

視点

■第31回 放医研シンポジウム■
重粒子線治療の基礎と臨床

このシンポジウムでは、重粒子線（重イオン線）臨床試験を中心に、生物・物理・医学などさまざまな立場からの重粒子線治療についての討議を期待しています。多数の皆様のご来聴をお待ちしています。

期日：平成11年11月25日（木）～26日（金） 場所：放射線医学総合研究所 講堂

- 11月25日（木） 10：30～
 1. 重イオンの臨床成績と将来展望
 2. 粒子線治療装置（システム）に望むこと
 3. 重粒子線治療における生物効果

- 11月26日（金） 9：00～
 1. 重粒子線治療の水先案内人
－症例で見る最新画像診断－
 2. 臨床試験の進め方と問題点
 3. 日本における重粒子線治療施設

- 問い合わせ先
〒263-8555 千葉県稲毛区穴川4-9-1
放医研 企画室 統計係
TEL 043-206-3026 FAX 043-256-9616





*写真は、『第30回 放医研シンポジウム』

放射線誘発scid胸腺リンパ腫におけるNotch 1がん遺伝子の変異

マウス個体を用いた放射線発がんの研究によって、個々の組織における放射線の発がん誘発率や組織特異性、年齢依存性などが明らかになっているが、細胞の機能異常によって正常細胞が制御を逸脱した異常増殖をするがん細胞にいたる過程（放射線発がん過程）についてはほとんどわかっていない。細胞内で作用している発がん関連遺伝子（注1）の同定や、その機能の解析、そしてがん関連遺伝子がどのようなシグナルを伝達して、結果的に細胞の異常増殖を誘発させるのかを明らかにすることは、放射線の発がんリスクを推定する上にも、放射線生物学の問題としても重要な研究課題である。我々は、放射線による胸腺リンパ腫の発生機構を調べているが、世界的にみても今までわかっている放射線誘発胸腺リンパ腫に関与するがん関連遺伝子はRas遺伝子やp53遺伝子など極めてわずかである。ヒトの自然発生した胸腺細胞由来のリンパ腫や白血病（総称してT細胞腫とする）を用いて、転座等の染色体（DNA）再編成の解析を中心として、多くのがん遺伝子がT細胞腫の発症に関与することがわかってきた。それらは、転写因子（注2）であるTal 1, 2、Lyl 1、Lmo 1, 2（Ttg 1, 2）、Mll（Atl 1）、Notch 1（Tan 1）、Afx 1、Hox 11、c-Relなど、シグナル伝達因子Lck、ミスマッチ修復遺伝子Msh 2、Mlh 1、細胞周期調節遺伝子p15、p16、その他Tcl 1, 4、Sil、Pim 1、Mtcp 1などである。最近になって、p53の上流にあり、DNA損傷の監視に作用すると思われるATM遺伝子がヒト末梢性リンパ腫で高頻度に突然変異を起こしていること、各種のDNA-Pkcs遺伝子（放射線に感受性で、がんを起こしやすいマウスの突然変異系統、scidの原因遺伝子）ノックアウトマウス（注3）では高頻度に自然発生胸腺リンパ腫が発生することから、ATMやDNA-Pkcs遺伝子は胸腺リンパ腫の発生に関してがん抑制遺伝子として働くことが示された。さらに、細胞増殖因子サイトカインあるいはサイトカインリセプターやその下流遺伝子が胸腺リンパ腫では異常発現している例も報告されている。がん抑制遺伝子に関してLOH（注4）の解析から数個の遺伝子が同定されようとしている。これらの知見を総合すると、多種多様な遺伝子の異常がT細胞腫の発生に関係しており、がん化には極めて複雑な過程が存在すると思われる。

このような背景のなかで胸腺リンパ腫の発生に関して放射線に特異的ながん関連遺伝子、あるいはシグナル伝達系が存在するかを明らかにすることは重要な研究課題である。まず、どのようながん遺伝子が放射線誘発胸腺リンパ腫で変異しているかを明らかにしなければならない。我々は、ヒトで知られるT細胞腫がん遺伝子についてRT-PCR（注5）法やサザンハイブリダイゼーション（注6）法を用いて、変異のスクリーニングを行ってきた。その結果、Notch 1（注7）が胸腺リンパ腫で高頻度にDNA再編成を起こしていること、Lmo 1が異常発現していることを認めた。以下にNotch 1のDNA再編成について述べる。

