

- versus radiotherapy alone in patients with esophageal cancer: an intergroup study. *J Clin Oncol* 1997;15:277-84.
28. Herskovic A, Martz K, al-Sarraf M, Leichman L, Brindle J, Vaitkevicius V, et al. Combined chemotherapy and radiotherapy compared with radiotherapy alone in patients with cancer of the esophagus. *N Engl J Med* 1992;326:1593-8.
 29. Ohtsu A, Boku N, Muro K, Chin K, Muto M, Yoshida S, et al. Definitive chemoradiotherapy for T4 and/or M1 lymph node squamous cell carcinoma of the esophagus: *J Clin Oncol* 1999;17:2915-21.
 30. Yamada K, Murakami M, Okamoto Y, Okuno Y, Nakajima T, Kusumi F, et al. Treatment results of chemoradiotherapy for clinical stage I (T1N0M0) esophageal carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006;15:1106-11.
 31. Kato H, Udagawa H, Togo A, Ando N, Tanaka O, Shinoda M, et al. A phase II trial of chemo-radiotherapy in patients with stage I esophageal squamous cell carcinoma: Japan Clinical Oncology Group study (JCOG9708). *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003;22:286.
 32. Minsky BD, Pajak TF, Ginsberg RJ, Pisansky TM, Martenson J, Komaki R, et al. INT 0123 (Radiation Therapy Oncology Group 94-05) phase III trial of combined-modality therapy for esophageal cancer: high-dose versus standard-dose radiation therapy. *J Clin Oncol* 2002;20:1167-74.
 33. Ishikura S, Nihei K, Ohtsu A, Boku N, Hironaka S, Mera K, et al. Long-term toxicity after definitive chemoradiotherapy for squamous cell carcinoma of the thoracic esophagus. *J Clin Oncol* 2003;21:2697-702.

全国放射線治療施設の2005年定期構造調査報告 (第1報)

JASTROデータベース委員会

手島 昭樹^{*1}, 沼崎 穂高^{*1}, 渋谷 均^{*2}, 西尾 正道^{*3}, 池田 恢^{*4},
伊東 久夫^{*5}, 関口 建次^{*6}, 上紺屋 憲彦^{*7}, 小泉 雅彦^{*8}, 多湖 正夫^{*9},
永田 靖^{*10}, 正木 英一^{*11}, 西村 哲夫^{*12}, 山田 章吾^{*13}

JAPANESE STRUCTURE SURVEY OF RADIATION ONCOLOGY IN 2005 (FIRST REPORT)

JASTRO Database Committee

Teruki TESHIMA^{*1}, Hodaka NUMASAKI^{*1}, Hitoshi SHIBUYA^{*2}, Masamichi NISHIO^{*3}, Hiroshi IKEDA^{*4},
Hisao ITO^{*5}, Kenji SEKIGUCHI^{*6}, Norihiko KAMIKONYA^{*7}, Masahiko KOIZUMI^{*8}, Masao TAGO^{*9},
Yasushi NAGATA^{*10}, Hidekazu MASAKI^{*11}, Tetsuo NISHIMURA^{*12}, Shogo YAMADA^{*13}

(Received 4 June 2007, accepted 9 July 2007)

Abstract: A national structure survey of radiation oncology in 2005 using questionnaire was conducted from March 2006 to February 2007 by JASTRO. The response rate was 96.9%: 712 out of 735 completed the questionnaire. The total numbers of new cancer patients and cancer patients (new+repeat) treated with radiation were estimated to be 162,000 and 198,000, respectively. The numbers of linac, telecobalt, Gamma Knife, ⁶⁰Co RALS, and ¹⁹²Ir RALS in actual use were 765, 11, 48, 64, and 119, respectively. The linac has the dual energy function in 498 (65%), 3DCRT in 462 (60%), and IMRT in 170 (22%). The numbers of JASTRO-certified radiation oncologists, full time equivalent (FTE) radiation oncologists, medical physicist, radiotherapy QA staff, radiation therapist and radiation therapy nurses/clerks were 426, 774, 117, 257, 1,635, and 907, respectively. Use of radiotherapy geographically varied from 0.8 to 1.7 new patients per 1,000 population.

Key words: Structure survey, Radiotherapy facility, Radiotherapy equipment, Radiotherapy personnel

はじめに

1990年に恒元らによって、第1回日本放射線腫瘍学会(JASTRO)全国放射線治療施設構造調査が実施された¹⁾。1993年以降は定期的(2年ごと)に構造調査を学会事業として行っている²⁾⁻⁸⁾。これらのデータ分析によって、JASTROはわが国における放射線治療のおかれている状況を装備、人員、患者数などを中心に正確に把握し、国や地方自治体レベルでの施策の提言や個々の医療機関における構造の改善に役立つ情報を提供してきた。この調査は、JASTROによる放射線治療施設の施設認定制度における認定を受けるための必要条件ともなっている。

今回、2005年を対象とした第8次全国放射線治療施設の

構造調査を行った。データはすでにJASTROホームページ <http://www.jastro.jp/>よりdownload可能にしている⁹⁾。本報告では、これらのデータを示すと共に、データベース委員会が目しているデータについて解説と考案を行った。なお、人員負荷などの詳細な分析は第2報以降に報告する。

このデータはJASTROの共有財産であり、各施設の構造を改善するために利用されることを最終目標としている。各施設での具体的交渉用にcustomizeされたデータが必要な場合、連絡願いたい。

調査対象と調査経過

2006年3月末に2005年に放射線治療装置があると想定さ

^{*1}大阪大学大学院医学系研究科医用物理工学講座(〒565-0871 大阪府吹田市山田丘1-7) (Department of Medical Physics & Engineering, Osaka University Graduate School of Medicine) (1-7 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, JAPAN) (委員長, 沼崎はオブザーバでデータ解析担当), ^{*2}東京医科歯科大学医学部放射線科 (Department of Radiology, Tokyo Dental and Medical University), ^{*3}国立病院機構北海道がんセンター放射線科 (Department of Radiology, National Hospital Organization Hokkaido Cancer Center), ^{*4}国立がんセンター放射線治療部 (Division of Radiation Oncology, National Cancer Center), ^{*5}千葉大学大学院医学研究科放射線医学 (Department of Radiology, Graduate School of Medicine, Chiba University), ^{*6}聖路加国際病院放射線腫瘍科 (Department of Radiation Oncology, St. Luke's International Hospital), ^{*7}兵庫医科大学放射線医学 (Department of Radiology, Hyogo College of Medicine), ^{*8}藤田保健衛生大学衛生学部診療放射線技術学科 (Department of Radiological Technology, School of Health Sciences, Fujita Health University), ^{*9}東京大学医学部附属病院放射線科 (Department of Radiology, University of Tokyo Hospital), ^{*10}京都大学大学院医学研究科放射線医学講座放射線腫瘍学・画像応用治療学 (Department of Radiation Oncology and Image-applied Therapy, Graduate School of Medicine Kyoto University), ^{*11}国立成育医療センター放射線診療部 (Department of Radiology, National Center for Child Health and Development), ^{*12}静岡県立がんセンター放射線治療科 (Division of Radiation Oncology, Shizuoka Cancer Center) (副委員長), ^{*13}東北大学病院がんセンター (Tohoku University Hospital Cancer Center) (2006年JASTRO会長)

