素斑形成マウス (紫外線照射) 及び対照 (非照射) マウスの皮膚よりケラチノサイト及びメラノプラストの純粋培養を得て、ケラチノサイトとメラノプラストの混合培養をして調べ

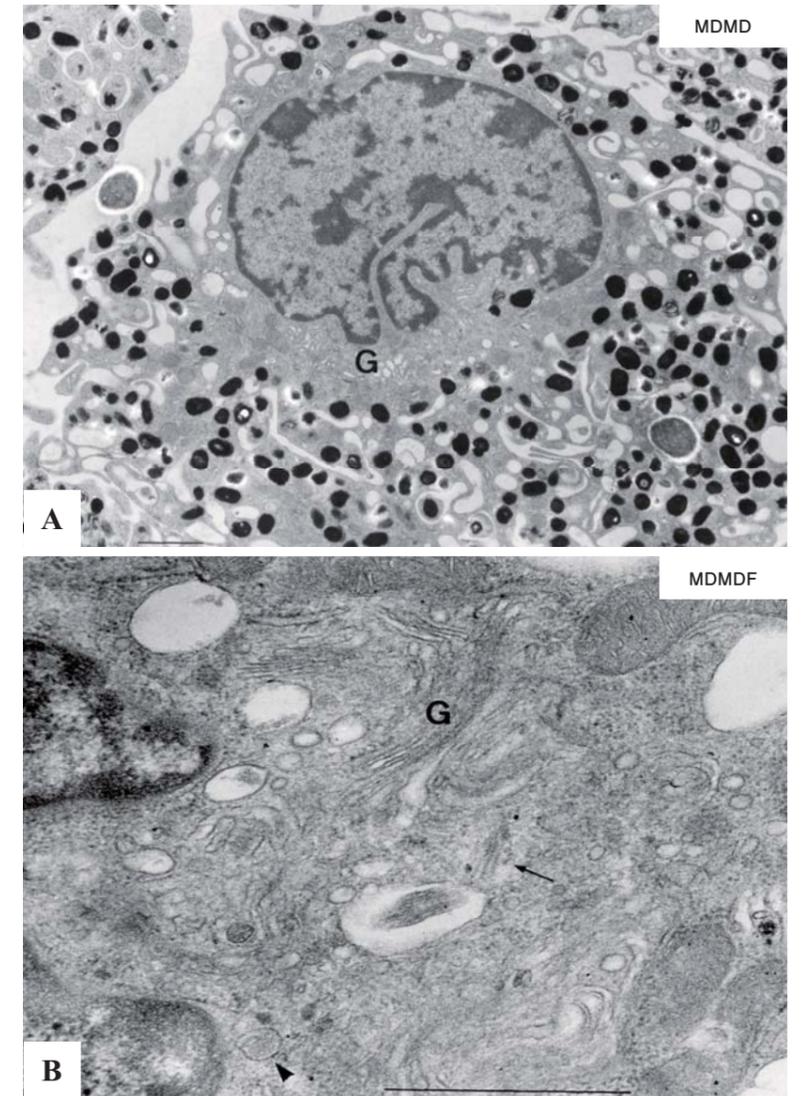


図4: 培養したマウスの表皮メラノサイト、メラノプラストの電子顕微鏡写真。
A: メラノサイト増殖培養液 (MDMD) で培養して14日目に得られたメラノサイト。ゴルジ野 (G) に多数の第III、IV期メラノソームが見られる。
B: メラノプラスト増殖培養液 (MDMDF) で培養して14日目に得られたメラノプラスト。ゴルジ野 (G) に小数の第I (矢尻)、II (矢印) 期メラノソームが見られる。スケールは1ミクロン。

たところ、色素斑由来のケラチノサイトは対照のケラチノサイトに比べ、対照のメラノプラストの増殖・分化を顕著に促進した¹⁵⁾。ところが、対照のメラノプラストも色素斑由来のメラノプラストも色素斑由来のケラチノサ

イトと混合培養すると同程度に増殖・分化が促進された¹⁵⁾。これらの結果から、色素斑形成におけるメラノサイトの増殖・分化は、メラノサイト自身ではなく、組織環境を形成しているケラチノサイトによって制御されていることが示唆された¹⁵⁾。即ち、ケラチノサイトにおけるメラノサイト増殖・分化促進因子の産生が紫外線で高められた可能性が高い。筆者らは、この紫外線誘発色素斑のケラチノサイトに由来するメラノサイト増殖・分化促進因子の一つが顆粒球マクローファージコロニー形成促進因子 (GMCSF) であることを、その抗体を使った培養系での中和実験や培養上清の ELISA、並びに、抗体を使った組織切片の免疫組織化学等により明らかにした¹⁶⁾。これらの結果から、GMCSF が色素斑のケラチノサイトで多量に産生され、周りのメラノサイトに働き、その増殖・分化を誘導する可能性が考えられる。将来の課題としては、紫外線を照射してから何ヶ月後に表皮ケラチノサイトに GMCSF の発現が高まるのかを明らかにする必要がある。また、GMCSF の増殖促進機構を明らかにするため、無血清初代培養した紫外線非照射マウス由来のメラノサイトの純粋培養に GMCSF を加え、増殖を促進し、増殖期にある細胞を固定し、蛍光色素のヨウ化プロピジウムで DNA を染色し、2N、4N および異数性の細胞をフローサイトメーターで検出し、細胞周期解析ソフトウェアで G1/S、G2/M 期にある細胞の数を調べる。GMCSF 処理した細胞と対照の細胞の比較から GMCSF が細胞周期のどの時期に主に働くかを明らかにする必要がある。また、GMCSF による分化促進機構、特に、チロシナーゼ、TRP1、TRP2 等の発現を調べ、それらが GMCSF によって促進されるかどうかを明らかにする必要がある。さらに、GMCSF-ノックアウトマウスとヘアレスマウスを交配して得たマウスに紫外線を照射し、色素斑の形成がどのように変化するのかも調べる必要がある。GMCSF が色素斑形成マウスのケラチノサイトで多量に産生され、放出され、周りのメラノサイトに働き、その増殖・分化

を誘導することがわかれば、紫外線の晩発効果の機構の一つが解明されたことになる。これは単に紫外線生物学の進歩にとって重要であるばかりではなく、健康科学、医学への応用が可能という点で重要である。すなわち、GMCSF の働きを抑える物質を探索することにより、紫外線による皮膚の老化、特にシミ・ソバカス・老人性色素斑等の予防・治療に応用できることが期待される。

3. 電離放射線とメラノサイト

電離放射線は、メラノサイトの発生・分化に影響を与える環境因子の一つと考えられる。電離放射線は、マウスの分化したメラノサイトに相反する働きがあり、メラノサイトの細胞死を引き起こしたり⁷⁾、メラニン生成を促進したりする⁸⁾。また、未分化な胎生期のマウスのメラノプラストに対して腹部白斑を引き起こしたり⁹⁾、個体の毛色と異なる色の斑点状の毛の部域 (スポット) を生じさせたりする⁹⁾ ことは知られていた。ところが、発生過程のどこに強く作用するのか、遺伝的背景は影響するのか等についてはほとんどわかっていなかった。そこで筆者らは、様々な胎令のマウスにガンマ線を照射して、メラノプラストの発生・分化への影響を詳細に調べた。

C57BL/10JHir 系統マウスを用いて、胎生期に様々な線量のガンマ線 (⁶⁰Co) を急照射し (線量率 0.8 Gy/分)、生後 3.5 日の背側皮膚の全体標本を作製し観察した。その結果、異常な形態の毛球メラノサイトをもつ毛包 (図 5A、B) が多数見られた¹⁷⁾。毛包内のメラノサイトは通常、樹枝状突起を出して絡み合っているが、胎生期にガンマ線を照射した個体では、毛球内に樹枝状突起のない丸いメラノサイトが 1-3 個見られた (図 5A)。また、まれには、毛球内から毛乳頭に出た丸いメラノサイトも見られた (図 5B)。しかしながら、メラニン生成量に関しては正常メラノサイトと変わらなかった。このような異常なメラノサイトを持つ毛包の出現頻度はガンマ線の線

量に応じて増加し、発生の初期ほど (胎生 6.5 日) 強かった (最大出現頻度: 16.3%)。これらの結果から、ガンマ線は、胎生期のメラノプラストに影響を与え、毛球メラノサイトの樹枝状突起形成や局在 (毛球内か毛乳頭内か) に線量依存的に影響し、発生の初期ほど強く影響を与えることが示唆される¹⁷⁾。

さらに、照射した子を離乳時まで観察し続けると、腹部中央 (図 5C) や尾端に白斑 (白い毛を持った皮膚部域) が高頻度で現れた¹⁸⁾。この白斑部域にはメラノプラストもメラノサイトも欠損していた。この白斑の頻度は線量に応じて増加した¹⁸⁾。また、胎生 8.5-9 日に照射を受けると最も高頻度で白斑が見られることがわかり、マウスの系統によって出現頻度が異なることもわかった¹⁸⁾。ガンマ線は、神経冠細胞の移動、神経冠細胞からメラノプラストへの分化、メラノプラストの増殖、メラノプラストからメラノサイトへの分化、メラノサイトの増殖等に影響を与えると考えられる。現在の所、ガンマ線がメラノサイトの発生のどの時点で強く作用するかについてははっきりわからないが、腹部白斑が胎生 8.5-9 日照射群

で最も高頻度で見られることから、神経冠細胞の移動の時期に最も強く作用すると考えられる。0.5 Gy 照射群でも白斑頻度が 43.5% であったことから、本実験系は放射線の影響を鋭敏にとらえることができると考えられる。また、マウスの系統によって腹部白斑の頻度が著しく異なるため、白斑の出現にはマウスの遺伝的背景が関与していることも示唆される。

ガンマ線と異なり、高 LET (Linear Energy Transfer、線エネルギー付与) 放射線である重粒子線がマウスのメラノプラストの発生・分化にどのような影響を与えるかを明らかにすることは重要である。胎生期の神経冠細胞に対する重粒子線の影響に関してはこれまでほとんど報告がなく、哺乳類の神経冠細胞の発生に与える影響については不明であった。筆者らは、前述のマウスの腹部白斑の実験系を用いて重粒子線 (炭素線) のメラノサイト増殖・分化への影響を定量的に調べ、ガンマ線のデータと比較して重粒子線の生物学的効果比 (RBE) を求めた。

