

放射光のがん治療応用のための基礎研究 Cancer Therapy Application with Synchrotron Radiation

佐藤 克俊、秋野 祐一、松本 政雄、沼崎 穂高、稲岡 美穂、富田 恒幸、手島 昭樹
Katsutoshi Sato, Yuichi Akino, Masao Matsumoto, Hodaka Numasaki, Miho Inaoka,
Tsuneyuki Tomita, Teruki Teshima

大阪大学大学院医学系研究科 医用物理工学講座
Department of Medical Physics & Engineering, Osaka University Graduate School of Medicine

アブストラクト

この実験の目的は PAT(Photon Activation Therapy)が、がん細胞の生存率、転移能へ与える影響を評価することである。IUdR を投与したヒト線維肉腫細胞株(HT1080)に 50keV 単色 X 線を照射し、生存率・浸潤・遊走能へ与える影響を評価した。その結果、浸潤能は単色 X 線の照射によって亢進した。一方、遊走能は 9Gy の照射によって抑制された。しかし、生存率は確認できなかった。この実験により、PAT はがん細胞の浸潤能を亢進させる傾向が示唆された一方、照射方法を改善する必要があることが明確となった。

Abstract

The purpose of this study is to evaluate influence of PAT(Photon Activation Therapy) on cancer metastasis and survival. Human fibrosarcoma cell line (HT1080) was irradiated with 50 keV monochromatic X-ray after IUdR treatment. After irradiation, cell survival, invasion, migration capability were measured. In the results from irradiation, cell invasion was increased along with doses of IUdR. Whereas, cell migration was suppressed by 9Gy irradiation. However, cell survival rate was not possible to observe. This findings suggest that cell invasion capability was increased by PAT. On the other hand, It is necessary to improve the irradiation method.

背景と研究目的：

PAT(Photon Activation Therapy)とは、がん細胞に I や Br 化合物を投与し、その元素の K 吸収端に相当するエネルギーの X 線を照射することにより増感効果を得る放射線治療方法である^{1), 2)}。今回、我々は 2006B 期に実施した結果の再現性の確認、より低い薬剤濃度における増感効果の検証、その場合のがん細胞の転移能への影響の評価を目的として実験を行った。

実験材料・方法：

細胞株・薬剤

細胞株は HT1080 (ヒト線維肉腫細胞株) を用いた。薬剤として 1 μ M、10 μ M の IUdR(SIGMA)を照射 48 時間前に投与し培養した。

照射方法

細胞への照射は、ビームライン BL20B2 にて行った。用いた X 線のビームサイズは 300mm \times 5mm、エネルギーは 50keV、線量率は

3.27cGy/min であった。細胞への照射は T25 フラスコ(IWAKI)へ細胞を撒き、細胞が接着しているフラスコ面全体に X 線が照射されるよう傾斜を持たせ行った。さらに X 線の減弱を考慮し照射直前に培養液をすべて吸引除去し照射した(Fig. 1)。

実験方法

照射後の細胞生存率、浸潤能、遊走能は、それぞれ colony formation assay, matrigel invasion assay, Boyden chamber assay により評価した。

結果：

Colony formation assay(細胞生存率)

各濃度の IUdR を投与した細胞への 50keV 単色 X 線の照射終了後、任意の細胞数にて subculture を行った。その後 12 日間にわたり細胞の培養を行ったが、コロニーは形成されなかった。

Matrigel invasion assay (浸潤能の評価)

IUdR を 1 μ M 投与して 0.5Gy、2Gy の 50keV X 線を照射した場合、非照射群と比較して有意

に亢進した。一方、9Gy 照射した場合、有意に抑制された。IUdR を 10 μ M 投与した場合、1 μ M と同じ傾向を示し、2Gy の照射で浸潤能は亢進する傾向にあった(Fig. 2A)。

Boyden chamber assay(遊走能の評価)