Table 1 Category of radiation oncology facilities

調査票送付時の分類	集計時の分類
[U]: 大学附属病院	U: 大学附属病院
[N]: 独立行政法人国立病院機構(がんセンター等を除く)	G: 国立がんセンター・成人病センター・地方がんセンター ^{*1}
[P]: 公立(都道府県市町村立)病院(がんセンター等を除く)	N: 独立行政法人国立病院機構(がんセンター等を除く)
[G]: がんセンター・成人病センター・地方がんセンター	P: 公立(都道府県市町村立)病院(がんセンター等を除く)
[S]: 赤十字病院・済生会病院	O: 赤十字病院・済生会病院, 企業/公社病院,
[C]: 企業/公社病院	国保/社保/共済/労災/組合/厚生連病院等
[L]: 国保/社保/共済/労災/組合/厚生連病院等	H: 医療法人・医師会病院・個人病院・その他
[H]: 医療法人・医師会病院・個人病院等	
[O]: その他	

^{*1} 厚生労働省の本省に置かれた6つの国立高度専門医療センターを含める

Table 2 Region and number of radiation oncology facilities

地域(都道府県数)	郵送施設数	回答施設数(%)	解析施設数(%)	解析施設数/全国(%)
北海道(1)	32	32(100)	31(96.9)	4.4
東北(6)	62	62(100)	60(96.8)	8.4
関東(8)	214	206(96.3)	191(89.3)	26.8
信越・北陸(5)	58	56(96.6)	52(89.7)	7.3
東海(4)	95	94(98.9)	88(92.6)	12.4
近畿(6)	131	124(94.7)	115(87.8)	16.2
中国(5)	60	58(96.7)	54(90.0)	7.6
四国(4)	37	36(97.3)	31(83.8)	4.4
九州・沖縄(8)	100	98(98.0)	90(90.0)	12.6
全国(47)	789	766(97.1)	712 ^{*1} (90.2)	100

^{*1} 2005年放射線治療実施施設数は735施設と推測され, 712施設は96.9%に相当

れた全国789施設に, JASTRO事務局から2005年1月1日~12月31日までの放射線治療の診療実態についての構造調査票が発送された。2006年度JASTRO会長とデータベース委員長連名にて本調査への協力を正式に依頼した。約460施設からは3カ月以内に返答を得たが, 残りの約300施設に対しては電話による督促が必要であった。督促の半数は1回であったが, 残りの半数は2回以上の督促を行った。4回行い, 最終的に拒否された施設も少数ある。2007年2月末までに766施設(97.1%)から回答が得られた。すでに放射線治療をやめている施設もあり, 2005年に放射線治療を行っている施設は735施設と推定された。解析対象施設数は712施設(96.9%)となった。調査票は2005年4月から委員会で調査直前まで検討された。既存の調査票との整合性を保ちながら, 新たな調査項目としてlinacのdual energy機能, 3DCRT機能, IMRT機能, Tomotherapy, 保険点数による難易度別症例数, 放射線治療担当医の実質的なマンパワーFTE(full time equivalent: 週40時間放射線治療専任業務に換算), 新患患者数と再発治療を含めた総患者数, 脳および骨転移実患者数を加えた。また, 国際原子力機関IAEAからの施設構造調査DIRAC(International Directory of Radiotherapy Centres)へのデータ協力のための調査も同時に

行い, 511施設(69.5%)からデータ提供の承諾を得て, ウィーンのIAEA本部へ2007年4月に提供した。これは, 特に装置名などの詳細な情報で, IAEAのホームページに近日中に掲載予定との返答を得ている。

結 果

1. 施設分類, 規模, 地域と施設数

Table 1に, 施設分類一覧を示す。集計時の分類として[S]: 赤十字病院・済生会病院, [C]: 企業/公社病院, [L]: 国保/社保/共済/労災/組合/厚生連病院等をOとして一括した。[H]: 医療法人・医師会病院・個人病院等, [O]: その他をHとして一括した。厚生労働省の本省に置かれた6つの国立高度専門医療センターはGに含めた。

Table 2に地域と施設数を示している。関東(26.8%), 近畿, 九州・沖縄, 東海, 東北, 中国, 信越・北陸, 北海道, 四国(4.4%)の順となっている。

Table 3に施設組織区分と施設規模(年間新患者数)を示す。U: 大学附属病院, G: 国立がんセンター・成人病センター, 地方がんセンターではF: 500人以上が最も多かった。N: 国立病院機構, P: 公立病院, OではA: 99人以

Table 3 Number of radiation oncology facilities by annual patient load and category

施設規模 (年間新患者数)	施設組織区分						Total	(%)
	U	G	N	P	O	H		
A(99人以下)	12	3	30	73	63	30	211	29.6
B(100-199人)	14	1	29	83	65	33	225	31.6
C(200-299人)	11	6	8	36	31	22	114	16.0
D(300-399人)	19	3	3	16	14	9	64	9.0
E(400-499人)	19	0	0	4	4	5	32	4.5
F(500人以上)	37	16	1	3	4	5	66	9.3
Total	112	29	71	215	181	104	712	
(%)	15.7	4.1	10.0	30.2	25.4	14.6		100

下、B：100～199人が最も多くなっていた。全体で見ると、Bが31.6%、Aが29.6%、C：200～299人が16%であった。F：500人以上を治療する施設は9.3%である。すなわち、わが国の77%の施設は300未満の年間新患者数(A, B, C)を治療している。

2. 年間患者数

Table 4-1 に施設規模別の年間新患者数を示す。712施設で総計156,318人の新患者が治療されていた。全国の実施設数を735施設とした場合に、推定新患者数は約16万2,000人であった。施設組織区分ではU：大学病院が29%と最も多く、P：公立病院22%、O：赤十字・済生会、企業、保険団体、厚生連が19%であった。施設規模ではF：500人以上が31%、B：100～199人が21%、C：200～299人が18%であった。Table 4-2 に施設規模別の年間実患者数(新患+再患)を示す。実患者数未入力の施設が37施設あり、新患者数×1.2で補正した。施設規模は新患者数での分類を踏襲した。712施設で総計191,173人が治療されていた。全国規模では推定実患者数は約19万8,000人であった。施設組織区分、施設規模ではTable 4-1 とほぼ同様の傾向を示した。

Table 5-1 に、地域別施設数と年間新患者数を示している。全新患者数比(%)で最も多いのは関東の33.4%であった。次いで、近畿の16%、九州・沖縄の11.1%、東海の10.6%と続いた。施設平均の新患者数は全国平均では220人で、北海道287人、関東273人、近畿218人と続いた。Table 5-2 に、同様に年間実患者数で示している。全実患者数比(%)も新患同様の傾向であった。施設平均実患者数は全国平均269人で、北海道382人、関東331人、近畿263人と続いた。

3. 装備

Table 6 に、施設規模別の治療機器数と、その機能を示している。全体ではlinac 765台、tomotherapy 1台、microtron 24台、telecobalt 11台(稼働分)、Gamma Knife 48台であった。このうちlinacはdual energy機能を498台(65%)に、3DCRT機能を462台(60%)に、IMRT機能を170台(22%)に有していた。施設規模で見るとA：99人以下の施設では、それぞれ49%、40%、9%であったが、F：500人以上の施設

