

2006

The 49th Annual Meeting of
the Japan Radiation Research Society

日本放射線影響学会 第49回大会

講演要旨集



2006年9月6日(水)～8日(金)

北海道大学高等教育機能開発総合センター(学術集会)

9月6日(水)

北海道大学学術交流会館(市民公開講座)



SA

北海道大学

タイプI mRNA の発現量、アルカリリフォスファターゼ活性の減少は 4 Gy において 2 Gy よりも顕著に認められた。X 線照射により、骨芽細胞への分化が阻害されることが示唆された。

P2-23 ヒト末梢血単球由来樹状細胞の分化誘導における放射線の影響

Differential induction from X-irradiated human monocytes to dendritic cells

○吉野 浩教、高橋 賢次、柏倉 幾郎（弘前大・医）

【目的】樹状細胞 (dendritic cells : DC) は、抗原提示細胞の一つで、免疫システムに不可欠な存在である。近年、その DC を用いた腫瘍の細胞療法が注目されている。腫瘍の放射線治療は有効な手段であるものの、この免疫システムに対する放射線の影響についてはほとんど知られていない。そこで、本研究では、骨髄系 DC となりうる単球に着目し、放射線に曝露された単球からでも正常な DC が誘導できるかどうかを検討するために、DC の分化誘導過程における X 線の影響を検討した。【方法】ヒト献血パフィーコートから比重遠心法で単球を遠心分離し、X 線 5 Gy (線量率 : 90-100 cGy/min) を照射した。照射単球を、rhGM-CSF, rhIL-4 (それぞれ 50 ng/ml) を添加した 2% ヒト AB 型血清含有 RPMI 培地で 5 日間培養し、未熟 DC へ誘導した。さらに、rhTNF- α (50 ng/ml) を添加して 4 日間培養し、成熟 DC へ誘導した。X 線非照射の単球を同様に誘導したものをコントロールとした。解析は未熟 DC、成熟 DC における細胞表面抗原の発現及び未熟 DC における貪食能を解析した。【結果】照射単球から DC へ誘導した場合でも、未熟及び成熟 DC のそれぞれに特異的な細胞表面抗原の発現が見られた。しかし、未熟 DC では CD40、成熟 DC では CD80 の発現量が非照射の場合と比べて増加するなど、一部の細胞表面抗原の発現量に変化が見られた。さらに、照射した単球から誘導した未熟 DC の貪食能は、非照射群に比べて低下する傾向が観察された。【考察】放射線に曝露された単球から DC へ誘導できることが示された。また、成熟 DC で CD40 の発現が強まること、貪食能が低下することから、放射線が DC の成熟を促進している可能性が示唆された。

P2-24 AHCC(Active Hexose Correlated Compound) に対する抗がん効果及び放射線防護効果に関する研究

Anticancer and radiation protection effect in AHCC

○前田 佳彦²、中村 敬¹、佐野 幹夫²、若命 浩二³、黒野 有理¹、石田 寅夫¹、具然和¹（¹鈴鹿医療大 大学院 保健衛生学研究科、²刈谷豊田総合病院 放射線、³（株）アミノアップ中央研究所）

【目的】放射線治療と化学療法は、副作用を伴い、癌患者は一様に体力が低下し、食欲や免疫力も低下する。抗癌剤や放射線治療の副作用は、社会的な関心が高い。本研究では、AHCC の抗酸化作用、SOD 標活性、免疫賦活作用などを検討した。さらに、放射線治療との併用時に放射線防護による副作用の低減への有無を検討した。

【方法】抗腫瘍効果においては、実験群を 8 群に分け、ICR mice の右大腿部に Scc-7 を接種し、AHCC 250mg/kg 毎日、経口投与した。抗酸化作用の実験では、in vitro においては AAPH ラジカル消去能の実験を in vivo においてはルミネッセンスリーダーを用いた抗酸化活性の測定、マイクロプレートリーダーを用いた SOD 標活性の測定をした。更に、AHCC 投与後、マウスのリンパ球による CD-3 細胞、CD-4 細胞及び CD-8 細胞の測定を行った。

【結果】抗腫瘍効果では AHCC 投与により腫瘍の成長が抑制された。また、リンパ球数、単球数の増加がみられた。抗酸化活性では、AHCC 投与により、抗酸化作用が確認された。また、AHCC 投与による CD-3 細胞、CD-4 細胞活性も認められた。

【考察】AHCC 投与群では、抗がん効果もあり、しかも放射線と併用投与においても防護効果が認められたことより、抗酸化作用及び免疫回復作用によるものと考えられる。

【総括】AHCC はがん細胞のタンパク質と分裂指標の低下を引き起こすためとグルカンにより免疫活性により癌細胞の分裂増殖を抑制すると考えられる。今後、AHCC は放射線防護効果が期待される。

P2-25 EF 2001 (Enterococcus · Faecalis) による放射線防護効果に関する研究

Radiation protection effect by EF 2001 (Enterococcus / Faecalis)

○具然和¹、岩佐 広行²、糸川 由佳¹、増渕 崇¹、前中 俊宏¹、関本 博之¹、長谷川 武夫¹、石田 寅夫³（¹鈴鹿医療大 大学院 保健衛生学研究科、²日本 BRM 研究所、³鈴鹿医療大 東医研 High Res. Cent.）

