

第一回
放射線神経生物学研究集会

抄録集

S01 Adult neurogenesis modulates the hippocampus-dependent period of fear memory

Kaoru Inokuchi

Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Graduate School of Medicine & Pharmaceutical Sciences, University of Toyama, , Toyama 930-0194, Japan
Japan Science and Technology Agency, CREST, Kawaguchi 332-0012, Japan

Acquired memory initially depends on the hippocampus (HPC) for the process of cortical permanent memory formation. The mechanisms through which memory becomes progressively independent from the HPC remain unknown. In the HPC, adult neurogenesis has been described in many mammalian species, even at old ages. Using two mouse models in which hippocampal neurogenesis is physically, by X ray irradiation, or genetically suppressed, we show that decreased neurogenesis is accompanied by a prolonged HPC-dependent period of associative fear memory. Inversely, enhanced neurogenesis by voluntary exercise sped up the decay rate of HPC-dependency of memory, without loss of memory. Consistently, decreased neurogenesis facilitated the long-lasting maintenance of rat hippocampal long-term potentiation *in vivo*. These independent lines of evidence strongly suggest that the level of hippocampal neurogenesis play a role in determination of the HPC-dependent period of memory in adult rodents. These observations provide a new framework for understanding the mechanisms of the hippocampal-cortical complementary learning systems.

Reference

Kitamura, T., Saitoh, Y., Takashima, N., Murayama, A., Niibori, Y., Ageta, H., Sekiguchi, M., Sugiyama, H. & Inokuchi, K. Adult neurogenesis modulates the hippocampus-dependent period of associative fear memory. *Cell* 139, 814-827 (2009).

S02 放射線の発達神経毒性：メダカ胚を用いた研究

石川裕二

放射線医学総合研究所

発達中の脳は放射線などの影響を受けやすく、その悪影響（発達神経毒性）を調べることは、特に無影響のレベルを科学的に示すことは重要である。これまでメダカは水圏環境の標準試験生物としての歴史があるが、それは致死を指標とする単純なものであった。しかし最近、致死量以下の化学物質がメダカの行動に影響を及ぼすことが明らかになった。

本研究では、メダカ胚の脳発達に対する形態的影響を指標にして、放射線の非致死的なレベルでの影響を調べた。

器官形成の終わった直後のメダカ胚を、X線1～10 Gy（致死線量は20 Gy）で急照射し、その後胚を孵化するまで育て、脳を組織学的に調べた。

その結果生きた胚で、放射線で誘発された脳細胞死を一過性に観察できることを発見した。これらの死細胞の核はアクリジンオレンジ (AO) により生体染色された。そこで、丸ごとの胚をAO染色し、蛍光顕微鏡下で脳の死細胞集団の数を数えることによって、簡便迅速に発達神経毒性を定量する方法を開発した。その結果、有意な程度の脳細胞死を誘発する最低線量は2 Gyであり、1 Gyでは無影響であることが判明した。照射後の胚は発生を継続し正常に孵化した。しかし、孵化した10 Gy照射稚魚の脳組織を詳細に調べたところ、脳や網膜に異常が認められ、脳の大きさは非照射の稚魚より小さかった。以上のように、個体死をもたらす線量の1/10程度のX線が発達中の脳で細胞死を誘発することが明確になった。

関連発表論文

Yasuda et al., J. Rad. Res., 49, 533-540, 2008.

Yasuda et al., J. Rad. Res., 50, 487-494, 2009.

S03 Neuromodulation and damage from high dose radiotherapy: experiences of 3400 patients treated with radiosurgery

Hiroshi Inoue

Institute of Neural Organization, Kanto Neurosurgical Hospital

High dose single or multi-session radiotherapy (radiosurgery) has been developed to modulate brain function (pain and movement disorders) and now is widely used for patients with brain and spinal cord lesions. Treatment methods, results and adverse effects are presented for joint researches required in the field of radiation neurobiology.

Methods: Focused beams of gamma-ray (Gamma Knife) or X-ray (CyberKnife) from multiple directions were used for irradiation to target points or areas (the nerve for trigeminal neuralgia, vascular structures of arterio-venous malformations or fistulas, and benign or malignant tumors). Maximum doses delivered were 30-40Gy for vascular and tumor lesions, and 80-90Gy for the trigeminal nerve.

Results: Neuromodulation (pain relief) was obtained shortly after nerve irradiation without any sensory disturbances. Abnormal vascular structures obliterated 1-3 years after irradiation. Malignant tumors decreased in size 4-6 weeks and benign tumors 1-2 years after treatment. Adverse effects on surrounding brain were edema and necrosis appeared several months after irradiation. The incidence of brain necrosis increased in relation with isodose-volumes (V14: 14Gy volume) of surrounding brain included in treatment dose plans.

Conclusions: Pain-related nerve fibers but not others seem to be affected by high dose irradiation. Vascular endothelial cells, benign and malignant tumor cells have different time courses of damage after high dose irradiation. Brain necrosis seems to be related with damage of the white matter. It is hopefully expected that knowledge from radiation neurobiology may suggest understanding and resolving these clinical events.

S04 線虫の学習行動に対する放射線影響とモデル解析の試み

坂下哲哉¹、鈴木芳代¹

¹日本原子力研究開発機構 マイクロビーム生体影響研究グループ

長期有人宇宙飛行における宇宙飛行士の学習障害等の神経系に対する宇宙放射線の影響が危惧されている。神経新生に対する放射線影響については複数の研究報告があるが、成熟神経系に対する影響については不明な点が多い。そこで、私たちは神経のモデル生物線虫を用いて成熟神経系に対する放射線影響を明らかにすることを目的とした。

線虫は通常、食塩に誘引される性質（正の化学走性）を示す。しかし、餌がない条件で食塩に曝されると食塩に誘引される性質が低下する。この餌と食塩の2つの刺激の関係性により成立する化学走性学習を研究対象とした。学習の前後、及び学習過程の途中において、⁶⁰Co γ 線を照射した結果、学習前後においては何ら放射線の影響は観られなかったが、面白いことに学習過程の途中の照射では、化学走性が低下することが分かった。この化学走性の低下が学習亢進であることを確かめるために、学習中に連続照射を行ったところ、有意な負の化学走性（食塩を避ける）が観られた。さらに、一部の感覚神経細胞に局在するGたんぱく質 γ サブユニットをコードする *gpc-1* 遺伝子を欠損した変異体では、この放射線応答が有意に抑制された。これらの結果から、放射線により誘導される化学走性の低下が、学習亢進であり、かつ特定の神経回路を介して誘導されることが示唆された。現在、神経回路シミュレーションによりこの放射線応答に重要な神経部位の探索を進めている。

S05 Radiosensitivity of newly-generated neurons in the adult brain

Tomoaki Shirao

Department of Neurobiology and Behavior, Gunma University Graduate School of Medicine

Since adult brain keeps going to generate neurons, newly-generated neurons may be used as a new strategy for CNS regeneration. It is however unknown whether maturation processes of the newly-generated neurons in the adult brain is same as those in the developing brain. In this talk I will introduce our recent findings about changes in the cytoskeletal properties and radiosensitivity of newly-generated neurons during their migration. It has been reported that drebrin E plays a role in the migration of melanoma cells. We have immunohistochemically demonstrated that newly-generated neurons in the adult rat brain express drebrin E during migration and that they switch the expression to a neuron-specific isoform drebrin A in parallel with cessation of migration. On the other hand, a microtubule-associated protein doublecortin, which also plays a role in neuronal migration, is observed in the newly-generated neurons at both of the migrating and post-migrating dendrite-growing stages. We have previously shown that x-irradiation induces apoptosis of neurons that do not complete the synaptogenesis, suggesting that radiosensitivity is related with their maturity in the early developmental stages. However, the radiosensitivity in the later developing stages is not yet known. We have recently developed the method for identification of the migrating and postmigratory neurons by immunocytochemistry using drebrin antibody. By this method, we analyzed the radiosensitivity of newly-generated neurons at migration and further developed stages. Our data indicate that migrating neurons are more sensitive to x-irradiation in compared with postmigratory young neurons.

S06 放射線照射による神経細胞死（アポトーシス）誘導

鈴木義行

群馬大学大学院医学系研究科 腫瘍放射線学

正常脳神経細胞における放射線照射の影響は、これまで、神経細胞が非分裂細胞であるために放射線に対し抵抗性であるために、神経細胞より放射線感受性が高いと考えられている血管内皮細胞の損傷による虚血やグリア細胞の損傷による脱髄性変化。等、からの二次的な影響が主であると考えられてきた。しかし、*in vivo* ではグリア細胞や血管内皮細胞の障害による二次的な影響を排除することは困難であり、また、これまで神経細胞の単独培養が難しいことなどから、正常脳神経細胞における放射線の直接の影響に関しては解明されていなかった。

我々は、バンカー法（変法）によるラット初代神経細胞培養を用い、正常脳神経細胞の放射線感受性について、神経細胞死（アポトーシス）等を指標として以下のような報告を行ってきたので、紹介する。なお、我々の研究では、培養 7 日目を未成熟神経細胞とし、21 日目の細胞を成熟神経細胞とした。

1. 未成熟神経細胞と成熟神経細胞における放射線（X 線および炭素イオン線）照射後のアポトーシス誘導 1, 2)
2. 低線量放射線（X 線）照射が未成熟神経細胞の発達に及ぼす影響 3)
3. 同一固体から採取・培養した未成熟および成熟神経細胞・グリア細胞の放射線（X 線）感受性の比較

参考論文

- 1) Shirai, K., et al. Differential effects of x-irradiation on immature and mature hippocampal neurons *in vitro*. *Neurosci. Lett.* 399: 57–60, 2006.
- 2) Kaminuma T, et al. Effectiveness of carbon-ion beams for apoptosis induction in rat primary immature hippocampal neurons. *J Radiat Res (Tokyo)*. 2010 in press
- 3) Okamoto M, et al. Effect of irradiation on the Development of immature hippocampal Neurons *in vitro*. *Radiat. Res.* 172: 718-724, 2009.

