

内在性ホルモンを利用した 新たな放射線感受性亢進療法の開発

安達 正晃¹⁾、今井 浩三¹⁾、晴山 雅人²⁾、篠村 恭久¹⁾

1) 札幌医科大学 内科学第一講座、2) 放射線科学講座

1. はじめに

放射線療法は、癌治療の中心的役割を担ってきたが、近年化学放射線療法確立によってさらにその重要性はさらに高まりつつある。しかし一方では、放射線に低感受性のため、治療対象とならない癌種もあり、また化学放射線療法による副作用の増大などの問題点もある。われわれは、放射線感受性を亢進させるべく、さまざまな研究を行ってきた。ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤によって、ヒストンのアセチル化を惹起させることによって、放射線照射後のDNA損傷が増大すること、また、同時にアポトーシス誘導分子、Bim及びBmfが誘導され、アポトーシスを促進させるといった新たな分子機構を見出してきた。これらは、新規放射線感受性亢進療法を開発する際に、極めて重要な情報源となるものと期待される。本研究では、これらの研究成果に基づいて、更なる発展を狙ったものである。すなわち、本研究は、エストロゲン代謝産物である2MEという内在性物質を利用し、放射線感受性を亢進させる新たな放射線治療の開発を目指すことを目的とする。

2. 方法と結果

(1) in vitro における放射線感受性亢進

リンパ球などの放射線感受性の高い細胞において、放射線照射後に、持続性のJNK活性化が生じ、このことが、放射線照射後のアポトーシス誘導に関わっていることが知られている。これまで、申請者らは、JNK活性化と各種癌細胞における放射線感受性との密接な関連性を示してきた。これらの結果は、JNK及びこれに関わるシグナル分子が、放射線感受性を規定する重要な因子であり、その分子標的治療は、放射線感受性を改変しうる期待がもてることを

示している。そこで、申請者らはJNK活性化を促す低分子化合物として、エストロゲン生理的代謝産物2-methoxyestradiol (2-ME)を利用した。2-MEは、エストロゲンのような転写活性はもたず、酸化ストレス誘導やJNK活性化などの作用を促すことが知られている。トリバンプルー色素排出試験、コロニーアッセイ、フローサイトメトリーを用いたプロビジウムDNA染色(subG1分画)などの解析によって、3種の大腸癌細胞株において、2-ME前処置が放射線照射後の細胞死を増加することを証明した。

(2) in vivo の放射線感受性亢進

大腸がんDLD-1細胞をヌードマウスの皮下に接種し、2-3週間後、直径が5mm程度になった時点で、直接、2MEを腫瘍内に注入、数時間後放射線照射するという治療プロトコルで、薬剤単独、放射線単独、無治療の4群(各6匹)で腫瘍の増大傾向を解析した。その結果、有意差をもって、併用した群が腫瘍のサイズ、重量のいずれも著明に縮小していることが判明した。

(3) JNK活性化

JNK活性化は、抗リン酸化JNK抗体を用いたウエスタンブロットにて解析した。

2ME前処理した細胞は、放射線照射後に明らかにJNKリン酸化が亢進しており、放射線増強効果は、JNK阻害剤SP600125やJNK活性化シグナルを阻害するpMT-SEK1ドミナントネガティブの遺伝子導入によって失われた。逆に、ドミナントアクティブ変異をもつ活性化JNK(pMKK7-JNK)の遺伝子導入によって、2MEと類似の放射線増強効果が得られた。したがって、2MEは、JNK活性化を促し、放射線増強効果を

生じることが明らかになった。

(4) COMT 活性化

エストラジオール (E2) などのエストロゲンは、生体内において副腎、卵巣、精巣、黄体、胎盤などで産生され、肝臓で CYP1A1 及び CYP1B1 によって 2-hydroxyestradiol に代謝される。この一部が、catechol-O-methyltransferase COMT によって、2-ME へ変換されることが知られている。したがって、癌細胞における COMT の発現パターンを知ることは、治療の実用化に重要と思われることから、さまざまな癌種においてその発現パターンを mRNA 及び蛋白レベルで、RT-PCR やウエスタンブロット法を用いて解析した。その結果、かなりユビキタスに COMT が発現していること、その発現レベル差異はあまりないことがわかった。特に消化器癌では、COMT の発現が高い傾向があるが、扁平上皮癌細胞ではやや発現が低い傾向があった。また、ヒト COMT 発現ベクターを複製し、各がん細胞に遺伝子導入し、放射線感受性の差異をみている。現在まで、10種類前後の細胞での効果を検討しているが、明らかに細胞死の増強効果を示したものがなく、現時点では、COMT 単独での放射線増強効果は、困難であると考えられる。

3. まとめ

本研究は、従来の化学放射線治療とは異なり、内在性ホルモン代謝産物を応用し、放射線感受性を亢進さ

せるという極めてユニークな放射線治療を目指しているという点に学術的な特色がある。大腸癌という放射線感受性の比較的低い癌種において感受性亢進が証明されたことから、従来適用にならないような低感受性癌を感受性癌へ改変しうる可能性が示された点に、本研究の高い臨床的意義がある。さらに、JNK 活性化と放射線照射誘導アポトーシスの密接な関係を示した基礎的研究を進展させた本研究は、生物学的な裏づけがあることから、JNK の機能調節が、多くの癌種の放射線感受性亢進に作用するものと推測される。また、JNK 活性化を内在性ホルモン代謝産物によって誘導していることから、比較的安全に投与できるものと思われ、実用化の期待が持てる。しかし、内在性ホルモンを酵素で、すなわち COMT を単純に過剰発現させただけでは、十分な JNK 活性化につながらず、2ME で認められたほどの効果が発揮できなかった。その主な原因としては、COMT の発現が多くの癌細胞で比較的高い発現があり、おそらくネガティブに制御される機構があり、COMT の強制発現だけでは、2ME が十分産生されなかったものと推測される。今後、更なる改良が必要と思われた。しかし、内在性ホルモンを、効率よく利用する本研究の趣旨は、放射線感受性を改変させるという新しい放射線がん治療の実用化が大いに期待されるものであり、さらなる研究進展を目指している。