

アイソトープ実験研究施設

教授：尾尻 博也 放射線診断学
 教授：朝倉 正 がんの生化学
 講師：箕輪はるか 放射線化学・生物

教育・研究概要

I. プロテアソーム阻害剤耐性細胞の上皮間葉転換 (EMT) 誘発機構の解明：CD44 を介したがん幹細胞化の関与

新規化学療法剤として用いられるようになったプロテアソーム阻害剤に対して耐性を獲得した細胞を樹立した。子宮内膜がん細胞 Ishikawa を Epoxomicin (EXM) で処理することにより得られた EXM 耐性細胞 Ishikawa/EXM 細胞は、E-cadherin 発現消失を伴い EMT を誘発し、E-cadherin 発現調節に関与する転写抑制因子は ZEB1 であることを明らかにしてきた。この発現調節系にはがん幹細胞マーカーである CD44 の発現亢進していたのでその関与を検討した。

Ishikawa/EXM 細胞で CD44 の発現亢進が見られ、Ishikawa 細胞ではその発現は見られなかった。発現した CD44 は variant 4 であった。CD44 の発現のない Ishikawa 細胞に CD44v4 を過剰発現させると、ZEB1 の発現が誘発され、それに伴い E-cadherin 発現抑制を引き起こした。一方、Ishikawa/EXM 細胞の CD44 を antisense cDNA により発現抑制すると、ZEB1 の発現が抑制され、それに伴い E-cadherin の発現を引き起こした。また、CD44 発現調節細胞における EXM に対する感受性を調べたところ、CD44 高発現で耐性を獲得し CD44 発現抑制で感受性の回復が認められた。

すでに、ERK1/2 によるシグナル伝達系を介した EMT 誘発経路を確認しているため、今後 CD44 を介した ERK1/2 によるシグナル伝達系の関与について検討していく。

II. 癌細胞膜表面高発現糖タンパク質 CD147 を標的とした高分子ミセルによる化学療法の検討

高分子ミセルに抗 CD147 抗体 (aCD147ab) を標識し GSH-DXR を内封したミセル製剤は、aCD147ab の高発現しているヒト類表皮癌細胞 A431 およびヒト子宮癌細胞 Ishikawa に特異的、かつ有効な抗腫瘍効果を示したので、担がんマウスでの in vivo 治療効果検討の準備を進めている。

III. 薬剤耐性がん細胞に対するクルクミンによる化学療法

ウコンの成分であるクルクミンは NF- κ B と結合している I κ B のリン酸化抑制およびクルクミンが持つプロテアソーム阻害作用による I κ B 分解抑制作用を介して NF- κ B 活性化を抑制する。さらに KRAS-NF- κ B の恒常的活性化が起こっている膵がんや肺がんを含むさまざまながん種に対して、NF- κ B 抑制を介した抗腫瘍作用を発揮することが報告されている。また、KRAS 変異や p53 変異の有無によって大腸がん細胞株はオキサリプラチンに対する感受性が変わるが、クルクミンの抗腫瘍効果はそれらに左右されないことを示した。一方、当研究室で樹立したプロテアソーム阻害剤 epoxomicin 耐性細胞株 (子宮内膜がん細胞株 Ishikawa) やアドリマイシン耐性株およびシスプラチン耐性株 (卵巣がん細胞株 A2780) に対して、クルクミンは感受性親株と同等に抗腫瘍活性を発揮することを示し、抗がん剤耐性がんに対する有効な治療薬になり得ることを示した。

また、クルクミンは生体利用効率 (バイオアベイラビリティ) が低く、さらに経口摂取では腸管からの吸収時に抗腫瘍活性を有する遊離型クルクミンが代謝を受け活性が低下し、十分な抗腫瘍効果が得られない。そこで、新たに開発した水溶性プロドラッグ型クルクミン：クルクミンモノグルクロニド (CMG) は、従来のクルクミンと比して千倍以上の遊離型クルクミン血中濃度を達成することに成功しており、有効な新規抗がん剤として期待される。