では、73%、79%、48%に有していた。D：300～399人の施設ぐらいから加速器を2台有し始め、Fの施設では全施設で2台以上有していた。1台のlinacで実患者数平均235人治療していた。C：200～299人の施設では290人、D：300～399人で、339人を治療していた。E：400～499人では331人、F：500人以上では435人治療していた。全体で見ると、日本版ブルーブック¹⁰⁾の基準である250～300人/装置を全体の35%の施設では満たしていた(Fig. 1)。上位1/4の施設では300名を超えて治療していた。特に上位10%では、改善警告値400名を超える多数の患者を1台のlinacで治療していた。粒子線は全国で7台稼働していた。小線源照射装置(実稼働数)は⁶⁰Co RALSが64台、¹⁹²Ir-RALSが119台、¹³⁷Cs-RALSが2台であった。施設規模ごとに検討すると、C：200～299人以上の大きい施設程、linacの各機能は充実していた。小線源治療装置もC以上の施設で装備され、特に¹⁹²Ir-RALSはE：400～499人以上で6割以上の施設に装備されていた。

Table 7 に、施設規模別の治療周辺機器数を示している。全体ではX線シミュレータ502台、CTシミュレータ407台、放射線治療計画コンピュータ(RTP)940台、放射線治療専用CT351台、放射線治療専用MRI 12台、放射線治療の記録でのコンピュータ使用は626施設、水ファントム保有649施設、などであった。施設規模でCT simulatorの保有率をみると、A：99人以下の施設では39%であったが、F：500人以上の施設では97%に有していた。

Table 8 に、放射線治療管理料数と、その難易度を施設規模で示す。未記入施設が217施設あったが、最小規模施設Aと大規模施設Fでは単純(1門照射、対向2門照射)で約20%(A多、F少)、中間(非対向2門照射、3門照射)、複雑(4門以上の照射、運動照射、原体照射)で、それぞれ約10%(A少、F多)の差が観察された。

4. 人員

Table 9 に、施設規模別の患者数とスタッフ数を示している。1施設当たりの平均年間総患者数(新患+再患)は269人であった。JASTRO認定医数は426人であった。常勤の治療担当医総数は1,003人、非常勤の治療担当医総数は450人で

Table 4-1 Annual number of new cancer patients by patient load and category of radiation oncology facilities

施設規模 (施設数)	施設組織区分						Total(712)	(%)	施設平均 新患者数
	U(112)	G(29)	N(71)	P(215)	O(181)	H(104)			
A(211)	458	156	1,631	4,277	4,058	1,801	12,381	7.9	59.0
B(225)	2,021	136	4,162	11,602	9,437	4,627	31,985	20.5	142.8
C(114)	2,853	1,526	2,023	8,776	7,369	5,378	27,925	17.9	245.0
D(64)	6,582	1,067	1,083	5,400	4,919	3,000	22,051	14.1	344.5
E(32)	8,508	0	0	1,825	1,756	2,105	14,194	9.1	430.1
F(66)	25,460	13,400	640	2,036	2,506	3,740	47,782	30.6	735.1
Total(712)	45,882	16,285	9,539	33,916	30,045	20,651	156,318		
(%)	29.4	10.4	6.1	21.7	19.2	13.2		100	
施設平均新患者数	409.7	561.6	134.4	158.5	166.0	200.5			220.2

2005年放射線治療実施施設数を735施設と推測した場合の推定新患者数：約16万2,000人

Table 4-2 Annual number of total cancer patients (new+repeat) by patient load and category of radiation oncology facilities^{*1}

施設規模 ^{*2} (施設数)	施設組織区分(施設数)						Total(712)	(%)	施設平均 新患者数
	U(112)	G(29)	N(71)	P(215)	O(181)	H(104)			
A(211)	516	178	1,994	5,039	5,015	2,067	14,809	7.7	70.5
B(225)	2,417	136	4,996	13,629	11,685	5,684	38,547	20.2	172.1
C(114)	3,568	2,068	2,657	10,966	9,206	6,435	34,900	18.3	306.1
D(64)	8,383	1,356	1,262	7,273	5,989	3,744	28,007	14.7	437.6
E(32)	10,132	0	0	2,200	2,395	2,802	17,529	9.2	531.2
F(66)	29,562	16,693	768	2,717	3,020	4,621	57,381	30.0	882.8
Total(712)	54,578	20,431	11,677	41,824	37,310	25,353	191,173		
(%)	28.5	10.7	6.1	21.9	19.5	13.3		100	
施設平均新患者数	487.3	704.5	164.5	195.4	206.1	246.1			269.3

2005年放射線治療実施施設数を735施設と推測した場合の推定新患者数：約19万8,000人

*1 実患者数=新患者数+再患者数。実患者数未入力の施設は、新患者数×1.2で補正(未入力施設：37施設)

*2 施設規模は新患者数を100人単位で区切った分類を使用

あった。放射線治療専任業務時間を換算した実質的なマンパワーである合計(常勤+非常勤)治療担当医FTEは774人であった。合計治療担当技師数は1,635人、看護師・看護助手・事務員総数は907人であった。常勤医学物理士は117人(+非常勤30人)、常勤放射線治療品質管理士は257人(+非常勤13人)であった。放射線治療担当医1FTE当たりの患者数は、247(190,971/774)人であった¹⁰⁾(詳細分析は第2報参照)。

5. 特殊治療

Table 10に、一般的外部照射以外の特殊治療を列記している。腔内照射は3,246例(2003年⁷⁾ 3,448例)が181施設にて行われていた。組織内照射(前立腺ヨード治療を含む)は2,773例(2003年928例)が79施設にて行われ、前立腺ヨード治療は1,765例(2003年40例)が39施設にて行われていた。全身照射は1,738例(2003年1,646例)が191施設にて、術中照

射は387例(2003年549例)が66施設にて、定位(脳)照射は11,122例(2003年12,610例)が197施設にて、定位(体幹部)照射は1,658例(2003年838例)が92施設にて、IMRTは755例(2003年370例)が33施設にて、温熱併用照射は581例(2003年587例)が36施設にて、⁹⁰Sr翼状片治療は184例(2003年226例)が5施設にて行われていた。それぞれ施行施設の全国での割合は25%、11%、5.5%、27%、9%、28%、13%、4.6%、5%、0.7%であった。施設規模にみると、F:500人以上の施設に多いが、全身照射、術中照射、定位照射、IMRT、温熱併用照射は、少数例が小規模施設でも施行されていた。

6. 原発巣別および脳、骨転移患者数

Table 11に、原発巣別新患者数を示している。多い部位としては、肺癌、気管・縦隔腫瘍30,040例(19.4%)、乳癌30,261例(19.6%)、泌尿器系腫瘍18,560例(12%)、頭頸部腫

Table 5-1 Numbers of radiation oncology facilities by region and annual new cancer patients

地域(都道府県数)	解析施設数	新患者数	全新患者数比(%)	施設平均新患者数
北海道(1)	31	8,909	5.7	287.4
東北(6)	60	11,440	7.3	190.7
関東(8)	191	52,146	33.4	273.0
信越・北陸(5)	52	9,580	6.1	184.2
東海(4)	88	16,631	10.6	189.0
近畿(6)	115	25,060	16.0	217.9
中国(5)	54	10,232	6.5	189.5
四国(4)	31	4,905	3.1	158.2
九州・沖縄(8)	90	17,415	11.1	193.5
全国(47)	712	156,318	100	219.5

2005年放射線治療実施施設数を735施設と推測した場合の推定新患者数：約16万2,000人

Table 5-2 Numbers of radiation oncology facilities by region and annual total cancer patients (new+repeat)