S07 重粒子線照射後のグリア細胞遊走能の活性化

石内勝吾

琉球大学大学院医学研究科・脳神経外科学

目的と方法 腫瘍性グリア細胞の細胞遊走能の亢進は浸潤性増殖の根幹を成しこの現象の制御が悪性神経膠腫の根本治療樹立に重要である。単層培養法による従来の実験結果からは、細胞の移動と増殖は2元論的に捉えられている。我々は独自に樹立したヒト神経膠芽腫細胞モデルを用いて重イオン照射細胞を非照射およびX線照射細胞に関してその走行性および増殖性と遺伝子変化を比較解析した。

結果 タイムラプス顕微鏡による追跡観察から非照射グリオーマ細胞では、腫瘍細胞は細胞質分裂後、母細胞と娘細胞が互いに反挑しながら移動した。重イオン照射およびX線照射細胞は分裂を停止し遊走性を亢進させた。更に重イオン照射群では少数の細胞が細胞質分裂ができずに細胞死するものが認められるが、多数の腫瘍細胞は非照射細胞の3倍、X線照射細胞の1.5倍に移動速度が増加し、放射状に遊走亢進した。マイクロビームを用いて照射細胞と非照射細胞を厳密に区別する実験では照射細胞の周囲の非照射細胞も一斉に遊走亢進するが、培養皿への空打ち照射ではこのバイスタンダー効果は認めない。Transwell chamber、ring-proliferation assay による遊走実験も照射群で遊走亢進が認められた。

Genechip(Affimetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array)を用いた網羅的遺伝子解析では照射細胞群で遊走に関連する遺伝子群の活性が認められ、重イオンとX線での差異は認めなかった。

結論 重粒子線をはじめとする放射線の照射によるがん治療において、放射線照射にともなう腫瘍細胞の遊走性の亢進を抑制、阻害する薬剤を併用することが重要である。

S08 X-radiation alters morphology of dendritic spines in cultured hippocampal neurons

Toshiyuki Mizui¹ and Katsuyuki Shirai²

1. Health Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)

2. Department of Radiation Oncology, The Ohio State University Medical School

It has been shown that distinct radiosensitivity for the cell viability between mature and immature cultured hippocampal neurons (*Shirai et al., 2006*) and that radiation produces synaptic structural defects in the irradiated developing cultures (*Okamoto et al., 2009*). However, the physiological effect of irradiation on the mature neurons remains unknown. In this study, we investigated the effects of x-irradiation on dendritic spines of the mature neurons. Primary hippocampal neurons were prepared from the hippocampi of fetal rats at embryonic day 18 and cultured at low density (5,000 / cm²) for 21 days according to Banker's culture methods. To analyze morphology of the neurons, the cells were transfected with reporter plasmid for enhanced green fluorescent protein (GFP) at 7 days *in vitro* (DIV) using calcium-phosphate methods. At 21 DIV, the cultures were x-irradiated and were immediately fixed. The morphology of dendritic spines of the GFP expressing neurons were analyzed fluorescence microscopically. Then, we analyzed accumulation of filamentous actin (F-actin), drebrin and PSD-95 in the dendritic spines by fluorescent immunocytochemistry. X-irradiation significantly decreased dendritic spine density ($p < 0.05$). The irradiation significantly increased the dendritic spine length ($p < 0.05$) and decreased the dendritic spine width ($p < 0.05$). These data suggest that x-irradiation induces morphological changes of the dendritic spines in the cultured hippocampal neurons. Moreover, the accumulation of F-actin, drebrin and PSD-95 in the dendritic spines was affected by x-irradiation. This raises the possibility that abnormal morphology of the dendritic spines may contribute to synaptic dysfunction after irradiation.

P01 PKNによるシナプス可塑性の制御

安田浩樹

群馬大学・医学系研究科・教育研究支援センター

私は発達期海馬や大脳皮質においてシナプス伝達の長期増強に伴い、他のシナプスに「ヘテロシナプス性長期抑圧」が誘発されることを報告した。この長期抑圧は内因性カンナビノイドに依存する、シナプス前性発現である。一方シナプス後性の長期抑圧も海馬や大脳皮質でよく発現していることがわかっている。私たちは、タンパク質リン酸化酵素 *PKN* をノックアウト(KO)したマウス発達期海馬において、ホモ・ヘテロシナプス性を含めてシナプス後性発現長期抑圧が亢進していることを見いだした。*PKN* は、1994年に神戸大学・小野 功貴研究室の向井秀幸准教授らによって見いだされたセリン・スレオニン蛋白キナーゼである。脂肪酸や低分子量GTP結合タンパク質 Rho により活性化される(詳細は Mukai, J Biochem. 2003 参照)ことがわかっており、中枢神経系に広く分布している。シナプス長期増強は野生型と KO マウスにおいて差は見られないので、*PKN* KO マウスは長期抑圧が神経回路発達における役割を解析するよいモデルであると考えた。そこで、マウスに見られる長期抑圧の性質とともに、長期抑圧の生理的役割を検討することにした。

これまで、*PKN* KO マウスにおける長期抑圧に関して、

- (1) 生後 1-2 週令において、ホモシナプス性長期抑圧が亢進しており、かつヘテロシナプス性長期抑圧が付随して誘発される。生後 3 週には野生型と差がなくなる。
- (2) *PKN* はシナプス後部で作用しており、亢進した長期抑圧はシナプス後性の発現をしめし、エンドサイトーシスが関与している。
- (3) KO マウスにおいては、長期抑圧が亢進している生後 0-2 週の間は、野生型マウスに比べて input-output が悪く、AMPA/NMDAR 比が低い。長期抑圧の亢進が無くなる 3 週令の *PKN* KO マウスでは、input-output、AMPA/NMDAR 比とも野生型と同じにまで回復するので、幼若海馬においては *PKN* がシナプス長期抑圧を抑制することによって、シナプス発達を制御している可能性がある。

以上 3 点を発表した。そこで私たちは、*PKN* は幼若海馬において AMPA なし・NMDAR ありの「サイレントシナプス」の活性化を行っている可能性を調べることにした。

はじめに、生後 10 日までの幼若海馬の野生型、KO マウス海馬でのサイレントシナプスの発現を調べたところ、KO マウスに有意にサイレントシナプスが多かった。現在は、長期抑圧誘発刺激によって、人工的なシナプスのサイレント化の程度が野生型と KO マウス海馬において違いがあるかを調べることによって、*PKN* がシナプスのサイレント化を阻害できるか、検討している。

P02 Contribution of Ca²⁺-permeable AMPA receptors to sustained activity in rat prepositus hypoglossi nucleus neurons.

Yasuhiko Saito and Yuchio Yanagawa

Department of Genetic and Behavioral Neuroscience, Gunma University Graduate School of Medicine, Maebashi, Japan

The prepositus hypoglossi nucleus (PHN) is a brainstem structure involved in an oculomotor neural integrator, in which transient signals proportional to eye/head velocity are converted into sustained signals proportional to eye position. To clarify synaptic mechanisms for sustained activity, we investigated the excitatory synaptic responses of PHN neurons. Under a blockade of inhibitory synaptic transmissions, the application of “burst stimulation” (100 Hz, 20 pulses) to a brainstem area projecting to the PHN induced an increase in the frequency of EPSCs in PHN neurons that lasted for several seconds. Sustained EPSC responses were observed even when the burst stimulation was applied in the vicinity of a recorded neuron within the PHN that was isolated from the slices. The sustained EPSC responses were reduced by 1-naphthyl acetyl spermine (50 μM), a blocker of Ca²⁺-permeable AMPA (CP-AMPA) receptors. Analysis of the current-voltage (I-V) relationship of the current responses to iontophoretic application of kainate revealed that more than half of PHN neurons exhibited an inwardly rectifying I-V relationship. Furthermore, PHN neurons exhibiting inwardly rectifying current responses showed higher Ca²⁺ permeability. The sustained EPSC responses were also reduced by flufenamic acid (200 μM), a blocker of Ca²⁺-activated nonselective cation (CAN) channels. These results indicate that the sustained EPSC responses are attributable to the sustained activation of local excitatory networks in the PHN, which arises from the activation of CP-AMPA receptors and CAN channels in PHN neurons.

P03 Involvement of drebrin, an actin binding protein, in regulation of AMPA receptor recruitment in cultured hippocampal neurons

Kenichi Kato^{a,b}, Kazuyuki Imamura^a and Yuko Sekino^c

^aDepartment of Systems Life Engineering, Maebashi Institute of Technology, Maebashi,

^bDepartment of Neurobiology and Behavior, Gunma University Graduate School of Medicine, Maebashi, ^cDivision of Pharmacology, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

AMPA receptor (AMPA) translocation to post-synaptic density is one of the key roles in synaptic strengthening observed in synaptic plasticity. Recently, it has been shown that morphological changes in dendritic spines based on actin remodeling are closely associated with synaptic strengthening. Therefore, actin cytoskeleton and its binding proteins, including drebrin, in spines are thought to have an important role in the synaptic plasticity. In this study, we investigated the role of drebrin in synaptic transmission, using RNA interference and perforated whole-cell patch-clamp techniques in rat cultured hippocampal neurons during development. Our data show that AMPAR-mediated miniature excitatory postsynaptic currents (mEPSCs) and its frequency were significantly smaller in drebrin-knockdown (drebrin-KD) neurons than those of control-GFP neurons. However, there are no significant differences in electrophysiological characteristics, such as I-V relationship and mEPSCs decay time constant, between drebrin-KD and control-GFP neurons. Furthermore, initial phase of glutamate-induced increment of mEPSCs amplitude was attenuated in drebrin-KD neurons. These data suggest that drebrin is involved in the regulation of AMPAR trafficking in postsynapses.