変異を調べるにあたって、恒常的に材料を得るために胸腺リンパ腫（発生率の低いSTS由来7例、scid由来38例、およびその野生系統C.B.-17由来、ENU（突然変異原）誘発リンパ腫も含めて12例）より培養細胞株を樹立し、実験に供した。Notch 1のゲノムDNAの再編成を調べるために、ゲノムPCRによりNotch 1のほぼ全領域をカバーするゲノムDNA断片を作成し、それらの制限酵素切断点の解析から、Notch 1ゲノム領域の制限地図を作成した。1 – 5 kb（注8）のDNA断片をプローブにサザンハイブリダイゼーションを行い、変異領域を同定した。その結果、野生系統では、10例中2例（20%）、scidでは32例中11例（34%）に変異が認められた（図1）。scidにおける放射線によるNotch 1の変異率は高線量で高くなることから、放射線によりNotch 1遺伝子は変異すると考えられる。

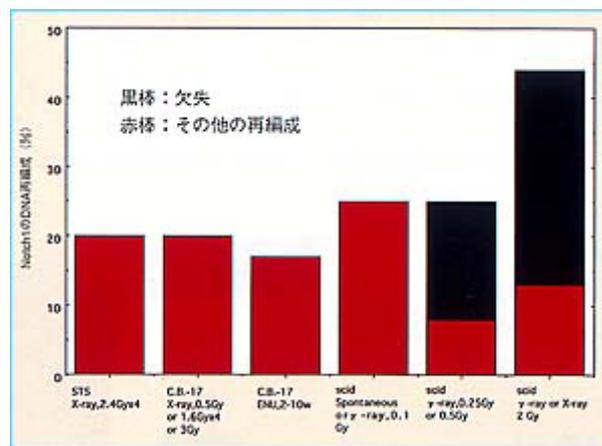


図1 放射線誘発胸腺リンパ腫におけるNotch1遺伝子のDNA再編成

サザンハイブリダイゼーションの解析から少なくとも2種類のDNA再編成が誘発されることがわかった。1つは介在欠失（遺伝子の内部、あるいは5'側あるいは3'側の遺伝子領域を含んだ欠失）であり、もう1つはその他（転座、逆位、あるいは挿入（注9）のいずれか）の再編成である、ここでは前者を欠失型、後者を転座型とする。転座型の再編成は野生系統、scidの両方に認められるのに対して、欠失型はscidでのみ認められ、その頻度は線量依存的に増加する。このように変異の様式に関して、系統差が認められる。ゲノムDNAの変異に伴ってmRNAにどのような異常が現われるかをRT-PCRやノーザンハイブリダイゼーション（注10）で調べたところ、欠失型では短いmRNAが、転座型では長短あわせて異常な長さのmRNAが認められた。欠失型におけるmRNAの欠失領域はゲノムDNAの欠失領域に対応していた。転座型における異常なmRNAはキメラmRNA（注11）あるいは再編成による5'側、あるいは3'側の領域の短縮が考えられる。

マウスNotch 1のcDNA（8064b）の塩基配列は既に報告されている。しかし、ゲノムDNAについては報告がない。再編成の認められるゲノム領域（cDNAで2305 – 7668bに対応）17kbの塩基配列を決定し、エクソン・イントロン（注12）構造を明らかにした。その結果、この範囲に21個のエクソンが存在することがわかった（図2）。5例の欠失型について、ゲノムDNAおよびcDNAより異常部位をクローニングし、その塩基配列を決定した。正常ゲノムDNAの塩基配列を基に欠失領域お

