

Contribution of Nitric Oxide to Radiation-Induced Bystander Effect

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2007-08-09 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 松本, 英樹, 加納, 永一, Matsumoto, H, Kano, E メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10098/1058

特集

第30回放射線による制癌シンポジウム

● 治療効果比向上への新しい展開 ●

セッション1：生物効果の分子機構

NO ラジカルをイニシエーターとする
放射線誘発バイスタンダー効果

松本英樹*1 加納永一*1

Contribution of Nitric Oxide to Radiation-Induced Bystander Effect: Matsumoto H and Kano E (Dept of Experimental Radiology and Health Physics, Fukui Medical Univ)

Nitric oxide and its metabolites such as peroxynitrite and nitric dioxide cause DNA damage and protein modifications. In addition, nitric oxide can induce p53 accumulation. As part of a feedback loop, p53 mediates transcriptional transrepression of inducible nitric oxide synthase. Recent studies have suggested the interactive effects of nitric oxide and p53 on cellular sensitivity against cancer therapeutic agents. This review summarizes current knowledge, including our findings, of the roles of nitric oxide in cellular response to cancer therapeutic agents, in particular radiation-induced bystander effect and the involvement of the p53 gene status in this regard.

Key words: Radiation, Bystander effect, Nitric oxide, p53, Radiotherapy

Jpn J Cancer Clin 47(1): 8~11, 2001

はじめに

地球上に現存する生命体が約30数億年の長い進化の歴史の中で決して失うことなく維持し続けてきた生体機能の1つに自己防衛手段としてのストレス応答機構がある。細胞は放射線・温熱・低栄養・低酸素等のさまざまなストレスに応答し、我身を守るためにさまざまな遺伝子産物を産生し、ストレスに対処していく能力を有する。癌細胞も例外ではない。細胞の種々のストレスに対する応答機構は癌抑制遺伝子産物 p53 を中心とする細胞内シグナル伝達系を介して行われることが明らかにされつつある¹⁾。しかし、集学的癌治療において標的となる癌細胞が放射線・抗癌剤・

温熱等の各種制癌要因に対して応答する結果、その細胞から分泌される代謝産物に対する2次的なストレス応答が共存する非標的細胞に誘導される可能性も考えられ、組織・器官および個体レベルでのストレス応答についてはいまだ不明な点が多い。

1992年、Nagasawa²⁾らが非標的細胞におけるDNA損傷に因らない間接的な放射線影響について「ある細胞集団の1%未満の細胞にのみ低線量α線を照射したにもかかわらず、その細胞集団の30~50%の細胞に姉妹染色分体交換(SCE)が出現した」と報告して以来、この非標的細胞における間接的な放射線影響、すなわち「バイスタンダー効果」が注目されている(表1)。このメカニズムには以下の4つの仮説が唱えられている(図1)。

*1 福井医科大学放射線基礎医学教室

表1 References of Bystander (Non-targeting) Effect in the Field of Radiation Biology

Author(s)	Agents	Findings	Ref.
Nagasawa H and Little JB (1992)	α -particles	Unexpected rate of SCE after irradiation with low-dose α -particles.	2)
Hickman AW, <i>et al</i> (1994)	X-rays α -particles	Accumulation of p53 in non-irradiated bystander cells by cocultivation with irradiated target cells.	3)
Lehnert BE and Goodwin EH (1997)	α -particles	Induction of SCE in non-irradiated bystander cells by the extracellular factors excreted from irradiated target cells.	4)
Mothersill C and Saymoure C (1997)	γ -rays	Induction of apoptosis in non-irradiated bystander cells by exposure to the medium of irradiated target cells.	5)
Azzam EI, <i>et al</i> (1998)	α -particles	Accumulation of p53, p21/WAF1 in non-irradiated bystander cells by cocultivation with irradiated target cells.	6)
Prise KM, <i>et al</i> (1998)	He particles (microbeams)	Induction of micronuclei and apoptosis in non-irradiated bystander cells by cocultivation with irradiated target cells.	7)
Komarova EA, <i>et al</i> (1998)	γ -rays	Induction of p53-dependent secretion of growth factor by stress.	8)
Matsumoto H, <i>et al</i> (1999)	Hyperthermia	Induction of thermoresistance by a nitric oxide-mediated bystander effect.	9, 10)
Iyer R and Lehnert BE (2000)	α -particles	The decreased p53/WAF1 bystander effect induced by low-dose α -particles.	11)
Matsumoto H, <i>et al</i> (2000, 2001)	C-beams X-rays	Induction of radioresistance by a nitric oxide-mediated bystander effect.	12, 13)