P04 Analysis of neuronal activity in the lateral amygdala of mice slice preparation using voltage-sensitive dye imaging

藤枝智美

国立医薬品食品衛生研究所

The amygdala is a complex mass of functionally and anatomically heterogeneous neurons and comprises of the lateral nucleus (LA), the basolateral nucleus and the basomedial nucleus. Because neurons in these nucleus are known to be connected densely to each other, it is unclear whether the anatomical subregions are consistent to information processing performed in the amygdala. LA receives and integrates cortical and thalamic inputs to establish fear learning. Although it is well-known that the timing of these two inputs is critical for formation of the fear conditioning, how this circuitry processes temporal information is unknown. To understand how the amygdala integrates inputs to LA temporally and spatially, voltage-sensitive dye imaging of membrane potential changes is a powerful tool that enables monitoring of electrical activity at multiple sites. Using a voltage-sensitive dye, Di-ANEPPS, we have analyzed characters of ISPS-related optical signals in LA in response to stimulation of the external capsule. We determined regions of interest to analyze optical signals using a clustering method based on K-means analysis as an image-processing strategy which is developed for this study. Sequence of depolarization and long-lasting hyperpolarization (LLH) that spread throughout LA was observed. The LLH was completely mediated by GABA_B receptors. The GABA_B mediated LLH in LA might be important for determining the time window for detecting coincidence of thalamic and cortical synaptic inputs.

P05 新規ドレブリン結合タンパク質の同定とその機能解析

山崎博幸、白尾智明

群馬大学大学院・医学系研究科・神経薬理学

我々はこれまでの研究で、アクチン結合タンパク質ドレブリンが樹状突起フィロポディアにアクチン、PSD-95等のスパイン機能に重要な分子を集積させ、プロトスパイン形成に働いている事を示してきた。本研究では、ドレブリンによるタンパク質集積やスパイン形成・維持機能に関するメカニズムの解明を目的として、新規ドレブリン結合タンパク質の探索を行った。yeast two hybridシステムを用いてドレブリン結合タンパク質の探索を行ったところ、いくつかの結合タンパク質が単離され、その中で最も割合が多かったクローンに注目し解析を行った。培養神経細胞を用いた免疫染色及びGFP融合タンパク質を用いた観察から、このタンパク質は核と樹状突起スパインに局在することが分かり、その特徴的な細胞内局在から、Spikar (**S**pinous and **k**aryoplasmic protein) と名付けた。また、アミノ酸一次構造の解析により Spikar は転写に関与するドメインを含むことが分かった事から、ルシフェラーゼの転写活性を用いたレポーターアッセイを行ったところ、Spikar は転写調節因子として機能することが分かった。また、神経細胞での Spikar の機能を探るため RNAi を用いて発現抑制を行った。シナプス形成を開始する時期から熟成する過程において Spikar の発現抑制を行ったところ、シナプス数及びスパイン数の有意な減少が観察された。また各種変異体を用いたレスキュー実験を行ったところ、核外の Spikar がスパイン形成に強く関与していることが分かった。これらの事から、Spikar は核では転写調節因子として働き、核外（細胞質）ではスパイン形成に関与していると示唆された。

P06 Impairment of cognitive function and lithium-sensitive behavior of knockout mice of neuron-enriched subtype of DG kinase, DGK β .

Yasuhito Shirai^{1,2}, Takeshi Kouzuki¹, Kenichi Kakefuda³, Atsushi Ohyagi³, Kyoji Horie⁴, Shigeki Moriguchi⁵, Shin-ya Morita⁶, Masamitsu Shimazawa³, Kohji Fukunaga⁵, Junji Takeda⁴, Naoaki Saito¹, Hideaki Hara³

¹Lab. Mol. Pharmacol., Biosignal Res. Ctr, and ²Applied Chemistry in Bioscience div., Agricul. Sci., Kobe Univ., ³Dept. Biofunctional Evaluation, Mol. Pharmacol., Gifu Pharmaceutical Univ., ⁴Dept. Social and Environmental Med., Grad. Sch. of Med., Osaka Univ., ⁵Dept. Pharmacol., Grad. Sch. of Pharmaceutical Sci, Tohoku Univ., ⁶Lab. Pharmaceutical Tech., Kobe Pharmaceutical Univ.

Diacylglycerol (DG) kinase (DGK) converts DG to phosphatidic acid (PA). Of ten subtypes of mammalian DGKs, DGK β is abundantly expressed in neurons including hippocampus and caudate-putamen. In addition, the control of splicing of the enzyme, which generates non-membrane bound variants differing at the C-terminus, is associated with mood disorders. However, its physiological role has not been elucidated. Therefore, we developed DGK β KO mice and investigated their behavior. The KO mice showed impairment of LTP and memory, and lithium-sensitive behavioral abnormality. Primary cultured neurons from both hippocampus and cortex of the KO mice had less branches and spines, but overexpression of DGK β rescued the morphological impairment. Consistent with this, Golgi silver staining confirmed lower spine density of the hippocampal and cortical neurons of the KO mice than WT, with decrease of PA and increase of DG. These results demonstrate that DGK β plays important roles in neuron-specific morphological change by regulating membrane lipids, contributing to cognitive and emotional process.

P07 Inhibitory effect of 5-HT_{2A} receptor activity on drebrin accumulation in dendritic spines

Reiko T. Roppongi, Kenji Hanamura, Tomoaki Shirao.

Department of Neurobiology and Behavior, Gunma University Graduate School of Medicine, Maebashi, Japan

Dendritic spines are postsynaptic receptive regions of most excitatory synapses, and the functional and morphological changes of dendritic spines are characteristic feature associated with the synaptic plasticity. It has been shown that NMDA-type glutamate receptor activation plays a pivotal role in the morphological plastic change of dendritic spines. However, the effect of other neuromodulators has not been elucidated. The 5-HT_{2A} receptor is involved in several psychiatric disorders, which are associated with the aberrations in dendritic spine morphogenesis. Since a serotonin signaling was suggested to modulate spine morphology of cortical synapses, we sought to examine in this study how 5-HT_{2A} receptor agonist (DOI) regulates the morphological plasticity of dendritic spines. We prepared hippocampal neuronal culture. In brief, hippocampi were dissected from embryonic 18-days-old Wistar rats. After the neurons were treated with DOI at the 21 day in vitro (DIV) for 15 min, they were fixed, double-immunostained with mouse anti-drebrin monoclonal antibody and rabbit anti-Synapsin I antibody, and visualized with the appropriate secondary antibodies. For some experiments, the neurons were pre-transfected with a GFP-expression vector at 7 DIV. Morphological analysis using GFP transfectants showed that DOI treatment did not affect the localization pattern of drebrin clusters in the neurons. Quantitative analyses showed that the 5-HT_{2A} receptor activation by DOI resulted in the decrease of drebrin cluster number. Since drebrin is known to play a pivotal role in morphological change of dendritic spines, these data suggest that 5-HT_{2A} receptor activity is involved in the regulatory mechanism for morphological plasticity of dendritic spines.

P08 スパイン内のアイソフォーム特異的なドレブリン動態のアクチン細胞骨格による制御機構

鎌田洋輔、花村健次、山崎博幸、白尾智明
群馬大学大学院医学系研究科 神経薬理学

ドレブリンは成体脳の樹状突起スパインに存在する F アクチン結合タンパク質である。シナプス形成期においてドレブリンは神経系以外にも広く発現が見られるドレブリン E (DE) から神経特異的なドレブリン A (DA) へとアイソフォーム変換する。DA は選択的スプライシングの変化により DE 配列の中央部に DA 特異的配列が挿入されたものである。我々はこれまでに DE から DA へのアイソフォーム変換を阻害したノックアウトマウスにおいて、スパイン形成や学習行動の異常が引き起こされることを報告してきた。今回、海馬培養ニューロンに遺伝子導入した GFP 標識した DE (GFP-DE) や DA (GFP-DA) を用いて FRAP (蛍光退色後回復) 解析を行ない、スパイン内における DA 特異的配列のドレブリン動態に与える役割を明らかにした。スパインにおいて、GFP-DE の FRAP は GFP-DA より早く回復し、安定的に存在する割合 (stable fraction) や回復の時定数が GFP-DA より有意に低かった。この DE と DA のスパイン内での安定性の違いはアクチン細胞骨格の状態に依存していた。F アクチンの安定性を高めることでアクチンの重合を促進する Jasplakinolide を用いて F アクチンの量を増やしたところ、DE 特異的に Stable fraction が増大し、DE と DA の stable fraction の違いは見られなくなった。このことから、スパインにおいてドレブリンと F アクチンの関連性は DE と DA で異なり、この違いがスパイン内での異なる安定性を制御していると考えられる。

P09 発達/障害によるカリウム-クロライド共役担体 (KCC2) の機能制御

渡部美穂、鍋倉淳一

生理学研究所 発達生理学研究室 生体恒常機能発達機構研究部門

成熟動物の脳内において主要な抑制性伝達物質である GABA は発達期には興奮性に働き、神経回路形成や細胞移動などに重要な役割を持つことが知られている。未熟な脳では、Cl⁻を細胞外にくみ出すトランスポーターである KCC2 の発現が低いいため、細胞内 Cl⁻濃度が高く、GABA は興奮性に作用する。発達に伴い KCC2 の発現が増加することにより、GABA 応答は抑制性に変化する。成熟動物においても、障害や虚血などの神経障害時に KCC2 の発現が減少し、GABA が再び興奮性作用を示すことが報告されている。KCC2 は長い C 末端領域を細胞内に持ち、チロシンキナーゼによるリン酸化部位が一カ所存在することから、成熟動物における急速な KCC2 機能の変化による GABA 作用の変化を理解するために、KCC2 の機能制御におけるリン酸化の役割について検討を行った。リン酸化阻害剤により、KCC2 の細胞体や樹状突起での発現パターンがドット状から細胞膜上における一様な分布に変化し、KCC2 機能の急速な低下がみられた。また、KCC2 はリピッドラフトに存在し、リン酸化により KCC2 はリピッドラフトにとどまりやすくなり、クラスターを形成し、効率的に Cl⁻を排出させ、抑制性神経伝達を維持していることが示唆された。また、神経障害により急速な KCC2 のチロシンリン酸化の減少が起こり、KCC2 の機能が低下し、GABA の興奮性作用が再現し、細胞死を促進することが明らかになった。

P10 Ocular Dominance Plasticity in Abnormally Developed Visual Cortex

Kazuyuki Imamura

Dept. Systems Life Engineering, Maebashi Institute of Technology, Maebashi, Japan

An experimental paradigm, utilize the radiation technology is proposed to investigate neuronal plasticity during development. Monocular deprivation during early postnatal life induces drastic changes in functional and anatomical structures in the visual cortex (ocular dominance plasticity, OD plasticity). In order to study the OD plasticity in abnormally developed visual cortex, methylazoxymethanol (MAM) was used for cortical target ablation. The cerebral cortex is constituted inside-out manner, so it is possible to eliminate a group of neurons that will be migrate into a particular layer by the timing control injection of MAM. In order to investigate the OD plasticity, an activity mapping method was developed. By the immunohistochemistry, using c-fos as an activity maker, the OD plasticity was successfully measured (i.e. decrease and increase in the number of immunopositive neurons, depending on which eye was stimulated). It was found that effects of monocular deprivation were most significantly induced in the layer IV of ipsi-lateral visual cortex to the stimulated eye. In MAM-treated rats (injection at E15 or E18), supra-granular layers were found to be affected. Intriguingly, monocular deprivation for one week was found to induce the ocular dominance changes, which are comparable to those found in normal rats. These results indicate that plasticity during development is high irrespective of cortical cellular and/or laminar structures. It is also suggested that more fine control of cortical target ablation by use of radiation technology will shed a light on the molecular and cellular mechanism of cortical plasticity during development.