【緒言】放射線治療と抗がん剤治療は副作用が大きく、免疫力の低下または気力の低下により体力を落とす。本研究では、特に放射線のがん治療時の副作用に対する放射線防護剤として EF2001 が免疫増強で有効であるかをマウスを用いて検討を行った。【方法】各 EF2001 抽出物 100mg/kg を 2 週間以上強制経口投与した。Scc-7 移植し、2 週間後、腫瘍部に放射線 6Gy 照射し、腫瘍成長比と重量を測定することで抗腫瘍効果を測定した。各試料の投与は、実験終了まで行った。同様に白血球、リンパ球、単球数も測定した。また、抗酸化活性も測定した。更に、C57BL マウスを用い、CD4 および CD8 の解析を行った。【結果】抗腫瘍効果では EF2001 およびそれらの併用投与により腫瘍の成長が抑制された。血球数変化では、白血球数、リンパ球数、単球数の増加がみられた。抗酸化活性では、各試料投与により、抗酸化作用が確認された。各投与群において CD4 および CD8 が増加した。また、放射線照射後を見ると、EF2001 投与群での CD4 および CD8 の大幅な増加が見られた。【考察】EF2001 は、放射線照射により生じたラジカルスカベンジング作用で、白血球数の減少を抑え、免疫力の低下を防ぐと共に、マクロファージの活性や T 細胞活性または INF- γ などの増加作用により抗がん作用などが認められた。【総括】これらのことから、EF2001 投与による放射線防護効果が示唆された。EF2001 を摂取することでガンの予防効果、治療効果及び放射線がん治療における免疫増強効果や副作用防止に期待できる。

P2-26 原爆被爆者におけるメモリー CD4 T 細胞サブセットの解析

Analyses of memory CD4 T-cell subsets in A-bomb survivors

○京泉 誠之^{1,2}、楠 洋一郎²、山岡 美佳²、久保 美子²、濱崎 幹也²、林 奉権²、中地 敬²（¹安田女子大 管理栄養、²放射線影響研 放射線生物学 / 分子疫学）

【目的】我々は、ヒトメモリー CD4T 細胞に発現する CD43 を認識する HSCA-2 モノクローナル抗体を用いて、CD4 メモリー T 細胞が 3 つの機能的に異なるサブセットに分けられることを報告してきた (J.Immunol,169:39,2002, J.Immunol,172: 7246,2004)。すなわち、CD43 の発現が比較的高く成熟した機能を有する M1 サブセット、CD43 の発現が中程度で、T 細胞レセプターの刺激に比較的弱い反応性を示す M2 サブセット、ならびに CD43 の発現が比較的低く T 細胞レセプターの刺激に不応答でアポトーシス起こす傾向のある M3 サブセットである。今回、原爆被爆者の T 細胞メモリーの維持を調べる目的で、これらのメモリー CD4T 細胞サブセットと加齢および放射線との関係について検討した。

【対象および方法】広島の成人健康調査協力者から末梢血単核球を分離し、HSCA-2、CD4、CD45RO 抗体を用いた 3 色フローサイトメトリにて CD4T 細胞中の各サブセットの割合を測定した。癌の既往のある対象者を除いた 474 名について、年齢、性、および DS02 線量との関係を多重回

