

## アイソトープ実験研究施設

教授：尾尻 博也 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) 誘発における DUSP6 を介した ERK1/2 シグナル伝達系の関与

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 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 dual specificity protein phosphatase 6 (DUSP6) の発現が消失していたのでその関与を検討した。DUSP6 は ERK1/2 を脱リン酸化することが知られているので、ERK1/2 によるシグナル伝達系の関与を調べた。

Ishikawa/EXM で DUSP6 の発現抑制と Fos-related antigen 1 (Fral) の発現亢進が見られた。ERK1/2 によるシグナル伝達系において ERK2 リン酸化 (活性化) は Fral をリン酸化し、その結果 ZEB1/2 を発現誘導することが報告されている。Ishikawa に Fral を強制発現させると ZEB1 に誘発された E-cadherin 発現抑制を引き起こした。さらに、Ishikawa の DUSP6 ノックダウン、あるいは DUSP6 の阻害剤 (E)-2-Benzylidene-3-(cyclohexylamino)-2,3-dihydro-1H-inden-1-one (BCI) で活性を阻害すると、Fral 発現亢進と E-cadherin 発現抑制を引き起こした。一方、Ishikawa/EXM への DUSP6 強制発現は Fral と ZEB1 の発現抑制に伴って E-cadherin 発現を誘導した。

これらのことから、Ishikawa/EXM における DUSP6 の消失は Fral 発現亢進を介した ZEB1 発現誘導を引き起こし、E-cadherin 発現を消失させたと考えられた。

すでに、ZEB1 発現に miR200 family の関与を明らかにしているため、今後 Fral による miR200 の発現抑制について検討していく。

#### 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、X線照射による DNA 損傷を分析した。試料として西新橋橋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 (*Isohypsius myrops*) を採取した。X線照射装置 MBR-1520R-3 (Hitachi Power Solutions) により 250 Gy の X線をクマムシに照射し、DNA の損傷を Comet Assay Kit ESII (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た。1試料あたり 1,000~8,000 個の細胞を分析した結果、オニクマムシ、ゲスイクマムシとも、X線照射群は未照射群に比べ全細胞数が少なくコメット長が長くなっていた。250Gy の X線照射によりクマムシの行動に変化はないが、DNA は損傷を受けていることを示す。今後は定量的な解析を行い、DNA 損傷回復についての詳細を調べる予定である。

#### III. 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 50Wx8) 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ットルを用いて、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 (のべ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<sup>-1</sup> 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思われる。

#### IV. ラドンに関する研究

トロンは、岩石・土壌に含まれるトリウムの崩壊により生じる気体の放射性同位元素 (RI) であり、ラドンの同位体でもある。トロンやラドンは水に可溶性であり、地下の岩石から地下水・温泉に溶け込んで地表に湧出する。最近、ラドン温泉に抗腫瘍効果があると期待されているが、呼気により体内に取り込まれたトロンが効果を発揮しているかどうかを検討している。

#### 「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 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。2017年度は、14講座・研究室の42名、2カリキュラムの12名の合計54名（うち女性19名）が実験・研究を行った。昨年度に比べ、3講座・研究室が増加し利用者数も43名から54名へと増加した。RI 受入件数は10件と減少し、使用核種は  $^{32}\text{P}$ ,  $^{51}\text{Cr}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{134}\text{Cs}$ ,  $^{137}\text{Cs}$  などであり、使用量合計は512MBqと減少した。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る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  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{33}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{45}\text{Ca}$ ,  $^{51}\text{Cr}$ ,  $^{54}\text{Mn}$ ,  $^{59}\text{Fe}$ ,  $^{60}\text{Co}$ ,  $^{75}\text{Se}$ ,  $^{85}\text{Sr}$ ,  $^{89}\text{Sr}$ ,  $^{90}\text{Sr}$ ,  $^{109}\text{Cd}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{134}\text{Cs}$ ,  $^{137}\text{Cs}$ ,  $^{152}\text{Eu}$  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について検討を始めた。さらに、放射線耐性遺伝子の検索にも着手している。