地域(都道府県数)	解析施設数	実患者数	全実患者数比(%)	施設平均実患者数
北海道(1)	31	11,852	6.2	382.3
東北(6)	60	13,393	7.0	223.2
関東(8)	191	63,189	33.1	330.8
信越・北陸(5)	52	11,728	6.1	225.5
東海(4)	88	21,841	11.4	248.2
近畿(6)	115	30,213	15.8	262.7
中国(5)	54	12,523	6.6	231.9
四国(4)	31	5,671	3.0	182.9
九州・沖縄(8)	90	20,763	10.9	230.7
全国(47)	712	191,173	100	268.5

2005年放射線治療実施施設数を735施設と推測した場合の推定実患者数：約19万8,000人

Table 6 Number of equipments and their function by annual patient load of radiation oncology facilities

治療機器と機能	A(211)	B(225)	C(114)	D(64)	E(32)	F(66)	Total(712)
Linac	187	214	109	76	53	126	765
with dual energy function	91	133	84	60	38	92	498
with 3DCRT function (MLC width=<1.0cm)	74	122	69	59	38	100	462
with IMRT function	17	29	22	17	25	60	170
Annual No. patients/Linac	72.3	169.3	289.9	338.6	330.7	435.3	234.6
Particle	1	1	0	1	0	4	7
Betatron	0	0	0	0	0	0	0
Tomotherapy	1	0	0	0	0	0	1
Microtron	4	1	5	2	0	12	24
Telecobalt (actual use)	12(2)	5(2)	5(1)	4(1)	1(0)	7(5)	34(11)
Gamma Knife	6	12	9	7	2	12	48
Other accelerator	1	1	1	1	1	7	12
Other external irradiation device	1	0	1	1	0	3	6
Co-60 RALS (actual use)	10(7)	13(10)	21(19)	19(18)	3(3)	8(7)	74(64)
Ir-192 RALS (actual use)	2(2)	12(11)	22(22)	18(17)	22(21)	47(46)	123(119)
Cs-137 RALS (actual use)	0(0)	0(0)	2(2)	0(0)	0(0)	0(0)	2(2)

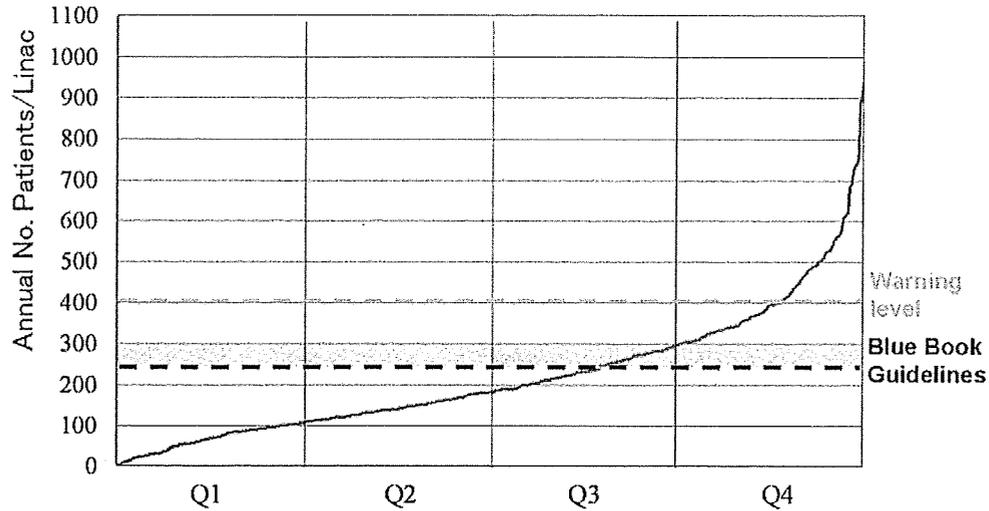


Fig. 1 Distribution of annual patient load/external treatment equipment in radiation oncology facility. Horizontal axis represents facilities arranged in order of increasing value of annual number of patients/treated equipment within facilities.

Q1: 0-25%, Q2: 26-50%, Q3: 51-75%, Q4: 76-100%.

Table 7 Number of treatment planning equipment and accessories by annual patient load of radiation oncology facilities

治療周辺機器	A (211)	B (225)	C (114)	D (64)	E (32)	F (66)	Total (712)
X-ray simulator	135	158	79	49	26	55	502
CT-simulator	81	120	72	43	27	64	407
RTP computer (2 or more)	195 (14)	236 (25)	140 (23)	97 (22)	69 (19)	203 (43)	940 (146)
X-ray CT (2 or more)	330 (103)	469 (173)	291 (99)	192 (56)	121 (31)	279 (60)	1,682 (522)
for RT only	41	89	90	40	26	65	351
MRI (2 or more)	240 (40)	316 (95)	187 (69)	127 (53)	79 (28)	163 (53)	1,112 (338)
for RT only	1	4	1	1	3	2	12
Computer use for RT recording	167	200	107	61	30	61	626
Water phantom (2 or more)	146 (8)	201 (23)	112 (15)	70 (13)	37 (7)	83 (17)	649 (83)
Film densitometer (2 or more)	70 (2)	103 (4)	67 (4)	45 (3)	23 (1)	67 (10)	375 (24)
Dosemeter (3 or more)	446 (64)	498 (72)	295 (54)	191 (32)	131 (18)	326 (49)	1,887 (289)

Table 8 Number of treatment planning by its complexity and annual patient load by radiation oncology facilities (n=495^{*1})

	放射線治療管理料数 (放射線治療管理料総数に対する割合)						Total (495)
	A (141)	B (156)	C (78)	D (45)	E (26)	F (50)	
単純 (1 門照射, 対向 2 門照射)	6,203 (66.5%)	14,205 (63.5%)	11,780 (55.1%)	7,781 (43.7%)	6,893 (56.1%)	18,536 (46.8%)	65,398 (53.3%)
中間 (非対向 2 門照射, 3 門照射)	1,760 (18.9%)	4,585 (20.5%)	5,279 (24.7%)	5,875 (33.0%)	2,610 (21.2%)	11,986 (30.2%)	32,095 (26.1%)
複雑 (4 門以上の照射, 運動照射, 原体照射)	1,359 (14.6%)	3,587 (16.0%)	4,325 (20.2%)	4,155 (23.3%)	2,781 (22.6%)	9,110 (23.0%)	25,317 (20.6%)
合計	9,322	22,377	21,384	17,811	12,284	39,632	122,810

*1 治療計画請求数が未記入であった施設：217施設

Table 9 Numbers of personnel and annual cancer patients by patient load of radiation oncology facilities