290 MeV/n の炭素線を整形して得られた平坦なブラッグピーク部 (平均 LET は約 50 keV/μm) を用いて、

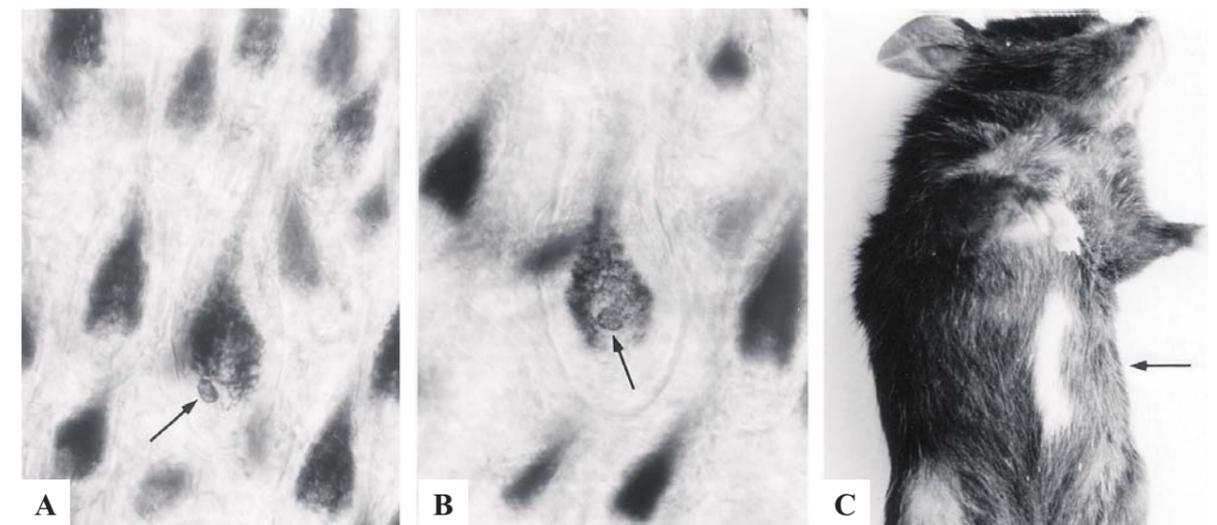


図5: ガンマ線照射マウス (C57BL/10JHir系統) に見られた異常な毛包と白斑。

胎生10.5日にガンマ線 (1Gy) を照射した個体の生後3.5日の背側皮膚の全体標本。丸いメラノサイト (矢印) が毛包の毛母 (A) と毛乳頭 (B) に見られる。倍率×210。
C: 胎生8.5日にガンマ線 (1.25Gy) を照射した個体の生後3週目の腹部中央に見られた白斑。白斑部域にはメラノプラストもメラノサイトも見られなかった。

胎児への致死効果と生まれた子の白斑頻度を調べた。ガンマ線と同様に、妊娠9日目のC57BL/10JHir系統マウスに炭素線を急照射した(線量率0.2-0.7 Gy/分)。照射後出産し、生後22日の子マウスの腹部及び尾端の白斑を調べた¹⁹⁾。炭素線は0.5 Gyから出産率を低下させ、1 Gyで出産率は12.5%であった。ガンマ線は1 Gyからマウスの胎児に致死効果を及ぼし($P < 0.05$)¹⁸⁾、2 Gyで100%致死であったので(広部未発表データ)、炭素線はガンマ線に比べてかなり致死効果が強い

ことがわかる。離乳率60%で計算したRBEは炭素線で約2.0であった。また、腹部白斑は炭素線では0.25 Gy照射群から出現した。ガンマ線では1.25 Gyまで線量の増加と共に腹部白斑頻度が増加したが、炭素線では0.5 Gyまで直線的に増加し、それ以上の線量では直線の傾きが減少した。腹部白斑頻度80%/Gyで計算したRBEは、炭素線で約1.5であった。またメラノプラスト、メラノサイトが欠損する腹部白斑の出現頻度および面積では、炭素線はガンマ線よりもやや効果が強かった

¹⁹⁾。また、尾端白斑の頻度も炭素線0.25 Gy照射群から有意に増加し、0.75 Gyでは100%であった¹⁹⁾。この白斑領域の皮膚切片を観察すると、表皮、真皮、毛包には分化したメラノサイトも未分化なメラノプラストも全く見られなかった。前述のようにメラノサイトに分化する神経冠細胞は胎生8.5日から9.5日頃に背側から腹側へ移動を開始する。照射による白斑はこの移動の終点である腹部中央と尾端に生じたので、炭素線照射はメラノサイトの前駆細胞であるメラノプラストの減少(細胞死)を引き起こすと考えられる。

謝辞

本稿にある研究の多くは、古屋理香子氏、福田実博士、長沼雅子博士、伊福政二博士、Zhou Xiangyan 博士、笠井清美博士、村上正弘博士、菅谷公彦博士等との共同研究で行われました。この場をお借りして深く感謝いたします。

引用文献

- 1) Ito, S. A chemist's view of melanogenesis. *Pigment Cell Res.* 16 : 230-236 (2003) .
- 2) Hirobe, T. Origin of melanosome structures and cytochemical localizations of tyrosinase activity in differentiating epidermal melanocytes of newborn mouse skin. *J. Exp. Zool.* 224 : 355-363 (1982) .
- 3) Hirobe, T. Histochemical survey of the distribution of the epidermal melanoblasts and melanocytes in the mouse during fetal and postnatal periods. *Anat. Rec.* 208 : 589-594 (1984) .
- 4) Silvers, W. K. *The Coat Colors of Mice*. Berlin, Springer-Verlag Press, 379 pages (1979) .
- 5) Imokawa, G. Autocrine and paracrine regulation of melanocytes in human skin and in pigmentary disorders. *Pigment Cell Res* 17 : 96-110 (2004) .
- 6) Hirobe, T. Role of keratinocyte-derived factors involved in regulating the proliferation and differentiation of mammalian epidermal melanocytes. *Pigment Cell Res.* 18 : 2-12 (2005) .
- 7) Reams, W. M. Jr. and Schaeffer, B. E. Effects of single dose X-irradiation on the pigment cells of the PET mouse gastrocnemius. *J. Invest. Dermatol.* 51 : 33-36 (1968) .

4.まとめ

従来の血清を加えた哺乳類のメラノサイトの培養系では、未分化なメラノプラストを培養できなかった。また、メラノサイトの無血清初代培養系も確立できたために、紫外線のメラノプラスト、メラノサイトの増殖への影響及びメラノサイトの分化への影響に関する研究が進んだ。また、ケラチノサイトの無血清初代純粋培養系も確立でき、メラノプラストとの混合培養系を用いて、紫外線によるメラノサイトの増殖・分化促進がケラチノサイトによって引き起こされることもわかった。そのケラチノサイトが産生・放出している重要な因子がGMCSFで、これによりメラノサイトの増殖・分化が促進されると考えられる。メラノサイトを取り巻く組織環境の中でもケラチノサイトがメラノサイトの増殖・分化を制御している重要な細胞であると示唆される。また、C57BL/10JHir系統マウスの皮膚を用いた in vivo の実験系(白斑形成、メラノサイトの細胞死、分化異常)でも、放射線による発生・分化異常が線量依存的、LET依存的、発生時期特異的に起こることが示された(図6)。

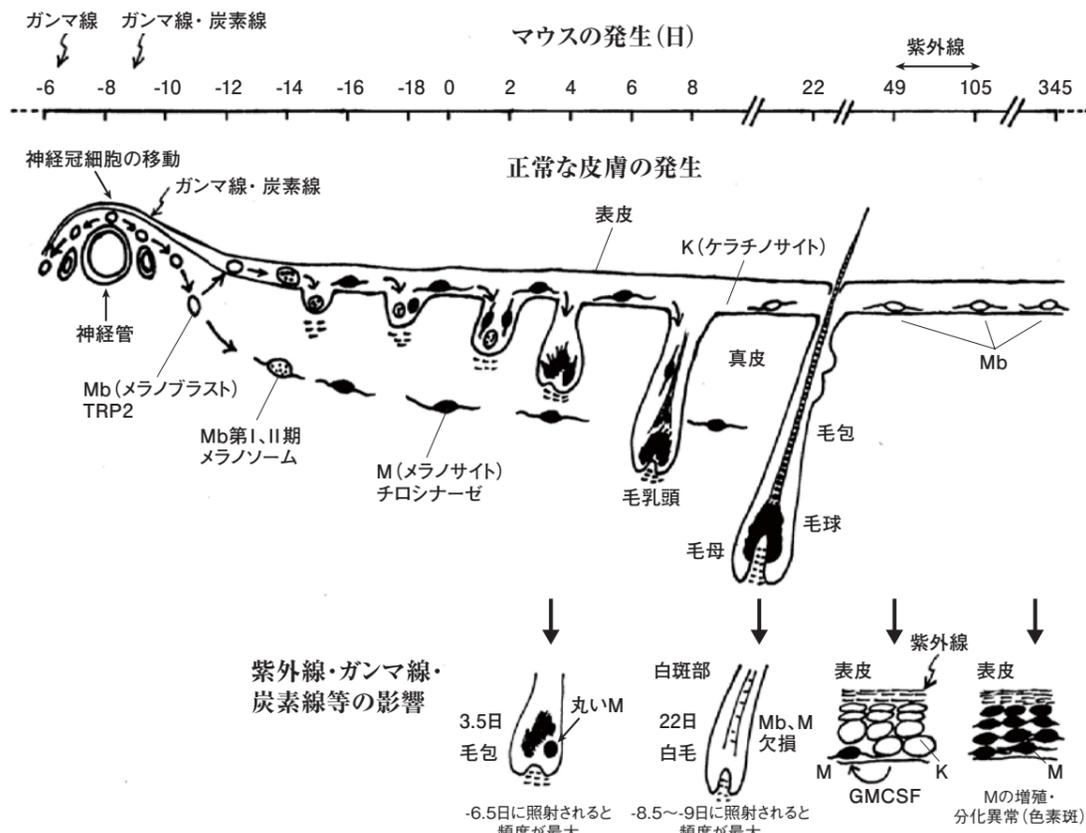


図6: マウスの神経冠細胞の移動、メラノプラストへの分化、移動、メラノサイトへの分化、移動。メラノプラスト、メラノサイトの間充織から、表皮への移動、表皮から毛包への移動、毛の形成の模式図。紫外線の表皮メラノサイトへの影響、GMCSFの作用点、ガンマ線や炭素線のメラノプラスト、メラノサイトへの影響等を模式的に示した。

