

東京大学アイソトープ総合センター



ニエス

VOL. 40 NO. 4 2010. 3. 25

何が今アイソトープ総合センターに期待されているのか？

関 興 一

昨年6月北海道大学で第33回全国国立大学アイソトープ総合センター長会議が開催された。今回の会議で感じたのは、ここ数年の間に全国のいわゆるアイソトープ総合センターというものが大きな曲がり角に立っているということだ。平成15年の国立大学の法人化は大きな転機の一つであったことは間違いがないであろうが、近年の変化は全く別のものであるような気がする。センター群として情報を共有し、問題を共同して克服していくといったこれまでの共通認識を持つにはあまりにも異なった事情を抱え始めているように思われた。それは大学によって、組織内の位置付け、財政的基盤、人的支援に大きな差があることにもあろう。しかし、これまで20世紀後半の分子生物学の爆発的進展の陰の主役であったラジオアイソトープ(RI)の利用法に陰りが見え始めたことがより大きな要因となっているように思われる。こうした変化の中で、センターは一体どのようにしたいのかといったビジョンを持ち、それに向けてどのような行動をしているのかということが今問われているような気がする。確かに、学問の進展に伴いRIの代替手法が開発されRIが必ずしも必要でなくなったのは事実で、仕方がないと言われればその通りと思う。とはいえ、いくつかのセンターでは、既にRI利用法の新たな模索を始めている。医療分野におけるRI画像診断法の爆発的進展の潮流にうまく乗り、中心的役割を担っているところさえもある。ただ、これらの分野の研究には従来のRI利用研究と比べ、巨大な資金が必要であり、また異分野にまたがる横断的研究グループの構築も必要となり、そう容易に方向変換ができるというものでないことは想像に難くない。では、センターに残された役割はほかにないのだろうか。今回のセンター長会議で、会長の石井慶造東北大学教授は、「放射線は原子レベルの現象を容易に理解できる教材であり、その教育は先進科学を推進するための基盤および基礎教育の一つとして考えられ、利用者の数の大小に関わらず、大学で行うべき教育である。我国が高度な科学技術立国を維持して行くためには、理系、文系を問わず、放射線についても理解できる人材を育てていくことが必要である。この意味では、放射線教育は大学に限ることなく、広く社会一般に開かれたものになる必要がある。」と提案し採択された。

センターが果たすべき役割はまだ多い。その意味で東京大学に期待されるものは極めて大きいと考える。
(北海道大学アイソトープ総合センター特任教授)



エダラボン(ラジカット)による放射線防護効果 および増感効果の研究

笹 野 仲 史

1. はじめに

高齢化社会を迎えて、癌による死亡者数は年々増加している。癌の主な治療法として、手術、放射線治療、化学療法があるが、近年は放射線治療や化学療法の占める割合が増えている。放射線治療については、その効果をより高くするように様々な研究がなされている。特に、放射線による正常組織への副作用が問題となることがあり、正常組織の副作用を減らしつつ、腫瘍の治療効果を上げることができるよういろいろな方面からアプローチがなされている。一つには、照射装置を改善することにより達成される物理的方法がある。これは、照射精度を良くすることにより正常組織を避けつつ腫瘍に線量を集中させるやり方であり、定位照射、IMRT (intensity modulated radiation therapy; 強度変調放射線治療)、陽子線治療、重粒子線治療などがある。他のアプローチとして、正常組織の放射線感受性を低下させ、腫瘍組織の放射線感受性を上昇させる方法がある。その一つの手段として、放射線防護剤、放射線増感剤がある。

現在、アミフォスチンが米国食品医薬品局で放射線防護剤として唯一認可された薬剤であり、耳下腺が照射された時に起こる口腔内乾燥症の予防目的のみで保険使用が許可されている¹⁾。ただし、嘔気などの副作用があり、臨床的に広くは使用されていない。一方、放射線増感剤としては、シスプラチン、5-FUなどの抗癌剤を放射線と同時に投与することにより、相乗効果があるとされており、広く用いられている²⁾。また *in vitro* では wortmannin が DNA 修復系を阻害することにより放射線増感効果をもたらす薬剤として知られているが³⁾、副作用のため臨床使用に至っていない。このように、放射線防護剤、放射線増感剤の研究は目覚ましく進んでいるとは言えない現状である。