施設の構造とスタッフ数	A (211)	B (225)	C (114)	D (64)	E (32)	F (66)	Total (712)
施設規模年間新患者数	≤99	100-199	200-299	300-399	400-499	500≤	
施設数/全施設数(%)	29.6	31.6	16.0	9.0	4.5	9.3	100
年間新患者総数	12,381	31,985	27,925	22,051	14,194	47,782	156,318
1施設当たり平均年間新患者数	58.7	142.2	245.0	344.5	443.6	724.0	219.5
年間実患者総数	14,809	38,547	34,900	28,007	17,529	57,381	191,173
1施設当たり平均年間総患者数	70.2	171.3	306.1	437.6	547.8	869.4	268.5
施設総病床数	74,113	104,738	63,509	40,579	25,281	52,292	360,512
放射線科病棟保有施設数(%)	42 (19.9)	69 (30.7)	60 (52.6)	38 (59.4)	24 (75.0)	54 (81.8)	287 (40.3)
放射線科病床数	168.5	340.5	464.6	437	247	872.7	2,530.3
放射線科病床/施設病床数(%)	0.2%	0.3%	0.7%	1.1%	1.0%	1.7%	0.7%
1施設当たり放射線科病床数	0.8	1.5	4.1	6.8	7.7	13.2	3.6
放射線科病床保有施設当たり病床数	4.0	4.9	7.7	11.5	10.3	16.2	8.8
日医放専門医修練認定機関数(%)	35 (16.6)	98 (43.6)	70 (61.4)	45 (70.3)	28 (87.5)	61 (92.4)	337 (47.3)
日医放専門医修練協力機関数(%)	49 (23.2)	59 (26.2)	19 (16.7)	6 (9.4)	3 (9.4)	1 (1.5)	137 (19.2)
日医放会員数(常勤)	131	200	134	109	105	286	965
日医放専門医数(常勤)	111	176	121	91	79	206	784
JASTRO会員数(常勤)	70	129	104	104	89	276	772
JASTRO認定医数(常勤)	24	59	65	63	49	166	426
1施設当たりJASTRO会員数	0.3	0.6	0.9	1.6	2.8	4.2	1.1
常勤治療医勤務施設数(%)	110 (52.1)	157 (69.8)	91 (79.8)	59 (92.2)	31 (96.9)	64 (97.0)	512 (71.9)
常勤治療担当医総数	153	206	136	111	108	289	1,003
1施設当たり常勤治療担当医数	0.7	0.9	1.2	1.7	3.4	4.4	1.4
常勤治療担当医FTE ^{*1}	49.81	97.85	95.80	89.10	80.30	247.10	659.96
1施設当たり常勤治療担当医FTE ^{*1}	0.23	0.43	0.84	1.40	2.50	3.70	0.90
非常勤治療担当医総数	146	169	65	19	11	40	450
1施設当たり非常勤治療担当医数	0.7	0.8	0.6	0.3	0.3	0.6	0.6
非常勤治療担当医FTE ^{*1}	30.62	46.26	13.72	4.70	2.70	16.50	114.50
1施設当たり非常勤治療担当医FTE ^{*1}	0.15	0.21	0.12	0.07	0.08	0.25	0.16
合計(常勤+非常勤)治療担当医FTE ^{*1}	80.43	144.11	109.52	93.80	83.00	263.60	774.46
1施設当たり合計治療担当医FTE ^{*1}	0.38	0.64	0.96	1.47	2.59	3.99	1.09
常勤診断担当医総数	236.8	389.9	319.4	337	284	644	2,211.1
非常勤診断担当医総数	194.2	238.8	115.9	141	43	111	843.9
専任治療担当技師数	144.8	211.4	152.9	124.5	92.5	335.6	1,061.7
兼任治療担当技師数	160.7	171.6	93	69	24	54.5	572.8
合計治療担当技師数	305.5	383	245.9	193.5	116.5	390.1	1,634.5
1施設当たり合計治療担当技師数	1.5	1.7	2.1	3.0	3.5	5.9	2.3
看護婦・看護助手・事務員総数	135.1	225.3	164.8	110.45	70.3	201	907
常勤医学物理士数+(非常勤数)	15+(5)	17+(2)	15+(3)	8+(8)	14+(0)	48+(12.1)	117+(30.1)
常勤放射線治療品質管理士+(非常勤数)	21.3+(3)	62.5+(1)	41+(1)	30+(7)	22+(1)	80+(0)	256.8+(13)
常勤線量測定士数+(非常勤数)	12+(1)	16+(0)	7+(0.2)	8+(1)	3+(0)	30+(0)	76+(2.2)
常勤工作担当者数+(非常勤数)	16+(1)	28+(0)	10+(0.1)	6+(0)	5+(1)	34+(1)	99+(3.1)

2005年放射線治療実施施設数を735施設と推測した場合の推定新患者数：約16万2,000人

2005年放射線治療実施施設数を735施設と推測した場合の推定実患者数：約19万8,000人

*1 FTE (full time equivalent) : 週40時間放射線治療専任業務に換算し直した実質的マンパワー

Table 10 Special radiation therapy other than external irradiation

施設規模と特殊照射	2005年						Total (712)	2003年 Total (726)
	A (211)	B (225)	C (114)	D (64)	E (32)	F (66)		
腔内照射								
20例以上施行した施設数	0	2	6	9	7	44	65	68
1~19例施行した施設数	5	18	36	27	16	14	116	127
未施行施設数	206	205	72	28	9	11	531	531
治療例数	15	166	520	574	371	1,600	3,246	3,448
組織内照射								
10例以上施行した施設数	0	0	1	4	7	24	36	26
1~9例施行した施設数	1	7	10	5	5	15	43	43
未施行施設数	210	218	103	55	20	27	633	657
治療例数	3	46	95	274	434	1,921	2,773	928
前立腺ヨード治療								
10例以上施行した施設数	0	2	2	2	4	23	24	2
1~9例施行した施設数	0	1	2	1	0	2	15	0
未施行施設数	211	222	110	61	28	41	673	724
治療例数	0	34	43	118	221	1,349	1,765	40
全身照射								
10例以上施行した施設数	5	3	9	9	11	28	65	62
1~9例施行した施設数	9	22	31	21	16	27	126	115
未施行施設数	197	200	74	34	5	11	521	549
治療例数	116	149	244	232	312	685	1,738	1,646
術中照射								
10例以上施行した施設数	0	0	0	0	2	7	9	15
1~9例施行した施設数	7	9	13	9	4	15	57	71
未施行施設数	204	216	101	55	26	44	646	640
治療例数	17	20	33	37	32	248	387	549
定位(脳)照射								
20例以上施行した施設数	4	14	16	13	9	26	82	82
1~19例施行した施設数	11	29	21	22	10	22	115	104
未施行施設数	196	182	77	29	13	18	515	540
治療例数	317	2,069	1,734	2,532	1,044	3,426	11,122	12,610
定位(体幹部)照射								
20例以上施行した施設数	2	1	2	4	7	9	25	7
1~19例施行した施設数	5	11	15	8	7	21	67	63
未施行施設数	204	213	97	52	18	36	620	656
治療例数	211	97	210	262	391	487	1,658	838
IMRT								
20例以上施行した施設数	1	0	1	1	3	7	13	8
1~19例施行した施設数	0	3	3	1	4	9	20	9
未施行施設数	210	222	110	62	25	50	679	709
治療例数	50	26	40	37	205	397	755	370
温熱併用照射								
20例以上施行した施設数	1	0	0	0	2	4	7	8
1~19例施行した施設数	3	8	7	4	0	7	29	41
未施行施設数	207	217	107	60	30	55	676	677
治療例数	44	57	33	29	126	292	581	587
Sr-90翼状片治療								
20例以上施行した施設数	0	0	0	0	0	2	2	2
1~19例施行した施設数	0	1	0	0	1	1	3	4
未施行施設数	211	224	114	64	31	63	707	720
治療例数	0	4	0	0	9	171	184	226

瘍16,373例(10.6%)が挙げられる。このうち肺癌は25,392例(16.4%)、前立腺癌13,218例(8.6%)であった。15歳以下の小児症例は1,047例(0.7%)報告された。

Table 12に、脳および骨転移実患者数と実患者総数に対する割合を示している。脳転移は15,321例(8%)、骨転移は27,476例(14.4%)であった。施設規模でみると、A：99人以下、B：100～199人、C：200～299人で、骨転移の比率が16～20%と、他より高かった。