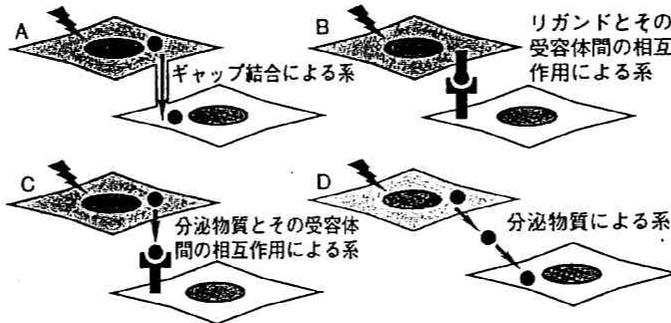


図1 バイスタンダー効果の発現モデル

- A. ギャップ結合による細胞間結合を介して代謝産物が標的細胞から非標的細胞へ伝達され、非標的細胞において間接的な放射線影響が誘発されるモデル。
- B. 標的細胞の呈示するリガンドと非標的細胞の受容体間の相互作用により非標的細胞において間接的な放射線影響が誘発されるモデル。
- C. 標的細胞から分泌された物質（バイスタンダー因子）と非標的細胞の受容体間の相互作用により非標的細胞において間接的な放射線影響が誘発されるモデル。

- D. 標的細胞から分泌されたバイスタンダー因子が非標的細胞に直接作用し、非標的細胞において間接的な放射線影響が誘発されるモデル。

われわれはDのモデルに着目し、遺伝的背景において癌抑制遺伝子 *p53* のみ異なるヒト神経膠芽腫細胞を用いて研究を行い、放射線により誘発される *p53* 依存性バイスタンダー効果のバイスタンダー因子の1つが一酸化窒素 (NO) ラジカルであることを見出したので概説する。

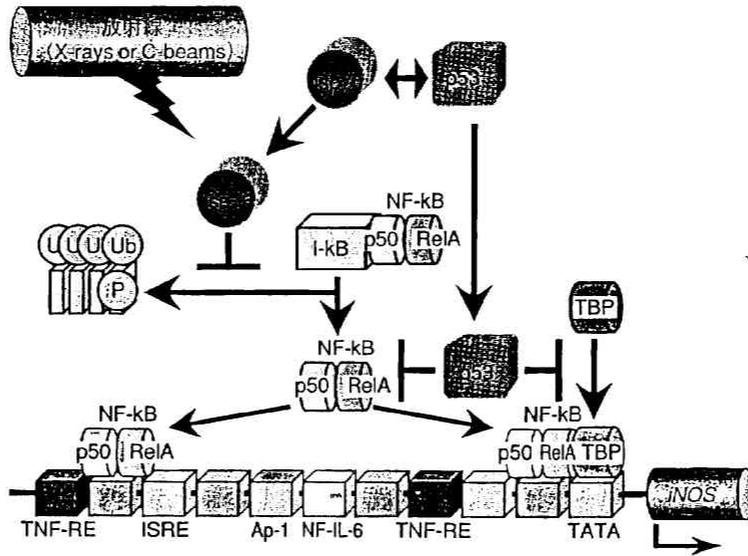


図2 野生型 p53 による iNOS 発現のネガティブフィードバックモデル

1. 放射線による誘導型一酸化窒素合成酵素の誘導

放射線 (X 線および重粒子線) 照射により変異型 *p53* (*mp53*) 細胞においてのみ顕著な誘導型一酸化窒素合成酵素 (iNOS: inducible nitric oxide synthase) の蓄積誘導が観察された^{12,13}。iNOS の遺伝子発現は野生型 *p53* (*wtp53*) による負の制御を受けている (図 2)。wtp53 は iNOS の遺伝子発現に必須の転写因子である TBP (TATA box binding protein) あるいは NFκB (nuclear factor kappa B) との相互作用により iNOS のプロモーター活性を减弱させるという 2 つの仮説が提唱されている^{14,15}。wtp53 細胞において放射線照射後に iNOS の誘導がほとんどみられなかったのは、放射線照射より蓄積誘導された wtp53 がこれらの相互作用により iNOS の発現を抑制したためであり、mp53 細胞ではそのようなフィードバックが作用しないために顕著な iNOS の蓄積が誘導されたと考えられる。mp53 細胞では放射線照射後、培養液中の亜硝酸塩濃度の明らかな上昇がみられ、その上昇は iNOS 阻害剤であるアミノグアニジン (100 μM) の添加により抑制された。放射線による mp53 細胞における iNOS の誘導が培養液中への NO ラジカルの

放出を引き起こし、培養液中の亜硝酸塩濃度が上昇していることが明らかになった。

2. NO ラジカルをイニシエーターとするバイスタンダー効果：遺伝子発現の誘導

放射線照射した標的細胞 (mp53 細胞) と非標的細胞 (wtp53 細胞) の共培養により wtp53 細胞において hsp72 および wtp53 の蓄積が誘導され、iNOS 阻害剤 (100 μM アミノグアニジン) の添加によりこれらの蓄積誘導は完全に抑制された^{12,13}。また放射線照射した mp53 細胞のコンディショニング培地への wtp53 細胞の暴露によっても wtp53 細胞において hsp72 および wtp53 の蓄積が誘導され、これらの蓄積誘導はコンディショニング培地調製時に NO 除去剤 (50 μM carboxy-PTIO) を添加することにより完全に抑制された^{12,13}。