よび切断点を決定した。図2に示されるように、欠失領域は0.7~8.8kbに渡り、そのすべてはcDNAで5216bより上流に存在していた。しかも、アミノ酸配列のフレームは維持されていた。Notch 1 はリセプタータンパク質であり、JaggedやDII (ショウジョウバエのDeltaやSerrateのホモログ) のシグナルを細胞内に伝えている。その様式は、何回かの酵素切断により、細胞内のドメイン (注13) が遊離し、転写因子として作用することがわかっている。5例の介在欠失のいずれも欠失領域は膜に隣接した細胞外にある。これらの結果より、ゲノムDNAの欠失により mRNAの中間部の欠失が起こり、短縮Notch 1 タンパク質が産生され、仮説として、そのタンパク質はDIIなどのシグナルを必要とせず、細胞内で転写因子として作用していると考えられる。それが、がんタンパク質として胸腺リンパ腫の発生に作用しているのではないだろうか。

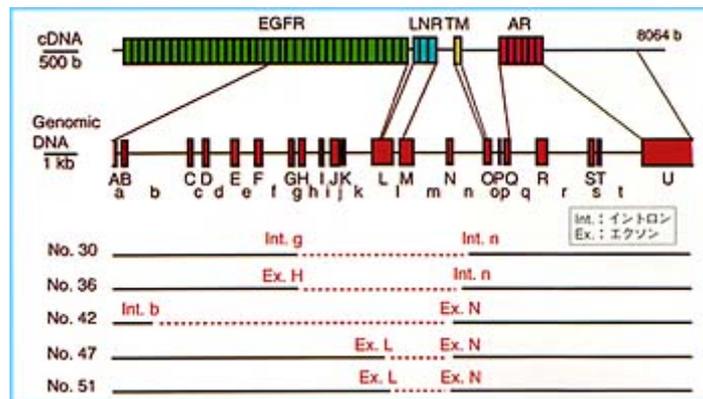


図2 Notch1遺伝子のゲノム構造と放射線誘発胸腺リンパ腫における介在欠失

Notch 1 はマウスでがん遺伝子として機能することが5'側欠失cDNA導入マウスで確かめられている。Notch 1 は転写因子であり、転写因子RBP-Jと共同して下流遺伝子 (注14) (Hes 1 - 5) の発現を制御している。このことから、異常Notch 1 タンパク質は下流遺伝子の異常発現を促し、それががん化の原因となっていると推定される。Hesもまた転写因子であり、Notch 1 pathway (注15) と相互作用する他のpathway (Wnt pathway) の最終遺伝子の転写能を負に制御している。Hes 1 は、ロックアウトマウスの実験からT細胞の増殖・分化に関与することが明らかにされており、この事実からもNotch 1 をめぐるシグナル伝達系は胸腺リンパ腫の発生に関しがんシグナルネットワークとして作用していると考えられる。そのシグナルの解明はがんの分子機構の核心をなし、今後の解明が待たれる。

もう1つの問題点は、scidでのみNotch 1 の欠失が高頻度 (再編成の67%) で認められることである。周知のように、scidはDNA-Pkcsの不全を示し、DNA 2本鎖切断修復 (注16) やV (D) J組み換え (注17) が異常となっている。これらの欠損とNotch 1 の欠失とは関係するのであろうか。現在までのところ、scidマウスの発がんに関して、胸腺リンパ腫が主であり、胸腺という場を考えるとV (D) J組み換えの不全と欠失の発生とが関係するのであろう。scidのV (D) J組み換えでは、Rag (注18) により形成されるヘアピン構造が長時間維持され、coding end (注19) の結合は極めてわずかであるが、結合した領域には短い (数b-100b) 欠失が認められる。我々が見出した欠失領域はそれよりも長い、同様な機構によって

発生していると思われる。今後の解析が必要である。

放射線発がんに関し、Notch 1 遺伝子が胸腺リンパ腫の発生に対し、がん遺伝子として機能していることを示す結果が得られた。胸腺リンパ腫という1つのタイプのがんに対しても多くのがん関連遺伝子が関与していると思われる。ヒトで調べられたT細胞腫での知見はそれを裏づけている。関与する個々の遺伝子を同定し、その機能を明らかにし、そのシグナル伝達系を決定し、それらの相互作用を調べ、いくつかのpathwayが胸腺リンパ腫に関与するか、最終的にそれらのpathwayの異常は細胞分裂周期の異常をどのように誘発するのか、そのなかで放射線に特異的な作用（関連する遺伝子とそのシグナル伝達系）はあるのか、これらの点を明らかにすることは放射線発がんの全容をとらえるために必要であり、重要な課題である。放医研における放射線発がん研究は、動物実験を中心とした実証研究とともに、このような方向の研究を重視する必要があると思われる。