P11 CAPS2 protein-mediated regulation of dense-core vesicle secretion pathway and susceptibility to developmental disorders

Tetsushi Sadakata T, Yo Shinoda, and Teiichi Furuichi
Laboratory for Molecular Neurogenesis, RIKEN Brain Science Institute

The Ca²⁺-dependent activator protein for secretion (CAPS) family consists of two members, CAPS1 and CAPS2, which are involved in catecholaminergic and neuropeptidergic dense-core vesicle (DCV) secretion. We previously reported that CAPS2 is also involved in BDNF release from neurons (Sadakata et al., *J. Neurosci.*, 2004; *J. Comp. Neurol.*, 2006; *J. Clin. Invest.*, 2007; *J. Neurosci.*, 2007). The CAPS-mediated DCV secretion pathway plays a vital role in the regulation of brain development and function as suggested by the fact that CAPS2 knockout mice exhibit many impairments in neuronal development and survival, synapse functions, and behaviors (such as decreased social interactions and increased anxiety) (Sadakata et al., *J. Clin. Invest.*, 2007; *J. Neurosci.*, 2007). In addition, our previous studies suggested the existence association between the CAPS2 gene and autism: there were some autistic patients who showed an aberrant increase in the levels of a rare CAPS2 exon 3-skipped variant defective in axonal transport and some patients who had missense mutations (Sadakata et al., *J. Clin. Invest.*, 2007; *Cerebellum*, 2009; *Neurosci Res.*, 2010). We generated CAPS2 exon 3-skipped mice which showed autistic-like behavioral and immunohistochemical phenotypes.

P12 Origin of Inner Ear Hair Cells: Morphological and Functional Differentiation from Ciliary Cells into Hair Cells in Zebrafish Inner Ear

Masashi Tanimoto, Yukiko Ota, Maya Inoue and Yoichi Oda

Group of Brain Function and Structure, Graduate School of Science, Nagoya University, Nagoya, Japan

The perception of sound or head acceleration in vertebrates depends on the transduction of sound vibration or head acceleration into electrical responses in inner ear hair cells. Although hair cell mechanotransduction has been studied extensively *in vitro* in tetrapods, it remains to be clarified when and how hair cells operate in living animals due to the difficulties in obtaining electrophysiological recordings of hair cell mechanotransduction in intact animals. We have established an *in vivo* technique for the recording of mechanotransducer responses in the embryonic zebrafish ear. We investigated the developmental acquisition of mechanosensitivity in “tether cells”, a small number of specialized ciliary cells which tether an “ear stone” (or otolith) in the embryonic macular organ. Immunohistochemical examination of hair bundles revealed that tether cells differentiate into the first hair cells in zebrafish ear. Live imaging with a marker of mechanotransduction channels and the *in vivo* electrophysiological recordings demonstrated that tether cells acquire direction-selective mechanosensitivity with an adaptation mechanism within an hour after the appearance of sensory hair bundles, suggesting that mechanotransduction apparatus is rapidly assembled and localized on the sensory hair bundles to operate as a mechano-electrical transducer (*J. Neuroscience*. in press).

The present work presents sound evidence that ciliary cells morphologically and functionally differentiate into inner ear hair cells during early development, providing an evolutionary perspective on the origin of inner ear hair cell in vertebrates. Based on the present study, together with the amenability of embryonic zebrafish to genetic manipulation, we expect to further clarify how the auditory and vestibular systems work in living animals.

P13 神経細胞間相互作用シグナル CD47-SIRP・系による脳のストレス応答制御機構

大西 浩史¹⁾、草苺 伸也¹⁾、村田 考啓¹⁾、林 由里子¹⁾、丸山 登士¹⁾、
大川 克也²⁾、Per-Arne Oldenborg³⁾、村田 陽二⁴⁾、宮川 剛⁵⁾、的崎 尚^{1) 4)}

1) 群馬大・生調研・バイオシグナル 2) 協和発酵キリン 3) ウメア大・組織細胞生物・
統合医学生物 4) 神戸大・院・医・シグナル統合 5) 藤田保健大・総合医科学研・シ
ステム医

脳に強く発現する膜蛋白質 SIRP α は細胞内領域にチロシンリン酸化部位をもち、一方、細胞外領域は別の膜蛋白質 CD47 と相互作用し、細胞間相互作用シグナル CD47-SIRP α 系を形成する。脳における CD47-SIRP α 系の機能を明らかにするために、SIRP α 遺伝子破壊 (KO) マウスの行動解析を行ったところ、動物のうつ傾向の評価に用いられる強制水泳 (FS) テストにおいてうつ状態の指標となる無動時間の増加傾向が認められた。また、野生型マウス脳において、FS ストレスにより SIRP α のチロシンリン酸化が強く誘導されることが明らかとなった。この SIRP α のチロシンリン酸化には、リガンドである CD47 との相互作用が重要であり、さらに CD47 KO マウスでも FS テストにおける無動時間の増加傾向が認められた。さらに、Src ファミリーチロシンキナーゼ (SFK) の1つ、Fyn の KO マウスを用いた解析から、Fyn が SIRP α のチロシンリン酸化に重要なキナーゼの1つであることが明らかとなった。さらに、SIRP α KO マウスでは電位依存性 K⁺チャネルや NMDA 型グルタミン酸受容体のサブユニットのチロシンリン酸化状態が変化することを見出し、SFK、SIRP α を中心とするチロシンリン酸化シグナルは、これらの機能分子のチロシンリン酸化を制御することで、動物のうつ様行動を制御する可能性が考えられる。

P14 Deficiency of lysosomal cathepsin D and autophagy

Masato Koike, Uchiyama Yasuo

Dept. Cell Biol. & Neurosci., Juntendo Univ. Sch. of Med.

Neurons of cathepsin D-deficient (CD^{-/-}) mice, a murine model for neuronal ceroid lipofuscinoses (NCLs), possess abundant autophagosomes and granular osmiophilic deposits (GRODs), the morphological hallmark of NCLs. Moreover, GRODs are often found in nascent autophagosomes, indicating that the GROD is a potent inducer of autophagy in neuronal cells. In fact, using immunohistochemistry for LC3, ubiquitin, and p62 that can interact with both ubiquitin and LC3, we further confirmed that ubiquitin and p62 are co-localized on the membrane of GRODs, while these three molecules are present in the same granules of the neurons. In the double knockout mice lacking cathepsin D and Atg7 specifically in CNS tissue, although GRODs still existed in the neuronal perikarya, suggesting that GRODs are generated via unknown intracellular routes to lysosomes other than autophagy. Moreover, instead of being enwrapped by smooth double membranes, GRODs were frequently surrounded by accumulated profiles of rough ER, while such structures gathered in certain perikaryal areas, forming cytosolic aggregates. On the other hand, no clear-cut difference was detected in the neuropathological phenotypes between CD^{-/-} mice and double knockout mice lacking cathepsin D and p62. In fact we found that Nbr1, which has been shown to interact both ubiquitin and p62, also localize on the surface of GRODs together with p62 in CD^{-/-} mice. These data

P15 mTOR シグナル遮断による髄芽腫株細胞の増殖抑制

垣矢直雅、石塚佑太、那波宏之、[○]武井延之
新潟大学脳研究所

mTOR(mammalian target of rapamycin)はセリンスレオニンキナーゼであり、細胞外刺激からの入力を統合し、細胞の成長を制御している。mTOR 阻害剤であるラパマイシンは抗腫瘍作用をもっている。

TOS(TOR signaling)モチーフは mTOR 複合体 1 の構成要素の raptor が、mTOR の基質である p70S6K や 4EBP と結合するのに必要なドメインと考えられている。

無細胞系での TOS ペプチドによる競合実験の結果を基にや細胞レベルでの検討を行った。EGFP に TOS モチーフを融合させた cDNA を作製し、この TOS モチーフデコイを発現させることによって、ヒト髄芽腫由来の株細胞である DAOY 細胞の増殖と新規蛋白合成が、ラパマイシン添加とほぼ同等に抑制された。生化学的解析から TOS デコイは基質との競合阻害すること、TOS デコイの発現により p70S6K、4EBP のリン酸化が低下することが示された。

蛋白質間相互作用部位を標的とした分子による細胞機能の調節は、シグナル解析に有効であるだけでなく、創薬への応用へも可能性をもつものと考えられる。

P16 X線照射による脳における mTOR シグナル及びタンパク質合成の変化

石塚 佑太¹、花村健次²、児島 伸彦²、白尾智明²、武井延之¹

¹新潟大学 脳研究所 分子神経生物学分野 ²群馬大学 神経薬理学

mTOR (mechanistic target of rapamycin)は PIKK ファミリーの蛋白キナーゼである。このファミリーには ATM など DNA 修復に関与する分子があり、これらは放射線障害などにより誘導される。mTOR はタンパク質合成の翻訳過程において、中心的な働きをするマスターレギュレーターであり、細胞内の栄養状態や細胞外からの刺激により翻訳を制御する。また、翻訳には数多くの因子が関与しているが、翻訳の開始因子の一つである eukaryotic initiation factor (eIF2) は感染や小胞体ストレス、アミノ酸飢餓などの様々なストレスによって不活性化し、翻訳レベルが低下する。従って、放射線ストレスによっても翻訳系が変化する可能性が考えられる。そこで我々は、X線照射による脳における mTORシグナル及びタンパク質合成の変化を以下の手法で解析した。