IUdR を 1 μ M 投与して 0.5Gy の 50keV X 線を照射した場合、非照射群と比較して有意に抑制された。一方、2Gy 照射した場合、非照射群と同等となり、9Gy の照射では有意に抑制された。IUdR を 10 μ M 投与した場合、非照射群と比較して 0.5Gy、2Gy では変化がなかったが、9Gy の照射で抑制された(Fig. 2B)。

考察：

2006B では IUdR を投与した細胞に 50keV 単色 X 線を照射したとき、LINAC から発生される 4MV 連続 X 線に比べて顕著な増感効果が確認された。今回は前回と同じ条件で得られた細胞生存率、転移能へ与える影響の再現性について評価を行った。さらに、より低い濃度の IUdR においても同様に増感効果があるかどうか評価した。

細胞生存率を得るために colony formation assay を行った。しかしコロニーを形成することができなかった。原因として照射条件と照射時間の延長が考えられる。照射時、X 線減弱を軽減するため、培養液をすべて吸引除去している。また、ビームラインの線量率は非常に低く、1Gy 照射するために約 1 時間費やしている。さらに、評価因子として IUdR 1 μ M 投与群を追加したことにより 2006B 期に行った場合よりも照射時間が合計 12 時間程度延長した。従って、この間細胞は乾燥状態に曝されることになる。この影響が細胞生存率に影響したといえる。この条件の改善策として、カプトン膜を用いて照射する方法が推奨される(Fig. 3)。カプトン膜はオートクレーブが可能であり、清潔状態で乾燥を防止できるとともに、25 μ m ほどの薄さのため X 線の減弱を考慮する必要がない。現在、カプトン膜を利用した培養方法を用いて培養時間と細胞死の関係について解析中である。

遊走能、浸潤能はがん細胞の転移能を示す指標の一つである。Matrigel invasion assay, Boyden chamber assay では浸潤能、遊走能に及ぼす PAT の影響が示された。Matrigel invasion assay において 0 μ M 群について着目した場合、0.5Gy、2Gy 照射すると浸潤能が亢進する傾向にある。さらに 1、10 μ M 群に 0.5Gy、2Gy 照射しても 0 μ M 投与時の浸潤能

に比べて上昇していることがわかる。また、9Gy 照射した場合、薬剤濃度を上昇させるに従い亢進する傾向にある。これは PAT はがん細胞の浸潤能を亢進させることを示している。一方、Boyden Chamber assay においては Matrigel invasion assay にみられた 2Gy 以下の照射時の顕著な浸潤能亢進は、薬剤投与時においてもみられない。さらに、薬剤濃度を上昇させ 9Gy 照射すると、遊走能を抑制する効果があることがわかる。以上の結果は、IUdR を投与し 50keV 単色 X 線を照射した場合、0.5Gy から 2Gy 程度の照射では遊走能に大きな影響を与えないが、浸潤能は亢進することを示している。これは PAT としてこの範囲の線量を照射した場合、がん細胞の転移能を亢進させることを示唆していると言える。

以前、我々は 0.5Gy、2Gy の X 線照射はがん細胞の浸潤・遊走能を亢進させるが、同等の生物学的効果比を持つ炭素イオン線の照射では抑制できることを示した^{3), 4)}。PAT は DNA に摂取される薬剤、例えば IUdR、BrUdR、シスプラチンなどを細胞に投与し、それらの K 吸収端に相当するエネルギーを持つ X 線を照射することにより、DNA 近傍から発生する Auger 電子を利用する治療方法である^{1), 2)}。この原理により、PAT は炭素イオン線と同様の効果を持つと予測される。しかし、結果として matrigel invasion assay において 0.5Gy から 2Gy の照射で浸潤能の亢進が示されたため、高 LET 放射線のような低線量での転移能の抑制はできないと言える。しかし、培養液の除去による乾燥が原因と考えられる細胞の死滅のため 2006B 期の細胞生存率の再現性を確認できなかったこともあり、この結果が確定的であると考え難しい。今後、X 線の減弱を考慮する必要のある実験では、カプトン膜、またはその他の有用な資材を用いて、できる限り細胞のストレスのない条件が必要といえる。

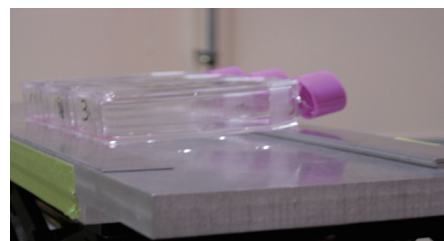


Fig. 1. Method of irradiation.