（付記）この研究は第3研究グループのメンバーにより行われた。

（第3研究グループ 辻 秀雄）

<注の説明>

〈注1〉発がん関連遺伝子 突然変異やDNA再編成（DNAの部分的付加、欠失、入れ替え、挿入、繋ぎ替え、など）によって異常な機能を獲得し、がん化に作用するがん遺伝子、がん化の抑制に働くがん抑制遺伝子、それらの遺伝子と関係してがん化に作用する遺伝子群を含む。

〈注2〉転写因子 DNAの遺伝情報をメッセンジャーRNA（mRNA）として読み取る時、読み取り（転写）に働き、読み取り量を正あるいは負に制御する遺伝子群。

〈注3〉ノックアウトマウス ある遺伝子の構造を変え、その機能を一部あるいは全部失わせたマウス。

〈注4〉LOH 細胞の持つ1対の遺伝子のうち、片方の遺伝子が消失する現象。残った遺伝子に異常があれば、その遺伝子は機能を失う。がん抑制遺伝子を探すとき、一般的に用いられる方法である。

〈注5〉RT-PCR mRNAより逆転写酵素でコンプレメンタリーDNA（cDNA）を作り、20～30個の塩基よりなるDNA（プライマー）を2個使って、プライマーに挟まれた領域を増幅する方法。その領域の長さの異常やmRNAの量の異常を検出する。

〈注6〉サザンハイブリダイゼーション DNAの異常を検出する方法。

〈注7〉Notch 1 もともとショウジョウバエで見つかった形態形成に関係する遺伝子。羽に刻み目ができることからこう呼ばれる。幼虫の成虫原基より羽、脳、剛毛、複眼の形成等に関係する。哺乳類では発がん以外に、細胞の分化や増殖に関係している。

〈注8〉kb DNAやRNAの長さの単位で、1000個の塩基（base）の長さを表わす。

〈注9〉転座、逆位、挿入 転座、ある染色体に他の染色体の一部が結合する現象。逆位、染色体の一部が切れて、逆向きに繋がる現象。挿入、染色体のある箇所に別のDNAが挿入される現象。染色体の変位部位に遺伝子が存在すると、遺伝子の異常を生じる。

〈注10〉 ノーザンハイブリダイゼーション mRNAの異常を検出する方法。

〈注11〉 キメラmRNA 2つ以上の遺伝子の一部あるいは全部が連結してできたmRNA。

〈注12〉 エクソン・イントロン ゲノムDNAのうち、遺伝子として遺伝情報（アミノ酸情報）を含む部分をエクソンと言い、エクソンに挟まれた遺伝情報のない部分をイントロンと言う。

〈注13〉 ドメイン タンパク質の機能領域。1つのタンパク質は異なった機能を示す複数の領域（ドメイン）を持つ。

〈注14〉 下流遺伝子 ある遺伝子によって転写が制御されている遺伝子群、あるいはシグナル伝達系のうち、ある遺伝子産物（タンパク質）よりシグナルを伝達される遺伝子産物を指す。

〈注15〉 pathway タンパク質の間でシグナルを伝達している一連の過程、あるいはある現象が起きることに関係する細胞内の過程。ここでは前者を指す。

〈注16〉 DNA 2本鎖切断修復 放射線等により生じたDNA 2本鎖の切断を連結して、もとのDNAに修復すること。

〈注17〉 V (D) J組み換え 免疫グロブリンやT細胞受容体のような免疫タンパク質はその遺伝情報を含むDNAを様々な組み換えることによって作られ、この組み換え（V (D) J組み換え）によって多種多様な免疫タンパク質が作られる。