「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。

「ラドンに関する研究」では、温泉中に含まれるラドンの同位体であるトロンの吸引により、抗腫瘍効果が期待され検討を始めた。

##### 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4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・造血管系」、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、5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71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6月3日に、第2回勉強会を2018年3月4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7月26日と2018年2月22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) Ohkawa K, Asakura T, Tsukada Y, Matsuura T. Antibody to human  $\alpha$ -fetoprotein inhibits cell growth of human hepatocellular carcinoma cells by resuscitating the PTEN molecule: in vitro experiments. *Int J Oncol* 2017; 50(6): 2180-90.

## Ⅲ. 学会発表

- 1) 朝倉 正, 箕輪はるか, 堀内 公子, 吉川英樹, 岸本充弘, 小山由起, 池内新司. プロテアソーム阻害剤に耐性を獲得したがん細胞における EMT 誘発機構 (Mechanism of epithelial-mesenchymal transition (EMT) induction in proteasome inhibitor-resistant cancer cells). 第 134 回成医会総会. 東京, 10 月.
- 2) Minowa H, Kato Y, Ogata Y. Rapid separation and easy measurement using plastic scintillator for radiostrontium in seawater. LSC2017: Advances in Liquid Scintillation Spectrometry. Copenhagen, May.
- 3) Kato Y, Minowa H, Ogata Y. Development of a method to measure filter sample using plastic scintillator. LSC2017: Advances in Liquid Scintillation Spectrometry. Copenhagen, May.
- 4) 箕輪はるか, 北 和之, 篠原 厚, 河津賢澄, 二宮和彦, 稲井優希, 大槻 勤, 木野康志, 小荒井一真, 齊藤 敬, 佐藤志彦, 末木啓介, 高宮幸一, 竹内幸生, 土井妙子, 上杉正樹, 遠藤 暁, 奥村真吾, 小野貴大, 小野崎晴佳, 勝見尚也, 神田晃充, グェンタットタン, 久保謙哉, 金野俊太郎, 鈴木杏菜, 鈴木正敏, 鈴木健嗣, 高橋賢臣, 竹中聡汰, 張 子見, 中井 泉, 中村駿介, 南部明弘, 西山雄大, 西山純平, 福田大輔, 藤井健悟, 藤田将史, 宮澤直希, 村野井友, 森口祐一, 谷田貝亜紀代, 山守航平, 横山明彦, 吉田 剛, 吉村崇. 福島第一原子力発電所近傍における事故 5 年後の土壤中放射性物質の調査初期結果. 日本地球惑星科学連合 2017 年大会. 千葉, 5 月.
- 5) 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Ⅰ: イオン交換法を用いた海水中ストロンチウムの化学分離. 第 54 回放射線・アイソトープ研究発表会. 東京, 7 月.
- 6) 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Ⅱ: プラスチックシンチレータを用いた濾紙上試料の測定. 第 54 回放射線・アイソトープ研究発表会. 東京, 7 月.
- 7) 箕輪はるか, 吉川英樹, 中間茂雄, 佐藤志彦, 末木啓介. 福島第一原子力発電所近傍におけるダスト中の放射性セシウム含有粒子の分布調査. 2017 日本放射化学会年会・第 61 回放射化学討論会. つくば, 9 月.
- 8) Minowa H, Kato Y, Ogata Y. A rapid and convenient method with ion exchange resin for radiostrontium separation in seawater. APSORC17 (6th Asia-Pacific Symposium on Radiochemistry). Jeju, Sept.
- 9) Kato Y, Minowa H, Ogata Y. Measurement of radiostrontium with plastic scintillator using a liquid scintillation system. APSORC17 (6th Asia-Pacific Symposium on Radiochemistry). Jeju, Sept.
- 10) 加藤結花, 箕輪はるか, 緒方良至. プラスチックシ

ンチレータボトルを用いた放射性ストロンチウムの測定法の開発. 第 19 回「環境放射能」研究会. つくば, 3 月.