● ●

EF 2001 (Enterococcus Faecalis)
による放射線防護効果に関する
研究

○具 然和1、岩佐 広行2、糸川 由佳1、増渕 崇1、前中
俊宏1、関本 博之1、長谷川 武夫1、石田 寅夫3

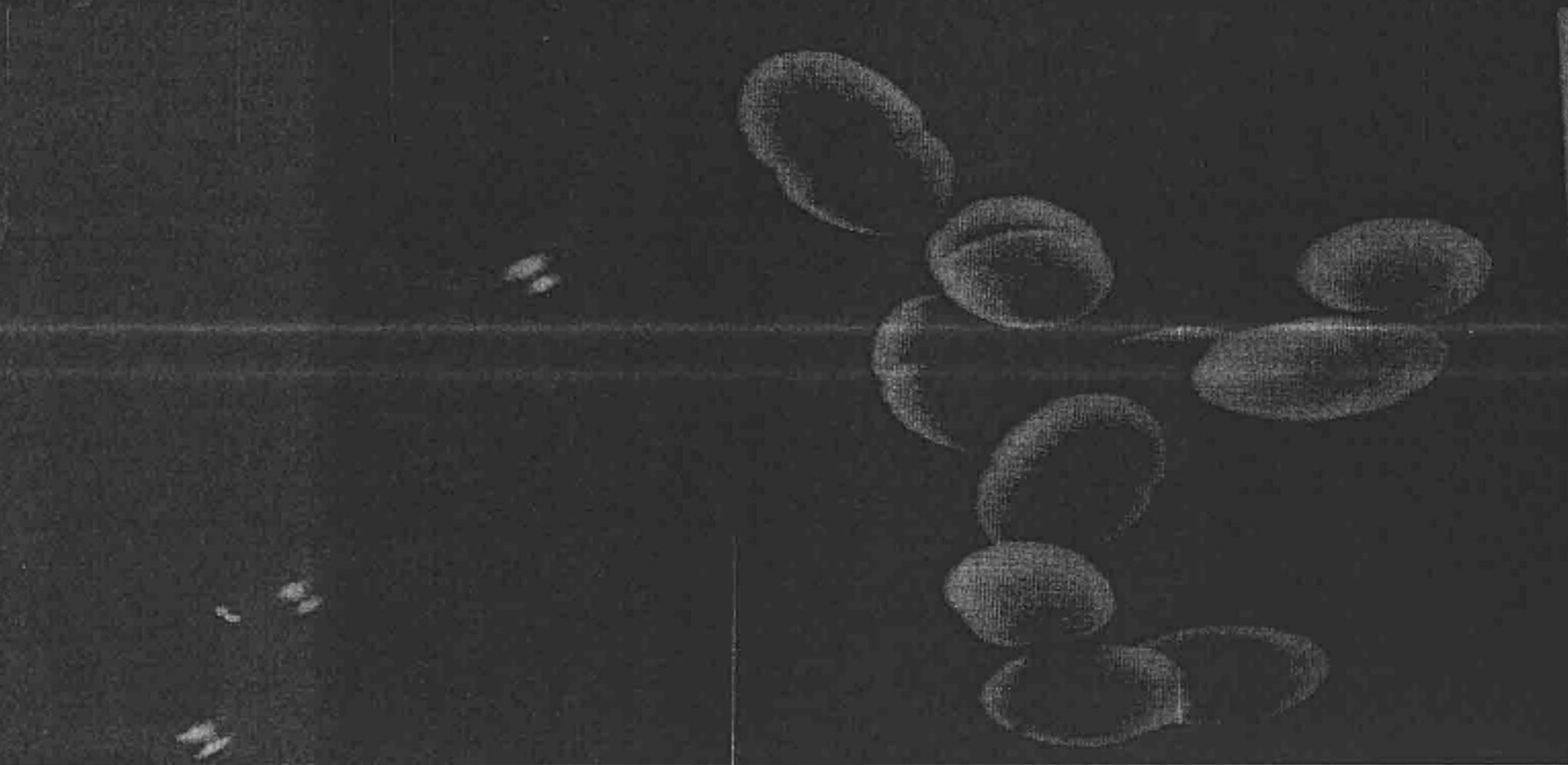
1 鈴鹿医療大大学院保健衛生学研究科

2 日本BRM研究所

3 鈴鹿医療大東医研High Res. Cent.

Enterococcus Faecalis 2001(乳酸球菌)とは?

EF 2001は、学名(*Enterococcus Faecalis*)といい乳酸球菌の加熱死菌体である。乳酸菌とは整腸作用がその特徴であるが、免疫乳酸菌EF-2001株は腸内の悪玉菌を減らし、善玉菌を増やすことにより、腸管免疫を高める。



Enterococcus Faecalis 2001 by microscope (left)
×20, (right) ×12900

● 実験目的 ●

1. *Enterococcus Faecalis*による抗体産生の有無および免疫賦活作用のメカニズムについて免疫グロブリンIgG, IgM測定により調査および検討する。
2. *Enterococcus Faecalis*による免疫反応について検討する。
3. *Enterococcus Faecalis*による抗がん作用および放射線防護効果を検討する。

実験方法

マウスの血液によるTotal IgM , IgG の測定

使用動物: C3H, BALB/Cマウス(♂), 5 weeks

・使用機器: X線照射装置(フィリップス社製、MG226/4.5)

:全自動血球計測器(日本光電celltac- α)

・投与方法: EF 2001を100mg/kg

でo.p.にて毎日投与

・照射条件: 2Gy照射(0.355Gy/min)

・統計処理: ANOVA検定後Fisherの多重比較検定

使用機器: 100Haematokrit-Kapillaren (Hirschmann Laborgerate)

:Mouse IgM ELISA Quantitation Kit (ベツチル)

:Mouse IgG ELISA Quantitation Kit (ベツチル)

:ELISA Starter Accessory Package (ベツチル)

実験群、投与量及び投与法ならびに投与期

:実験方法 1 同様

眼底採血後、Haematokrit-Kapillarenにて血清分離し測定

Material & Methods 1

- Anti-cancer effects

Seven-weeks-old male ICR (Crj) mice

- Cancer cells: sarcoma 180 (2×10^6)
- EF 2001 5mg/kg of heat-killed EF2001
(EF2001) were injected
interpretational(endoceliac) each for
2 weeks every other day

Statistical methods: t- test

Materials and Methods²

1.Radiation protection effects

Seven-weeks-old male C3H mice
12mg/Kg 24mg/Kg of heat-killed EF2001 (EF2001)
were injected interperitoneal each for 2 weeks every
other day



8Gy of whole body irradiation (Philips co. 200kV)