- 8) Quevedo, W. C., Jr. and Grahn, D. Effect of daily gamma irradiation on the pigmentation of mice. *Radiat. Res.* 8 : 254-264 (1958) .
- 9) Fahrig, R. A mammalian spot test : induction of genetic alterations in pigment cells of mouse embryos with X-rays and chemical mutagens. *Mol. Gen. Genet.* 138 : 309-314 (1975) .
- 10) Naganuma, M., Yagi, E. and Fukuda, M. Delayed induction of pigmented spots on UVB-irradiated hairless mice. *J. Dermatol. Sci.* 25 : 29-35 (2001) .
- 11) Hirobe, T. Basic fibroblast growth factor stimulates the sustained proliferation of mouse epidermal melanoblasts in serum-free medium in the presence of dibutyryl cyclic AMP and keratinocytes. *Development* 114:435-445 (1992) .
- 12) Hirobe, T. Melanocyte stimulating hormone induces the differentiation of mouse epidermal melanocytes in serum-free culture. *J. Cell. Physiol.* 152 : 337-345 (1992) .
- 13) Hirobe, T. Keratinocytes are involved in regulating the developmental changes in the proliferative activity of mouse epidermal melanoblasts in serum-free culture. *Dev. Biol.* 161 : 59-69 (1994) .
- 14) Furuya, R., Akiu, S., Ideta, R., Naganuma, M., Fukuda, M. and Hirobe, T. Changes in the proliferative activity of epidermal melanocytes in serum-free primary culture during the development of ultraviolet radiation B-induced pigmented spots in hairless mice. *Pigment Cell Res.* 15 : 348-356 (2002) .
- 15) Hirobe, T., Furuya, R. Akiu, S. Ifuku, O. and Fukuda, M. Keratinocytes control the proliferation and differentiation of cultured epidermal

- melanocytes from ultraviolet radiation B-induced pigmented spots in the dorsal skin of hairless mice. *Pigment Cell Res.* 15 : 391-399 (2002) .
- 16) Hirobe, T., Furuya, R., Hara, E., Horii, I. Tsunenaga, M. and Ifuku, O. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor controls the proliferation and differentiation of mouse epidermal melanocytes from pigmented spots induced by ultraviolet radiation B. *Pigment Cell Res.* 17 : 230-240 (2004) .
- 17) Hirobe, T. and Zhou, X. Effects of gamma-radiation on the differentiation of mouse melanocytes in the hair follicles. *Mutation Res.* 234 : 91-96 (1990) .
- 18) Hirobe, T. Effects of γ -irradiation on the yield of mid-ventral white spots in mice in different genetic backgrounds and at different times during development. *Mutation Res.* 322 : 213-220 (1994) .
- 19) Hirobe, T., Eguchi-Kasai, K. and Murakami, K. Effects of carbon ion-radiations on the postnatal development of mice as well as on the yield of white spots in the mid-ventrum and the tail-tips. *Radiat. Res.* 162 : 580-584 (2004) .

最近の成果

「重粒子線誘発バイスタンダー効果」

-照射された細胞から照射されていない周囲の細胞への情報伝達-



浜田 信行

浜田 信行 (群馬大学大学院 医学系研究科 生体機能解析学講座 COE准教授)
 岩川 真由美 (放射線医学総合研究所 重粒子医学センター ゲノム診断研究グループ分子腫瘍研究チーム チームリーダー)
 今井 高志 (放射線医学総合研究所 重粒子医学センター ゲノム診断研究グループ グループリーダー)
 小林 泰彦 (日本原子力研究開発機構 量子ビーム応用研究部門 マイクロビーム細胞照射研究グループ グループリーダー)

重粒子線は照射された細胞を高効率に殺傷する

電離放射線の生物効果は、線エネルギー付与 (LET)、即ち、単位長さあたりに付与されるエネルギーの量 (単位は keV/ μ m など) で表わされる) により異なることが知られている。高 LET 放射線である重粒子線 (ヘリウム原子より重い加速荷電粒子のこと: 重イオンビームとも呼ばれる) は、放射線治療に広く用いられている低 LET 放射線 (X 線や γ 線といった光子など) に比べて、高密度な電離によって、DNA 鎖切断などが局所に密集した修復されにくい DNA 損傷を引き起こすことにより、細胞を高効率に殺傷すると考えられている^{1,2)}。さらに、近年の生物研究から、重粒子線は、固形腫瘍内微小環境に遍在する低酸素細胞 (腫瘍血管から離れているがん細胞は低酸素状態にある)³⁾、がんの約半数に認められるがん抑制遺伝子 *p53* が変異した細胞⁴⁾ やがん遺伝子 *Bcl-2* を高発現する細胞⁵⁻⁷⁾ といった光子放射線に抵抗性を示すがん細胞をも高効率に殺傷するとともに、がん細胞の転移⁸⁾ や血管新生⁹⁾ を抑制することが報告されている。このような高い生物学的効果に加えて、物理学的な線量分布の集中性にも優れていることから、重粒子線 (主に炭素線) は、がん治療に利用されている。放射線医学総合研究所を始めとする現行の重粒子線治療施設における優れた実績^{10,11)} を基に、群馬大学を始めとする国内外の他機関でも設備の導入が計画・検討されていることから、今後の更なる発展が期待されている。さらに重粒子線治療の効果を向上させるために、重粒子線の生物学的な作用機序をより詳細に解明することが重要である。

低線量の重粒子線に照射された組織内には照射されていない細胞が混在する

がん治療の際に、光子放射線に比べて程度は著しく低いものの、重粒子線といえども、治療の標的となるがん病巣に隣接する正常組織への照射は不可避である。その

ような周囲の正常組織には、がん病巣に比べて、低い線量の重粒子線に照射される。また、別の観点からは、近い将来に予定されている長期有人宇宙飛行において、宇宙放射線が宇宙飛行士に及ぼす健康影響が懸念されている¹²⁾。スペースシャトルや国際宇宙ステーションでは、地上に比べて、線量率が 150 倍高いことが推測されており¹³⁾、宇宙放射線の線量と生物効果には重粒子線が大きく寄与すると考えられているが、その線量は、がん治療の際に標的に照射される線量に比べて、著しく低い。このことから、低線量の重粒子線が引き起こす生物効果を解明する必要がある。そこで、特筆すべきこととして、高線量の場合とは異なり、重粒子線の線量が低いほど、そして、LET が高いほど、細胞集団の中には、より多くの照射されていない細胞が、照射された細胞と混在する (図 1)。例えば、高密度培養したヒト由来正常線維芽細胞 AG01522 に照射した場合の細胞あたりに照射され

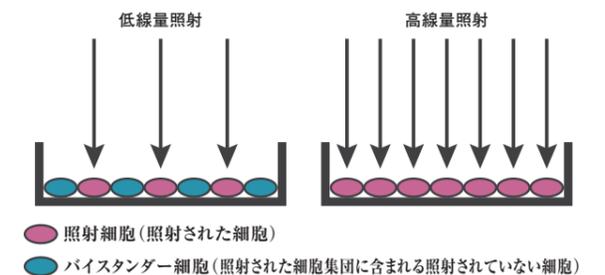
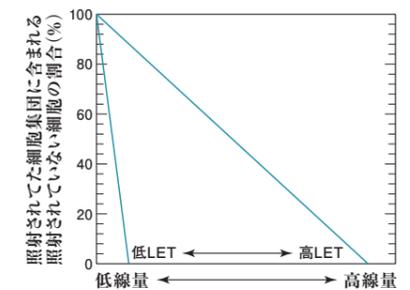


図1: 重粒子線の線量が低いほど、そして、LETが高いほど、多くの照射されていない細胞が細胞集団のなかに含まれる。

る粒子数は、炭素線 (18.3 MeV/u, 108 keV/μm) の1 Gy (線量の単位で物質1 kgあたりに1 Jのエネルギーが吸収されることを示す) ではポアソン平均で79発であるが、その1 cGy (1 Gyの100分の1の線量) では0.8発 (照射されない細胞が20%)、さらに、アルゴン線 (11.5 MeV/u, 1610 keV/μm) の1 Gyでは5.3発、その1 cGyでは0.05発 (照射されない細胞が95%)となる。以上のことから、もし照射された組織内に混在する照射されていない正常細胞にも生物効果が引き起こされるならば、低線量重粒子線の生物効果を解明するためには、照射された細胞に加え、照射されていない細胞に生じる効果を解析する必要がある。

生物効果は照射された細胞から照射されていない細胞に伝わる

1895年にX線が発見されてから長い間、放射線の生物効果は、核が照射された細胞にのみ引き起こされると考えられてきた。しかし、照射された細胞の子孫細胞と周囲の細胞にも生物効果が誘発されるという現象、即ち、遺伝的不安定性 (genomic instability) とバystander効果 (bystander effects) が近年報告されている。現在は、このような直接的に照射されていない細胞に生じる放射線の生物効果は非標的効果 (non-targeted effects)、それに対して、核が照射された細胞に生じる効果は標的効果 (targeted effects) と呼ばれている¹⁴⁾。

バystander (bystander) とは、中心人物の周囲を取り巻く傍観者を意味する。これまでの研究から、照射された細胞の周囲に存在する照射されていない細胞 (バystander細胞) には、細胞死、染色体異常、遺伝子突然変異、情報伝達経路の活性化が引き起こされるとともに、バystander細胞の子孫細胞にも効果が引き起こされることが報告されている^{15,16)}。バystander効果を引き起こす機序としては、ギャップ結合 (gap junction) を介した細胞間情報伝達、活性酸素種や活性

窒素種といったラジカル、サイトカインなどの液性因子などが考えられている^{15,16)}。これまでの多くの研究によって、光子放射線、陽子、α線の照射によって誘発されるバystander効果は解析されている。しかし、重粒子線の照射によって誘発されるバystander効果に関する報告は、とても限られている¹⁷⁾。