〈注18〉 Rag V (D) J組み換えの初期に働く遺伝子で、DNAを切断し、末端にヘアピン構造を形成する。

〈注19〉 coding end 細胞がV (D) J組み換えによって種々の免疫タンパク質を作るとき、不要な情報を担うDNAは切り離され、必要とする遺伝情報の間でDNAを連結させる。この必要な遺伝情報を担うDNAの切断端を指す。

銅モデル化合物を用いる動脈硬化発症機構の解明

放射線による生体影響の多くは、放射線によって生体内に生じる活性酸素によると考えられている。一方、先進諸国においてがんと共に主な死亡原因となっている脳卒中や心筋梗塞といった循環器障害の主因である、動脈硬化もまた活性酸素が疾病の起因の1つと考えられている。動脈硬化の発症機序は、活性酸素による脂質過酸化、つまり脂質ヒドロペルオキシドが生成し、その分解物であるマロンジアルデヒド、4-ヒドロキシノネナルなどのアルデヒドが低密度リポ蛋白 (LDL) の蛋白質と反応して生ずる酸化LDLがスカベンジャー受容体を介してマクロファージに取り込まれ、マクロファージが泡沫細胞に変性する (図1)。この細胞が血管壁に多数蓄積し、動脈硬化を発展させると考えられている。

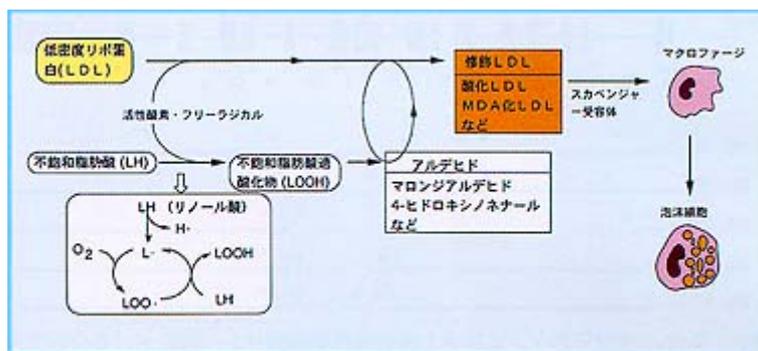


図-1

最近、細胞での酸化的修飾で生じた変性LDLの性質が銅イオンによる酸化的修飾で生じた酸化LDLと類似していることが明らかにされた。これ以後、動脈硬化の発症機序の解明のために、銅イオンによるLDLの酸化機構の研究が多数行われているが、現在でもその生成機構は完全には解明されていない。

銅イオンによるLDLの酸化において、銅イオンがLDLのアポB蛋白質と結合することが反応開始に必要であることがEsterbauerや葛谷らにより明らかにされたが、LDLのアポ蛋白の分子量は約500,000ダルトンであり、多数の銅イオンとの結合様式を完全に理解することはむずかしい。そこで、機構解明のためにはモデル化合物を用いた研究が重要だと考えられる。我々はアポ蛋白においてもアミノ酸の中で銅イオンと親和性が高いヒスチジンが銅イオンとの結合に関与していると予想して、LDLのアポB蛋白質のモデル化合物として種々の酸化還元電位を持ったヒスチジン含有化合物の銅 (Cu (II)) 錯体、Cu (II) (CyHH) 2 (CyHH: cyclo (L-histidyl-L-histidyl) (0.282 V vs. NHE)、Cu (II) (OP) 2 (OP: o-phenanthroline) (0.147 V)、Cu (II) (HGG) (HGG: L-histidylglycylglycine) (0.082 V)、Cu (II) (en) 2 (en:

ethylenediamine) (-0.014 V) を合成した。括弧内の数字は酸化還元電位を示す。これらの銅錯体によるLDLの脂質の主構成成分であるリノール酸の酸化をリノール酸の酸化過程で生じる共役ジエンの234nmの吸光度の経時変化と高速液体クロマトグラフによるリノール酸過酸化物の同定から解析した結果、酸化還元電位の高い銅錯体が酸化還元電位の低い銅錯体よりも速くリノール酸を過酸化し、さらに分解することを見いだした(図2)。これはアポ蛋白に結合した銅が酸化還元電位の高い値を示す配位環境にあることを示唆する。