Change of body weight Survival after irradiation



Sections of the large and small intestines with a
microscope

Assay of NK cell activity by ^{51}Cr label YAC-1 cells

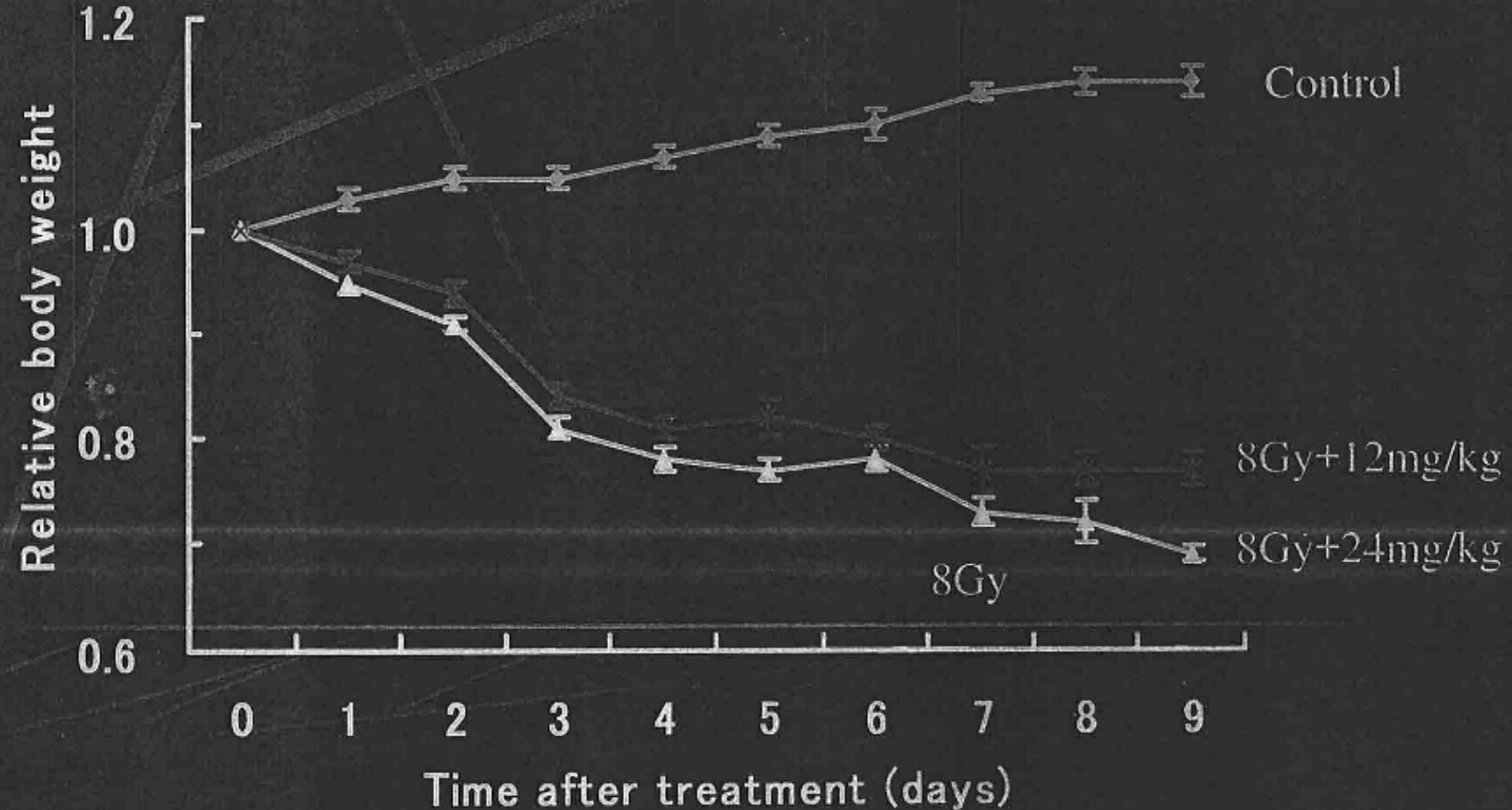
Injection of the EF2001, in the same condition using the examination of radiation protection effect.

The mice was scarified and the spleen was extracted.

The spleen was smashed with stainless steel mesh, and then mixed PBS and the suspect ion was centrifuged three times.