放射線防護剤、放射線増感剤について研究するにあたって、放射線により細胞死がどのようにして起こるのかを知ることは大切である。X線照射による細胞死は直接効果と、間接効果よりなる⁴⁾。直接効果は、照射エネルギーが直接DNAの切断を起し、細胞死に導く。間接効果は、照射により細胞内の水分子が励起され、ROS (reactive oxygen species) を発生し、このROSが細胞に傷害を与えて細胞死に導く。間接効果が放射線による細胞傷害の60~70%を占めると言われている⁵⁾。ROSにより傷害された細胞は間期死または増殖死^{*1}によって細胞死を迎える⁶⁾。X線照射による胸腺細胞の死の大部分はアポトーシス(プログラムされた細胞死)と呼ばれる間期死による⁷⁾。よって、ROSを消去する薬剤があれば、アポトーシスを抑えることができ、それによって細胞の生存率を改善することができると考えられる。このようにして細胞の生存率を改善する薬剤を見つけることができ

*1 間期死と増殖死

間期死とは、細胞が分裂することなく死滅することで、増殖死とは、細胞が数回の増殖の後に、無限増殖能を失うことにより死滅することである。

ば、臨床的に正常組織の放射線傷害を抑制する放射線防護剤として使用できる可能性がある。

我々のグループではエダラボン (MCI-186; 化学名: 3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one; 商品名: ラジカット) という薬剤に注目した^{8, 9)}。これは、脳梗塞の治療などに臨床的に広く使用されている薬剤である。このエダラボンは電子供与型のフリーラジカルスカベンジャーとして知られており、放射線照射によって発生したROSを消去することにより細胞の生存率を改善することが期待できる。すなわち、エダラボンが放射線防護剤になる可能性があると考えた。

2. エダラボンによる放射線防護効果と放射線増感効果

MOLT-4細胞 (ヒトT細胞白血病細胞株) という、放射線で高率にアポトーシスを起こす細胞を用いて¹¹⁾、色素排除試験により、エダラボンを投与して照射した後の細胞の生存率を調べた (図1)。エダラボンの濃度を高濃度 (2.7~3mg/ml) にすると、照射単独に比べて細胞の生存率は改善して、予想されていたように放射線防護効果が認められた。エダラボンの濃度を低濃度 (0.15~1.5mg/ml) とした場合には、逆に照射単独に比べて細胞の生存率が低下して、放射線増感効果が認められた。放射線増感効果については、意外な結果となった。

次に、この細胞死にアポトーシスが関与しているかどうか調べるために、AnnexinV-PI染色^{*2)}を行った。その結果、エダラボンによる放射線防護効果はアポトーシスを抑制することにより起こっており、エダラボンによる放射線増感効果はアポトーシスを増やすことにより起こっていることが分かった。

細胞透過性のフリーラジカル検出試薬CM-H₂-DCFDAを用いて細胞内ROSの動態を解析したところ、X線照射により細胞内ROSは増加するが、3mg/mlのエダラボンを照射5分前に投与することにより、細胞内ROSがほぼ完全に消去されることが分かった (図2)。この原因として、エダラボンが細胞内ROSを除去している可能性が考えられた。また、放射線増感効果をもたらす0.75mg/mlの濃度であっても、細胞内ROSは抑制されていることが分かった。この結果から、放射線防護効果にはROSが関わっているが、放射線増感効果にはROSとは別の機序が働いていることが示唆された。