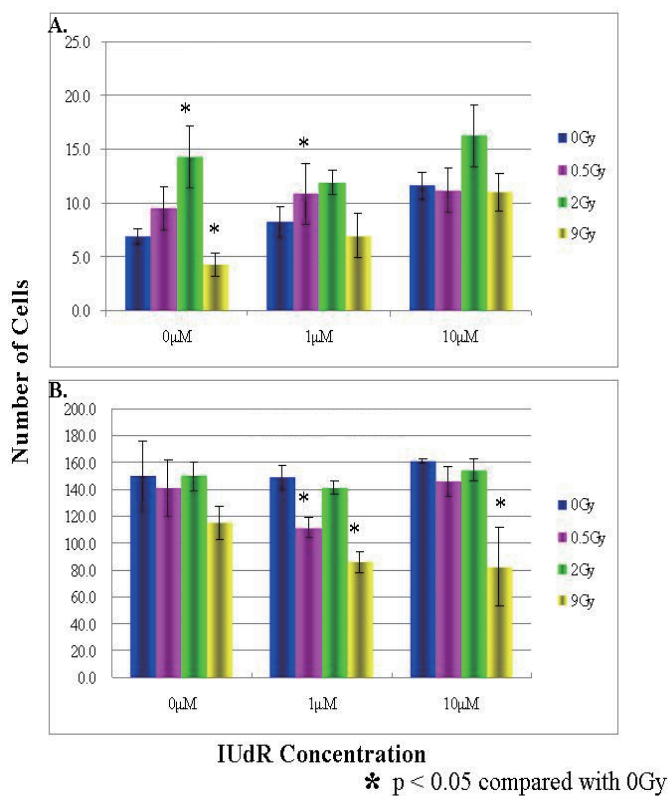


Fig. 2. Results from metastasis capability assay. A. and B. shows matrigel invasion assay(cell invasion capability) and Boyden chamber assay(cell migration capability), respectively.

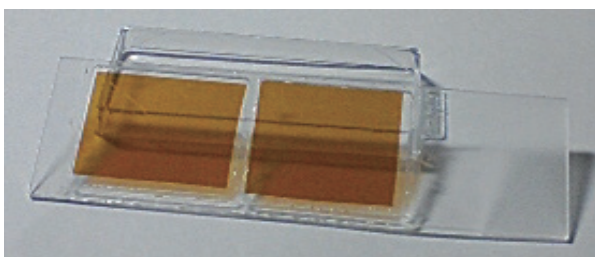


Fig. 3. Culture method using Kapton film.

参考文献 :

- 1). Corde S, Synchrotron radiation-based experimental determination of the optimal energy for cell radiotoxicity Enhancement following Photoelectric Effect on Stable iodinated Compounds. Br J Cancer 2004; 91:544-551.
- 2). Karnas J S, Optimal photon energies for IUdR K-edge radiosensitization with filtered x-ray and radioisotope sources. Phys. Med. Biol. 1999; 44:2537-2549.

論文発表状況 :

- 3). Ogata T, Particle irradiation suppresses metastatic potential of cancer cells. Cancer Res 2005; 65:113-120
- 4). Takahashi Y. heavy ion irradiation inhibits in vitro angiogenesis even at sublethal dose. Cancer Res 2003; 63:4253-4257.

キーワード :

PAT(Photon Activation Therapy)・放射線生物学・放射線治療