バystander効果を解析するための実験手法

バystander効果の解析には、2種類の照射装置が用いられている。1つ目は、マイクロビーム (microbeam) である (図2B)。マイクロビームとは、放射線のビーム幅をμmスケールまで絞り込んだ照射装置のことで、正確な線量または粒子数を、細胞集団の一部の個々の細胞に狙い撃ちすることができる。現在、生物実験用の重粒子線マイクロビームは、日本原子力研究開発機構 高崎量子応用研究所 イオン照射研究施設 (TIARA)、ドイツの重イオン科学研究所 (GSI) とミュンヘン工科大学 (TUM) の3カ所で稼働している¹⁸⁻²¹⁾。ビームは、TIARAでは微小コリメーターにより絞り込まれ、GSIとTUMでは磁気レンズにより集束されている¹⁸⁻²¹⁾。2つ目は、ブロードビーム (broadbeam) である (図2A)。ブロードビームとは、ビーム幅が絞られていない一般的な照射装置のことである^{22,23)}。高線量では細胞集

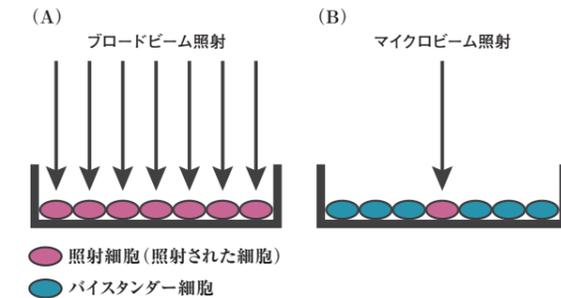


図2: (A) ブロードビームは、細胞集団の全体を照射する。(B) マイクロビームは、個々の細胞を狙い撃ちできる。

団全体が照射されるが、低線量の照射により、ポアソン分布に従い、確率的にバystander細胞を得ることができる (図1)。マイクロビームや低線量のブロードビームによって高密度細胞集団の一部の細胞に照射した場合は、残りの照射されていない細胞がバystander細胞となり、ギャップ結合と液性因子の双方がバystander効果の誘発に関与し得る¹⁵⁾。一方、高線量を照射した細胞の培養上清を、別の細胞に処理する手法もある。この場合、培養上清に処理された細胞がバystander細胞となり、照射細胞とバystander細胞は直接的に接触していないため、ギャップ結合はバystander効果の誘発に関与し得ない¹⁵⁾。

本稿では、重粒子線誘発バystander効果に関する知見を報告する。実験には、ギャップ結合を始めとする細胞間相互作用を最大限に発揮させるため²⁴⁾、そして、細胞周期分布のばらつきによる致死感受性 (細胞の死にやすさ) の差を最小限に留めるために、高密度接触阻害培養したヒト皮膚由来正常線維芽細胞を用いた。バystander細胞の応答を調べるために、TIARAのマイクロビームを用いて、細胞集団のうち僅か0.0003%の細胞に炭素線 (18.3 MeV/u, 103 keV/μm) を照射した。即ち、この実験系では、細胞集団の99.9997%の細胞がバystander細胞となる。また、照射細胞の応答を調べるために、TIARAのブロードビームを用いて細胞集団全体に炭素線 (18.3 MeV/u, 108 keV/μm) を照射し、バystander細胞と照射細胞における応答の相違を比較した。本稿では、ブロードビームで照射された細胞を照射細胞、マイクロビームで照射された細胞集団に含まれる照射されていない細胞をバystander細胞、照射実験の対照 (コントロール) として模擬照射された細胞 (実際には照射は行わずに、照射以外は同じ処理をされた細胞) を非照射細胞と呼ぶことにする。

バystander細胞のコロニー形成能が低下する

細胞を通常の培養条件下で低密度で培養し増殖させると、1つの細胞とその子孫細胞から構成される細胞集団 (コロニー) が形成されるが、放射線に照射された細胞はコロニーを形成しにくくなる。そこで、このようなコロニー形成能の変化を利用して、ブロードビームとマイクロビームを照射後、細胞を低密度に播き直し、照射細胞とバystander細胞の生存率を調べた。照射細胞の生存率は線量に依存して低下した (図3A)²⁵⁾。⁶⁰Co γ線 (0.2 keV/μm) の10%生存線量に基づく炭素線の生物学的効果比 (RBE) は3.9であった²⁵⁾。このように、炭素線は、光子放射線よりも細胞を高効率に殺傷することがわかる。バystander細胞の生存率は10%低下した (図3B)²⁵⁾。このようなコロニー形成能の低下は、バystander細胞もしくはその子孫細胞の増殖能の低下に起因すると考えられる。

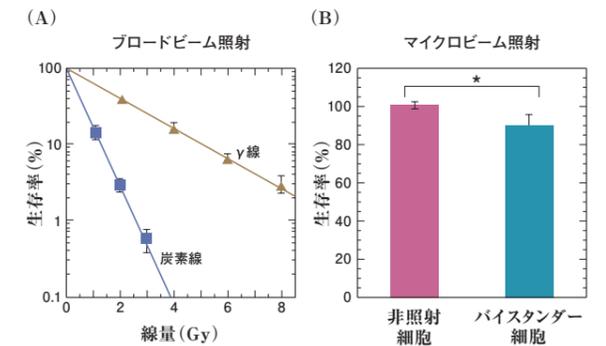


図3: (A) ブロードビームを照射後の照射細胞の生存率。(B) マイクロビームで細胞集団の0.0003%を照射後のバystander細胞の生存率。生存率はコロニー形成法により評価した。* $p < 0.05$ (スチューデントt検定)

バystander細胞と照射細胞の応答は時間的に異なる

細胞死の様式のひとつであるアポトーシスの誘発頻度は、照射細胞では、照射後72時間まで時間依存的に増加した (図4A)²⁵⁾。その一方、バystander細胞では、

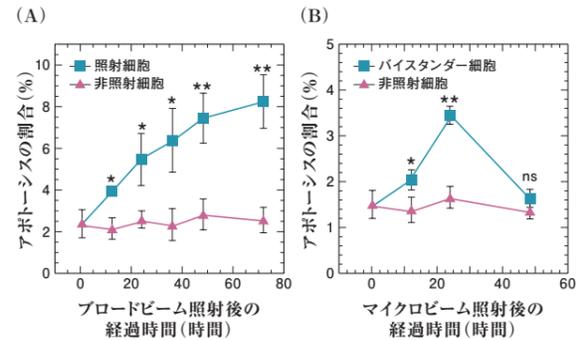


図4: (A) 10%生存線量のブロードビームを照射後の照射細胞におけるアポトーシス頻度。(B) マイクロビームで細胞集団の0.0003%を照射後のバースタンダー細胞におけるアポトーシス頻度。アポトーシスはTUNEL染色法により評価した。* 0.01 ≤ p < 0.05, ** p < 0.01, ns: 有意差なし (非照射細胞と照射細胞あるいはバースタンダー細胞との統計学的有意差をスチューデント t 検定により解析)

照射後 24 時間に非照射細胞の約 2 倍に増加し、48 時間後には非照射細胞と同程度にまで低下した (図 4B)²⁵⁾。このように、バースタンダー細胞には、一過性にアポトーシスが誘発されることがわかった。次に、DNA 損傷などに呼応して速やかにリン酸化されることが知られている p53 蛋白質のセリン 15 部位でのリン酸化を特異的に認識する抗体を用いてウェスタンブロット法により調べたところ、そのレベルは、照射細胞では照射後 2 時間と 6 時間とで同程度に上昇していた (図 5A)²⁵⁾。しかし、バースタンダー細胞では、照射後 6 時間に非照射細胞の約 2 倍に増加したが、2 時間の時点では増加していなかった (図 5B)²⁵⁾。このように、バースタンダー細胞では、p53 蛋白質のセリン 15 部位が遅延的にリン酸化されることがわかった。DNA 二重鎖切断が生じた部位でリン酸化シフォカスを形成することが知られているヒストン H2AX^{26,27)} に関して、バースタンダー細胞ではリン酸化 H2AX のフォーカスが遅延的に形成されるという報告²⁸⁾ を踏まえ、バースタンダー細胞には遅延的に DNA 損傷が誘発される可能性が示唆された。以上の結果から、

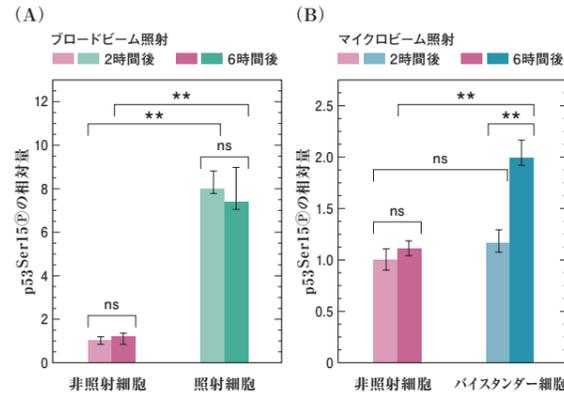


図5: (A) 10%生存線量のブロードビームを照射後の照射細胞におけるセリン15リン酸化 p53蛋白質のレベル。(B) 細胞集団の0.0003%の細胞をマイクロビームで照射後のバースタンダー細胞におけるセリン15リン酸化 p53蛋白質のレベル。セリン15リン酸化 p53蛋白質を特異的に認識する抗体を用いてウェスタンブロットにより検出した。セリン15リン酸化 p53蛋白質と内部標準であるαチューブリンのバンドの濃さを測定し、非照射細胞における2時間後 (一番左のカラム) を1とした場合の相対的な発現量を評価した。** p < 0.01, ns: 有意差なし (スチューデント t 検定)

バースタンダー細胞と照射細胞の応答は時間的に異なることがわかった。

バースタンダー細胞と照射細胞では発現する遺伝子が異なる

44000 種類の遺伝子の発現変動を網羅的に解析できるマイクロアレイを用いて、遺伝子発現の変化を調べた。バースタンダー細胞において、照射後 2 時間では 874 種類の遺伝子、照射後 6 時間では 650 種類の遺伝子の発現が 1.5 倍以上変動しており、そのうちの半数以上は発現が減少していた (表 1)²⁹⁾。照射細胞から得た培養上清を処理したバースタンダー細胞では発現が減少する遺伝子がないという報告³⁰⁾ を踏まえ、培養上清により誘導されるバースタンダー効果と、我々が観察した直接的な細胞間相互作用が可能な高密度培養細胞に誘導されるバースタンダー効果とは、誘発機序が異なる可能性が示唆された。

