

課題番号	LS071
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成 23 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

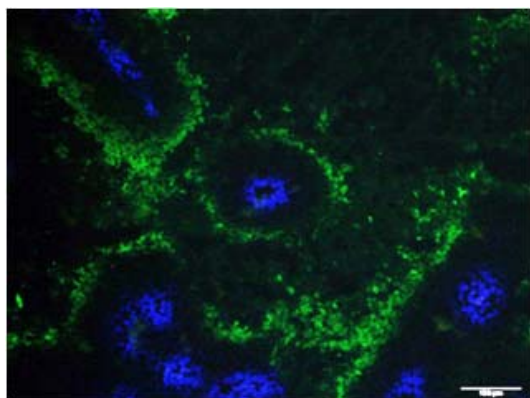
研究課題名	放射線治療抵抗性がん細胞の腫瘍内局在・動態の解明とイメージングプローブの開発
研究機関・ 部局・職名	京都大学・ 学際融合教育研究推進センター 生命科学系キャリアパス形成ユニット ・ 講師
氏名	原田 浩

1. 当該年度の研究目的

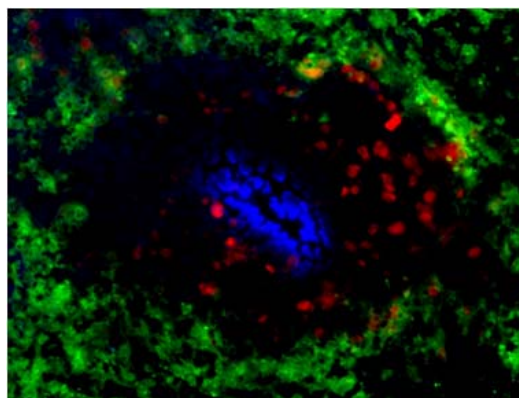
- 前年度、「放射線治療の効果を左右し得る各種要因を光として検出するための遺伝子組み換え細胞株」を各種樹立した。その中から、本研究の核となるインビボ光イメージング研究で用いる一連の遺伝子組み換え細胞株を取捨選択・最適化する。
- 前年度に「HIF-1を活性化する遺伝子のスクリーニング」を通して得た3種の新規遺伝子につき、その作用機序と機能を解析するための研究資材を準備する。これを用いて HIF-1 活性化機構の解明、およびがん細胞の幹細胞様形質維持機構の解明に着手する。
- 悪性腫瘍や腫瘍内低酸素を可視化し得るイメージングプローブの特性をインビトロで評価し、以降の開発に耐えうるプローブを絞り込む。

2. 研究の実施状況

- 腫瘍内の低酸素がん細胞に光標識を入れた後に放射線治療を施し、これら細胞群の動きを観察した。その結果、低酸素誘導因子 1(HIF-1)の活性が低い低酸素がん細胞(HIF-1 陰性低酸素がん細胞)が HIF-1 陽性低酸素がん細胞と比較して放射線治療を有意に生き残ることを明らかにした。また、生き残った HIF-1 陰性細胞が放射線治療後に HIF-1 活性を獲得し、それを切欠に腫瘍血管に向かって移動、最終的にがんの再発を導くというメカニズムを解明した。



がん再発の原因となる HIF-1 陰性低酸素がん細胞 (緑) は腫瘍血管 (青) から 100μm 程度離れて潜んでいる。



放射線治療を生き延びた HIF-1 陰性低酸素がん細胞 (赤) は、その後 HIF-1 活性を獲得する。これを引き金に腫瘍血管 (青) 方向に移動し、再発を導く。

次に着手しなければならない課題は、HIF-1 陰性低酸素がん細胞が放射線を生き残るメカニズムを解明することである。前年度に準備を終えた‘細胞周期に応じて色を変える細胞’、‘DNA 損傷部位が光る細胞’、‘HIF-1 活性化状態で光る細胞’を最適化し、インビボイメージング実験の準備を終えた。今後、腫瘍組織レベルでメカニズムを解析する実験を実施する予定。

2. 上述のスクリーニング系で獲得した3種の新規遺伝子いずれもが、HIF-1 活性を亢進することを確認した。各々の作用機序が HIF-1alpha タンパク質の安定性の向上や、HIF-1alpha タンパク質のトランスアクティベーション活性の亢進などであることを解明した。
3. イメージングプローブのプロトタイプが EPR 効果 (enhanced permeability and retention 効果) によって悪性腫瘍に集積する能力を持つこと、および低酸素環境下で強い蛍光を発する能力を持つことを確認した。

