

## 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)

福本 基 (東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費100千円，旅費0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 や、KB 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、KB-R を用いて 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、抗腫瘍薬や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、放射線化学療法を開発を目指した。

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 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 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 SCID マウス皮下に移植すると、放射線耐性腫瘍では親株腫瘍と比較して、腫瘍血管の密度が有意に高いことが確認できた。そこで、予備実験として、SAS、HeLa、KB 腫瘍に抗腫瘍薬 (CDDP) を投与し、その腫瘍内の微小環境の変化を観察した (図 1)。

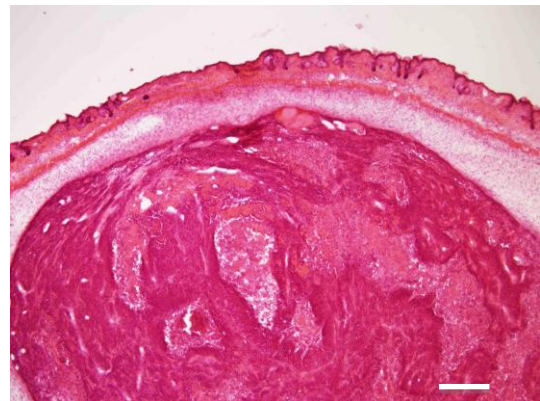


図1 CDDP を投与した SAS 腫瘍

腫瘍内に壊死層多数確認できるが、腫瘍自体は縮小しない。

Bar : 200  $\mu$ m

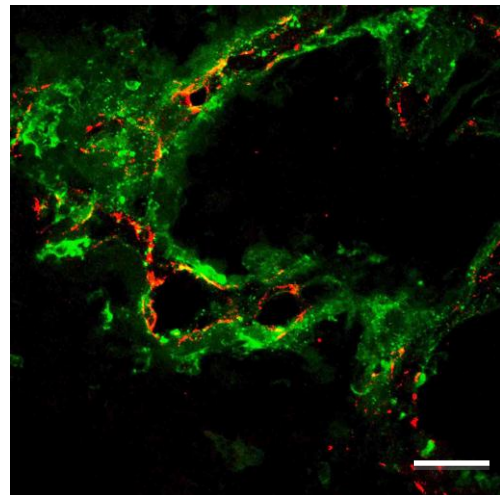


図2 CDDP を投与した腫瘍内の血管

腫瘍血管は破綻しており、注入したトマトレクチンは血管より漏出している。緑：トマトレクチン、赤：基底膜、Bar : 50  $\mu$ m

腫瘍内の血管は透過性の亢進がみられ (図 2)、血栓の出現、内皮細胞、基底膜の順に壊死していくことがわかった。以上の結果より、臨床放射線耐性腫瘍克服のために、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。さらに追加実験として、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)

H24年9月5～7日：第55回日本放射線影響学会（大会長：福本学）にて「臨床放射線耐性腫瘍を用いた新たな癌治療モデルの確立」という演題にて研究成果のポスター発表を行った。

[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、抗腫瘍薬を投与した腫瘍内の微小環境の変化に注目し、破綻した血管、壊死した腫瘍細胞とその周囲の間質の変化を詳しく調べ、血管を再生させるための足場が存在することが確認できた（図3）。

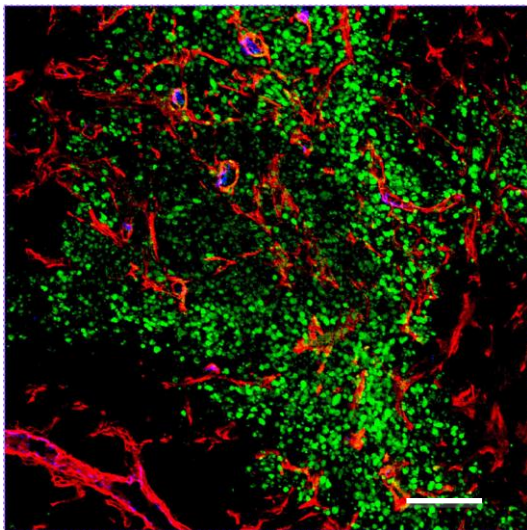


図3 CDDP 投与後の腫瘍内の線維成分

腫瘍壊死層にはTypeIV コラーゲン陽性成分が多数存在し、再生に必要な足場が存在することが確認できた。緑：TUNEL、赤：TypeIVcollagen  
Bar: 150 μm

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 や HeLa、KB 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。さらに、正常血管を再生させた腫瘍の成長速度は通常腫瘍より遅いことがわかった（図4）。この結果は、引き続き、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。

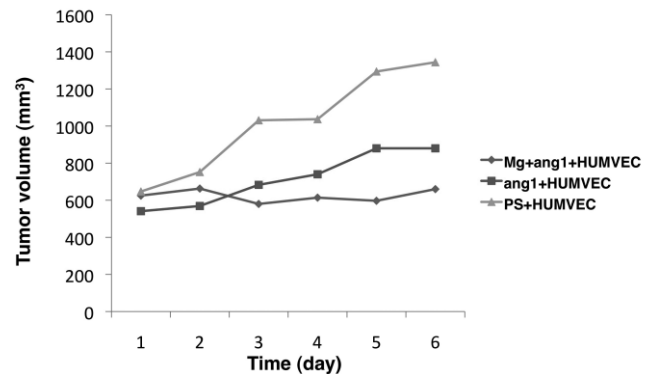


図4 正常血管を再生させた腫瘍

下段のグラフは腫瘍内に CDDP 投与後、内皮細胞を移植した腫瘍(SAS)である。コントロールに比べて有意に成長速度が低下しているのがわかる。

(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

Establishment of a normalized revascularization mouse model using tumor transplantation (Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology 2013 in press)