12 週齢マウスの頭部に X 線(10Gy)を照射し、脳を海馬、嗅球、大脳皮質等に部位分けし、摘出後、ウェスタンブロッティングにて mTOR シグナル、³⁵S-メチオニンの取込み測定にてタンパク質合成の解析を行った。

その結果、X線照射による mTOR シグナル、タンパク質合成ともに変化は認められなかった。

今回は X 線照射後 1 時間以内という短い時間経過で脳の摘出を行なっている。今後は、X 線照射による影響の詳細な時間経過による変化を検討する必要がある。

P17 Acute effect of X-irradiation on conditioned fear memory

児島伸彦・花村健次・白尾智明

群馬大大学院医学系研究科 神経薬理学

一般に、未分化な神経細胞に比べて成熟した神経細胞は放射線感受性が低いと考えられており、成体脳への放射線照射の急性効果をみた研究は意外に少ない。しかし、放射線の高エネルギーがニューロン内の遺伝子発現やタンパク構造などに影響を及ぼし、これらマクロ分子のはたらきによって支えられている脳機能を障害する可能性は十分考えられる。そこで、われわれはマウスの恐怖条件づけ記憶に放射線照射がどのように影響するかを検討した。10週令の♂C57BL/6マウスを音と電気ショックの組み合わせ刺激によって条件づけし、その直後に全身麻酔下でX線(10 Gy)を頭部に照射した。条件づけ直後に麻酔をするのみでX線照射しなかったマウスを対照とした。翌日条件づけしたマウスを再びショック箱に入れて恐怖反応(フリージング)を計測した(文脈依存的恐怖反応)。またその1時間後に別の実験箱に入れ、音によるフリージングも計測した(音依存的恐怖反応)。X線照射群では対照群に比べ、文脈依存的フリージングの有意な減弱が認められた。一方、音依存的フリージングレベルには差がなかった。文脈依存的な恐怖記憶は海馬の活動に依存していることが知られており、急性のX線照射が海馬機能を妨げている可能性が示唆される。

P18 Developmental change in the radiosensitivity of newly-generated neurons in adult brain

Kenji Hanamura¹⁾, Yoshihisa Mizukami¹⁾, Yousuke Kamata¹⁾, Nobuhiko Kojima¹⁾, Yukari Yoshida²⁾, Yoshiyuki Suzuki²⁾, Takashi Nakano²⁾, Tomoaki Shirao¹⁾

¹⁾Department of Neurobiology and Behavior, ²⁾Department of Radiation Oncology, Gunma University Graduate School of Medicine, Maebashi, Japan

Newly-generated neurons in adult brain have pivotal roles in higher brain function. It has been reported that generation of these neurons is sensitive to low dose of x-irradiation. Even in the newly-generated neurons, the radiosensitivity might decrease after cessation of neuronal migration. In the present study, we examined the radiosensitivity of newly-generated neurons in the state of migration and maturation in the pathway from the subventricular zone (SVZ) to the olfactory bulb (OB), which permits us to analyze migrating neurons and postmigratory neurons separately. A single 10 Gy of x-irradiation was delivered to the right side of Wistar rat brain with shielding body and left side of the brain. Two days after x-irradiation, the rats were perfused transcardially. Localizations of drebrin E (DE) and doublecortin (DCX) were analyzed immunohistochemically. In the SVZ, disappearance of DE-positive DCX-positive cells in the irradiated side confirmed high radiosensitivity of migrating newly-generated neurons. In the core of the OB, in which neurons are still migrating, DCX-positive, DE-positive migrating neurons were greatly reduced in irradiated side. In contrast, in the granule cell layer of the OB, in which large part of newly-generated neurons stop migrating, DCX-positive cells were greatly preserved in irradiated side. Because DE-positive cell bodies and processes were greatly reduced, the ablated cells in irradiated side could be migrating neurons which have DE in their cell bodies. Therefore, the migrating neurons are more sensitive to x-irradiation in compared with maturing postmigratory neurons.

P19 The RBE of carbon beams on growing neurons; Approach using growth cone collapse assay

Wael S. Al-Jahdari¹, 鈴木義行¹、吉田由香里¹、浜田信行^{1,2}、岡本雅彦¹、野田真永¹、
舟山知夫²、坂下哲哉²、小林泰彦^{1,2}、中野隆史¹
群馬大学・腫瘍放射線¹、原子力機構 量子ビーム² :

Purpose: Recently carbon-ion beams have been reported to be a remarkably effective for controlling various cancers with less toxicity and thought to be a promising modality for cancer treatment. However, the biological effect of carbon-ion beams arising on normal neuron remains unknown. Therefore, this study was undertaken to investigate the effect of carbon-ion beams on neurons by using both morphological and functional assays.

Materials and Methods: Dorsal root ganglia (DRG) and sympathetic ganglion chains (SYMP) were isolated from day-8 and day-16 chick embryos and cultured for 20 hours. Cultured neurons were exposed to carbon-ion beams and X-rays. Morphological changes, apoptosis and cell viability were evaluated with the Growth Cone Collapse (GCC), Terminal deoxynucleotidyl Transferase (TdT)-mediated deoxyUridine TriPhosphate (dUTP) nick End Labeling [TUNEL] assay and 4-[3-(4-iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzenedisulfonate [WST-1] assays, respectively.

Results: Irradiation caused GCC and neurite destruction on a time- and irradiation dose- dependent manner. Changes in morphological characteristics were similar following either irradiation. Morphological and functional assays showed that day-8 neurons were more radio-sensitive than day-16 neurons, whereas, radio-sensitivity of DRG was comparable to that of SYMP. The dose-response fitting curve utilizing both GCC and TUNEL labeling index showed higher relative biological effectiveness (RBE) values were associated with lower lethal dose (LD) values, while lower RBE was associated with higher LD values.

Conclusion: Exposure to high- linear energy transfer (LET) irradiation is up to 3.2 more efficient to induce GCC and apoptosis, in early developed neuronal cells, than low- LET irradiation. GCC is a reliable method to assess the radiobiological response of neurons

P20 定量 MRI を用いた胎生期放射線曝露ラットにおける 中枢神経発達障害の評価

齋藤茂芳 1)、澤田和彦 2)、佐賀恒夫 1)、青木伊知男 1)

1), 放射線医学総合研究所分子イメージング研究センター

2), つくば国際大学医療保健学部

(目的) 本研究の目的は、胎生期放射線曝露により中枢神経に引き起こされる、神経系および血管系の異常を定量 MRI により非侵襲的に評価することである。(方法) 10 匹の妊娠 SD ラットをコントロール群、放射線曝露群 (胎生期 15 日目、1.5Gy) に分け、その親から生まれる出生後の胎仔 30 匹 (♂) を 6 群各 5 匹に分けた。動物用 7T-MRI および免疫染色を用いて、中枢神経の変化の観察を行った。 T_1 強調画像を用いて脳体積、海馬の形態の変化の観察、テンソル画像から FA 値、ADC 値を用いて神経繊維、細胞密度、水分の亢進の評価、MRA、ガドリニウム造影 MRI、灌流画像を用いて脳血管構築、血液脳関門の形成、脳血流量の評価を行った。免疫染色は、HE、GFAP、LFB, Laminin, Albumin 染色を行い、MRI 画像との比較検討を行った。(結果) 神経系の障害として、放射線曝露ラットで脳体積の減少、大脳皮質での神経細胞密度の低下、白質繊維の低下が確認された。また、血管系の障害として、脳血流の低下と脳血管構築の異常が放射線曝露ラットにおいて確認された。一方、血液脳関門形成の異常は、ガドリニウム造影 MRI および Albumin 染色にて観察されなかった。本研究は、胎生期放射線曝露による中枢神経、血管系の障害を *in vivo* で非侵襲的かつ定量的に評価した初めて報告であり、定量 MRI による多角的評価の有用性が示された。

P21 放射線誘発小頭症における中心体による神経幹細胞制御機構の解析

島田幹男¹⁾ 松崎文雄²⁾ 小松賢志¹⁾

京都大学放射線生物研究センター ゲノム動態研究部門¹⁾

理化学研究所 神戸研究所 発生・再生総合研究センター 非対称分裂研究グループ²⁾

電離放射線は細胞内 DNA を標的とし、様々な DNA 損傷を惹起する。損傷が大きく修復不可能な DNA を持つ細胞はアポトーシス経路により細胞死に至る。神経細胞においても同様に放射線は甚大な損傷を及ぼす。胎児期における放射線被曝では小頭症が強く誘発される事が知られており、その原因として DNA 修復不全による神経幹細胞のアポトーシスである可能性が示唆されている。

一方、我々は常染色体劣性遺伝病であるナイミーヘン症候群に着目し研究を行ってきた。ナイミーヘン症候群は放射線高感受性、小頭症、高発癌性を臨床的特徴とする重篤な遺伝病である。原因遺伝子は *NBS1* であり、その転写産物は DNA 二重鎖切断修復、細胞周期チェックポイント、DNA 複製、中心体複製制御といった染色体動態に関与する多機能タンパク質である。しかし、ナイミーヘン症候群における小頭症発症メカニズムは十分に理解されていない。最近小頭症の原因タンパク質が中心体を構成しているタンパク質である事がいくつか報告されていることから、*NBS1* も中心体における機能が小頭症の誘発に関与する可能性が考えられる。

本研究集会では放射線誘発性小頭症と放射線高感受性遺伝病ナイミーヘン症候群の小頭症が中心体異常による可能性について言及したい。

P22 放射線照射が未成熟神経細胞に及ぼす影響

岡本雅彦¹⁾, 鈴木義行¹⁾, 水井利幸³⁾, 白井克幸¹⁾, 吉田由香里¹⁾, 野田真永¹⁾,
Al-Jahdari Wael¹⁾, 白尾智明²⁾, 中野隆史¹⁾
群馬大学大学院 腫瘍放射線学¹⁾, 神経薬理学²⁾, 産業技術総合研究所³⁾

