

放射線耐性腫瘍における微小循環系の形態的特性の解析

[1] 組織

代表者：江崎 太一

(東京女子医科大学)

対応者：福本 学

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

北原 秀治 (東京女子医科大学)

桑原 義和 (東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費100千円，旅費0千円

(本研究の目的・概要)

形態や機能の温存の点で優れた放射線治療は、癌の重要な治療法のひとつである。しかし、放射線治療中に出現する放射線耐性細胞の存在が再発を始めとする放射線治療の予後不良の原因となることが報告されている。そのため、放射線耐性の機構を解明し、より有効な放射線治療の開発が強く望まれている。そこで本研究では、ヒト舌扁平上皮癌細胞株 SAS や子宮頸癌細胞である HeLa などと、それぞれに X 線を分割照射し樹立した放射線耐性細胞株 SAS-R や HeLa-R を用いてヌードマウスや SCID マウスへの移植腫瘍における組織学的解析と、その克服方法について、腫瘍の微小循環系に着目し検討した。本研究ではとくに、移植腫瘍における血流のある機能性腫瘍血管をトマトレクチンにて可視化するシステムを確立し、血管新生阻害薬および放射線治療後の腫瘍血管の機能的な変化について組織学的に解析し、さらには、腫瘍内に正常血管を再生させ、より有効な抗癌剤療法や、放射線化学療法の開発を目指した。

本研究に先駆けた実験において、標準的な放射線治療と同様に SAS (図1) や HeLa に 1 日 2Gy の X 線を継続的に分割照射し、臨床的放射線耐性細胞 SAS-R (図2) や、HeLa-R の樹立に成功した。これらの細胞は、X 線を 1 日 2Gy 30 日以上照射しても増殖し続けるという特徴を有し、遺伝的背景が同じである親株との比較をすることにより、放射線耐性に特有な分子生物学的特徴を解明するために非常に有益な細胞である。

これらの腫瘍細胞をヌードマウス皮下に移植する

と、SAS-R 由来腫瘍では SAS 由来腫瘍と比較して、腫瘍血管の密度が有意に高いことを報告した。また同様に、血管新生阻害薬である mTOR 阻害薬 (Everolimus) により SAS-R 腫瘍の放射線耐性が克服され、血管の正常化 (Normalization) も確認した。

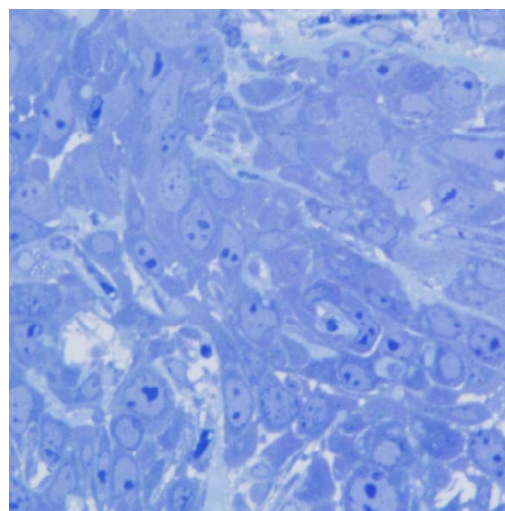


図1 SAS 腫瘍

腫瘍細胞は、密集して増殖しており、間質は少なく、腫瘍血管は少ない。移植1週間後には中心部に壊死層が認められる。

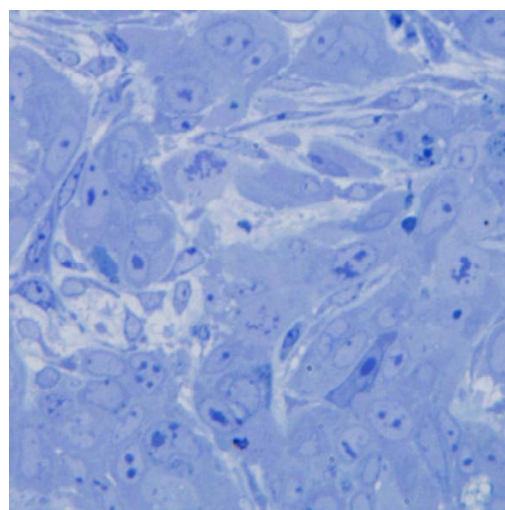


図2 SAS-R 腫瘍

腫瘍細胞に Mitosis が多く見られ、間質が非常に多く、腫瘍血管も SAS に比べ非常に多い。移植1週間後でも中心部に壊死層は認められない。

以上の結果より、臨床放射線耐性腫瘍と腫瘍血管の関係が明らかになってきたので、本年度はさらにその特性を追究するために、臨床放射線耐性腫瘍内の腫瘍血管を正常血管に置き換える研究計画を立案した。予備実験として、通常腫瘍において同様の研究をし、以下の結果を得た。

(研究活動状況の概要)