照射細胞において発現が上昇していた遺伝子の大半は、バースタンダー細胞では減少していたことから、照

表1: バースタンダー細胞で発現が変動した遺伝子群^{a)}

Primary sequence name	Accession number b	Sequence description	Fold ^{c)}								
			2h ^{d)}			6h ^{e)}					
			1S ^{e)}	5S ^{e)}	25S ^{e)}	1S ^{e)}	5S ^{e)}	25S ^{e)}			
Cell communication ^{f)}											
ACHE	NM_000665	acetylcholinesterase (Yt blood group) (ACHE), transcript variant E4-E6, mRNA.	0.5	0.7	0.6	0.7	0.7	0.8			
ANXA1	BE930053	annexin A1	0.4	0.5	0.5	0.5	0.6	0.5			
ARTN	NM_057091	artemin (ARTN), transcript variant 2, mRNA.	0.5	0.5	0.6	0.5	0.7	0.7			
ASB16	NM_080863	ankyrin repeat and SOCS box-containing 16 (ASB16), mRNA.	0.6	0.7	0.6	0.6	0.8	0.8			
CASP8	NM_033356	caspase 8, apoptosis-related cysteine protease	0.4	0.5	0.4	0.4	0.6	0.6			
CAV1	W95609	caveolin 1, caveolae protein, 22kd	0.5	0.5	0.7	0.5	0.7	0.7			
CD4	NM_000616	CD4 molecule (CD4), mRNA.	0.4	0.5	0.5	0.5	0.6	0.6			
CDC42EP5	NM_145057	CDC42 effector protein (Rho GTPase binding) 5 (CDC42EP5), mRNA.	0.6	0.6	0.7	0.6	0.7	0.7			
CENTG3	NM_001042535	centaurin, gamma 3 (CENTG3), transcript variant 2, mRNA	0.3	0.4	0.5	0.4	0.6	0.6			
CITED2	AW844496	Cbp/p300-interacting transactivator, with Glu/Asp-rich carboxy-terminal domain, 2	0.5	0.6	0.7	0.5	0.7	0.6			
CXXC5	BC013025	cDNA clone IMAGE:3528660, **** WARNING: chimeric clone ****	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6			
EIF4EBP1	NM_004095	eukaryotic translation initiation factor 4E binding protein 1 (EIF4EBP1), mRNA.	1.7	1.6	1.6	1.7	1.6	1.7			
FN1	BE710245	fibronectin 1	0.4	0.4	0.5	0.4	0.5	0.6			
GFRA4	NM_022139	GDNF family receptor alpha 4 (GFRA4), transcript variant 1, mRNA.	0.5	0.6	0.6	0.6	0.7	0.7			
GNA13	NM_006572	guanine nucleotide binding protein (G protein), alpha 13 (GNA13), mRNA.	1.6	1.6	1.6	1.4	1.6	1.6			
GNG10	AL525862	guanine nucleotide binding protein 10	0.5	0.5	0.5	0.6	0.6	0.5			
GPR14	NM_018949	G protein-coupled receptor 14	0.4	0.4	0.5	0.4	0.6	0.6			
GPR153	NM_207370	G protein-coupled receptor 153 (GPR153), mRNA.	0.4	0.5	0.6	0.5	0.6	0.7			
GPR156	NM_153002	G protein-coupled receptor 156 (GPR156), mRNA.	0.5	0.6	0.6	0.5	0.7	0.7			
IGFBP3	BE710618	insulin-like growth factor binding protein 3	0.4	0.5	0.5	0.4	0.5	0.5			
IL1RAP	NM_134470	interleukin 1 receptor accessory protein (IL1RAP), transcript variant 2, mRNA	1.7	1.4	1.5	1.2	1.1	1.3			
KISS1R	NM_032551	KISS1 receptor (KISS1R), mRNA.	0.6	0.6	0.8	0.6	0.8	0.9			
KLF16	NM_031918	Kruppel-like factor 16 (KLF16), mRNA.	0.4	0.4	0.6	0.4	0.6	0.6			
LGALS1	AA627222	lectin, galactoside-binding, soluble, 1 (galectin 1)	0.4	0.4	0.5	0.4	0.5	0.6			
LYNX1	NM_177458	Ly6/neurotoxin 1 (LYNX1), transcript variant SLURP2, mRNA	0.3	0.5	0.5	0.4	0.6	0.6			
MAST1	NM_014975	microtubule associated serine/threonine kinase 1 (MAST1), mRNA.	0.5	0.6	0.7	0.5	0.8	0.8			
MSE55	NM_007061	serum constituent protein	0.5	0.5	0.6	0.6	0.6	0.7			
MTSS1	NM_014751	metastasis suppressor 1 (MTSS1), mRNA.	1.5	1.4	1.6	1.1	1.1	1.1			
NPAS3	NM_173159	neuronal PAS domain protein 3 (NPAS3), transcript variant 2, mRNA	0.4	0.4	0.5	0.4	0.6	0.6			
PARD6G	NM_032510	par-6 partitioning defective 6 homolog gamma (C. elegans) (PARD6G), mRNA.	0.4	0.4	0.5	0.4	0.6	0.6			
PDE1A	AL110263	phosphodiesterase 1A, calmodulin-dependent	1.7	1.7	1.9	1.8	1.7	1.8			
PIK3C2A	NM_002645	phosphoinositide-3-kinase, class 2, alpha polypeptide (PIK3C2A), mRNA.	1.9	1.9	1.8	1.5	1.6	1.7			
RAPGEF6	NM_016340	Rap guanine nucleotide exchange factor (GEF) 6 (RAPGEF6), mRNA.	1.9	2.1	1.9	1.8	1.7	1.8			
SNX26	NM_052948	sorting nexin 26 (SNX26), mRNA.	0.4	0.5	0.6	0.4	0.7	0.6			
SPSB4	NM_080862	splA/ryanodine receptor domain and SOCS box containing 4 (SPSB4), mRNA.	0.3	0.3	0.3	0.3	0.5	0.4			
TACR2	NM_001057	tachykinin receptor 2 (TACR2), mRNA.	0.5	0.6	0.6	0.5	0.7	0.8			
TIMP3	X77690	H.sapiens mRNA for K222 expressed in degenerative retinas.	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.7			
TRIM23	NM_033228	tripartite motif-containing 23 (TRIM23), transcript variant gamma, mRNA	1.7	1.8	1.9	1.5	1.8	1.8			
WDR5B	NM_019069	WD repeat domain 5B (WDR5B), mRNA.	1.8	1.6	1.6	1.5	1.6	1.6			
YWHAQ	BG989839	tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein, theta polypeptide	0.3	0.4	0.4	0.4	0.5	0.4			
Response to stress ^{f)}											
ATF4	BF689038	activating transcription factor 4 (tax-responsive enhancer element B67)	0.6	0.6	0.8	0.6	0.7	0.8			
CXCL2	NM_002089	chemokine (C-X-C motif) ligand 2 (CXCL2), mRNA.	0.5	0.7	0.5	0.7	0.7	0.7			
EIF2AK4	NM_001013703	eukaryotic translation initiation factor 2 alpha kinase 4 (EIF2AK4), mRNA.	1.5	1.4	1.6	1.4	1.6	1.5			
ERN2	NM_033266	endoplasmic reticulum to nucleus signalling 2 (ERN2), mRNA.	0.4	0.5	0.5	0.7	0.6	0.6			
G22P1	BF085047	thyroid autoantigen 70kD (Ku antigen)	0.6	0.6	0.7	0.5	0.6	0.7			
HSPB1	AI801539	heat shock 27kd protein 1	0.5	0.6	0.7	0.5	0.6	0.6			
HSPB9	NM_033194	heat shock protein, alpha-crystallin-related, B9 (HSPB9), mRNA.	0.3	0.3	0.6	0.3	0.5	0.6			
KLK3	AF335478	prostate-specific antigen variant 2 mRNA, complete cds, alternatively spliced.	0.4	0.4	0.5	0.4	0.7	0.6			
PRNP	NM_000311	prion protein (p27-30) (Creutzfeldt-Jakob disease, Gerstmann-Strausler-Scheinker syndrome, fatal familial insomnia) (PRNP), transcript variant 1, mRNA.	1.5	1.6	1.5	1.5	1.6	1.5			
RAD23B	AA279208	RAD23 (S. cerevisiae) homolog B	0.6	0.7	0.6	0.6	0.6	0.5			
RUNX1	X90978	runt-related transcription factor 1 (acute myeloid leukemia 1; aml1 oncogene)	0.3	0.3	0.3	0.3	0.5	0.4			
SERPINH2	BG980953	serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade H (heat shock protein 47), member 2	0.5	0.5	0.6	0.5	0.6	0.7			
THBS1	N48043	thrombospondin 1	0.4	0.4	0.5	0.4	0.5	0.5			
Cell cycle ^{f)}											
DCTN3	NM_007234	dynactin 3 (p22) (DCTN3), transcript variant 1, mRNA.	1.6	1.6	1.5	1.5	1.5	1.4			
FGF3	NM_005247	fibroblast growth factor 3 (murine mammary tumor virus integration site (v-int-2) oncogene homolog) (FGF3), mRNA.	0.6	0.7	0.6	0.7	0.8	0.8			
MTBP	NM_022045	Mdm2, transformed 3T3 cell double minute 2, p53 binding protein (mouse) binding protein, 104kDa (MTBP), mRNA.	1.7	1.8	1.8	1.4	1.4	1.5			
MYCN	NM_005378	v-myc myelocytomatosis viral related oncogene, neuroblastoma derived (avian) (MYCN), mRNA.	0.2	0.3	0.4	0.2	0.5	0.5			
NEUROG1	NM_006161	neurogenin 1 (NEUROG1), mRNA.	0.1	0.2	0.3	0.2	0.3	0.4			
RBBP4	NM_005610	retinoblastoma binding protein 4 (RBBP4), mRNA.	0.6	0.6	0.7	0.7	0.7	0.7			
SAM68	AL514561	GAP-associated tyrosine phosphoprotein p62 (Sam68)	0.6	0.6	0.7	0.6	0.7	0.7			