全ての研究項目について当初の目標を達成するとともに、項目 1、2 については予定を大幅に上回る成果を得た。

3. 研究発表等

雑誌論文 計 11 件	(掲載済み—査読有り) 計 11 件 (掲載済み—査読無し) 計 0 件 (未掲載: in press) 計 0 件
	<ol style="list-style-type: none"> 1. *Harada H, Inoue M, Itasaka S, Hirota K, Morinibu A, Shinomiya K, Zeng L, Ou G, Zhu Y, Yoshimura M, McKenna WG, Muschel RJ, Hiraoka M. Cancer cells that survive radiation therapy acquire HIF-1 activity and translocate towards tumour blood vessels. Nature Communications. 3:783 doi: 10.1038/ncomms1786. 2012. http://www.nature.com/ncomms/journal/v3/n4/full/ncomms1786.html (ISSN (online) 2041-1723) 2. Kai S, Tanaka T, Daijo T, Harada H, Kishimoto S, Suzuki K, Takabuchi S, Takenaga K, Fukuda K, Hirota K. Hydrogen sulfide inhibits hypoxia- but not anoxia-induced hypoxia-inducible factor 1 activation in a von Hippel-Lindau- and mitochondria-dependent manner. Antioxidant & Redox Signaling. 16: 203-216. 2012. http://online.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/ars.2011.3882 (ISSN 1523-0864) 3. Saha D, Dunn H, Zhou H, Harada H, Hiraoka M, Mason RP, Zhao D. In vivo bioluminescence imaging of tumor hypoxia dynamics of breast cancer brain metastasis in a mouse model. Journal of Visualized Experiments. (56), e3175, DOI: 10.3791/3175. 2011. http://www.jove.com/video/3175/in-vivo-bioluminescence-imaging-of-tumor-hypoxia-dynamics-of-breast-cancer-brain-metastasis-in-a-mouse-model 4. Miki K, Oride K, Kimura A, Kuramochi Y, Matsuoka H, Harada H, Hiraoka M, Ohe K. Influence of side chain length on fluorescence intensity of ROMP-based polymeric nanoparticles and their tumor specificity in in vivo tumor imaging. Small. 7: 3536-3547. 2011. http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/sml.201101637/abstract (ISSN 1613-6810) 5. Yeom CJ, Zeng L, Zhu Y, Hiraoka M, *Harada H. Strategies to assess hypoxic/HIF-1-active cancer cells for the development of innovative radiation therapy. Cancers. 3: 3610-3631. 2011. http://www.mdpi.com/2072-6694/3/3/3610/ (ISSN 2072-6694) 6. *Harada H. How can we overcome tumor hypoxia in radiation therapy? Journal of Radiation Research. 52: 545-556. 2011. http://www.jstage.jst.go.jp/article/jrr/52/5/52_545/article (ISSN 0449-3060) 7. Daijo H, Kai S, Tanaka T, Wakamatsu T, Kishimoto S, Suzuki K, Harada H, Takabuchi S, Adachi T, Fukuda R, Hirota K. Fentanyl activates hypoxia-inducible factor 1 in neural SH-SY5Y cells and mice under non-hypoxic conditions in a m-opioid receptor-dependent manner. European Journal of Pharmacology. 667: 144-152. 2011. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014299911007199 (ISSN 0014-2999) 8. Miki K, Kimura A, Oride K, Kuramochi Y, Matsuoka H, Harada H, Hiraoka M, Ohe K. High-contrast fluorescence tumor imaging in vivo utilizing nanoparticles of amphiphilic dual brush-like copolymers