3. NO ラジカルをイニシエーターとするバイスタンダー効果：放射線抵抗性の誘導

放射線照射された標的細胞 (mp53 細胞) のコンディショニング培地中での非標的細胞 (wtp53 細胞) の放射線感受性は新鮮な増殖培地中でのそれ

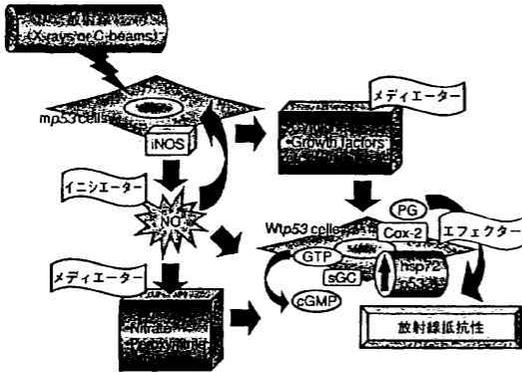


図3 NOラジカルによるバイスタンダー効果(放射線抵抗性の誘導)

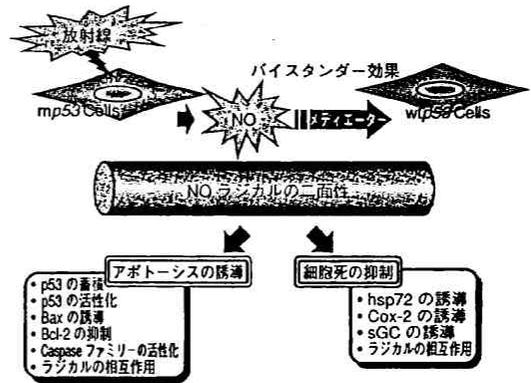


図4 NOラジカルの二面性

より抵抗性を示した^{12,13}。この放射線抵抗性の誘導はコンディション培地調製時に iNOS 阻害剤 (100 μM アミノグアニジン) を添加することにより抑制された。

まとめ

標的細胞により産生される NO ラジカルをイニシエーターとするバイスタンダー効果により非標的細胞にさまざまな遺伝子発現が誘導され、結果として放射線抵抗性を誘導することが明らかとなった (図3)。このことは分割照射による癌放射線治療において刻々と癌細胞の放射線感受性が変化し得る可能性を示唆している。一方、NO ラジカルはアポトーシス誘導因子としても知られている¹⁶。つまり NO ラジカルは二面性を持ち、ある時は放射線防護因子として作用し、またある時は放射線増感剤として作用する可能性を有する (図4)。放射線により誘発されるバイスタンダー効果のメカニズムの全貌はまだ明らかにされていないが、p53 依存性の NO ラジカルをイニシエーターとする細胞間シグナル伝達系がその1つである可能性が示唆された。癌放射線治療の成績向上のためにはさまざまな制癌要因に対する癌細胞の応答機構の解明が不可欠であり、細胞内シグナル伝達系のみならず細胞間シグナル伝達系の解明が重要であることが強く示唆される。

最後になりましたが執筆の機会を与您して下さい

ました関係各位に感謝の意を表します。

文献

- 1) Wang X, Ohnishi T: *J Radiat Res* 38: 179-194, 1997
- 2) Nagasawa H, Little JB: *Cancer Res* 52: 6394-6396, 1992
- 3) Hickman AW, Jaramillo RJ, Lechner JF, et al: *Cancer Res* 54: 5797-5800, 1994
- 4) Lehnert BE, Goodwin EH: *Cancer Res* 57: 2164-2171, 1997
- 5) Mothersill C, Seymour C: *Int J Radiat Biol* 71: 421-427, 1997
- 6) Azzam EI, de Toledo SM, et al: *Radiat Res* 150: 497-504 1998
- 7) Prise KM, Belyakov OV, Folkard M, et al: *Int J Radiat Biol* 74: 793-798, 1998
- 8) Komarova EA, Diatchenko L, Rokhlin OW, et al: *Oncogene* 17: 1089-1096, 1998
- 9) Matsumoto H, Hayashi S, Hatashita M, et al: *Nitric Oxide* 3: 180-189, 1999
- 10) Matsumoto H, Hayashi S, Hatashita M, et al: *Cancer Res* 59: 3239-3244, 1999
- 11) Iyer R, Lehnert BE: *Cancer Res* 60: 1290-1298, 2000
- 12) Matsumoto H, Hayashi S, Hatashita M, et al: *Int J Radiat Biol* 76: 1649-1657, 2000
- 13) Matsumoto H, Hayashi S, Hatashita M, et al: *Radiat Res* 155: 387-396, 2001
- 14) Forrester K, Ambs S, Lupold SE, et al: *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 2442-2447, 1996
- 15) Webster GA, Perkins ND: *Mol Cell Biol* 19: 3485-3495, 1999
- 16) Brüne B, von Knethen A, Sandau KB: *Cell Death Differ* 6: 969-975, 1996