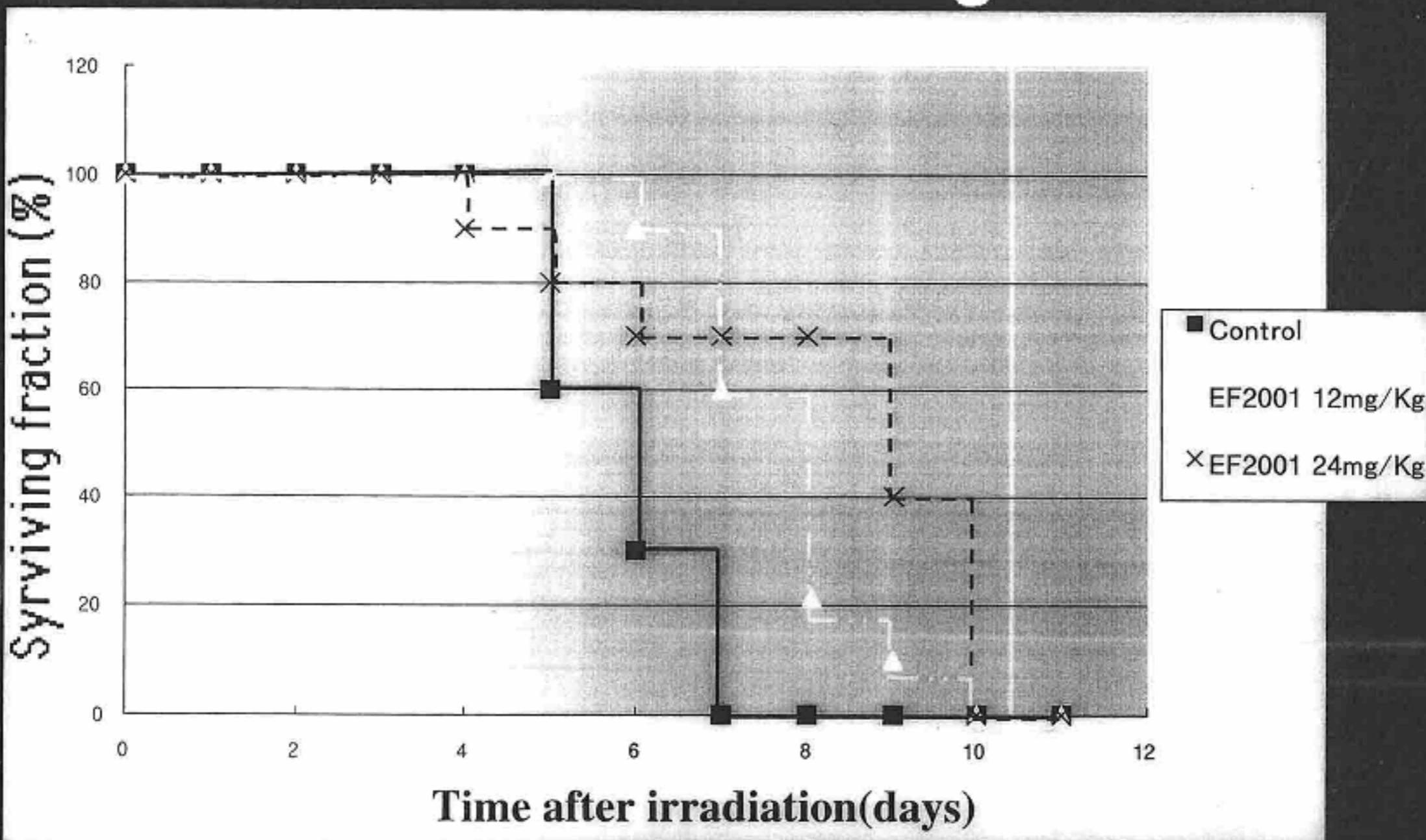
The concentration of the spleen cells was adjusted to be 2×10^7 cells/ ml. Then, 1.25×10^6 , 2.5×10^6 , 5.0×10^6 , 10.0×10^6 , 20.0×10^6 of the spleen cells were added to 1×10^4 of YAC-1 cell which labeled ^{51}Cr of 1mCi and incubated 96 hole plate for 6 hours.

Only liquid component in each hole measured with liquid scintillation.