^{a)} マイクロビーム照射群の中で統計学的に有意な発現量の変化 (p < 0.001, 偽発見率 (FDR) < 5%) を示した遺伝子群を選択し、次に、照射後2時間において発現が1.5倍以上変動した遺伝子を選んだ。
^{b)} アクセッション番号は、NCBI RefSeq (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/RefSeq/>)、TIGRデータベース (<http://www.tigr.org/>)、DDBJ/GenBank/EMBLデータベース (<http://www.psu.edu/general/software/packages/genbank/genbank.html>) に基づく。
^{c)} 非照射細胞に対する発現量の比を示す。
^{d)} マイクロビーム照射後の経過時間
^{e)} 細胞集団の0.0003% (1S)、0.001% (5S)、0.007% (25S) の細胞をマイクロビームで照射した。
^{f)} 遺伝子機能は、FatiGoデータベース (<http://fatigo.bioinfo.cipf.es>) に基づく。

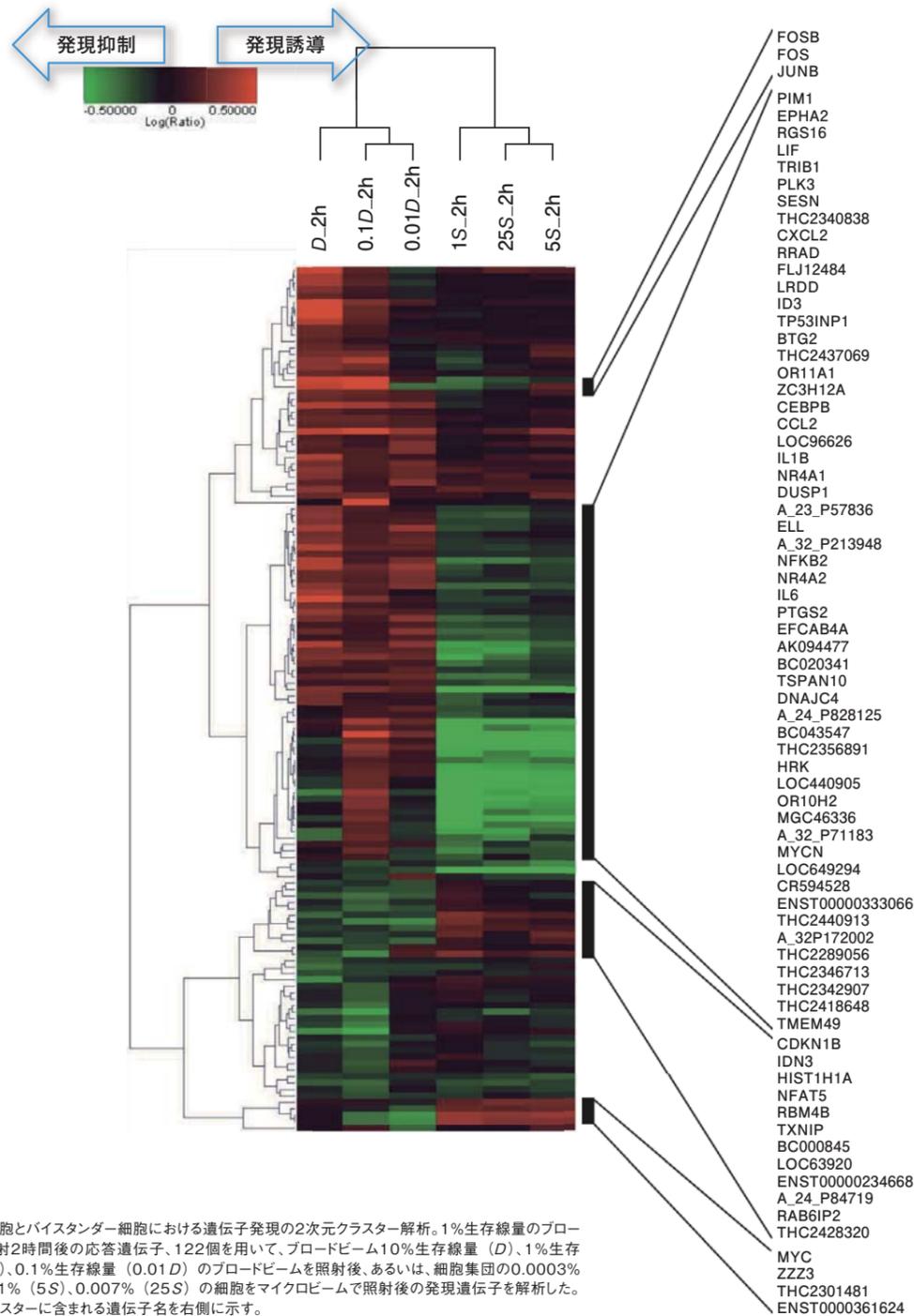


図6: 照射細胞とバイスタンダー細胞における遺伝子発現の2次元クラスター解析。1%生存線量のプロードビームを照射2時間後の応答遺伝子、122個を用いて、プロードビーム10%生存線量 (D)、1%生存線量 (0.1D)、0.1%生存線量 (0.01D) のプロードビームを照射後、あるいは、細胞集団の0.0003% (1S)、0.001% (5S)、0.007% (25S) の細胞をマイクロビームで照射後の発現遺伝子を解析した。特徴的なクラスターに含まれる遺伝子名を右側に示す。

照射細胞とバイスタンダー細胞では変動する遺伝子群が大きく異なることがわかった²⁹⁾。例えば、放射線応答遺伝子として広く知られている *CDKN1A*、*GADD45A*、*TP53INP1* は、照射細胞では発現誘導が観察されたが、バイスタンダー細胞では誘導されていなかった。

また、照射細胞では、サイトカインの一種である *IL1A* や *IL1B* といったインターロイキン遺伝子の発現が増加していたのに対して、バイスタンダー細胞では、その受容体のひとつである *IL1RAP* などの発現が増加していた (図6)²⁹⁾。さらに、発現が変動した遺伝子群から、活性化されている細胞内情報伝達経路を推測したところ、照射細胞では、NF- κ B (nuclear factor κ B) 経路と p21^{Waf1} 経路の活性化が示唆された²⁹⁾。その一方、バイスタンダー細胞では、細胞膜から核内への情報伝達に重要な役割を果たすことが知られている G 蛋白質 /PI-3 (phosphoinositide 3) キナーゼの活性化が示唆された²⁹⁾。

まとめ

今回観察されたバイスタンダー細胞の一連の応答は、照射細胞に由来するサイトカインなどの情報伝達因子がバイスタンダー細胞に働きかけ、情報伝達系を活性化させることによって、引き起こされる可能性が示唆された²⁹⁾。このような正常細胞の応答は、異常な細胞の増殖を最小限に留めることにより、恒常性を維持するための防御機構であると考えられる²⁵⁾。

今後の展望

1. バイスタンダー効果のLET依存性

照射細胞への細胞死の誘発に関する RBE は、LET の増加に伴い大きくなり、100~200 keV/ μ m で最大となり、さらに大きな LET では減少し、1000 keV/ μ m 以上では1よりも小さくなることが知られている^{5,31,32)}。し

かし、バイスタンダー効果については、そのような LET 依存性はこれまでに明らかにされていない。既述のバイスタンダー細胞に認められた生存率の低下、アポトーシスの誘発、そして、p53 のリン酸化は、2種類のネオン線 (17.5 MeV/u、294 keV/ μ m あるいは 13.0 MeV/u、375 keV/ μ m) の照射に対しても、炭素線の場合と同様の結果が得られた^{25,33)}。他のグループによる報告^{34,35)}も踏まえ、この結果は、バイスタンダー効果に LET 依存性がない可能性を示唆している。しかし、照射細胞の培養上清を処理したバイスタンダー細胞における染色体異常を解析したところ、全体的な頻度は軟 X 線 (5 keV/ μ m) とネオン線 (13.0 MeV/u、437 keV/ μ m) とで差がなかったものの、誘導される異常の型は異なっていたことから³⁶⁾、バイスタンダー効果に LET 依存性はないが、その誘導機序は LET により異なる可能性が示唆された。さらに、バイスタンダー効果に LET 依存性があるという報告もある³⁷⁾。また、バイスタンダー細胞におけるコロニー形成能の低下は、同じような LET の同じような粒子線でも、ブロードビームでは観察されるが³⁸⁾、マイクロビームでは観察されないこともある³⁹⁾。このことから、バイスタンダー効果の LET 依存性を明らかにするには、一貫した実験条件下 (照射方法、線量、LET、細胞種) で、同じ生物学的指標を用いて評価する必要がある。また、同じ LET であっても照射細胞に対する効果はイオン種により異なることも報告されており⁴⁰⁻⁴²⁾、バイスタンダー効果のイオン種依存性の有無についても今後の解析が待たれる。

2. バイスタンダー効果の生物学的意義

重粒子線治療の際、巨視的にみれば、標的のがん病巣以外に存在する生体内の全ての細胞を、バイスタンダー細胞と考えることができる。バイスタンダー効果に関連して、右肺のがんを光子放射線照射した場合に、左肺のがんも縮小するというような遠達効果

(abscopal effects) という現象も報告されている⁴³⁾。薬剤によって誘発されるバイスタンダー効果が臨床応用されているように⁴⁴⁾、重粒子線誘発バイスタンダー効果もがん治療に利用することはできないであろうか。バイスタンダー効果の誘導に中心的な役割を果たしているギャップ結合は、正常細胞では機能しているが、多くのがん細胞で破綻している⁴⁵⁾。興味深いことに、ギャップ結合が機能しているがん細胞であっても、正常細胞との間ではギャップ結合が機能しない⁴⁵⁾。そこで、ギャップ結合を構成するコネキシン遺伝子の導入、または、ギャップ結合の機能を高めることが知られている緑茶成分やレチノイドなどの投与によって、がん細胞に誘発されるバイスタンダー効果を増強できれば、より低線量あるいは狭い照射野での治療が可能になるであろう¹⁵⁾。光子放射線の照射によって誘発されるバイスタンダー効果の程度については、100名以上のヒトに由来する組織を用いた実験から個人差⁴⁶⁾、そして、マウス個体を用いた実験から性差⁴⁷⁾が報告されている。動物個体を用いた重粒子線誘発バイスタンダー効果の報告はこれまでにないが、生体における意義、即ち、治療への寄与の程度や宇宙飛行士へのリスクを推定するために必要である。

