

## 第12回群馬 Clinical Oncology Research 勉強会

日 時：2005 年 5 月 20 日 (金)

場 所：群馬大学刀城会館

当番世話人：中野 隆史 (群馬大院・医・腫瘍放射線学)

### 〈一般講演〉

#### 1. Differential Display 法を用いた卵巢漿液性腺癌と卵巣明細胞癌における遺伝子発現の差異についての検討

齋藤 智子

(群馬大院・医・生殖再生分化学)

【目 的】 卵巢癌においてその組織型は多彩であり、各組織型によりその臨床的悪性度は異なる。中でも臨床的に頻度の高い漿液性腺癌と明細胞癌においては、化学療法奏効率、リンパ節転移率等においてその性格を異にしている。こうした臨床的特徴の差異を遺伝子発現の観点から検討する目的で Differential Display 法を用い解析を行った。【方 法】 患者の同意のもとに漿液性腺癌、明細胞癌各々3例の凍結検体より mRNA を抽出し、differential display 法を施行し、発現に差を認めた fragment をサブクローニングしたのち、さらに両組織型4例ずつの凍結検体において real-time PCR 法を施行した。さらに、両法において明細胞癌に優位に発現を認めた, Sperm protein 17 (Sp17) の明細胞癌における機能解析を目的として、Sp17-siRNA を卵巣明細胞癌細胞株である ES-2 に transfection し、MTS assay を用いて増殖能、及び paclitaxel に対する感受性の変化を検討した。【結 果】 Sp17-siRNA の transfection の結果、増殖能に大きな変化は認めなかったが、paclitaxel による、cell viability の有意な減少、すなわち、paclitaxel に対する感受性の上昇を認めた。【考 察】 Sp17 の発現が、他の上皮性卵巢癌と比較して化学療法に抵抗性を示す明細胞癌に優位に認められたこと、また明細胞癌細胞株において Sp17 の mRNA を抑制することにより、paclitaxel に対し感受性を示したことは、明細胞癌の抗癌剤耐性機構と Sp17 の関わりを示唆するものと思われた。

#### 2. ウリナスタチンの放射線肺障害に対する防護効果の実験的研究

加藤 弘之, 長谷川正俊, 鈴木 義行

中野 隆史 (群馬大院・医・腫瘍放射線学)

【目 的】 ウリナスタチンは種々の酵素に対する活性阻

害作用を有している。放射線照射による間質性肺炎、肺線維症には TGF $\beta$  等のサイトカインの関与が報告されているので、本研究ではウリナスタチンの放射線肺障害に対する防護効果の可能性について明らかにする。【方 法】 9 週齢雌性マウス (C57BL/6) に、左胸郭への 200 kV X 線 1 回照射 (12Gy, 24Gy) とウリナスタチンの腹腔内投与 (1 回・20 万単位/kg) を行なった。薬剤投与方法により、前期投与群 (照射前 30 分と射後 6 時間)、後期投与群 (照射後 8 日目から 1 週間連日)、非投与群に分け、照射から 16 週後に照射肺を摘出して、組織学的検討を行った。さらに、24Gy 照射を行った各群について生存期間の観察を行った。【結 果】 後期投与 24Gy 照射群では、非投与 24Gy 照射群に比して組織学的変化が相対的に軽度であった。24Gy 照射群において、非投与群・前期投与群に比して、後期投与群は生存期間が延長する傾向が認められた。【結 語】 放射線照射後のウリナスタチン投与が放射線肺障害を軽減させる可能性が示唆された。

#### 3. 非小細胞肺癌における Gefitinib (イレッサ) 感受性と EGFR, KRAS, PIK3C 変異

遠藤 秀紀, 高坂 貴行, 田中司玄文

桑野 博行 (群馬大・院・病態総合外科学)

光富 徹哉 (愛知県がんセンター胸部外科)

谷田部 恭

(愛知県がんセンター遺伝子病理診断部)

【目 的】 昨年 Gefitinib (イレッサ) 感受性と EGFR 遺伝子変異との相関が示されたが、完璧な関係ではなく、EGFR 下流の遺伝子変異との関連も予想される。そこで KRAS, PIK3CA について EGFR に加えて検討した。【材料と方法】 外科切除後再発し Gefitinib 投与を受けた非小細胞肺癌 78 例について、手術時の摘出標本から抽出した RNA より RT-PCR 後の direct sequence 法にて変異を検出した。各遺伝子変異と画像や CEA 上の奏効率、生存について解析した。【結 果】 画像上評価可能な 52 例中奏功 29 例 (A)、CEA は 50%以下あるいは正常範囲への減少 (奏功とする) が 50 例中 28 例 (B) に