H23年6月23日：東北大学 加齢医学研究所にて共同研究を行った。

H23年6月24, 25日：第17回国際癌治療増感研究会（仙台）にて「腫瘍血管の正常化は腫瘍細胞の放射線感受性を上げるか？—腫瘍血管正常化モデルマウスの制作—」という演題にて研究成果の口頭発表を行った。

H23年12月16日：東京女子医科大学 解剖学・発生生物教室にてセミナー及び意見交換会及び共同研究を行った。

H24年2月1日：東京女子医科大学 解剖学・発生生物教室にて共同実験を行った。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

第一に、腫瘍増殖の現場では、血管新生以外にも血管の退縮がおこっていることは周知の事実である。そこで、退縮過程を形態学的に捉えるために、SAS腫瘍細胞をSCIDマウスに移植し、扁平上皮癌の治療に用いられるシスプラチンを投与し、その退縮過程を電子顕微鏡的に捉えた（図3）。

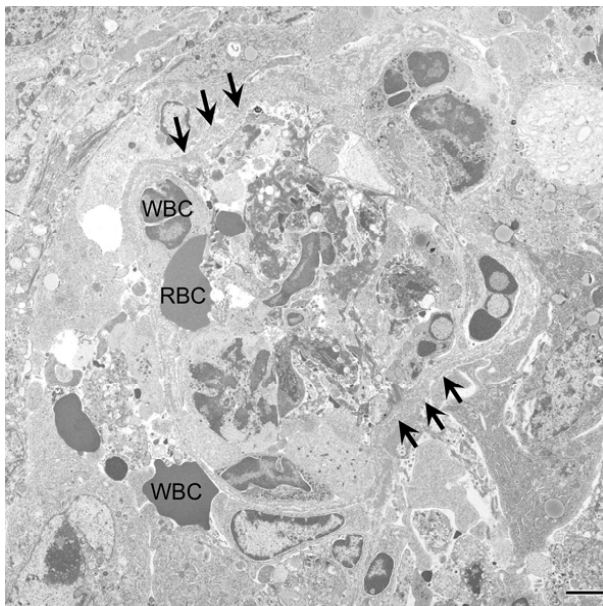


図3 シスプラチンによる血管退縮

血流も遮断され、基底膜だけの抜け殻になっている（矢印）。

Bar:2μm

第二に、臨床的放射線耐性腫瘍では、間質が多く、腫瘍血管密度も高く、VEGFの発現も高いことがわかっている。VEGF発現量の多い血管は未熟な腫瘍血管であるため、透過性の亢進や、血流の不均一のために、腫瘍内の低酸素化が進んでいる。我々は、腫瘍内にVEGFの発現が少ない血管を誘導すれば、低酸素化が改善されると仮定し、SCIDマウスにSASを移植し、腫瘍内に正常血管を再生させた。すると、移植した血管と宿主側の血管に吻合がみられ、血流の回復が認められた（図4）。この結果は、来年以降に予定している放射線耐性腫瘍での同様の研究へと発展する足がかりであり、将来的に、放射線耐性克服への道となることが示唆された。

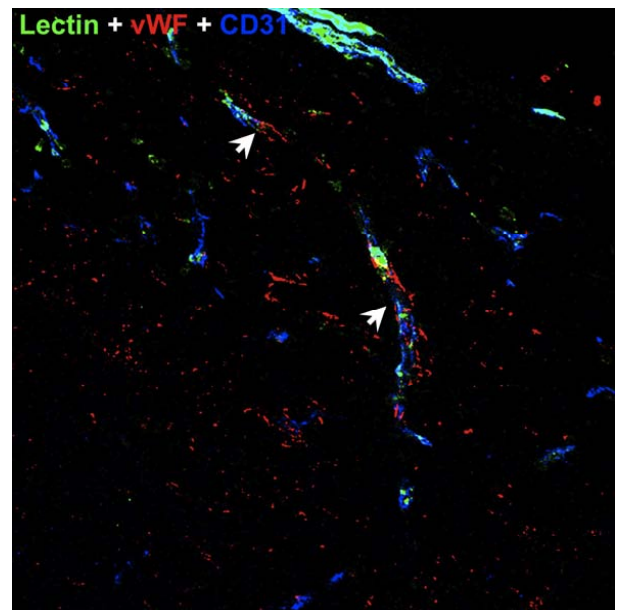


図4 腫瘍内の吻合血管

ヒト内皮細胞（赤）とマウス血管（青）が吻合し、血流（緑：トマトレクテン）が回復しているのが確認できる（矢印）。

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究は、学外研究者との交流が飛躍的に活性化に寄与した。また、本研究で明らかになった放射線や抗がん剤治療後の腫瘍血管の形態学的・機能的解析は、他の癌治療後の腫瘍内血管の組織学的評価や、移植再建分野における移植片とレシピエント側との血管吻合を可視化できるシステムとして、他の新しい研究にも応用可能であり、今後の発展が期待される。

[4] 成果資料

国際誌投稿にむけて共同で執筆中である。