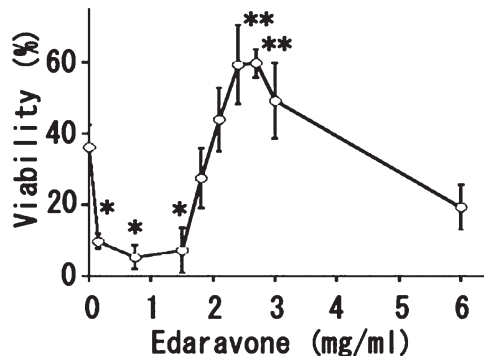


図1 エダラボンは高濃度では放射線防護効果を示し、低濃度では放射線増感効果を示す

2Gy照射5分前に様々な濃度のエダラボンを投与し、MOLT-4細胞の生存率を色素排除試験で調べた。色素排除試験とは、生細胞は色素を体外に排除できるが、死細胞は色素を排除できないために、死細胞のみ染色されるという違いによって、細胞の生死を判定する方法である。照射単独に比べて細胞の生存率が有意に低下しているものは*、有意に上昇しているものは**で示した ($p < 0.05$)。

*² AnnexinV-PI染色

AnnexinVは早期アポトーシスの細胞を染色する。PIは晩期アポトーシスやネクローシス (壊死) 細胞を染色する。この二つの色素で同時染色して、AnnexinVで染色され、PIで染色されない細胞を検出することにより、早期アポトーシスの細胞を検出することができる。

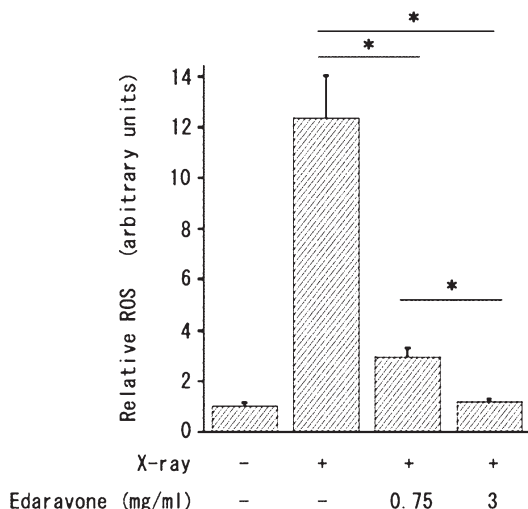


図2 エダラボンは放射線により発生する細胞内ROSを抑制する

フリーラジカル検出試薬CM-H₂DCFDAを用いて、細胞内ROS量の間接的定量を行った。この物質は、酸化活性を検出する蛍光プローブであり、細胞内で酸化されるまでは非蛍光であるが、ROSが存在すると還元状態の色素が酸化され、この色素が蛍光を発する* ($p < 0.05$)。

3. エダラボンによる放射線感受性の修飾にp53が関与している

癌抑制遺伝子産物であるp53は非常に良く研究されている転写因子であり、その細胞内での動態により、細胞傷害後の運命が変わってくる。すなわち、DNA傷害が起こった後、p53はリン酸化されるなどして安定化し、蓄積し、多くの標的分子の転写を活性化することにより、アポトーシスの促進や細胞周期の制御にかかわっている。特にMOLT-4細胞のアポトーシスにはp53が関与していることが示されている¹²⁾。Western blot法でp53の発現を調べたところ、p53の蓄積、p53のSer15残基のリン酸化は、5GyのX線照射により誘導されるが、高濃度(3mg/ml)のエダラボンを照射5分前に投与することにより抑制されることが分かった(図3)。これにより、エダラボンによる放射線防護効果には、p53の抑制が関与していると考えられた。

低濃度のエダラボンによる放射線増感効果についてもp53の関与を調べた。p53をノックダウンしたMOLT-4細胞で色素排除試験を行ったところ、照射単独でもアポトーシスは