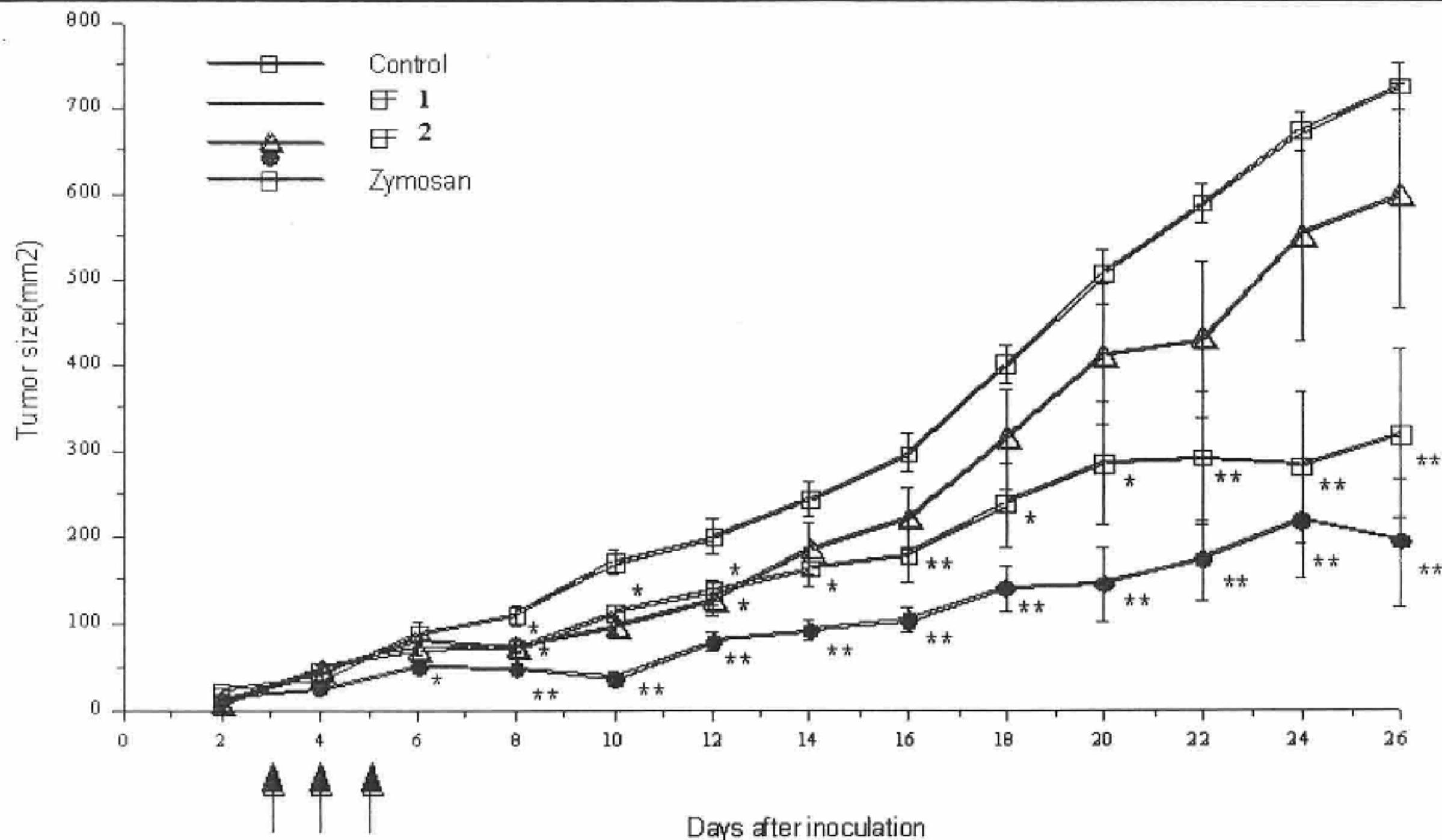
Change of body weight

The body weight loss was inhibited after injection of EF2001.



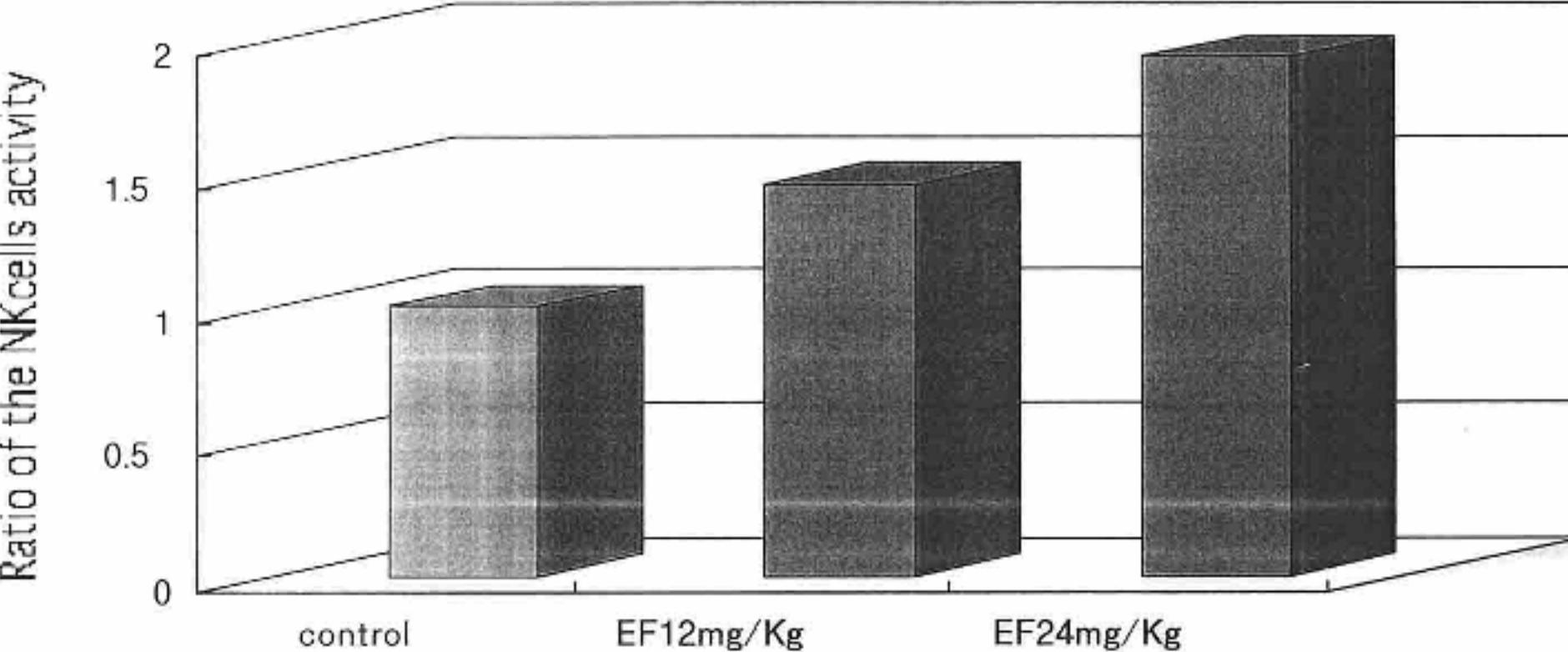
Survival after irradiation

Surviving fraction was increased after injection of
EF2001.