認められた。遺伝子変異は EGFR 56%, KRAS 9%, PIK3CA 2% に認めた。EGFR 変異型と KRAS 野生型は AB とともに奏功例に有意に多く (EGFR:  $P < 0.001$ , KRAS:  $P < 0.05$ ), 比例ハザードモデルの生存解析でもこれらは有意差を示した (EGFR: HR=2.526,  $P = 0.0055$ , KRAS: HR=2.542,  $P = 0.0390$ )。【結 語】PIK3CA 変異は低頻度のため明らかでないが, EGFR と KRAS 変異は効果や生存との相関が示された。

#### 4. 原発性肺癌に対する DIF 製剤の感受性に関する研究

伊部 崇史

(国立病院機構高崎病院呼吸器外科)

清水 公裕, 中野 哲宏, 大谷 嘉己

森下 靖雄

(群馬大院・医・臓器病態外科学)

【目 的】近年, 非小細胞肺癌の術後補助化学療法における DIF 製剤 (5-FU 分解酵素阻害フッ化ピリミジン製剤) の有用性が報告されている。そこで我々は DIF 製剤を用いたテーラーメード治療をめざし, DIF の感受性に関与するといわれる TS (thymidylate synthase, チミジル酸合成酵素), DPD (dihydropyrimidine dehydrogenase, 5-FU 分解酵素) の肺癌における発現を解析した。【方 法】RNA の発現は切除標本のパラフィン切片から RNA を抽出し, real-time PCR 法を用いて解析した。蛋白の発現は免疫組織染色法を用いて解析した。TS, DPD の発現結果は腺癌, 扁平上皮癌, 大細胞癌, 神経内分泌腫瘍 (小細胞癌, 神経内分泌大細胞癌, カルチノイド) の組織型別に分けて検討した。【結 果】DPD の組織型別による発現の差は認められなかったが, TS は神経内分泌腫瘍で RNA・蛋白レベルともに他の組織型に比べ高発現であった。

### 〈特別講演〉

司会：中野 隆史 (群馬大院・医・腫瘍放射線学)

#### 重粒子線治療の生物効果

安藤 興一 (放射線医学総合研究所重粒子医学科学センター粒子線治療生物研究グループ)

がんと戦う新たな武器, 重粒子線, は放医研に親設されたシンクロトン加速器 HIMAC (Heavy-Ion Medical Accelerator at Chiba) から得られる炭素線として 1994 年以来 2000 名を越える患者に使われてきている。X 線や  $\gamma$  線などの光子線と異なり, 重粒子線は荷電した原子であり, 体内入射後に高エネルギー領域のブラッグピークを形成する点に特徴がある。このピークは強い生物効果を示すので, 深部腫瘍の治療に適している。

光子放射線によるがん治療は, 原則的に分割照射法を行い, 多数回数の照射を行う。正常組織障害を許容レベルに押さえるとともに腫瘍制御率を高めるために行う分割照射法は, 重粒子線の場合にまだ確立されていない。我々はマウス移植腫瘍を用いて治療用炭素線による分割照射実験を行ってきた。その結果, 炭素線による腫瘍増殖抑制効果が早期皮膚障害反応よりも強くなる分割照射法を見出した。このような治療効果比は光子線では得られないが, それは光子線照射後の修復能力や低酸素がんの感受性が腫瘍と正常組織の間で異なる一方, 炭素線ではこうした組織間の違いが減少することが主因であると考えている。

放射線照射は, その組織を構成する細胞の DNA に損傷を起こす。照射による DNA 損傷とその修復が重粒子線の細胞致死効果にあたえる影響についてニワトリ白血病細胞をもちいて調べると, 非同末端結合や相同組み替えなどの DNA 損傷修復が欠損すると炭素線の生物効果は少なくなり, 逆に修復能が機能した細胞では効果が大きいことが明らかとなってきた。また, 環境因子である酸素は放射線感受性を修飾するが, 重粒子線の場合には酸素効果は少ない。

放医研の HIMAC 加速器は 24 時間運転しており, 日中はがん治療に用いているが夜間は国内外の研究者に利用してもらっている。その研究成果からは, がん転移や骨の再生・分化などについて, 炭素線照射効果に関する広範な知見が集積してきている。

本講演を通じて, 20 世紀末に開始された重粒子線治療が今世紀におけるがん治療の最前線になる可能性をご理解いただけたならば幸甚です。