謝辞

本研究の実施にあたりご協力いただいた日本原子力研究開発機構の舟山知夫博士、坂下哲哉博士、ならびに、放射線医学総合研究所の今留香織女史に感謝申し上げます。本研究は、群馬大学21世紀COEプログラム「加速器テクノロジーによる医学・生物学研究」の支援により実施しました。

参考文献

- 1) Hada, M. and Georgakilas, A. G., "Formation of clustered DNA damage after high-LET irradiation : a review", *J. Radiat. Res.*, 49, 203-210, 2008. [総説]
- 2) Hamada, N., "Recent insights into the biological action of heavy-ion radiation", *J. Radiat. Res.*, 49, in press, 2008. [総説]
- 3) Nakano, T., Suzuki, Y., Ohno, T., Kato, S., Suzuki, M., Morita, S., Sato, S., Oka, K. and Tsujii, H., "Carbon beam therapy overcomes the radiation resistance of uterine cancer originating from hypoxia", *Clin. Cancer Res.*, 12, 2185-2190, 2006.
- 4) Yamakawa, N., Takahashi, A., Mori, E., Imai, Y., Furusawa, Y., Ohnishi, K., Kirita, T. and Ohnishi, T., "High LET radiation enhances apoptosis in mutated *p53* cancer cells through Caspase-9 activation", *Cancer Sci.*, 99, 1455-1460.
- 5) Hamada, N., Hara, T., Omura-Minamisawa, M., Funayama, T., Sakashita, T., Sora, S., Yokota, Y., Nakano, T. and Kobayashi, Y., "Energetic heavy ions overcome tumor radioresistance caused by overexpression of Bcl-2", *Radiother. Oncol.*, in press, 2008.
- 6) Hamada, N., Kataoka, K., Sora, S., Hara, T., Omura-Minamisawa, M., Funayama, T., Sakashita, T., Nakano, T. and Kobayashi, Y., "The small-molecule Bcl-2 inhibitor HA14-1 sensitizes cervical cancer cells, but not normal human fibroblasts, to heavy-ion radiation", *Radiother. Oncol.*, in press, 2008.
- 7) Hamada, N., Hara, T., Omura-Minamisawa, M.,

- Funayama, T., Sakashita, T., Sora, S., Nakano, T. and Kobayashi, Y., "The survival of heavy ion-irradiated Bcl-2 overexpressing radioresistant tumor cells and their progeny", *Cancer Lett.*, 268, 76-81, 2008.
- 8) Ogata, T., Teshima, T., Kagawa, K., Hishikawa, Y., Takahashi, Y., Kawaguchi, A., Suzumoto, Y., Nojima, K., Furusawa, Y. and Matsuura, N., "Particle irradiation suppresses metastatic potential of cancer cells", *Cancer Res.*, 65, 113-120, 2005.
- 9) Takahashi, Y., Teshima, T., Kawaguchi, N., Hamada, Y., Mori, S., Madachi, A., Ikeda, S., Mizuno, H., Ogata, T., Nojima, K., Furusawa, Y. and Matsuura, N., "Heavy ion irradiation inhibits in vitro angiogenesis even at sublethal dose", *Cancer Res.*, 63, 4253-4257, 2003.
- 10) Tsujii, H., Mizoe, J., Kamada, T., Baba, M., Tsuji, H., Kato, H., Kato, S., Yamada, S., Yasuda, S., Ohno, T., Yanagi, T., Imai, R., Kagei, K., Kato, H., Hara, R., Hasegawa, A., Nakajima, M., Sugane, N., Tamaki, N., Takagi, R., Kandatsu, S., Yoshikawa, K., Kishimoto, R. and Miyamoto, T., "Clinical results of carbon ion radiotherapy at NIRS", *J. Radiat. Res.*, 48, A1-13, 2007.
- 11) Schulz-Ertner, D. and Tsujii, H., "Particle radiation therapy using proton and heavier ion beams", *J. Clin. Oncol.*, 25, 953-964, 2007. [総説]
- 12) Cucinotta, F. A. and Durante, M., "Cancer risk from exposure to galactic cosmic rays : implications for space exploration by human beings", *Lancet Oncol.*, 7, 431-435, 2006. [総説]
- 13) Doke, T., Hayashi, T., Kikuchi, J., Hasebe, N., Nagaoka, S., Kato, M. and Badhwar, G. D., "Real

- time measurement of LET distribution in the IML-2 Space Lab (STS-65)", *Nucl. Instr. Meth.*, B365, 524-532, 1995.
- 14) Prise, K. M., Schettino, G., Folkard, M. and Held, K. D., "New insights on cell death from radiation exposure", *Lancet Oncol.*, 6, 520-528, 2006. [総説]
- 15) Hamada, N., Matsumoto, H., Hara, T. and Kobayashi, Y., "Intercellular and intracellular signaling pathways mediating ionizing radiation-induced bystander effects", *J. Radiat. Res.*, 48, 87-95, 2007. [総説]
- 16) Matsumoto, H., Hamada, N., Takahashi, A., Kobayashi, Y. and Ohnishi, T., "Vanguards of paradigm shift in radiation biology : radiation-induced adaptive and bystander responses", *J. Radiat. Res.*, 48, 97-106, 2007. [総説]
- 17) 鈴木雅雄, "放射線で誘導される生物効果のバイスタンダー効果の線質依存性", *放射線科学*, 51 (3), 18-27, 2008.
- 18) Kobayashi, Y., Funayama, T., Wada, S., Furusawa, Y., Aoki, M., Shao, C., Yokota, Y., Sakashita, T., Matsumoto, Y., Kakizaki, T. and Hamada, N., "Microbeams of heavy charged particles", *Biol. Sci. Space*, 18, 235-240, 2004. [総説]
- 19) Funayama, T., Hamada, N., Sakashita, T. and Kobayashi, Y., "Heavy-ion microbeams - development and applications in biological studies", *IEEE Trans. Plasma Sci.*, 36, in press, 2008. [総説]
- 20) 小林泰彦, 舟山知夫, 浜田信行, 坂下哲哉, 横田裕一郎, 深本花菜, 鈴木芳代, 田口光正, "重イオンマイクロビームを用いた生物学研究", *放射線生物学研究*, 43, 150-169, 2008. [総説]