	<p>produced by ROMP and click reaction. <i>Angewandte Chemie International Edition</i>. 50: 6567-6570. 2011. http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/anie.201101005/abstract (ISSN 1433-7851)</p> <p>9. Makino A, Harada H, Okada T, Kimura H, Amano H, Saji H, Hiraoka M, Kimura S. Effective encapsulation of a new cationic gadolinium chelate into apoferritin and its evaluation as an MRI contrast agent. <i>Nanomedicine</i>. 7:638-646. 2011 http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1549963411000190 (ISSN 1549-9634)</p> <p>10. *原田浩、後藤容子、井上実、平岡真寛. 放射線治療における低酸素イメージングの有用性. <i>臨床放射線</i>.57:518-526. 2012</p> <p>11. *原田浩、平岡真寛. がんに対する高精度放射線治療法の確立を見据えた低酸素イメージングの方向性. <i>PET ジャーナル</i>.15: 41-43. 2011.</p>
<p>会議発表 計 15 件</p>	<p>専門家向け 計 14 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 原田浩. 放射線治療後のがん再発機構の解明とその克服 -低酸素バイオロジーと放射線腫瘍学の接点-. 公益財団法人 中山がん研究所 平成 23 年度 消化器疾患プロジェクトシンポジウム 特別講演. Feb. 25. 2012. 公益財団法人中山がん研究所主催 2. Hiroshi Harada. Cancer cells that obtain HIF-1 activity after radiotherapy cause local tumor recurrence through translocation toward tumor vasculatures. Keystone Symposia. Banff, Canada. Feb 13. 2012. Keystone Symposia 主催 3. 原田浩. 低酸素細胞を標的としたアプローチ.第 14 回国際癌治療増感研究シンポジウム -新たながん治療の可能性と展望-. Feb. 10-11. 2012. 国際癌治療増感研究協会主催 4. Hiroshi Harada. Functions of HIF-1 in Tumor Recurrence after Radiation Therapy. 2nd International Symposium for CPLS-ICDO Program, Kyoto University. Kyoto. Feb. 1. 2012. 京都大学主催 5. 原田浩. 放射線治療後のがん再発機構の解明とその克服 -低酸素バイオロジーと放射線腫瘍学の接点-. 富山大学大学院 医学歯薬学研究部 放射線基礎医学セミナー、分子放射線腫瘍学特論. Dec. 2. 2011. 富山大学主催 6. 原田浩. 放射線治療後のがん局所再発における hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1)の機能. 53 回 日本放射線影響学会学術総会. シンポジウム. 低酸素バイオロジーに基づく放射線生物学・放射線腫瘍学の新展開. Nov. 18. 2011. 日本放射線影響学会主催 7. 原田浩. 放射線治療後の腫瘍局所再発における腫瘍低酸素と HIF-1 の役割. 京都府立医科大学 細胞生理学教室セミナー. Oct. 19. 2011. 京都府立医科大学主催 8. 原田浩. HIF-1-mediated metabolic switch is responsible for distant tumor metastasis to lungs. 第 70 回 日本癌学会学術総会. 名古屋国際会議場. Oct 3. 2011. 日本癌学会主催 9. 原田浩. 放射線治療後のがん再発機構の解明とその克服 -低酸素バイオロジーと放射線腫瘍学の接点- 名古屋市立大学大学院システム自然科学研究科 田上研究室(クロマチン制御学)セミナー. Sep. 30. 2011. 名古屋市立大学主催 10. 原田浩. HIF-1 イメージングによるがんの放射線抵抗性機構の解析. 東京医科歯科大学・キャンサーボードセミナー/特別講義. Sep. 15. 2011. 東京医科歯科大学主催 11. Harada H. Molecular Mechanism behind HIF-1-mediated Radioresistance and Postirradiation Recurrence of Malignant Solid Tumors. 14th International Congress of Radiation Research 2011. Warsaw. Aug. 27-Sep. 3. 2011. International Association for Radiation Research 主催 12. 原田浩. 光イメージングで迫る腫瘍低酸素がん細胞の動態とがん再発への寄与. 第 23 回 日本化学会 生体機能関連化学部会サマースクール. 広島. Jul. 22-23. 2011. 日本化学会主催 13. 原田浩. 光イメージングとトラッキングで迫る腫瘍低酸素のダイナミクスと治療抵抗性への影響. 第 44 回 日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会. 京都. Jul. 14-15. 2011. 日本整形外科学会主催 14. 原田浩. HIF-1 活性化因子 HIF-1-Promoting Factor (HPF)の治療標的としての可能性. 第 17 回国際がん治療増感研究会総会. 仙台. Jun 25. 2011. 国際癌治療増感研究協会主催 <p>一般向け 計 1 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 原田浩、平岡真寛. サイエンスカフェ『分子画像 X 追尾技術 = 究極の放射線治療』. 京都大学アカデミックデー. Mar 10. 2012. 京都大学主催