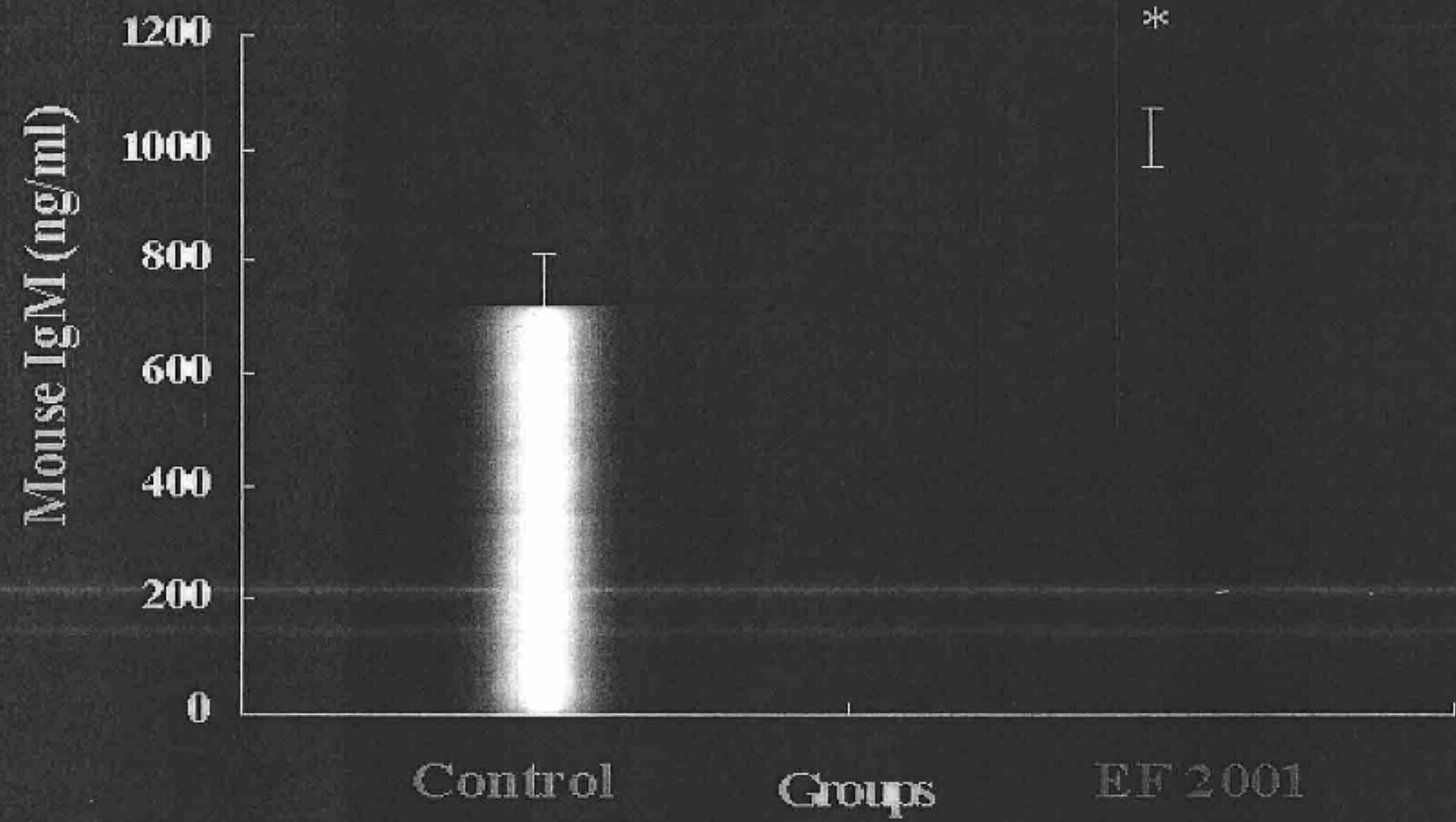
Anti-tumor effect of EF-2001 on S-180 in ICR mice