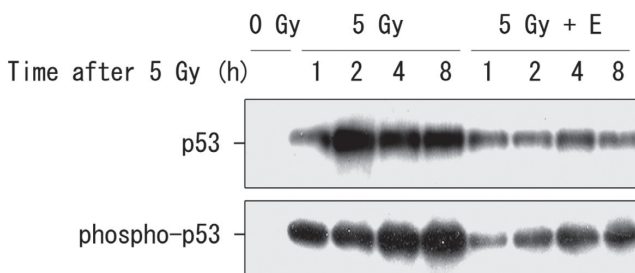


図3 高濃度エダラボン(E)によってp53が抑制される

MOLT-4細胞を5Gy照射したものと5Gy照射前に高濃度(3mg/ml)のエダラボンを投与したもので、p53の発現をWestern blot法により調べた。Western blot法とは、電気泳動法を用いて細胞内たんぱく質を分離し、そのたんぱく質を認識する特異的抗体を用いてたんぱく質を検出する方法である。上段はp53の発現量、下段はp53のリン酸化状態を表す。

ほとんど起こらなかったが、照射前に低濃度 (0.75mg/ml) のエダラボンを投与した場合でも放射線増感効果は見られなかった (図4)。このことから、低濃度エダラボンによる放射線増感効果にはp53が強くかかわっていることが示唆された。

4. 今後の展開

このように、エダラボンはMOLT-4細胞において、濃度により放射線防護効果や放射線増感効果を示す薬剤であることが分かった。そのいずれにおいてもp53が深く関与していることが示された。臨床的に、腫瘍細胞を増感して、正常組織を防護すれば願ってもない薬剤となるが、濃度の問題もあり、そう簡単ではないであろう。実際

に、臨床で脳梗塞の治療薬として用いられるエダラボンの血中濃度は、今回の実験で用いられた濃度の1000分の1程度である。しかし、さらなる研究の余地はあり、エダラボンは放射線治療の分野でも将来的に有望な薬剤となるかもしれない。

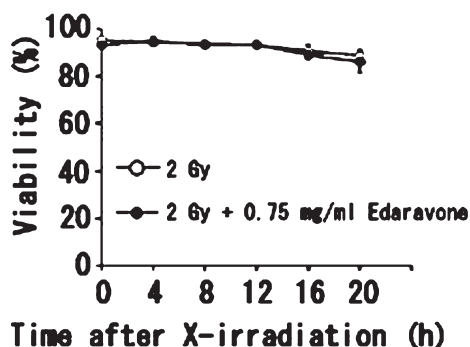


図4 p53ノックダウンにより低濃度エダラボンによる放射線増感効果は消失する
p53をノックダウンしたMOLT-4細胞を用いて、照射単独または照射+低濃度 (0.75mg/ml) のエダラボンを投与したもので細胞の生存率を比較した。ノックダウンとは、人為的な遺伝子発現抑制技術のことである。

参考文献

- 1) Kouvaris, J.R., Kouloulis, V.E., and Vlahos, L.J. (2007) *Oncologist* **12**, 738-747.
- 2) Rotman, M., Aziz, H. and Wasserman, T. (1997) *Chemotherapy and Irradiation. Principle and Practice of Radiation Oncology*, Third Edition. 705-722, *Lippincot-Raven Publishers*.
- 3) Hosoi, Y., Miyachi, H., Matsumoto, Y., Ikehata, H., Komura, J., Ishii, K., Zhao, H.J., Yoshida, M., Takai, Y., Yamada, S., Suzuki, N., and Ono, T. (1998) *Int J Cancer* **78**, 642-647.
- 4) Bernhard, W.A., and Close, D.M. (2004) *Charged Particle and Photon Interaction with Matter*. Eds. Mozunder A and Hatano Y, pp.431-470, *Marcel Dekker Inc*.
- 5) von Sontag, C. (1987) *The Chemical Basis of Radiation Biology*. *Taylor and Francis, New York*.
- 6) Radford, I.R., and Murphy, T.K. (1994) *Int J Radiat Biol* **65**, 229-239.
- 7) Kerr, J.F., Wyllie, A.H., and Currie, A.R. (1972) *Br J Cancer* **26**, 239-257.
- 8) Sasano, N., Enomoto, A., Hosoi, Y., Katsumura, Y., Matsumoto, Y., Shiraishi, K., Miyagawa, K., Igaki, H., Nakagawa, K. (2007) *J Radiat Res (Tokyo)* **48**, 495-503.
- 9) Sasano, N., Enomoto, A., Hosoi, Y., Katsumura, Y., Matsumoto, Y., Morita, A., Shiraishi, K., Miyagawa, K., Igaki, H., Nakagawa, K., *Cancer Lett* in press.
- 10) Watanabe, K., Watanabe, K., and Hayase, T. (1997) *Jpn Pharmacol Ther* **25**, S1699-S1707.
- 11) Enomoto, A., Suzuki, N., Kang, Y., Hirano, K., Matsumoto, Y., Zhu, J., Morita, A., Hosoi, Y., Sakai, K., and Koyama, H. (2003) *Int J Radiat Biol* **79**, 589-600.
- 12) Nakano, H., Yonekawa, H., and Shinohara, K. (2003) *J Radiat Res (Tokyo)* **44**, 179-183.