IV. 放射線耐性生物における耐性機構の解析

クマムシは 0.1mm 程度の大きさの微小動物であり、乾燥や電離放射線などの極限環境に耐性を持つことが知られている。8本の足を持ち、ゆっくりと歩く様子が熊を連想させることから日本語でクマムシ、英語では water bear という名前が付けられており、単独で緩歩動物門を成している。クマムシの電離放射線への耐性機構を明らかにするため、X線照射による DNA 損傷を分析した。試料として西新橋校周辺の苔からオニクマムシ (*Milnesium Tardigradum*) を採取し、また東京都下水道局森ヶ崎水再生センターより活性汚泥の提供を受け、ゲスイクマムシ (*Isohypsiobius myrops*) を採取した。X線照射装置 MBR-1520R-3 (Hitachi Power Solutions) により 500Gy の X 線をクマムシに照射し、DNA の損傷を Comet Assay Kit ES II (Trevigen) を用いてコメットアッセイ法により分析した。クマムシ細

胞中のDNAを電気泳動後染色し、細胞イメージアナライザーArrayScan XTI (Thermo Fisher Scientific) でコメット像を観察し、解析した。1試料あたり1,400個以上の細胞を分析した結果、ゲスイクマムシではX線照射群は未照射群に比べ、テールDNAの比率が25%以上増加しており、DNAが損傷を受けたと考えられる。オニクマムシでは1試料では26%の増加がみられたが、別の試料では未照射群と有意な差はなく、DNAの損傷が見られない場合があった。クマムシの種により放射線耐性に差があると考えられ、今後さらに詳細な調査を行う予定である。

IV. 放射性降下物の環境中における追跡および測定法の開発

2011年3月に起きた福島第一原子力発電所事故により環境中に放出された放射性物質の分布と挙動について調査を行った。福島県および関東地方から土壌や植物などの環境試料を採取し、放射性セシウム等、放射性物質の定量とイメージングプレートを用いた画像解析を行った。また事故による汚染水の海洋漏洩を受け、海水中の放射性ストロンチウムの安全かつ簡易・迅速な分析法を検討した。陽イオン交換樹脂(Dowex 50W-X8)を充填したカラムによりCa、Mg等と分離し、放射性ストロンチウムを炭酸塩沈殿として捕集し、新たに考案したプラスチックシンチレータボトルを用いて、LSC-LB7 (Hitachi) で測定した。化学分離操作の所要時間は、従来の方法では約2週間かかったが、この方法では約10時間(延べ2日)で可能となった。この方法を海水試料1Lに適用し、検出下限値0.02 Bq・L⁻¹にて分析できた。この方法は、海水のスクリーニング調査に有効に利用できると考えられる。

「点検・評価」

1. 施設

アイソトープ実験研究施設は、本学における放射性同位元素(RI)を用いた基礎医学・生化学研究の実施と支援を行っている。また、RIを使用しない生化学実験・動物実験・遺伝子組換え実験等も積極的に受け入れている。2018年度は、12講座・研究室の38名、2カリキュラムの12名の合計50名(うち女性19名)が実験・研究を行った。昨年度に比べ、2講座・研究室が減少し利用者数も54名から50名へと減少した。RI受入件数は5件と減少し、使用核種は³²P, ⁵¹Cr, ³H, ¹⁴C, ¹²⁵Iなどであり、使用量合計は472.4MBqであった。RIの利用者数はここ

数年40~60名程度で推移しており、RI実験を行いやすい環境を整えるとともに、コールド実験も推進し共同研究施設として保有する設備・機器を広く利用してもらえよう継続して努めている。特に、動物飼育室・実験室を整備したことで需要が高まり、延べの利用時間は倍増した。

現在、施設内で使用できる密封されていないRIとして使用許可を受けている核種は³H, ¹⁴C, ³²P, ³³P, ³⁵S, ⁴⁵Ca, ⁵¹Cr, ⁵⁴Mn, ⁵⁹Fe, ⁶⁰Co, ⁷⁵Se, ⁸⁵Sr, ⁸⁹Sr, ⁹⁰Sr, ¹⁰⁹Cd, ¹²⁵I, ¹³¹I, ¹³⁴Cs, ¹³⁷Cs, ¹⁵²Euである。

2. 研究

「薬剤耐性細胞のEMT誘発機構の解明」について継続して展開しており、EMT誘発に直接関わる転写抑制因子と、その因子の発現制御をしているシグナル伝達系を検索している。また、薬剤耐性の克服薬の候補分子としてウコンの成分でもあるクルクミンの効果についても研究を進めており、放射線耐性に関わる遺伝子の検索も行っている。