** $P<0.01$ * $P<0.05$ vs Control group

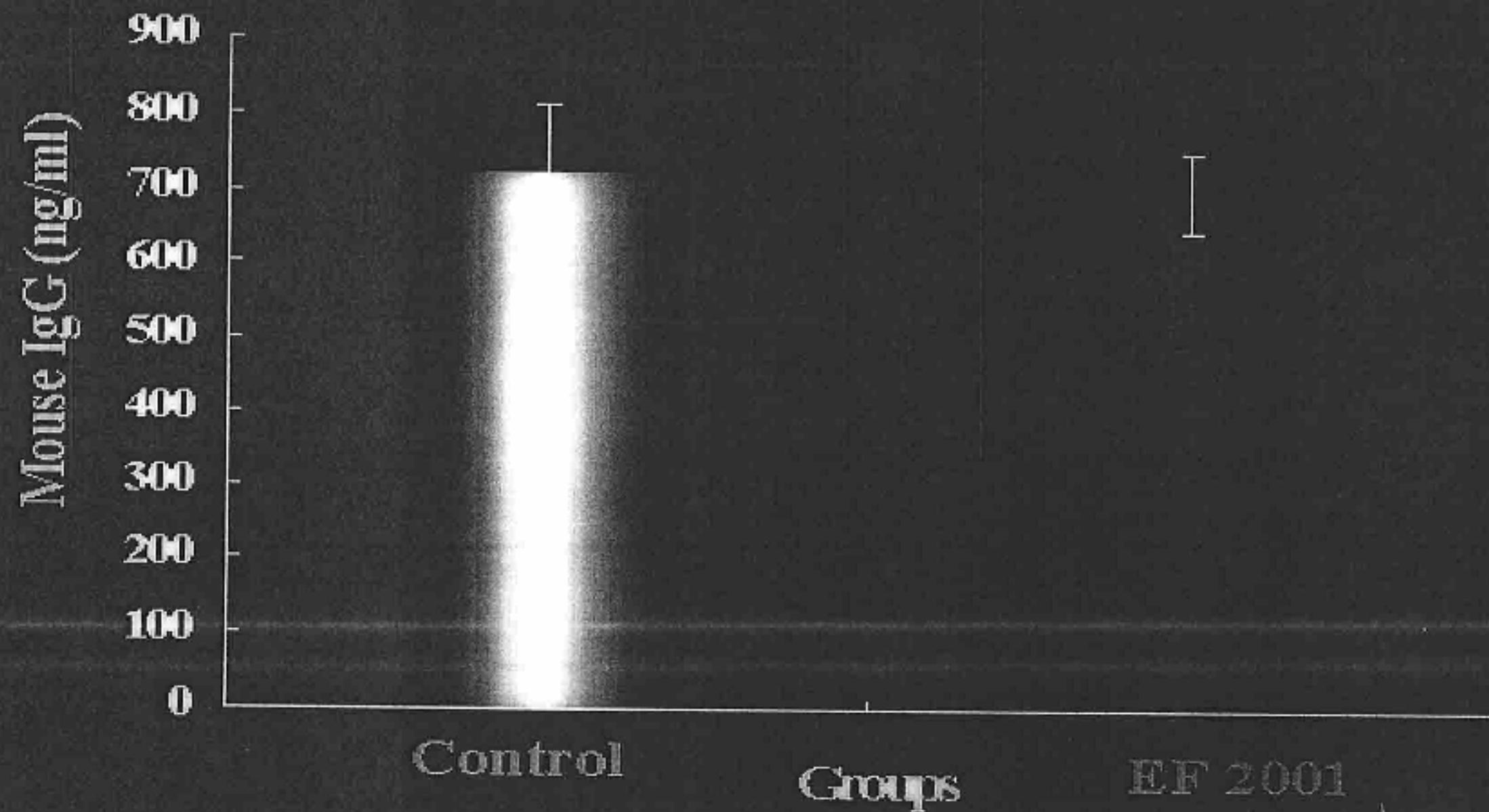


NK cells activity

Activities of NK cells are enhanced 1.46 and 1.94 times in EF2001 12mg and EF2001 24mg groups respectively.



C3H mice of IgM in the blood. Each histogram represents the mean value \pm SE for 10 mice IgM (M). Significantly different * $p < 0.05$ Control vs. EF 2001.



C3H mice of IgG in the blood. Each histogram represents the mean value \pm SE for 10 mice IgG (M). Significantly different * $p < 0.05$ Control vs. EF 2001.

Conclusion 1

Anti-cancer effects : EF 2001 administration group:
positive

EF 2001 to the radiation protection effect: precision

Immune activity effect: EF 2001 administration
group: positive

Anti-aging effect: EF 2001 administration group:
positive

Long life effect: EF 2001 administration group:
positive

The level of total IgM in serum glutamic-oxaloacetic
increased the *Enterococcus Faecalis* dosage group.
However, the level of total IgG in serum glutamic-
oxaloacetic rather fell slightly.

Conclusion 2

- 1. Cell-mediated immunity such as a macrophage and natural killer T cell activate, and the immunization activation action that *Enterococcus Faecalis* has become it, and promotion of humeral immunity anti-action is thought about.**
- 2. In the dosage of *Enterococcus Faecalis*, an IL-2 level in blood rises, and it think that cytokine of the spleen changed from Th2 type into Th1 type.**

● 考察および検討 (IgG, IgMの測定)

Enterococcus Faecalis 投与における抗体の產生があり、Control群に比べ、*Enterococcus Faecalis*投与群のほうが血清中の総IgMの濃度は増加した。しかし、血清中の総IgGの濃度はむしろ若干、低下した。

1. *Enterococcus Faecalis*の持つ免疫賦活作用が、マクロファージやNK細胞、T細胞などの細胞性免疫を活性化させるのみならず、液性免疫抗作用の促進も考えられる。
2. EF2001は、放射線照射により生じたラジカルスカベンジング作用で、白血球数の減少を抑え、免疫力の低下を防ぐと共に、マクロファージの活性やT細胞活性またはINF- γ などの増加作用により抗がん作用などが認められた。