

アイソトープ実験研究施設

教 授：福田 国彦 放射線診断学
(兼任)
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

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 (Ish) を Epoxomicin (EXM) で処理することにより得られた EXM 耐性細胞 Ish/EXM は、感受性細胞 Ish の EXM に対する IC50 が 20nM であるのに比べ 400nM であった。EXM 以外のプロテアソーム阻害剤に対しても耐性を獲得していた。既存の抗がん剤であるドキソルビシン (DXR) に対しては耐性を示さなかった。また、Ish/EXM は E-cadherin 発現消失を伴う EMT を誘発した。この E-cadherin 発現調節に関与する転写抑制因子として Ish/EXM では ZEB1, ZEB2, Twist, Snail, Slug の発現亢進が認められ、特に ZEB1 の mRNA レベル・タンパク質レベルで顕著に発現亢進していた。

また、Ish および Ish/EXM における E-cadherin のプロモーター領域はいずれもメチル化されてなく、耐性獲得におけるプロモーター領域のメチル化の関与はなかった。

耐性獲得に伴い E-cadherin 発現が消失したことから、典型的な EMT を誘発していることが示唆される。そこで、細胞の浸潤能を調べたところ、Ish に対して Ish/EXM は 5.7 倍増加していた。

転写因子による E-cadherin の発現抑制を明らかにするために、各転写因子に対する siRNA を Ish/EXM に導入してそれぞれの転写因子の発現を抑制したところ、ZEB1 の発現抑制により E-cadherin の発現回復が認められ、ZEB2 の発現抑制によっても E-cadherin の発現に一部回復が認められた。しかし、Twist, Snail, Slug の発現抑制によっても E-cadherin の発現に回復が認められなかった。このことから、Ish における E-cadherin の発現は ZEB1 により抑制され、ZEB2 は間接的に調節していることを明らかにした。

II. 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、クマムシに 50~300Gy の X 線を照射し、DNA の損傷をコメットアッセイにより分析した。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三河島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 (Isohypsibius myrops) を採取した。コメットアッセイは Comet Assay Kit ESII (Trevigen) を使い、Comet Assay Tank CSL-COM20 (Cleaver Scientific) にて電気泳動後 SYBR Gold で染色した。染色した細胞を自動細胞イメージアナライザ ArrayScan XTI (Thermo Fisher Scientific) で観察した。その結果、対照群に比べ X 線照射群ではテールの長い細胞が多かった。しかし、単離できた細胞数が少なかったため、観察結果を自動で数値化することは出来なかった。今後、実験操作に改良を加え、定量的な考察をしていく。

III. ラドンに関する研究

ラドンは、岩石・土壌に含まれるウランの崩壊により生じる気体の放射性同位元素である。生体への影響が大きいアルファ線を放出するため、呼吸により体内に取り込まれた場合、喫煙と共に肺がんの主要原因ともなる。ラドンは水に可溶性であり、地下の岩石から地下水・温泉水に溶け込んで地表に湧出する。地下水・温泉水中のラドン濃度は、地下の地質構造や岩石中のウラン濃度を反映していると考えられる。我々は東京都環境局により名湧水 57 選として指定されている湧水中のラドン濃度を測定した結果から、ラドン濃度と湧水の集水域の地形的特徴として、東京の複雑な特徴ある地形を反映した地質学的特徴を示していることを示した。

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

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、液体シンチレーションカウンタにて測定した。従来の方では化学分離操作に約 2 週間かかり、また改良型の固体抽出分離剤 Analig Sr-01 カラムを用いた方法で 2 日間であったのが、この方法では約 24 時間での操作で評価が可能となった。さらに、1L の海水試料を分析した場合の検出下限値も 1Bq/L から約 0.1Bq/L に下げることができ、この方法が海水のスクリーニング調査に一層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。2015 年度は、10 講座・研究室の 36 名、2 カリキュラムの 16 名の合計 52 名 (うち女性 17 名) が実験・研究を行った。昨年度に比べ、2 講座・研究室の減少があったが利用者数は 50 名から 52 名へと増加した。RI 受入件数は 22 件と増加し、使用核種は ^{32}P , ^{51}Cr , ^3H , ^{14}C , ^{35}S , ^{125}I などであり、使用量合計は 888 MBq であった。RI の利用者数はここ数年同程度であり、RI 実験を行いやすい環境を整えるために、棚の設置・実験台の配置の検討を行い、当施設所有のピペットマン・試薬等を共有して利用できるようにし、コールド実験も推進して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努めている。