- 21) Funayama, T., Wada, S., Yokota, Y., Fukamoto, K., Sakashita, T., Taguchi, M., Kakizaki, T., Hamada, N., Suzuki, M., Furusawa, Y., Watanabe, H., Kiguchi, K. and Kobayashi, Y., "Heavy-ion microbeam system at JAEA-Takasaki for microbeam biology", *J. Radiat. Res.*, 49, 71-82, 2008.
- 22) Hamada, N., Hara, T., Funayama, T., Sakashita, T. and Kobayashi, Y., "Energetic heavy ions accelerate differentiation in the descendants of irradiated normal human diploid fibroblasts", *Mutat. Res.*, 637, 190-196, 2008.
- 23) Hamada, N., Ni, M., Funayama, T., Sakashita, T., Sora, S., Nakano, T. and Kobayashi, Y., "A LET-dependent decrease in the apoptotic response of normal human fibroblast cultures to isosurvival dose of γ -rays and energetic heavy ions", *Biol. Sci. Space*, 22, in press, 2008.
- 24) Hamada, N., Kodama, S., Suzuki, K. and Watanabe, M., "Gap junctional intercellular communication and cellular response to heat stress", *Carcinogenesis*, 24, 1723-1728, 2003.
- 25) Hamada, N., Ni, M., Funayama, T., Sakashita, T. and Kobayashi, Y., "Temporally distinct response of irradiated normal human fibroblasts and their bystander cells to energetic heavy ions", *Mutat. Res.*, 639, 35-44, 2008.
- 26) Sokolov, M. V., Dickey, J. S., Bonner, W. M. and Sedelnikova, O. A., " γ -H2AX in bystander cells: not just a radiation-triggered event, a cellular response to stress mediated by intercellular communication", *Cell cycle*, 6, 2210-2212, 2007. [総説]
- 27) Hamada, N., Schettino, G., Kashino, G., Vaid, M., Suzuki, K., Kodama, S., Vojnovic, B., Watanabe, M., Michael, B. D. and Prise, K. M., "Histone H2AX phosphorylation in normal human cells irradiated with focused ultrasoft X rays: evidence for chromatin movement during repair", *Radiat. Res.*, 166, 31-38, 2006.
- 28) Sokolov, M. V., Smilenov, L. B., Hall, E. J., Panyutin, I. G., Bonner, W. M. and Sedelnikova, O. A., "Ionizing radiation induces DNA double-strand breaks in bystander primary human fibroblasts", *Oncogene*, 24, 7257-7265, 2005.
- 29) Iwakawa, M., Hamada, N., Imadome, K., Funayama, T., Sakashita, T., Kobayashi, Y. and Imai, T., "Expression profiles are different in carbon ion-irradiated normal human fibroblasts and their bystander cells", *Mutat. Res.*, 642, 57-67, 2008.
- 30) Chaudhry, M. A., "Bystander effect: biological endpoints and microarray analysis", *Mutat. Res.*, 597, 98-112, 2008. [総説]
- 31) Hamada, N., Funayama, T., Wada, S., Sakashita, T., Kakizaki, T., Ni, M. and Kobayashi, Y., "LET-dependent survival of irradiated normal human fibroblasts and their descendents", *Radiat. Res.*, 166, 24-30, 2006.
- 32) Furusawa, Y., Fukutsu, K., Aoki, M., Itsukaichi, H., Eguchi-Kasai, K., Ohara, H., Yatagai, F., Kanai, T. and Ando, K., "Inactivation of aerobic and hypoxic cells from three different cell lines by accelerated ^3He -, ^{12}C - and ^{20}Ne -ion beams", *Radiat. Res.*, 154, 485-496, 2000.
- 33) Hamada, N., Hara, T., Omura-Minamisawa, M., Ni, M., Funayama, T., Sakashita, T., Sora, S., Nakano, T. and Kobayashi, Y., "Heavy-ion microbeam irradiation induces bystander killing of human cells", *Biol. Sci. Space*, 22, in press, 2008.
- 34) Fournier, C., Becker, D., Winter, M., Barberet, P., Heiss, M., Fischer, B., Topsch, J. and Taucher-Scholz, G., "Cell cycle-related bystander responses are not increased with LET after heavy-ion irradiation", *Radiat. Res.*, 167, 194-206, 2007.
- 35) Yang, H., Anzenberg, V. and Held, K. D., "The time dependence of bystander responses induced by iron-ion radiation in normal human skin fibroblasts", *Radiat. Res.*, 168, 292-298, 2007.
- 36) Kanasugi, Y., Hamada, N., Wada, S., Funayama, T., Sakashita, T., Kakizaki, T., Kobayashi, Y. and Takakura, K., "Role of DNA-PKcs in the bystander effect after low- or high-LET irradiation", *Int. J. Radiat. Biol.*, 83, 73-80, 2007.
- 37) Shao, C., Furusawa, Y., Aoki, M., Matsumoto, H. and Ando, K., "Nitric oxide-mediated bystander effect induced by heavy-ions in human salivary gland tumour cells", *Int. J. Radiat. Biol.*, 78, 837-844, 2002.
- 38) Zhou, H., Ivanov, V. N., Gillespie, J., Geard, C. R., Amundson, S. A., Brenner, D. J., Yu, Z., Lieberman, H. B. and Hei, T. K., "Mechanism of radiation-induced bystander effect: role of the cyclooxygenase-2 signaling pathway", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102, 14641-14646, 2005.
- 39) Frankenberg, D., Greif, K. D. and Giesen, U., "Radiation response of primary human skin fibroblasts and their bystander cells after exposure to counted particles at low and high LET", *Int. J. Radiat. Biol.*, 82, 59-67, 2006.
- 40) Tsuruoka, C., Suzuki, M., Kanai, T. and Fujitaka, K., "LET and ion species dependence for cell killing in normal human skin fibroblasts", *Radiat. Res.*, 163, 494-500, 2005.
- 41) Suzuki, M., Tsuruoka, C., Kanai, T., Kato, T., Yatagai, F. and Watanabe, M., "Cellular and molecular effects for mutation induction in normal human cells irradiated with accelerated neon ions", *Mutat. Res.*, 594, 86-92, 2006.
- 42) Tsuruoka, C., Suzuki, M., Hande, M. P., Furusawa, Y., Anzai, K. and Okayasu, R., "The difference in LET and ion-species dependence for induction of initially measured and non-rejoined chromatin breaks in normal human fibroblasts", *Radiat. Res.*, 170, 163-171, 2008.
- 43) Kaminski, J. M., Shinohara, E., Summers, J. B., Niermann, K. J., Morimoto, A. and Brousal, J., "The controversial abscopal effect", *Cancer Treat. Rev.*, 31, 159-172, 2005. [総説]
- 44) Portsmouth, D., Hlavaty, J. and Renner, M., "Suicide genes for cancer therapy", *Mol. Aspects Med.*, 28, 4-41, 2007. [総説]
- 45) Mesnil, M., Crespín, S., Avanzo, J. L. and Zaidan-Dagli, M. L., "Defective gap junctional intercellular communication in the carcinogenic process", *Biochim. Biophys. Acta*, 1719, 125-145, 2005. [総説]
- 46) Mothersill, C., Rea, D., Wright, E. G., Lorimore, S. A., Murphy, D., Seymour, C. B. and O' Malley, K., "Individual variation in the production of a 'bystander signal' following irradiation of primary cultures of normal human urothelium", *Carcinogenesis*, 22, 1465-1471, 2001.
- 47) Koturbash, I., Kutanzi, K., Hendrickson, K., Rodriguez-Juarez, R., Kogosov, D. and Kovalchuk, O., "Radiation-induced bystander effects *in vivo* are sex specific", *Mutat. Res.*, 642, 28-36, 2008.



アイヌとアボリジニ 市川 龍資

近代オリンピックが西暦 2000 年にシドニーで開かれたとき、いくつかのドラマがあった。

オーストラリア大陸の先住民アボリジニの歴史を表現した舞踏会を催し、アボリジニの女性陸上選手キャシー・フリーマンさんを聖火最終ランナーとして聖火台に登らせ、聖火に点火する立役者に起用した。少し余計なことを付け加えると、このシドニー大会は、ドイツのハレ大学物理学教授エルンスト・ドルン博士が発見してから丁度 100 年になる記念すべき大会であった。

このシドニー大会で、先住民アボリジニがクローズアップされたことをはくはテレビで見て、オーストラリア政府もしゃれたことをすると思ったが、なぜそのようなことが行われたかについては知識がなかった。しかし世界はすでにその様な方向に進んでいたのである。

最近の報道によれば、2007 年 9 月国際連合では、「先住民族の権利に関する国連宣言」というものを採択し、日本では 2008 年 6 月アイヌ民族を先住民族とする国会決議が行われ、わが国でもアイヌの人達の権利の回復の第一歩が踏み出されたそうである。アイヌ民族は明治政府によって土地を取りあげられ、伝統的な狩猟や風習、儀式などを制限され、社会的にも長らく差別を受けてきた歴史がある。日本もやっと先住民族の権利を認める世界のすう勢に従う努力を進めることになった。

はく自身はアイヌに関する知識に乏しく、少年時代に見たアイヌ人による風俗展示会を見た記憶があるのと、ウィーン大学日本学研究所のスラヴィック教授がアイヌ学を専門にしている、アイヌの風俗をドラマにして埴日協会（オーストリア人と日本人の親交の集まり）の催しの場で学生達を使って見せてくれたのを覚えている程度である。ちなみに、このスラヴィック教授は歌人斉藤茂吉と親しい関係にあった人である。彼は学生時代ウィーン留学中の茂吉に日本語を教わったのである。

一方オーストラリアでは先住民族アボリジニの権利を回復するための政策を日本より早くから始めていて、その一つのあらわれが、オーストラリア大陸南部地域にある英国の原爆実験場の調査である。シドニーオリンピッ

クでアボリジニの舞台を設営したり、聖火台の点火役にアボリジニの少女を起用したよりも以前に始めた調査であり、この土地のプルトニウムの土壌蓄積を測定し、ここに居住した場合の吸入被曝線量の評価を行っている。

もちろん除染などの対策を目的としており、もともとこの地域の所有権をもっていたアボリジニの人達が居住しても安全が確保できるようにするためである。これは核実験を行った張本人である英国が言い出し、オーストラリア、米国と併せて三か国の研究者のグループをつくり、放射能の影響の検討を行ったものである。その報告書は 1992 年に発表され、それによると、旧実験地マラリングとエムにそのまま居住した場合、吸入摂取により年間 300 ミリシーベルトに達するところもあるという。それゆえ事前に十分な除染や土地改良が必要であると結論している。

英国はオーストラリア南部のアボリジニの土地で核実験を行ったことに対し自責と反省の念を持っていると思われる。

日本におけるアイヌの人達は昔から北海道各地に生活していた先住民であり、本州の人達との間にいくたびかの戦いがあったそうである。しかし次第に本州の人達が北海道に侵入するようになり、ついに明治政府により一か所に集められ生活させられるという抑圧の下におかれたそうである。しかしまだアイヌの勢力がかなりあった頃は本州の人にとってアイヌは強敵であったとみえ、平泉文化を築き上げた藤原清衡は、自らをアイヌの子孫と稱していたという。恐らく強く見せるためであったと思われる。中尊寺の金色堂に保存されている藤原氏三代のミイラを 1950 年学術調査を行った際、X 線撮影により清衡の頭骨の形状などアイヌとは明らかに違うことが判った。清衡の強がりだったのである。いずれにせよアイヌの人達の権利の回復に光が見えて来たことは喜ばしいことである。

ICHIKAWA RYUSHI(元放医研科学研究官)

編集後記

昨年度再出発を遂げた本誌の表紙は、ブルーを基調とした涼しげでクールなものだった。昨今の今頃発行された 2007 年 7 月号は、放医研 50 年の節目にあって、後半分の歴史を担ってきた重粒子線治療研究の全容を明らかにする内容だった。その編集後記に、青紫のアジサイをモチーフにした文章を載せてから 1 年が経ったある日曜日の午後、赤紫と群青色の花びらを一杯につけた彼らが、小雨の中、静かに佇んでいるのに出会った。この静けさと、人知れず華やかなところが良いよな、などと感じ入りながらゆっくと通り過ぎ、少し引き戻って手で触れてみた。案外肉厚でしっかりと丈夫そうな花びらは、水を弾いて寄せ付けない、凜として、すごい美人の様（さま）であった。そっとその場を離れて以来、この花に心がときめいていた矢先、この編集後記の執筆依頼が舞い込んだ。

今年度の表紙はやや色めいた風情で、活力と美しさが増したと思う。先日出会ったアジサイの色合いに似ているのは偶然である。2 編の編集後記は同じような所に立っているが、あれから 1 年を経た本号では、重粒子線治療の未来を担う次世代照射システムの研究成果や、注目度の高い地球環境関連のトピックスである哺乳類と放射線についての研究、最新研究論文からの掲載記事などが用意されていて、時を経たのに相応しい新鮮でアップデートな内容になっている。広く国民の皆様は、放医研の活動の意義について、その一端でも感じ取っていただければ幸いである。(HK 輩)

次号予告

特集 「第 56 回国連科学委員会報告」
重粒子医科学センター 丹羽 太貴

最近の成果 「口腔がんの小線源治療と遺伝子発現プロファイル解析」
東京医科歯科大学大学院 渡邊 裕

印象記 「第 44 回米国放射線防護測定審議会年次会合：
低線量・低線量率放射線の影響とモデル」
放射線防護研究センター 規制科学総合研究グループ 吉永 信治

「第 56 回国連科学委員会会合に出席して」
内閣府 原子力安全委員会事務局 石黒 裕大

《編集委員会》

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

放射線科学

第 51 巻 第 8 号
2008 年 8 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 千葉県稲毛区穴川 4-9-1
電話 043(206) 3026 Fax.043(206) 4062 Eメール info@nirs.go.jp
http://www.nirs.go.jp

(禁無断転載)



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