(医学部附属病院放射線科)

○平成22年度共同利用採択課題一覧

所 属	取扱責任者	研 究 課 題
附 属 病 院	黒 川 峰 夫	細胞成長因子受容体のクローニング
	唐 子 堯	細胞の運動性に関する研究
	伊 藤 晃 成	鉄キレート複合体の細胞膜透過機構の解析
工 学 部	野 村 貴 美	メスバウアー分光法による機能材料の解析
	山 崎 裕 一	人工ウイルスベクターの分子設計
	来 栖 太	環境中において微量汚染物質分解を担う微生物の探索
	野 村 貴 美	天然鉱物の放射能測定
	小 佐 古 敏 荘	自然放射性物質の放射能計測
	伊 豫 本 直 子	イメージングプレートを使用したX線ラジオグラフィ
	田 畑 仁	機能性酸化物薄膜による室温マルチフェロイック材料の創成
先 端 研 理 学 部	百 瀬 敏 光	癌特異モノクローナル抗体による癌の放射線治療法の開発
	小 橋 浅 哉	環境試料に含まれる放射性核種
	橘 和 夫	海産毒とその標的分子間の相互作用解析
	長 尾 敬 介	中性子照射を利用した ⁴⁰ Ar- ³⁹ Ar及びI-Xe法による隕石・地球鉱物の年代測定
	難 波 俊 雄	オルソポジトロニウム崩壊を通じた新しい素粒子現象の探索
	砂 村 倫 成	冷湧水、熱水環境における無機炭素化合物の生物地球科学的物質循環に関する研究
教 養 学 部	斎 藤 晴 雄	2光子角相関法による陽電子消滅の研究
	松 尾 基 之	メスバウアー分光法及び放射化分析法による環境試料の分析
薬 学 部	林 久 允	哺乳類動物細胞における医薬品の膜透過機構の解析
	関 水 和 久	遺伝子発現制御の分子メカニズム
アイソトープ	西 頭 英 起	小胞体ストレスによる亜鉛恒常性の維持
	野 川 憲 夫	地球表層における宇宙線生成核種の分布
	桧 垣 正 吾	大気中微量成分の分布と挙動
	野 川 憲 夫	生体物質とRI標識物との反応に関する研究
	野 川 憲 夫	放射性核種の環境での挙動
	小 池 裕 也	放射線施設等における漏洩放射線の二次元画像化の検討
	秋 光 信 佳	哺乳動物細胞の遺伝子発現の制御機構の解析
	小 池 裕 也	天然放射性核種の分布と挙動に関する研究
	跡 見 順 子	トレーサー技術を利用した運動と栄養の評価系の再構築
	秋 光 信 佳	細胞膜に局在する蛋白質の動態解析