7. 地域別の放射線治療患者数、施設数、JASTRO認定医数

Table 13に、都道府県別の放射線治療患者数、施設数、JASTRO認定医数を示している¹¹⁾。人口1,000人当たりの放射線治療新患者数は、全国平均で1.2人であった。地域的には、東京都1.7人、北海道1.6人、石川県、鳥取県、広島県1.5人と高く、沖縄県、埼玉県0.8人、茨城県、滋賀県0.9人と低く、地域的な差が観察された。1施設当たりが受け持つ人口規模は、全国平均17万9,000人となっていた。地域的にも埼玉県の35万3,000人、千葉県の28万8,000人から、大分県、香川県、鳥取県の10万1,000人、福井県の10万3,000人、秋田県の10万4,000人までの差が観察された。JASTRO認定医数が0の地域は今回観察されなかったが、1人の地域は鳥取県、佐賀県である。

考 察

Table 14に、過去の7次のJASTRO構造調査データ^{1)~8)}のまとめと、今回の2005年度の第8次調査の結果の比較を示している。前回の2003年度調査^{7), 8)}と比較して、回収率がやや低下した。新患者数や施設平均新患者数は2003年より約8%増加した。この増加率は、がん罹患数とほぼ併行している。大島らによる2005年のがん罹患数は660,578人であり¹²⁾、そこから算出される全がんに対する放射線治療適応率は約25%であった。装備としてlinacは3%増加した。⁶⁰Co装置は11台と大幅に減少し、学会からの勧告もあり、精度の悪い⁶⁰Co装置はlinacに転換されていた。¹⁹²Ir-RALS装置は横ばいであった。常勤放射線治療医数は約9%増加した。FTE換算で774人のマンパワーを有していることが判明した。認定医数は15%増加した。放射線治療担当技師数は5%増加した。CTシミュレータは24%、治療計画コンピュータは7.6%増加した。患者数の増加と常勤放射線治療

Table 11 Annual number of new cancer patients by disease site^{*1}

原発巣	新患者数(%)
脳・脊髄腫瘍	8,599 (5.6)
頭頸部腫瘍(甲状腺腫瘍を含む)	16,373 (10.6)
食道癌	10,213 (6.6)
肺癌, 気管・縦隔腫瘍	30,040 (19.4)
うち肺癌	25,392 (16.4)
乳癌	30,261 (19.6)
肝・胆・膵癌	6,355 (4.1)
胃・小腸・結腸・直腸癌	7,844 (5.1)
婦人科腫瘍	8,669 (5.6)
泌尿器系腫瘍	18,560 (12.0)
うち前立腺癌	13,218 (8.6)
造血器リンパ系腫瘍	8,040 (5.2)
皮膚・骨・軟部腫瘍	5,204 (3.4)
その他(悪性腫瘍)	2,075 (1.3)
良性腫瘍	2,356 (1.5)
15歳以下の小児例(上記と重複)	1,047 (0.7)
合計	154,589 (100)

*1 原発巣別新患者数が未記入の施設があったため、合計がTable 4-1の新患者数の合計と異なっている

医数の増加はほぼ併行していた。厚生労働省班研究では2005年には約17万人の患者が治療を受けると予想していた¹⁰⁾が、今回、それを下回る結果であった。原因としては、23の調査非協力施設に規模の大きい施設が残っていたこと、リストに漏れている施設が若干あるかもしれないこと、昨今の治療現場の治療業務の複雑化、多忙化に伴い、特に大規模施設の患者数増加に頭打ち傾向が予想されることを委員会でも考察した。最後の点は、患者サービスの確保という点で懸念され、人員増を含めて早急な対応が必要と考えた。

各施設の規模は200例未満が60%、300例未満が76%を占めている。依然として、わが国の放射線治療施設は小規模と言える。全体の患者数の規模では500人以上の施設が全国の30.6%、100～199人が20.5%、200～299人が17.9%、300～399人が14.1%の患者数を受け持っており、特に100～400人未満の施設が52.5%の患者を治療して、重要な役割を果たしている。地域別では、ほぼ人口に相応しての年間新

Table 12 Annual number of total cancer patients (new+repeat) treated for any of brain metastasis and bone metastasis by patient load of radiation oncology facilities

転移	実患者数 (放射線治療実患者総数に対する割合)						Total (712)
	A (211)	B (255)	C (114)	D (64)	E (32)	F (66)	
脳転移	1,029 (6.9%)	3,644 (9.5%)	3,257 (9.3%)	2,624 (9.4%)	1,247 (7.1%)	3,520 (6.1%)	15,321 (8.0%)
骨転移	2,972 (20.1%)	6,260 (16.2%)	5,892 (16.9%)	3,611 (12.9%)	2,150 (12.3%)	6,591 (11.5%)	27,476 (14.4%)

Table 13 Number of patients, facilities, and certified personnel according to prefecture

都道府県名	人口 ¹⁾	放射線治療新患者数	治療施設数	JASTRO認定医数
	単位：1,000人	単位：人(人口1,000人当たり新患者数)	(1施設当たり人口：1,000人)	
北海道	5,628	8,909 (1.6)	31 (182)	25
青森県	1,437	1,440 (1.0)	10 (144)	6
岩手県	1,385	1,603 (1.2)	9 (154)	2
宮城県	2,360	3,346 (1.4)	13 (182)	6
秋田県	1,146	1,597 (1.4)	11 (104)	2
山形県	1,216	1,414 (1.2)	8 (152)	2
福島県	2,091	2,040 (1.0)	9 (232)	2
茨城県	2,975	2,672 (0.9)	16 (186)	6
栃木県	2,017	2,723 (1.4)	10 (202)	5
群馬県	2,024	2,917 (1.4)	13 (156)	17
埼玉県	7,054	5,318 (0.8)	20 (353)	15
千葉県	6,056	6,516 (1.1)	21 (288)	24
東京都	12,577	20,970 (1.7)	70 (180)	62
神奈川県	8,792	10,007 (1.1)	37 (238)	32
新潟県	2,431	3,030 (1.2)	14 (174)	6
富山県	1,112	1,429 (1.3)	8 (139)	4
石川県	1,174	1,722 (1.5)	8 (147)	3
福井県	822	923 (1.1)	8 (103)	4
山梨県	885	1,023 (1.2)	4 (221)	3
長野県	2,196	2,476 (1.1)	14 (157)	5
岐阜県	2,107	2,197 (1.0)	11 (192)	3
静岡県	3,792	5,242 (1.4)	27 (140)	10
愛知県	7,255	7,376 (1.0)	37 (196)	15
三重県	1,867	1,816 (1.0)	13 (144)	5
滋賀県	1,380	1,211 (0.9)	9 (153)	3
京都府	2,648	2,884 (1.1)	13 (204)	11
大阪府	8,817	10,531 (1.2)	44 (200)	29
兵庫県	5,591	7,235 (1.3)	32 (175)	22
奈良県	1,421	1,849 (1.3)	8 (178)	8
和歌山県	1,036	1,350 (1.3)	9 (115)	4
鳥取県	607	910 (1.5)	6 (101)	1
島根県	742	963 (1.3)	6 (124)	2
岡山県	1,957	2,313 (1.2)	11 (178)	8
広島県	2,877	4,239 (1.5)	19 (151)	18
山口県	1,493	1,807 (1.2)	12 (124)	4
徳島県	810	1,033 (1.3)	5 (162)	2
香川県	1,012	1,101 (1.1)	10 (101)	7
愛媛県	1,468	1,783 (1.2)	10 (147)	5
高知県	796	988 (1.2)	6 (133)	3
福岡県	5,050	6,495 (1.3)	27 (187)	17
佐賀県	866	887 (1.0)	4 (217)	1
長崎県	1,479	1,729 (1.2)	7 (211)	4
熊本県	1,842	2,253 (1.2)	13 (142)	4
大分県	1,210	1,539 (1.3)	12 (101)	2
宮崎県	1,153	1,493 (1.3)	9 (128)	2
鹿児島県	1,753	1,895 (1.1)	12 (146)	3
沖縄県	1,362	1,124 (0.8)	6 (227)	2
合計	127,768	156,318 (1.2)	712 (179)	426