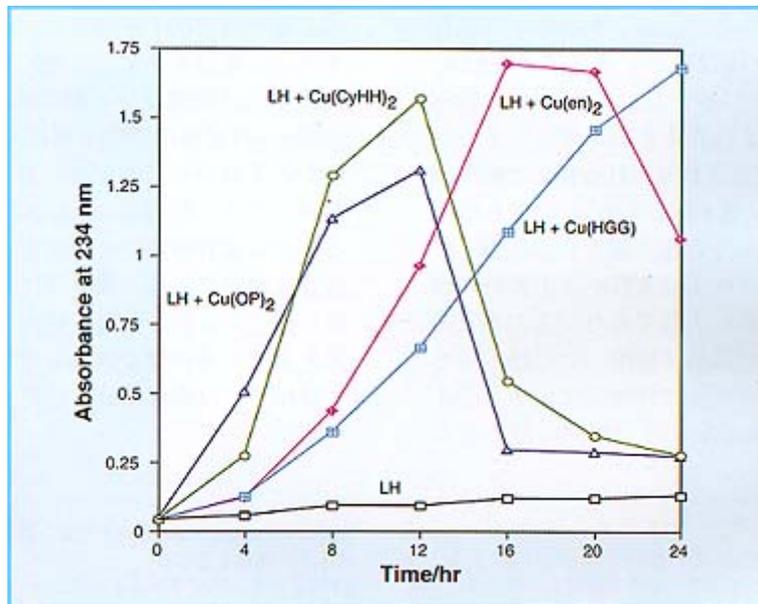
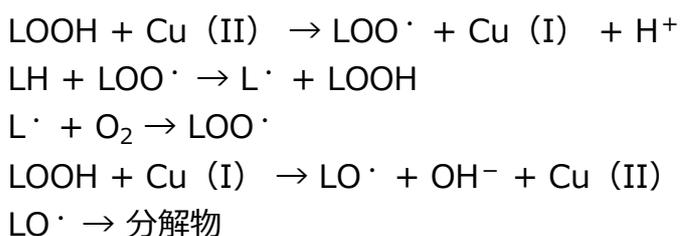


図-2

銅錯体によるリノール酸 (LH) の酸化は下式に示すようにリノール酸過酸化物 (LOOH) の生成とその分解を伴って進行すると考えられる。



現在、中間生成物であるラジカル種 (LOO \cdot) の有無の確認を電子スピン共鳴装置を用いて行っている。

今後は、本研究で得られた結果を基に、LDLの酸化機構、さらには動脈硬化の発症機序の解明を行いたいと考えている。

(第1研究グループ 上田 順市)

座位治療台による多方向・多門照射システム

HIMACではこの6月から新型の座位治療台による頭頸部の治療照射をスタートしました。イス型の座位治療台は、水平固定ポートを持つHIMACの照射室Cに設置されています。患者さんはイスに座った状態で頭部をマスクで固定され照射を受けます。同じ固定状態のままイスを回転（ローテーション）させることにより、水平面内の任意の方向からの照射が可能になりました。

重要臓器への照射を避け、かつ標的に線量を集中させる上で照射方向は重要な要素です。X線治療用のリニアックでは患者固定のままビームポートを患者の周りに回転させ、適切な方向から照射するのが普通です。このような観点から最近の陽子線治療施設ではビームポートを回転させる機構（ガントリー）が普及しつつあります。しかしながら陽子線の場合でさえガントリー機構は直径10m（重さ数10トン）近い大型の装置であり、これをもっと重たい粒子線である重イオンに応用するとなると、さらに大型の回転機構になることが予想され技術的・費用的に極めて難しくなります。そこで固定照射ポートを用い、ガントリーと等価な照射を目指して開発したのがこの座位治療システムです。イス全体の上下・前後・左右への移動の他、背もたれのリクライニング角度が制御できます。また、ヘッドレストは左右回転（ローリング）・前後回転（ピッチング）・高さが高精度で電動制御できます。特にヘッドレストについては、角度調整時に患者と固定具との間にズレが生じないようにするため、患者の首近傍が回転中心になるように設計されています。さらに座り心地を考慮してイス座面には車用のシートを利用しました。固定・位置決めにおいて患者さんへの負担・不快感を軽減することは、照射中の位置精度を維持する上でも重要です。このように新型の座位治療台は人間工学的な考えをベースに現場で作業する放射線技師・医師の意見を取り入れて開発したものです。当面は1回の位置決め後1門の照射ですが、今年中には1回の位置決め後に数門の照射を連続して行う（多門照射）方法を臨床開始する予定です。