様式19 別紙1

<p>図書 計1件</p>	<p>1. Yoshimura M, Hiraoka M, *Harada H. Molecularly based Chemoradiotherapy and High-Precision Radiotherapy. Tan D, Lynch H (eds). Principles of Molecular Diagnostics and Personalized Cancer Medicine. Lippincott Williams & Milkins. in press.</p>
<p>産業財産権 出願・取得状 況 計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>原田研究室ホームページ: http://www.cp.kyoto-u.ac.jp/Harada/ 京都大学ホームページ(研究成果の公表): http://www.kyoto-u.ac.jp/ja/news_data/h/h1/news6/2012/120418_1.htm 国民との対話(サイエンスカフェ)実施状況の公開: http://www.cp.kyoto-u.ac.jp/Harada/Kyoto_ Univ_Academic_Day_120312.pdf</p>
<p>国民との科学・ 技術対話の実 施状況</p>	<p>2012年3月10日に開催された京都大学アカデミックデーにおいて、『分子画像 X 追尾技術 = 究極の放射線治療』と題するサイエンスカフェを実施した。研究成果を噛み砕いて紹介するとともに、多くの方が抱く「そもそも‘がん’や‘放射線治療’とは何なのか?」という疑問にお答えした。 対象者:一般の方々、参加者:346人 当日の様子をまとめ、研究室のホームページ上で公開した。 (http://www.cp.kyoto-u.ac.jp/Harada/Kyoto_ Univ_Academic_Day_120312.pdf)</p>
<p>新聞・一般雑誌 等掲載 計8件</p>	<p>研究成果(がんが放射線治療後に再発するメカニズムの解明)が以下の新聞などで報道された。 【新聞報道】 ①朝日新聞(4月18日37面 放射線治療後 がん再発のワケ)、②京都新聞(4月18日32面 再発原因が ん細胞 特定!!)、③産経新聞(4月18日28面 がん再発 原因解明 放射線治療 細胞移動し生存)、④日刊 工業新聞(4月18日19面 放射線治療後のがん再発 京大が機構解明 残存細胞が血管に移動)、⑤日本経 済新聞(4月18日46面 放射線治療後がん再発 特定の遺伝子が活発化 京大・仕組みを解明)、⑥中日新聞 (4月18日3面 放射線治療後のがん再発 血管へ移動し再発 京大解明)、⑦毎日新聞(4月24日13面 放 射線治療後のがん解明)、⑧読売新聞(4月24日夕刊2面 がん再発 低酸素の影) 【インターネット版ニュース】 The Wall Street Journal: http://jp.wsj.com/Japan/node_428378 Nature Publishing Group 注目の論文: http://www.natureasia.com/japan/highlights/details.php?id=1779 朝日新聞: http://www.asahi.com/science/update/0417/OSK201204170077.html 日本経済新聞: http://www.nikkei.com/news/category/article/g=96958A9C889DE6E2E7E3E7E4E0E2E3EAE2E6E0E2E3E09180EAE2E2E2 京都新聞: http://headlines.yahoo.co.jp/hl?a=20120418-00000002-kyt-l26 時事通信: http://headlines.yahoo.co.jp/hl?a=20120418-00000004-jji-soci goo ニュース: http://news.goo.ne.jp/article/mycom/world/mycom_411123.html マイナビニュース: http://headlines.yahoo.co.jp/hl?a=20120419-00000009-mycomj-sci 47 ニュース: http://www.47news.jp/medical/2012/04/post_20120418160007.php UNN 関西学生報道連盟: http://www.unn-news.com/news/201204193541 京都大学公式ホームページ: http://www.kyoto-u.ac.jp/ja/news_data/h/h1/news6/2012/120418_1.htm (独)医薬基盤研究所ホームページ: http://www.nibio.go.jp/news/2012/04/000408.html</p>
<p>その他</p>	<p>研究室のホームページ内に、研究成果を噛み砕いて紹介するページを新たに準備した。 http://www.cp.kyoto-u.ac.jp/Harada/NEXT%20Program.html 研究成果(がんが放射線治療後に再発するメカニズムの解明)がテレビのニュースで報道された。 ①京都テレビ(4月18日 午前 11:50~京都新聞ニュース、午後 17:50~ 京都新聞ニュース)</p>

4. その他特記事項

特になし

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	116,000,000	46,000,000	0	70,000,000	0
間接経費	34,800,000	13,800,000	0	21,000,000	0
合計	150,800,000	59,800,000	0	91,000,000	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	45,082,383	0	0	45,082,383	45,052,118	30,265	0
間接経費	13,800,000	0	0	13,800,000	0	13,800,000	0
合計	58,882,383	0	0	58,882,383	45,052,118	13,830,265	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	26,378,756	PCR装置、細胞培養装置、遠心分離機、細胞数計測機、共焦点レーザー顕微鏡、実験試薬、実験動物、細胞培養用試薬など
旅費	2,504,586	研究成果発表旅費(Keystoneシンポジウム、日本癌学会他)
謝金・人件費等	9,058,850	博士研究員、技術員の人件費、講演謝金
その他	7,109,926	論文投稿料、研究外注費、研究機器保守費用など
直接経費計	45,052,118	
間接経費計	0	
合計	45,052,118	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
Veriti 96-wellサー マルサイクラー	Applied Biosystems	2	926,100	1,852,200	2012/4/26 2012/12/6	京都大学
ステリサイクルCO2 インキュベーター	Thermo Fisher	2	1,086,750	2,173,500	2012/8/31	京都大学
共焦点レーザー走 査型顕微鏡FV10i	オリンパス	1	12,666,780	12,666,780	2012/3/16	京都大学