2005年放射線治療実施施設数を735施設と推測した場合の推定新患者数：約16万2,000人

Table 14 Number of radiation oncology facilities, treatment devices, patient load and personnel: trend 1990—2005

	1990 ¹⁾	1993 ²⁾	1995 ³⁾	1997 ⁴⁾	1999 ⁵⁾	2001 ⁶⁾	2003 ⁷⁾	2005
施設数	378	629	504	568	636	603	726	712
(回収率)	(48.5%)	(88.3%)	(73.9%)	(78.6%)	(86.3%)	(85.3%)	(100%)	(96.9%)
新患者数	62,829	—	71,696	84,379	107,150	118,016	149,793	156,318
実患者数	—	—	—	—	—	—	—	191,173
施設平均新患者数	166	—	142	149	168	196	206	220
治療装置台数(稼働中)								
リニアック	311	508	407	475	626	626	744	765
テレコバルト	170	213	127	98	83	45	42	11
Ir-192 RALS	—	—	29	50	73	93	117	119
常勤放射線治療医数	547	748	821	889	925	878	921	1,003
FTE放射線治療医数	—	—	—	—	—	—	—	774
常勤JASTRO認定医数	—	—	—	—	—	308	369	426
放射線治療担当技師数	592	877	665	733	771	918	1,555	1,635
周辺装置台数								
X線シミュレータ	295	430	394	452	512	464	532	502
CTシミュレータ	30	75	55	96	96	247	329	407
治療計画コンピュータ	238	468	374	453	682	680	874	940

2005年放射線治療実施施設数を735施設と推測した場合の推定新患者数:約16万2,000人

2005年放射線治療実施施設数を735施設と推測した場合の推定実患者数:約19万8,000人

患者数, 実患者数を示している。施設当たりでは、北海道、関東で、より多くの患者を治療し、四国では最も少なくなっていた。施設数が前者で少なく、後者で多いという見方ができるかもしれない。地域的に施設数分布に多少の違いはあるが、放射線治療施設としては全国の各地域をほぼ網羅できていると言える。

装備は施設規模に差はあるが、急速に優れた機能を備えたものに置換されている。至適エネルギーの選択可能性、3DCRT以上の治療のための機能は6割以上に確保されていた。体幹部定位照射、IMRTは2003年^{7), 8)}の約2倍の症例が治療されており、急速に適用が拡大していた。それぞれの施行施設は2003年に比較して22施設、16施設増えていた。組織内照射、特に前立腺ヨード治療は顕著で1,725例増加しており、施行施設も37施設増加している。周辺機器としてCT simulatorはすでに57%の施設に普及していた。しかし、施設規模で39~97%のバリエーションがあった。治療計画の難易度は小規模施設程、単純が多く、規模が大きくなるにつれて、中間、複雑が多くなっていた。規模ではB:100~199人とC:200~299人で差(単純の10%減少, 中間, 複雑, それぞれ5%増加)が見られた。さらに、C:200~299人とD:300~399人に差(単純の10%減少, 中間の10%増加)が、さらに、E:400~499人とF:500人以上に差(同様に単純の10%減少, 中間の10%増加)が見られた。DとEには後退した差(単純の10%増加, 中間の10%減少)が観察された。これらの差が連続的でなく、段階的で、後退する現象も観察されるのは、人員配置や装置の追加が段階的に行われているため、患者数に対するスタッフ数や装置数の制

約で、相対的に負荷が大きい状況が波動的に発生するためかもしれない。

スタッフ数は患者数増加に相応して増えてきている。総患者数負荷を1FTE放射線腫瘍医当たりで換算すると247人となり、米国⁹⁾やわが国の基準¹⁰⁾である200人を凌駕していた。さらに、昨今の治療技術の複雑化を考慮すると、現場での負荷の増加が、当初予想した患者数増加にブレーキをかけていないか、詳細な分析が必要である。医療スタッフのQOL低下も懸念され、詳細は第2報で報告する。診療放射線技師は2003年度^{7), 8)}に比較して80人増加、常勤医学物理士は47人増加していた。放射線治療品質管理士は257名が登録された。残念ながら、今回は診療放射線技師業務との重複はカウントされていない。

原発巣別割合は肺・気管支が1%以上低下し、乳癌が2%以上、泌尿器系が2%増加した。欧米化の傾向が放射線治療症例の分布にも明らかに反映されていた。骨転移、脳転移の症例は実患者数全体の2割に見られ、放射線治療は緩和医療に重要な役割を果たしていることが数値データとしても示された。施設規模でみると、C:200~299人以下の中小規模で、骨転移症例が全体の16%を超えていた。特にA:99人以下では20%を占めており、緩和治療と根治治療の棲み分けが施設規模ですでに進んでいるのかもしれない。

地域別には人口1,000人当たりの放射線治療新患者数は1.7~0.8人の2倍以上の差が観察された。全国平均で1.2人であり、この値は2003年度^{7), 8)}とほぼ同様であった。1施設当たりが受け持つ人口規模は全国平均17万9,000人となっていた。地域的には埼玉県の35万3,000人から、鳥取県、香

川県, 大分県の10万1,000人までの顕著な差が観察された。米国の基準¹²⁾では20万人に1台であり, 平均的にはほぼ近い値を示している。わが国は地域のバリエーションはあるものの, 全国に均一に分布させていることが分かる。1装置当たりの患者数は235名であり, 今後, 適応率そのものの増加による真の増加患者数を治療するのに人員を確実に補充すれば, 数の上での装置配備は十分あると言える。しかし, 同時に過重な負荷がかかっている大規模施設も10%にみられるので, 医療機関連携など, 具体的で現実的な役割分担が必要であろう。また, 装備のスペックにも配慮が必要である。3次元以上, dual energy以上は今や標準装備となりつつある。JASTRO認定医数はすべての都道府県で最低1名以上確保されているが, 患者数/FTE放射線腫瘍医の値からは, さらに大幅な増員が必要であろう。特に患者数増加が, ほぼがん罹患数に併行しており, 本来あるべき従来以上の放射線治療の適用拡大は全国的にはまだ数値データとして目に見える形では現れていない。これは既述のように, 治療技術の高度化にともなう負荷の増加と相対的人員不足による患者サービスの低下が起りかけているために, 患者数の伸びに間接的にブレーキがかかりつつあるのではないかと強く懸念される。現在, 非常勤施設の放射線腫瘍医で支援されている施設に常勤を配置することにより, 今後, 大幅な患者数増加を見込める可能性がある。この状況は米国の約40年前の状況と酷似しているといわれている。

最後に, この定期構造調査はアンケートではなく, 認定制度とも連携した学会事業である。各分野に有効活用され, JASTRO会員や患者の利益とともにJASTROの発展に大きく寄与している。今回協力できなかった施設には, この調査の趣旨を理解のうえ, 次回は是非協力願いたい。