目的:放射線は精神発達に影響を及ぼすことが知られており、特に発達段階である幼少時期ではより少ない線量で影響が出るとされている。生体における研究では放射線は神経細胞のみならず、周囲の血管やグリアにも影響を及ぼし、それによる神経細胞の二次的な影響も現れるため、放射線の神経細胞に対する直接の影響は観察困難である。神経細胞とグリア細胞をを別々のプレートに植え、低密度で共培養する方法を用いて、放射線の未熟神経細胞に及ぼす影響を検討した。

方法:ラット胎児の海馬神経細胞をバンカー法を用いて低密度で培養。培養7日目に神経細胞に放射線照射(0.5Gy, 4Gy,10Gy)を行い、培養14日、21日で固定した。MAP2染色陰性の細胞をアポトーシス細胞と判定し、DAPI染色で得られた核の数を総細胞数として、アポトーシスの変化について解析した。次に、生存している神経細胞のF-アクチン、ドレブリン、シナプシン1について、免疫蛍光染色を行い、その発現度合について解析をおこなった。

結果:アポトーシスの数は放射線量増加にともない増加する傾向が見られた。F-アクチンならびにドレブリンのクラスター形成数は通常14日目から21日目にかけて増加するが、放射線照射量を増やしていくのに伴い増加量が減少する傾向がみられた。

結論:放射線照射により神経細胞そのもののアポトーシスは増加し、生き残った細胞についても発達が障害されるものと考えられる。

P23 神経細胞とグリア細胞の放射線感受性：同一ラットから採取した細胞による検討

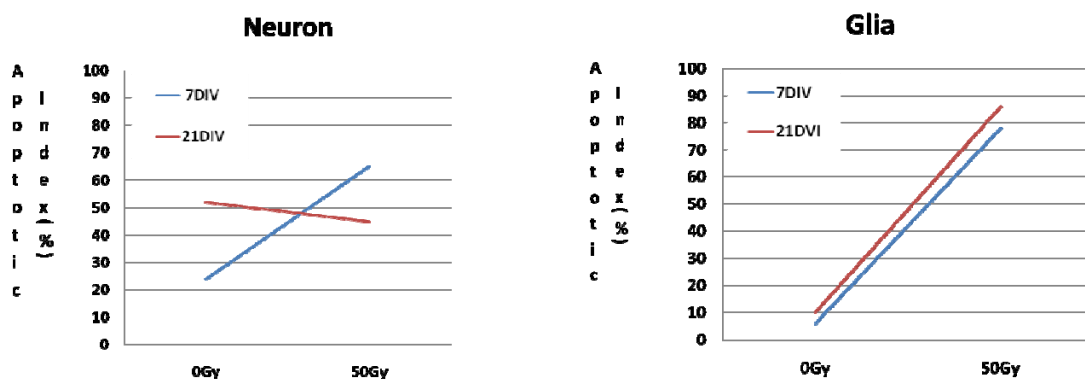
工藤滋弘、鈴木義行、白井克幸、水井利幸、野田真永、岡本雅彦、吉田由香里、白尾智明、中野隆史
群馬大学大学院 腫瘍放射線学

【背景】放射線治療における脳、中枢神経系の有害事象は、グリア細胞、血管内皮細胞の障害を介した2次的な影響であり、非増殖細胞である神経細胞は1次的な障害をされないと考えられている。同一個体由来の神経細胞、グリア細胞をそれぞれ培養、照射し比較することで、放射線の神経細胞にたいする影響を明らかにする一助としたい。

【方法】同一の胎児ラットの海馬・大脳皮質から、それぞれ神経細胞・グリア細胞を採取・培養し、培養7日目（7DIV）と、21日目（21DIV）に50Gyを照射し、照射後24時間の時点で、TUNEL法にてアポトーシス細胞の頻度（%：Apoptotic Index、以下AI）を計測した。

【結果】7DIVの神経細胞では、照射によりAIが有意に増加したが（非照射：照射=24%：65%； $P < 0.01$ ）、21DIVの神経細胞では照射によるAIの増加は認められなかった（52%：45%； $P = 0.61$ ）。グリア細胞については、7DIV（6%：78%； $P < 0.01$ ）・21DIV（10%：86%； $P < 0.01$ ）とも照射により有意にAIが増加し、増加の程度は7DIV・21DIVでほぼ同じであった。神経細胞とグリア細胞を比較すると、照射によるAIの増加はグリア細胞の方が大きかった。

【結論】7DIVの神経細胞、7DIV・21DIVのグリア細胞で、放射線によりアポトーシスが増加した。グリア細胞の方が、神経細胞より放射線感受性であった。



	0Gy(対照群)	50Gy(照射群)	P value
7DIV	24(%)	65	<0.01
21DIV	52	45	P=0.61

	0Gy(対照群)	50Gy(照射群)	P value
7DIV	6(%)	78	<0.01
21DIV	10	86	<0.01

P24 RNA microarray analysis of genes expressed in the olfactory bulb and cerebellum of the *Pax6*^{Sey-3H} mice

Yumiko NITTA¹⁾, Yasufumi SHIGEYOSHI¹⁾, Toshihide HARADA²⁾, Fumiko ISHIZAKI³⁾, Kohsaku NITTA⁴⁾, Naomi NAKAGATA⁵⁾

¹⁾ Department of Anatomy and Neuroscience, Kinki University, Faculty of Medicine, Osaka-Sayama, ²⁾Department of Health Services Management, Hiroshima International Univ., Higashi-Hiroshima, ³⁾Department of Communication Sciences and Disorders, Faculty of Health and Welfare, Prefectural University of Hiroshima, Mihara, ⁴⁾ Azami Clinic, Hiroshima, ⁵⁾Center of Animal Resources and Development, Kumamoto University, Kumamoto, Japan

OBJECTIVE: High-dose radiation exposure induces acute myeloid leukemia followed by solid tumors in C3H mice, most of which have a frequent hemizygous deletion around the D2Mit15 marker on chromosome 2. This region includes the *Pax6* gene, a critical gene for the development of olfactory bulb, eyes and Harderian glands. To identify novel cooperative genes with *Pax6*, relevant to embryogenesis as well as radiation-induced tumorigenesis, we analyzed the expression of whole genes in olfactory bulb and cerebellum.

MATERIALS AND METHODS: A mutant strain of mice, *Pax6*^{Sey-3H}, which deleted the *Pax6* hemizygously, was used. (1) For the induction of tumors, *Pax6*^{Sey-3H} mice were exposed to 3 Gy of gamma-rays. Harderian gland tumorigenesis was observed during their lifelong periods. (2) For the analysis of the phenotype of the *Pax6*^{Sey-3H}, behavior and histopathology of the brain were examined. (3) For the analysis of the genotype of the *Pax6*^{Sey-3H}, microarrays (Agilent Expression Array for mice) were used to measure expression levels of whole genes in olfactory bulb compared with those of cerebellum.

RESULTS: *Pax6*^{Sey-3H} mice did not develop Harderian gland tumors by the gamma-irradiation. They showed severe malformation of olfactory bulb and eyes. Expression of several genes adjacent to the *Pax6* were suppressed in RNA levels.

CONCLUSION: The new finding on down-regulation of *Pkr2* and *Neurod1* in *Pax6*^{Sey-3H} mice detected by the RNA microarray analysis suggests that any molecular mechanism to influence on the expression of adjacent genes on the same chromosome should be coordinated for development of olfactory bulb, eye and Harderian glands.

P25 Gene expression profiles induced by high LET carbon ion beams in human brain tumors with different p53 status

Masatoshi Hasegawa¹, Isao Asakawa¹, Emiko Katayama¹, Kazuya Inoue¹, Tetsuro Tamamoto¹, Shogo Ishiuchi², Shingo Kato³, Takeshi Murakami³, Tatsuya Ohno⁴, Takashi Nakano⁴

¹Department of Radiation Oncology, Nara Medical University, Kashihara, Japan

²University of the Ryukyus, ³National Institute of Radiological Sciences

⁴Gunma University Graduate School of Medicine

Purpose: To investigate high LET beam-induced gene expression profiles in human brain tumors with different p53 status.

Materials & Methods: An ependymoblastoma with wild-type (wt) p53, a primitive neuroectodermal tumor with wt p53, and a glioblastoma (GB) with mutant-type (mt) p53, were transplanted into nude mice subcutaneously, and irradiated with carbon ion beams (290MeV/u, 6 cm spread-out Bragg peak, NIRS) or 200kV X-rays. These tumors were excised 4, 6, or 24 hours (h) after 2Gy irradiation. GB was also examined 6 h after 2, 8, or 16Gy irradiation. Total RNA was extracted for GeneChip expression microarray analysis. Hierarchical clustering, gene ontology analysis, and pathway analysis were also performed.

Results: Tumors with wt p53 showed significant changes in gene expression following 2Gy irradiation and most profiles by carbon ion and X-rays were similar. GB with mt p53 showed little change after 2Gy; however, significant changes in gene expression were induced by 8Gy or 16Gy, and the profiles by carbon ion were significantly different from those by X-ray.

Conclusion: High-dose carbon ion beams and X-rays induced different gene expression profiles in human glioblastoma with mt p53.