○委員会だより

センター運営委員会	第121回12月14日(月)、第122回3月15日(月)
放射線・安全衛生管理委員会	10月7日(水)、10月26日(月)、11月9日(月)、 11月30日(月)、12月21日(月)、1月5日(火)、 1月18日(月)、2月1日(月)、2月15日(月)、 3月8日(月)、3月29日(月)
センターニュース編集委員会	10月22日(木)、1月22日(金)

○センター日誌

平成21年度全学一括講習会受講修了者数(月別)

	4月	5月	6月	7月	9月	10月	11月	1月	2月	3月	合計
RI コース	20	42	65	9	11	13	10	6	7	11	194
英語RI コース	4	0	1	3	1	2	1	3	2	1	18
RIX コース	22	52	74	21	6	7	5	5	3	2	197
英語RIX コース	3	2	5	3	2	3	5	3	2	2	30
合 計	49	96	145	36	20	25	21	17	14	16	439
X線コース	10	125	45	30	13	15	11	3	3	5	260
英語X線コース	1	12	4	1	1	4	7	3	2	0	35
合 計	11	137	49	31	14	19	18	6	5	5	295
全コース合計	60	233	194	67	34	44	39	23	19	21	734

平成21年度全学一括講習会受講修了者数(部局別)

	RI コース	英語RI コース	RIX コース	英語RIX コース	X線 コース	英語X線 コース	計
医学系研究科	13	4	4	3	2		26
医学部附属病院	11		1		1		13
工学系研究科	37		38	10	109	20	214
理学系研究科	9		32	3	26	5	75
農学生命科学研究科	20	5	31		30	2	88
総合文化研究科	12		2		3		17
薬学系研究科	6		1	2	1		10
新領域創成科学研究科	31	1	48	6	13	2	101
医科学研究所	9	2	16	5	8	3	43
地震研究所					1		1
生産技術研究所	1	1	1		22	1	26
分子細胞生物学研究所	14	3	3				20
宇宙線研究所	3	1			2		6
物性研究所	2		14		8	1	25
海洋研究所			3		11	1	15
先端科学技術研究センター	9				9		18
総合研究博物館					1		1
アイソトープ総合センター	7	1	2		12		22
環境安全研究センター				1			1
生物生産工学研究センター	2		1		1		4
素粒子物理国際センター	8						8
計	194	18	197	30	260	35	734

学生実習

平成21年11月4日・5日(2日間) 医学部医学科

12月3日～11日(8日間) 薬学部

1月26日～29日(4日間) 理学部生物化学科

東京大学アイソトープ総合センターニュース

目 次

何が今アイソトープ総合センターに期待されているのか？……………	関 興一	1
研究紹介		
エダラボン(ラジカット)による放射線防護効果および増感効果の研究 ……………	笹野 仲史	2
平成22年度共同利用採択課題一覧……………		6
委員会だより……………		6
センター日誌……………		7

センターニュース編集委員会名簿(平成21年度)

委員長	榎森 康文	大学院理学系研究科生物化学専攻
委 員	榎本 敦	大学院医学系研究科疾患生命工学センター放射線分子医学部門
〃	田野井慶太郎	大学院農学生命科学研究科放射性同位元素施設
〃	角野 浩史	大学院理学系研究科地殻化学実験施設
〃	埴 和之	アイソトープ総合センター研究開発部生物部門
〃	富田 正明	アイソトープ総合センター事務室主査
オブザーバー	秋光 信佳	アイソトープ総合センター研究開発部
幹 事	鈴木ミツ子	アイソトープ総合センター事務室業務係

編集委員会より

東京大学アイソトープ総合センターニュース、平成21年度の最終号(Vol.40, No.4)ができました。新たな年度には新編集委員を迎えますので、センターニュースは伝統を踏まえつつも新しいものを取り入れたいと考えております。このような記事・情報を掲載して欲しい、あるいは、記事を執筆したいなど、皆様からの御意見や御希望をお寄せいただければと思います。