「放射性降下物の環境中における追跡」では、2011年3月11日の東日本大震災による福島第一原子力発電所事故での汚染水の海洋漏洩を受け、海水中の放射性ストロンチウムの安全かつ簡易・迅速な分析法をさらに改良し、海水のスクリーニング調査に利用できることを示した。

3. 教育

医学科2年生、3年生の教育に携わり、多くの講義・演習・研究室配属を分担している。特に、コース研究室配属では5名が6週間の実習を行った。またコース基礎医科学Ⅰのユニット「分子から生命へ」では講義・演習・実習を担当しており、コース基礎医科学Ⅱのユニット「血液・造血器系」、コース臨床基礎医学のユニット「代謝障害学」、「ヒトの時間生物学」の各講義を担当している。また、大学院共通カリキュラムにおいては、RI基礎技術の修得を目的とした5日間(予備日を含めて6日間)の実習を行い、7名が受講した。

一方、教職員が施設を有効に利用できるよう、放射線障害防止法に基づく教育訓練を年7回実施し68名が受講した。

社会貢献活動の一環として、一般向けの放射線教育を行っている。NPO法人放射線教育フォーラムの理事として、第1回勉強会を2018年6月10日に、第2回勉強会を2019年3月3日にいずれも南講堂で開催した。他にも放射線教育に関する国際シンポジウム開催、各地で開かれている市民レベルでの講演会に講師を派遣している。また、「放射性降下物

の環境中における挙動」については、一般市民の関心が依然として高く、関連研究会での発表のみならず、一般向けの講演会・測定会等も継続して行っている。

放射線ばかりでなく、実験廃棄物や医療廃棄物の問題に関しても積極的に取り組んでおり、有害・医療廃棄物研究会では理事として、研究講演会を2018年7月27日と2019年2月26日に南講堂で開催し、環境省と東京都環境局からの講師による特別講演も実施した。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Asakura T, Yokoyama M, Shiraishi K, Aoki K, Ohkawa K. Chemotherapeutic effect of anti-CD147 antibody labelled micelles encapsulating a conjugate of doxorubicin with glutathione targeting CD147-expressing carcinoma cells. *Anticancer Res* 2018; 38(3): 1311-6.

III. 学会発表

- 1) 箕輪はるか, 加藤結花, 緒方良至. 放射性ストロンチウムの簡易迅速分析法Ⅲ 天然海水試料への適用. 第55回放射線・アイソトープ研究発表会. 東京, 7月.
- 2) 加藤結花, 箕輪はるか, 緒方良至. 放射性ストロンチウムの簡易迅速分析法Ⅳ プラスチックシンチレータを用いた測定法の性能評価. 第55回放射線・アイソトープ研究発表会. 東京, 7月.
- 3) 箕輪はるか, 加藤結花, 緒方良至. 簡易迅速Sr分析法の天然海水試料への適用. 2018日本放射化学会年会・第62回放射化学討論会. 京都, 9月.
- 4) 加藤結花, 箕輪はるか, 緒方良至. プラスチックシンチレータを用いたLSCでのスペクトル解析. 2018日本放射化学会年会・第62回放射化学討論会. 京都, 9月.
- 5) Ogata Y, Kato Y, Minowa H. Measurement method of radiostrontium using plastic scintillator via liquid scintillation system. 2018 IEEE Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference. Sydney, Nov.
- 6) 加藤結花, 箕輪はるか, 小島貞男, 緒方良至. 海水中放射性ストロンチウムの簡易・迅速測定法Ⅰ－プラスチックシンチレータボトルを用いた測定法－. 日本放射線安全管理学会第17回学術大会. 名古屋, 12月.
- 7) 緒方良至, 加藤結花, 箕輪はるか, 小島貞男. 海水中放射性ストロンチウムの簡易・迅速測定法Ⅱ－化学分離・試料作製法－. 日本放射線安全管理学会第17回学術大会. 名古屋, 12月.

- 8) 五十嵐淳哉, 張子見, 二宮和彦, 篠原厚, 佐藤志彦, 箕輪はるか, 吉川英樹. 福島県大熊町及び双葉町にて採取した放射性セシウムを含む不溶性粒子の分類. 第20回「環境放射能」研究会. つくば, 3月.