P26 ラット未熟海馬神経細胞におけるアポトーシス導入に対する炭素線の効果

神沼拓也 1)、鈴木義行 1)、白井克幸 1)、水井利幸 2)、野田真永 1)、吉田由香里 3)、
舟山知夫 4)、小林泰彦 4)、白尾智行 2)、中野隆史 1)

1) 群馬大学大学院医学系研究科腫瘍放射線学教室

2) 群馬大学大学院医学系研究科神経薬理学教室

3) 群馬大学重粒子線医学センター

4) 日本原子力研究開発機構量子ビーム応用研究部門

目的：未熟神経細胞の初代培養法である Banker 法を用いて、未熟神経細胞に対する炭素線の直接的な生物学的効果について検証を行うこととする。

方法：Banker 法により培養された培養 7 日目の未熟な神経細胞に対して、炭素線 (1Gy、3Gy、5Gy、10Gy) 及び X 線の照射 (10Gy、30Gy) を行った。照射 12 時間後に固定した後に TUNEL 染色を行って、アポトーシスに陥った細胞の割合 (AI ; Apoptotic Index) を計算した。炭素イオン線照射群と X 線照射群での AI の差異について解析を行い、相対的生物学的効果比 (RBE) を算出した。

結果：炭素イオン線照射群の AI は 1Gy 照射群で 21%、3Gy 照射群で 23%、5Gy 照射群で 24%、10Gy 照射群で 33% であり、X 線照射群の AI (10Gy 照射群で 15%、30Gy 照射群で 22%) と比較して有意に AI が増加していた。また X 線に対する炭素線の RBE は 10.2 と計算された。炭素線照射群は 10Gy 照射群で非照射群と比較して有意に AI が増加していた。

結論：他の細胞系で今までに報告されている RBE の中央値は 2.11 である。RBE の値は、使用する LET、細胞株、エンドポイントで変化するものの、本研究における RBE の値は高値であり、それゆえ炭素線は未熟海馬神経細胞のアポトーシス誘導を起こしやすいと考えられる。そのため、本研究からは脳腫瘍に対する炭素線治療は未熟神経細胞の放射線感受性を考慮して慎重に行う必要があることが示唆された。

P27 染色体 DNA 切断に対する非相同末端結合活性の in vivo 測定系を用いた新しい放射線治療増感標的の同定

荻原秀明¹、尾池貴洋^{2, 3}、宇井彩子^{1, 2, 4}、安井明⁴、中野隆史³、横田淳²、○河野隆志¹

国立がん研究センター研・¹ゲノム生物、²多段階発がん、³群馬大院・腫瘍放射線学、⁴東北大加齢研・加齢ゲノム制御プロテオーム

がんの放射線治療では、DNA 二本鎖切断 (DSB) の誘導ががん細胞死誘導の主要因となる。放射線により生じた DSB は非相同末端結合修復経路 (NHEJ) によって主に修復されるため、当該経路の阻害はがん放射線治療の増感のための手段となりうる。実際、NHEJ における DNA 断端の結合に働くキナーゼ蛋白質 DNA-PKcs に対する阻害剤 Nu7026 は放射線増感剤の有力な候補として研究が進められている。近年、DSB 修復において、DSB 部位のヒストン蛋白質の修飾やクロマチンの再構成によるクロマチン弛緩が DNA 修復蛋白質群の集積・機能に必要であることが示唆されているが、その実態は明らかでない。そこで我々は、ヒトがん細胞の染色体上に生じた DSB に対する NHEJ のアッセイ系を構築し、NHEJ に関わるヒストン修飾・クロマチン再構成因子の同定を進めている。その結果、CBP/p300 蛋白質が DSB 部位のヒストン H3/H4 蛋白質アセチル化酵素として機能し、SWI/SNF クロマチンリモデリング因子と協力することにより、NHEJ を促していることを見出した (Ogiwara et al., *Oncogene*, in press)。また、ACF1 クロマチンリモデリング因子の NHEJ への関与についても明らかにした (Lan et al., *Mol Cell*, in press)。siRNA による CBP/p300、ACF1 蛋白質の機能阻害はがん細胞の放射線感受性を増加させた。この結果は、ヒストン修飾・クロマチン再構成蛋白質群が、がんの放射線治療における新たな増感標的であることを示唆する。現在、CBP/p300 蛋白質を含むヒストンアセチル化酵素に対する阻害剤による NHEJ 阻害作用、放射線増感作用について検討を進めている。

P28 Radiation-induced HIF-1 α prevents apoptosis through reduction of ROS productions after irradiation in glioblastoma

Katsuyuki Shirai, Kamalakannan Palanichamy, Krishnan Thirumoorthy, Disha Patel, Nicolaus Gordon, Arnab Chakravarti
Department of Radiation Oncology, The Ohio State University Medical School, Columbus, OH 43210, USA
katsuyuki.shirai@osumc.edu

Purpose/Objective(s): Hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α), a transcriptional factor, is strongly expressed in glioblastoma and associated with poor survival. Recent studies have shown that HIF-1 α is induced by irradiation under normoxic conditions, although the mechanism still remains unclear. In this study, we investigated the association radiation-induced HIF-1 α with radioresistance in glioblastoma cells.

Materials/Methods: Clonogenic survival assay was performed to investigate the effect of radiation on colony-forming ability in established cell lines (U87, LN18, and LN229) and primary cell lines (VC3 and MGH8). HIF-1 α and PDK1 expressions were analyzed by using Western blotting after irradiation. We used two HIF-1 α blockade strategies: stable knockdown cell lines of HIF-1 α using lentivirus-based sh-RNA and YC-1, a novel HIF-1 α inhibitor. These blockade treatments were evaluated by clonogenic survival assay, MTS assay, and apoptotic proteins, such as cleaved caspase-3 and cleaved PARP. CM-H₂DCFDA was used to measure ROS levels.

Results: Clonogenic survival assay showed that U87 and LN18 were more radioresistant than VC3, MGH8, and LN229. Radiation-induced HIF-1 α was detected in radioresistant cells, but not in radiosensitive cells. Knockdown of HIF-1 α decreased cell proliferation in clonogenic survival assay. YC-1 decreased the radiation-induced HIF-1 α and decreased cell viability in MTS assay. These HIF-1 α blockades treatments increased cleaved caspase-3 and cleaved PARP expression after irradiation. PDK1 was increased only in radioresistant cells that have radiation-induced HIF-1 α . Knockdown of HIF-1 α decreased PDK1 expressions and increased ROS levels after irradiation.

Conclusions: We demonstrated that radiation-induced HIF-1 α increases PDK1 expression and decreases ROS productions, resulting in prevention of apoptosis after irradiation.

P29 粒子線治療における脳壊死部位予測のための生物学的線量分布計算

加瀬優紀(1, 2)、日向猛(2)、永野あい(2)、為重雄司(3)、蓑原伸一(2)、松藤成弘(2)、
溝江純悦(4)、Piero Fossati(4)、長谷川安都佐(2)、金井達明(5)

(1) 静岡がんセンター、(2) 放射線医学総合研究所、

(3) 福井県健康福祉部地域医療課

(4) CNAO Foundation, National Center for Oncological Hadrontherapy

(5) 群馬大学重粒子線医学研究センター

(目的) 本研究の目的は、脳腫瘍の粒子線治療によって生じる脳壊死を治療計画システム上で計算した生物学的線量分布から予測できるようにすることである。

(方法) 炭素線による生物学的効果比(RBE)を、X線による脳壊死の α/β 比を2と仮定して生物効果モデル(Modified microdosimetric kinetic model)で計算した。

この生物学的線量分布の計算を炭素線治療の治療計画ソフトに入力して、CT画像上で脳壊死推定用の生物学的線量分布を計算した。今回の発表では、星状細胞腫(Grade II)を炭素線で治療した後、部分的に脳壊死が生じた症例について計算を行った。

脳壊死の領域を頭部MRIスキャンで検出した結果と、生物学的線量分布計算とを比較した。

(結果) 星状細胞腫(Grade II)の炭素線治療で2.1 GyE/frの治療照射の場合、

脳壊死推定用の生物学的線量分布はSOBP内で平坦ではなく、

深度が深いほど高くなる傾向となった。このことからビーム飛程の手前付近で脳壊死が

発生しやすいことが予想され、MRIで検出した脳壊死の分布に近い結果が得られた。

(結論) 脳壊死推定用の生物学的線量分布の計算を行い、脳壊死の位置が推定できる可能性があることを示した。今後、陽子線も含め詳細な解析を行うことで治療前に脳壊死発生の予測が可能になると期待できる。

P30 Influence of histological subtype on survival after combined therapy of surgery and radiation in WHO grade 3 glioma

Masaru Wakatsuki¹⁾, Yoshiyuki Suzuki²⁾, Masahiko Okamoto²⁾, Shin-ei Noda²⁾, Takashi Nakano²⁾

1) Department of Radiation Oncology, Massachusetts General Hospital

2) Department of Radiation Oncology, Gunma University Graduate School of Medicine, Maebashi, Japan

背景

WHO grade 3 glioma は組織亜型によって予後に差がある事が報告されているが、いまだ十分な検討がなされていない。

方法

1984年から2001年に当院で放射線治療が施行された grade III Glioma の63例（男性29例，女性34例）を対象に、組織亜型や臨床因子（年齢・性別・線量・摘出度）について予後との相関を検討した。

結果

組織亜型は anaplastic astrocytoma (AA) 41例，anaplastic oligodendroglioma (AO)11例および anaplastic oligoastrocytoma (AOA) 11例であった。全症例の2年ならびに5年原病生存率はそれぞれ、55%、38%で、組織亜型別にはAAで35%、27%、AOで100%、76%、AOAで81%、48%であり、AAに比べAOおよびAOAは有意に予後良好であった（ $P=0.001$ ）。摘出度と年齢は有意な予後因子であったが（ $P=0.001$ ・ $P=0.02$ ），線量や性別は予後因子とはならなかった。多線量解析では摘出度が最も強い予後因子であり、次いで組織亜型、年齢の順であった。

結語

WHO grade III glioma の放射線治療は組織亜型が摘出度に次いで強い予後因子であった。

P31 初発神経膠芽腫に対する X 線分割照射とテモゾロマイド併用療法の治療成績

菅原健一、大澤 匡、堀口桂志、登坂雅彦、吉田貴明、好本裕平
群馬大学大学院医学系研究科脳神経外科

【目的】本邦においてテモゾロマイドが認可された 2006 年 9 月以降、当院でも初発神経膠芽腫に対しテモゾロマイドと放射線治療との併用療法を第一選択として治療を行っており、3 年以上が経過した。テモゾロマイドと放射線治療との併用療法の治療効果について解析を行った。

