

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 歯学 ）	氏名	Preeyaporn Srimawong
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1・2 項該当		
論文題目 Effects of Irradiation on Bone Metastasis of Breast Cancer Cells (放射線による乳がんの転移抑制効果の研究)			
論文審査担当者			
主 査	内田 隆	印	
審査委員	吉子 裕二		
審査委員	谷本 幸太郎		
〔論文審査の結果の要旨〕			
論文題目：Effects of Irradiation on Bone Metastasis of Breast Cancer Cells (放射線による乳がんの転移抑制効果の研究)			
学位申請者 Preeyaporn Srimawong			
<p>Periostin は様々ながんで発現が報告されており，特に骨転移性のがんで顕著である。また，がん放射線治療の特徴は，がんに浸潤される組織の機能と形態の温存が出来るということにつける。しかし，一部の研究結果では放射線照射が転移を増加させると報告されている。さらに，骨転移がんの患者血清中には Periostin が増加することも報告されている。われわれは骨転移性がん細胞にガンマ線を照射したところ Periostin の発現が増加して転移能の増強との関連が示唆された。しかし，従来のガンマ線照射に比べて高 LET 炭素線照射では増加が緩慢で，ガンマ線に比べて抑制傾向にあることが明らかになった。この結果よりがん転移を抑制しながら効果的な新しい放射線治療の可能性が期待される。</p> <p>一方，これまでのがん放射線治療で周囲骨における反応はガンマ線照射と炭素線照射では形態学的，生化学的応答において相反するものがあつた。すなわちガンマ線では骨の吸収が見られたが，炭素線照射群では骨吸収が抑制され，石灰化が亢進した。</p> <p>そこで，Periostin を介した骨浸潤性乳がん細胞 FM3A/R と骨形成細胞における反応の差を解析するために，ガンマ線あるいは炭素線を FM3A/R に照射した後，Periostin mRNA の発現と，照射 FM3A/R と共存培養した骨芽細胞様 MC3T3-E1 の産生する骨芽細胞分化マーカーの変化を Western Blotting にて計測した。</p> <p>FM3A/R のガンマ線あるいは炭素線照射後，射線量一殺細胞効果を Western Blotting にて計測したところ，炭素線はガンマ線に対して 1.2 倍程度の殺細胞効果があつた。殺細胞効果に大きな差が無いことから，線質の異なる放射線照射後の細胞応答を比較するために</p>			

Periostin mRNA を計測したところ、いずれも非照射細胞に比べて発現は増加したが、ガンマ線に比べて炭素線照射後の発現増加は少なかった。ガンマ線あるいは炭素線照射した FM3A/R をコラーゲン包埋して 3 日培養すると、細胞周囲のコラーゲンに局在する Periostin タンパクは RT-PCR の結果と一致した。

照射した FM3A/R と非照射 MC3T3-E1 を共存培養したところ、Periostin の増加に伴って MC3T3-E1 の破骨細胞誘導因子 RANKL と血管内皮細胞誘導因子 VEGF の産生が増加した。これらの発現変動は Periostin によるものと推論して、MC3T3-E1 培地に Recombinant Periostin を添加したところ、濃度依存性に RANKL, VEGF 産生が増加した。さらに siRNA により Periostin の発現を抑制した後の共存培養では MC3T3-E1 の RANKL と VEGF の産生が減少した。

FM3A/R に対する照射線量を低減して共存培養期間を 7 日目まで延長し、経時的に骨芽細胞の成熟因子を計測した。実験開始から 7 日目で非照射群に比べて炭素線照射群では Runx2 が減少して Osterix が上昇した。また Osteopontin, Osteocalcin が実験開始から 3 日目で非照射群に比べて高値を示し、とりわけ 7 日目では顕著であった。これに対してガンマ線照射群では Runx2 の発現も少なく他の骨芽細胞の分化マーカーの発現も微弱であった。

マウス脛骨にガンマ線あるいは炭素線を照射した FM3A/R を直接注入移植したところ、ほぼ全てに実験動物にがん組織の発生と骨破壊を認めた。組織学的にはがん組織における Periostin の局在と破骨細胞による骨破壊像が確認され、特に炭素線照射細胞を移植した動物ではがん組織に近接する部位に活発な骨芽細胞と不正な骨の形成を認めた。

以上の結果から

1. 骨浸潤性がん細胞の産生する Periostin の存在下に骨芽細胞の産生する破骨細胞誘導因子、および血管内皮細胞誘導因子の発現が増強してがん細胞周囲の骨破壊が亢進する可能性が示されたが、がん放射線治療において従来の低 LET 放射線治療においては放射線照射後の転移したがん細胞の産生する Periostin により骨の浸潤が促進する可能性が示された。しかし、重粒子線がん放射線治療においては Periostin 産生が制限され、高い殺細胞効果と相乗して転移を抑制しながら効果的治療が期待できる。

2. 骨浸潤性がん細胞の産生する Periostin の存在下に骨芽細胞マーカーの発現レベルが変動したことから外来性の Periostin 刺激が骨芽細胞の機能に影響を与え、骨の増生と吸収の平衡が崩れた可能性が推論される。

これらの研究成果はがん放射線治療の改善に有益と判断され、審査員一同は、本論文が博士(歯学)の学位論文としての価値を有するものと認めた。