一方、施設内で使用できる密封されていない放射性同位元素の種類の見直しを行い、現在使用許可を受けている核種は ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{33}P , ^{35}S , ^{45}Ca , ^{51}Cr , ^{54}Mn , ^{59}Fe , ^{60}Co , ^{75}Se , ^{85}Sr , ^{89}Sr , ^{90}Sr , ^{109}Cd , ^{125}I , ^{131}I , ^{134}Cs , ^{137}Cs , ^{152}Eu である。

2. 研究

2015 年 4 月より朝倉 正 (准教授) が生化学講座より移動し、2016 年 1 月より教授として当施設を主宰するようになった。前講座時代からの研究テーマである「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を同定した。

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・迅速な分析法を確立し、海水のスクリーニング調査に利用できることを示した。

「ラドンに関する研究」では、ラドン濃度を地震予知に応用しようとする試みがあることから分かるように、地下構造は数々の要因により変化する。東京都環境局により名湧水 57 選として指定されている湧水中のラドン濃度を測定した結果から、東京の複雑な、特徴ある地形を反映した地質学的特徴が示された。

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、「研究室配属」では 4 名が 6 週間の実習を行った。また「分子から生命へ」では講義・演習・実習を担当しており、「血液・造血器系」・「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 4 日間の実習を行い、6 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 75 名が受講した。施設管理部署の一次立入者を対象とした教育訓練を年度初めに 3 回実施し 20 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との協働で、第 1 回勉強会を 6 月 21 日に、第 2 回勉強会を 2 月 28 日に、公開パネル討論会「今やる、放射線教育」を 11 月 23 日にいずれも南講堂で開催した。他にも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 7 月 22 日と 3 月 2 日に南講堂で開催した。

研究業績

I. 原著論文

- 1) 朝倉 正. 抗がん剤耐性がん細胞に対する耐性克服薬の開発と標的療法. 慈恵医大誌 2016; 131(1): 1-18.

Ⅲ. 学会発表

- 1) 朝倉 正. (宿題報告) 抗がん剤耐性がん細胞に対する耐性克服薬の開発とターゲッティング療法. 第132回成医会総会. 東京, 10月.
- 2) 堀内公子, 箕輪はるか, 吉澤幸夫. 東京都の湧水中のラドン濃度 (東京の名湧水 57 選). 日本温泉科学会 第 68 回大会. 天童, 9月.

GMP 対応細胞・ベクター産生施設

教授：本間 定 腫瘍免疫学
講師：大前トモ子 培養施設管理

教育・研究概要

これまで本施設を利用して多形性膠芽腫, 進行膀胱癌, その他の悪性腫瘍に対して樹状細胞ワクチン療法が施行され, 多くの知見が得られてきた。また, 本邦初の耳鼻科領域の再生医療として鼻粘膜シートを用いた真珠腫術後鼓室再建のための再生医療も行われた。今後も本施設を利用して同様の, また新たな細胞治療・再生医療が予定されている。一方, 細胞治療, 再生医療を施行するにあたり, 「再生医療等安全性確保法」が平成 25 年 11 月 27 日に公布され, 平成 26 年 11 月 25 日より施行されたため, 本施設もこの規制下に今後の活動を行うこととなる。従って, 本学においても本法律の中で指定する第 2 種, 第 3 種再生医療を施行していくための体制づくりが必要となった。このため, 認定再生医療等委員会を設置し, あわせて本 GMP 対応細胞産生施設の PMDA による査察, 厚生労働省による施設承認を獲得する必要がある。本年度は委員会設置のためのワーキンググループの発足と会合を開催, 施設承認のための各種機材の適格性などにつき検討を行った。

「点検・評価」

ワーキンググループの活動で認定再生医療等委員会の人員もほぼ決定し, 細胞治療・再生医療の学内における承認のプロセスの検討が進んでいる。また, PMDA の査察に備えて, 従来型のクリーンベンチからすべて安全キャビネットへの交換の必要があると考えられる。さらに査察に対応できる施設面の点検を進めていく。