【方法】2006 年 9 月以降、当院で摘出術を行い、病理組織診断の確定した患者を対象とした。2Gy × 30 回(計 60Gy)の通常分割照射と併用し、テモゾロマイド 1 回 75mg/m²(体表面積)を 1 日 1 回 6 週間連日経口投与し、4 週間休薬する。その後、維持療法として 1 回 150~200mg/m²を 1 日 1 回連日 5 日間、経口投与し、23 日間休薬する。この 28 日を 1 クールとして、維持療法を継続した。

【結果】全 30 例。年齢中央値は 58 才(5-79 才)。全生存期間中央値は 18.7 カ月、無増悪生存期間中央値は 9.3 カ月であった。RTOG RPA 分類における生存期間中央値は class III 中央値に達せず、class IV 18.7 カ月、class V 13.7 カ月、class VI 10.9 カ月であった。単変量解析では摘出度、RTOG RPA class III/VI で生存率に有意差を認めしたが、多変量解析では有意な差は得られなかった。

【結論】Stupp らの報告に劣らぬ治療効果が得られており、初発神経膠芽腫に対し第 1 選択の治療として継続、更に症例を蓄積して詳細な検討を行いたい。

P32 神経膠芽腫細胞における炭素線と抗がん剤併用に関する生物学的効果の検討

吉田由香里 1)、石内勝吾 2)、鈴木義行 3)、大野達也 1)、中野隆史 1) 3)

1) 群馬大学重粒子線医学研究センター

2) 琉球大学大学院医学系研究科脳神経外科

3) 群馬大学大学院医学系研究科腫瘍放射線学

難治性腫瘍の一つである神経膠芽腫は遊走・浸潤性が非常に高いことから正常な脳細胞との境界が不鮮明であり、手術により腫瘍を全摘出することが困難である。また、X線や抗がん剤に対して非常に抵抗性であるため、集学的治療を行っても根治は絶望的である。神経膠芽腫において、新規抗がん剤である temozolomide (TMZ) は細胞毒性を示すアルキル化剤に分類される抗悪性腫瘍剤であり、経口投与で脳脊髄液に良好に移行し、治療効果をもたらすことが報告されている。X線との併用療法群において、X線単独療法群に比べ、平均生存期間を延長させることが明らかとなっているが、重粒子線照射との併用に関しては、基礎研究も含めて報告がない。本研究では、重粒子線照射と TMZ の併用における生物学的効果についての基礎的なデータを得ることを目的とし、ヒト神経膠芽腫細胞株 U87MG と CGNH-PM を用いて、炭素イオン線もしくはX線による照射実験を行った。

コロニー形成法にて細胞生残率を調べた結果、X線に対する炭素イオン線の放射線生物学的効果比は CGNH-PM 細胞で 1.76, U87MG 細胞で 2.63 であった。X線への TMZ の併用は MGMT 遺伝子がメチル化している CGNH-PM 細胞においてのみ増感効果が認められたが、炭素イオン線への TMZ の併用は MGMT status にかかわらずどちらの細胞においても増感効果が認められなかった。

X線に比べて炭素イオン線はよい抗腫瘍効果をもたらすが、TMZ との併用においては新たな薬剤を追加した治療法を検討する必要があると思われる。

P33 膠芽腫に対する陽子線治療後の脳壊死症例の検討

水本齊志、坪井康次、奥村敏之、山本哲哉、橋本孝之、大城佳子、福光延吉、盛武 敬、
栄 武二、櫻井英幸

筑波大学附属病院 放射線腫瘍科、 陽子線医学利用研究センター

【背景】当施設では、陽子線治療の優れた線量集中性を用いて、周辺組織に対する影響を最小限にしつつ、膠芽腫に対して高線量の投与を施行している。これまでの結果からは、従来の放射線治療と比較して予後が改善されているが、治療成績の向上に伴って脳壊死の出現を認めており、今後は脳壊死の予防と治療が重要な治療戦略と考えられる。

【目的】膠芽腫に対する陽子線治療後に脳壊死を認めた症例について検討する。

【方法】当施設で陽子線治療を施行した膠芽腫 24 例について検討した。全例に化学療法併用で 96.6 GyE/56 分割（過分割照射）の陽子線治療を施行した。

【結果】膠芽腫 24 例の生存期間中央値は 19.5 カ月であった。2010 年 12 月時点で 6 例の生存を認めた。生存例 6 例の生存期間中央値は 41.8 カ月 (30.6 カ月－75.8 カ月) で全例に 96.6GyE 投与部位に一致した脳壊死を認めた。6 例中 5 例で壊死組織除去術を施行し、1 例は対症療法で対応した。脳壊死症例 6 例の治療前と現時点での KPS を比較すると全例で 10-40 程度の低下を認めたが、4 例は現時点でも KPS60 以上を維持していた。

【結語】膠芽腫に対する陽子線治療後の脳壊死症例について報告した。高線量投与に伴う脳壊死に対して、適切に対応することによって膠芽腫に於いても長期生存の可能性が示唆される。

P34 脳定位放射線治療例における脳壊死についての検討

吉田大作 1、齊藤吉弘 1、早瀬宣昭 2、齊藤淳一 3、工藤滋弘 4、楳本智子 1、水上達治 1、楳本清史 3

1 埼玉県立がんセンター 放射線科、2 埼玉県立がんセンター 脳神経外科、3 群馬大学重粒子線医学研究センター、4 群馬県立がんセンター 放射線科

背景：当院では 2003 年から転移性脳腫瘍に対する治療の一つとして、リニアックアクセレーターによる定位放射線治療を行っている。対象：2003 年 12 月から 2007 年 12 月に脳定位放射線治療を行った転移性脳腫瘍症例 93 例である。年齢の中央値は 64 歳(35-82 歳)、男性 53 例、女性 40 例であった。原発疾患は肺癌が 60 例と最多で、乳癌 12 例が続いた。治療法は VARIAN 製直線加速器にマイクロマルチリーフコリメーターを搭載し、Accusoft WB2.101 を用いて治療計画を行った。線量は 39Gy/3 回または 42Gy/3 回で行った。結果：生存期間中央値は 11.8 か月で、1 年生存率 49%、2 年生存率は 23%であった。脳壊死発症例は 6 例であった。脳壊死の判定は 1・MRI による画像診断、2・ステロイドで改善する臨床的診断、3・病理組織診断にて腫瘍細胞を認めない、のいずれかにて行った。脳壊死症例に置ける有害事象は 5 例に軽度のふらつき、1 例に左上下肢麻痺を認めた。照射体積は全体の中央値が 7.52cc (0.7-34.8cc) で脳壊死症例の 5.93cc (2.3-15.4cc) と有意差を認めなかった。結語：脳壊死症例において、明らかな問題点は指摘できなかった。今後は症例を蓄積し、更なる検討を行う予定である。

P35 新しい CT 透視と 3D-CT による神経ブロック法の現状と重粒子線疼痛治療への展望

肥塚史郎、齋藤 繁

群馬大学医学部附属病院麻酔科蘇生科

近年、医療の安全性に対する社会的要求はきわめて強くなっている。われわれは新しい CT 透視法 (CT fluoroscopy) をペインクリニックに積極的に応用し、超音波では描出できないような深部において神経破壊薬や高周波熱凝固法を用いるような侵襲性の高い神経ブロックは、ほぼ全例 CT 透視ガイド下に施行している。新しい CT 透視法は、穿刺をしながらその場でほぼリアルタイムに CT 画像を得ることができるため、従来のものよりはるかに迅速で安全かつ確実性のある神経ブロックをおこなえるようになったと考えている。

また、平成 16 年 2 月より導入した、1 回の透視で前後含め 3 スライスを同時に得ることができる新しいマルチスライス CT 透視装置の導入により、ブロック針の刺入ガイドがさらに精度を上げて、神経ブロックがより速やかに行われるようになった。これに加えて、最新の CT 装置では穿刺後に scan するとわずか数分で 3D の画像が得られるため、ブロック針の穿刺状況を立体的に評価することができるようになった。

今回これまで施行した CT 透視ガイド下神経ブロックの現状や問題点などについて豊富な画像症例で詳細に報告するとともに、インターベンショナル疼痛治療における重粒子線の応用への展望を考えたい。

P36 大気 microPIXE を利用した、肺内沈着アスベストの画像化と肺線維化への関与の解析

土橋 邦生¹⁾、松崎 晋一²⁾、清水 泰生²⁾、長嶺 竹明¹⁾、佐藤 隆博³⁾、大久保 猛³⁾、横山 彰人³⁾、石井 保行³⁾、石塚 全²⁾、森 昌朋²⁾、

1) 群馬大学・医学部保健学科、2) 群馬大学大学院・医学系研究科病態制御内科学、3) 高崎量子応用研究所・放射線高度利用施設部

目的：アスベスト吸入は肺線維症や肺癌を惹起し、大変な社会問題である。病態解明には、アスベストを肺組織内で特定する必要があるが、従来簡単ではなかった。我々は、日本原子力研究開発機構が開発した大気マイクロ PIXE 技術を用いて、少量の肺組織中の元素の二次元分布を、 $1\mu\text{m}$ の解像度で画像化することに世界で初めて成功した。今回は、本法を用いアスベストの肺線維化への関与を検討した。

方法：アスベスト吸入又は非吸入肺癌患者の手術摘出組織より凍結切片を作成し、microPIXE 用の film を張ったスライドガラス上に乗せて乾燥させ、ホルダーに固定し、イオンビームを照射した。

結果：アスベスト肺では、組織中のアスベストの周囲に一致して、マクロファージの集積とアポトーシスを惹起し肺線維化に関与する Fas の発現が増強していた。次に 12 人の特発性肺線維症患者の肺組織を解析したところ、正常肺組織比し重金属の含量に差はなく、本疾患発症には、吸入重金属の関与は少ないことが示唆された。ただ、2 例の患者で、Fe 含量が有意に高く、その分布に一致し Fas の高発現が認められことは、特発性肺線維症の一部に、吸入重金属が原因となっている可能性が示唆された。

結語：アスベストや重金属の肺組織への沈着が、肺線維化発症に重要であることが示された。本法は、環境からの粉じん吸入による肺病変の診断と病態解明に極めて有用である。