なお、従来の臥位治療台とも短時間で交換できるので、C室では座位・臥位の両方で治療を行っています。

さらに、C室には天井から吊り下げられたCT装置（Horizontal CT）があり、座った状態でCT撮影が行えます。患者は照射位置に座ったままで、CTガントリーが上下して撮影が行われます。このようなシステムは世界的にも例がないと思います。現在ルーチン的には座位治療計画用のCT撮影に用いていますが、さらに毎回の照射時の患者位置決めにもCTを用いる予定です。照射時の位置決めで1スライスのCTだけを撮影し、これと治療計画時のCT画像群（3次元のボリュームデータ）とを計算機上で自動的に画像比較を行い、任意の回転角を含む3次元の位置ズレを検

出します。既にファントム実験では0.5mm以下の高精度で位置ズレを検出できています。

現在の座位治療は頭頸部に限られますが、将来的には胸腹部の多方向・多門照射を実現すべく立位での照射も検討しています。「患者さんに不快感・負荷を与えず、短時間の位置決めで、高精度の重イオン照射を」が目標です。



(医用重粒子物理・工学研究部 蓑原 伸一)

健康アドバイス

痛風について



《痛風の原因》

検診で「尿酸値が高い」と指摘されたことはありますか？「尿酸」とは細胞の燃えかすで、プリン体という物質から出来ており、通常は老廃物として尿と一緒に排泄されます。しかし、尿酸が腎臓からうまく排泄されなかったり、魚介類や肉などプリン体を多く含む食品を取りすぎて血中に尿酸が増えすぎると固まって「尿酸塩」という細かいガラス片のような物になり、足の親指や膝関節に溜まって炎症を起こします。これが「風が吹いても痛い」という痛風発作の原因です。また、腎臓に溜まった場合は腎結石や腎炎の原因になります。

《痛風になりやすい人は？》

魚介類や肉、アルコールが好きな人がなりやすいです。30歳から60歳までの男性に多いのも特徴です。

《痛風になったら肉やアルコールは絶対ダメ？》

尿酸は体内でも作られています。飲食で合成される尿酸は、体内で合成される尿酸の5分の1の量なので、尿酸値が高値になってから厳しく食事制限しても効果はあまり期待できません。治療としては食事療法もちろん大切ですが、高値のまま放置すると心臓や脳、腎臓などに溜まって血管障害が出てくるので、そうなる前にまず内科を受診して詳しい検査を受け、必要に応じて尿酸値を下げる薬を飲むことが重要です。

《痛風を予防するには？》

1. 肉、魚介類ばかり食べない（ゆでてから使うとプリン体が減る）。
2. 水分をたくさんとる（尿量が増えると尿酸の排泄が促進される）。
3. 野菜、海藻類をたくさん食べる。
4. 肥満を予防する。
5. 酒は1日に日本酒なら1合、ビールなら大瓶1本、ウイスキーならダブル1杯を限度とする。特に清酒、ビール、ワインはプリン体が多いので飲み過ぎに注意する。
6. 汗をかく程度の運動をする（代謝を良くすると尿酸の排泄も促進される）。
7. だし汁は昆布を使う（煮干し、小魚、鰹節はプリン体が多い）。

(健康管理室 海老原 幸子)

お知らせ

■ 人事異動

年月日	氏名	異動内容	旧(現)
11. 7. 6	松本 恒弥	併解 企画室総括研究企画官	(企画室長)
11. 7. 6	菱山 豊	昇任 企画室総括研究企画官	科学技術庁 原子力安全局 原子力安全課長補佐 (総括担当)

■ 主な来訪者

平成11年 6月21日	南野 参議院文教科学委員長 ご視察
平成11年 6月28日	尾形 癌研病院長 ご視察