謝辞: 本調査に協力いただいた全国の放射線治療施設の放射線科長, 技師長, 担当医, 担当技師各位ならびに調査協力の督促に協力いただいた各地域のリーダーの先生各位ならびにIAEA(DIRAC)へのデータ提出に際して便宜を図っていただいた放射線医学総合研究所, 立崎英夫先生に厚く御

礼申し上げる。また回収データのクリーニング, 入力, 解析, 事務作業に従事した大阪大学大学院医学系研究科医用物理工学講座, 大学院生各位, 秘書の本木愛津美, 七河由美両氏に感謝する。

文 献

- 1) 佐藤眞一郎, 中村 譲, 川島勝弘, 他: 日本の放射線治療の現状—1990年における実態調査の概要—放射線治療体制に関する検討. 日放腫会誌 6: 83-89, 1994.
- 2) 森田皓三, 内山幸男: 第2回放射線治療施設の構造調査結果. 日放腫会誌 7: 251-261, 1995.
- 3) 日本放射線腫瘍学・データベース委員会: 全国放射線治療施設の1995年定期構造調査結果. 日放腫会誌 9: 231-253, 1997.
- 4) 日本放射線腫瘍学・データベース委員会: 全国放射線治療施設の1997年定期構造調査結果. 日放腫会誌 13: 175-182, 2001.
- 5) 日本放射線腫瘍学・データベース委員会: 全国放射線治療施設の1999年定期構造調査結果. 日放腫会誌 13: 227-235, 2001.
- 6) 日本放射線腫瘍学・データベース委員会: 全国放射線治療施設の2001年定期構造調査結果. 日放腫会誌 15: 51-59, 2003.
- 7) 日本放射線腫瘍学・データベース委員会: 全国放射線治療施設の2003年定期構造調査報告. 日放腫会誌 17: 115-121, 2005.
- 8) Shibuya H, Tsujii H: The structural characteristics of radiation oncology in Japan in 2003. Int J Radiat Oncol Biol Phys 62 (5): 1472-1476, 2005.
- 9) <http://www.jastro.jp/> (4/23/2007)
- 10) 日本PCS作業部会(厚生労働省がん研究助成金計画研究班14-6): がんの集学治療における放射線腫瘍学—医療実態調査研究に基づく放射線治療の品質確保に必要なとされる基準構造—2005.
- 11) 総務省統計局: 平成17年国勢調査 第1次基本集計結果(全国結果)統計表. 平成18年10月31日公表. (<http://www.stat.go.jp/data/kokusei/2005/kihon1/index.htm>)
- 12) 大島 明, 黒石哲生, 田島和雄: がん・統計白書—罹患/死亡/予後 2004. 篠原出版新社, 2004, p207.
- 13) Inter-Society Council for Radiation Oncology: Radiation oncology in integrated cancer management. 1991(日本語訳, 廣川 裕, 井上俊彦, 池田 仮(訳)「統合的癌治療における放射線腫瘍学」(略称)「ブルーブック」), 放射線科専門医会, 1993.

要旨: JASTROの2005年全国放射線治療施設構造調査を2006年3月から2007年2月までに調査票を送付して行った。回答率は96.9% (712/735)であった。全国の放射線治療を施行した年間新患者数および総患者数(新患+再患)はそれぞれ約16万2,000人, 19万8,000人と推定された。装備はlinac, telecobalt, Gamma Knife, ⁶⁰Co RALS, ¹⁹²Ir RALS(実稼動中のもの)は765台, 11台, 48台, 64台, 119台であった。linacにはdual energy機能が498台(65%), 3DCRT機能が462台(60%), IMRT機能が170台(22%)に装備されていた。JASTRO認定医数, FTE放射線腫瘍医数, 医学物理士数, 放射線治療品質管理士数, 放射線治療担当技師数, 放射線治療部門看護師・看護助手・事務員数は, それぞれ426人, 774人, 117人, 257人, 1,635人, 907人であった。地域的に放射線治療適用率は人口1,000人に対して1.7から0.8までのバリエーションが観察された。

Molecular Features of Hormone-Refractory Prostate Cancer Cells by Genome-Wide Gene Expression Profiles

Kenji Tamura,^{1,2} Mutsuo Furihata,³ Tatsuhiko Tsunoda,⁴ Shingo Ashida,² Ryo Takata,⁵ Wataru Obara,⁵ Hiroki Yoshioka,¹ Yataro Daigo,¹ Yasutomu Nasu,⁶ Hiromi Kumon,⁶ Hiroyuki Konaka,⁷ Mikio Namiki,⁷ Keiichi Tozawa,⁸ Kenjiro Kohri,⁸ Nozomu Tanji,⁹ Masayoshi Yokoyama,⁹ Toru Shimazui,¹⁰ Hideyuki Akaza,¹⁰ Yoichi Mizutani,¹¹ Tsuneharu Miki,¹¹ Tomoaki Fujioka,⁵ Taro Shuin,² Yusuke Nakamura,¹ and Hidewaki Nakagawa¹

¹Laboratory of Molecular Medicine, Human Genome Center, Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Tokyo, Japan; Departments of ²Urology and ³Pathology, Kochi University, Kochi Medical School, Nankoku, Japan; ⁴Laboratory for Medical Informatics, SNP Research Center, RIKEN (Institute of Physical and Chemical Research), Yokohama, Japan; ⁵Department of Urology, Iwate Medical University, Morioka, Japan; ⁶Department of Urology, Okayama University, Okayama, Japan; ⁷Department of Urology, Kanazawa University, Kanazawa, Japan; ⁸Department of Urology, Nagoya City University, Nagoya, Japan; ⁹Department of Urology, Ehime University, Shitsukawa, Japan; ¹⁰Department of Urology, Tsukuba University, Tsukuba, Japan; and ¹¹Department of Urology, Kyoto Prefectural Medical School, Kyoto, Japan

Abstract

One of the most critical issues in prostate cancer clinic is emerging hormone-refractory prostate cancers (HRPCs) and their management. Prostate cancer is usually androgen dependent and responds well to androgen ablation therapy. However, at a certain stage, they eventually acquire androgen-independent and more aggressive phenotype and show poor response to any anticancer therapies. To characterize the molecular features of clinical HRPCs, we analyzed gene expression profiles of 25 clinical HRPCs and 10 hormone-sensitive prostate cancers (HSPCs) by genome-wide cDNA microarrays combining with laser microbeam microdissection. An unsupervised hierarchical clustering analysis clearly distinguished expression patterns of HRPC cells from those of HSPC cells. In addition, primary and metastatic HRPCs from three patients were closely clustered regardless of metastatic organs. A supervised analysis and permutation test identified 36 up-regulated genes and 70 down-regulated genes in HRPCs compared with HSPCs (average fold difference > 1.5; $P < 0.0001$). We observed overexpression of *AR*, *ANLN*, and *SNRPE* and down-regulation of *NR4A1*, *CYP27A1*, and *HLA-A* antigen in HRPC progression. *AR* overexpression is likely to play a central role of hormone-refractory phenotype, and other genes we identified were considered to be related to more aggressive phenotype of clinical HRPCs, and in fact, knockdown of these overexpressing genes by small interfering RNA resulted in drastic attenuation of prostate cancer cell viability. Our microarray analysis of HRPC cells should provide useful information to understand the molecular mechanism of HRPC progression and to identify molecular targets for development of HRPC treatment. [Cancer Res 2007;67(11):5117–25]

Introduction

Prostate cancer is the most common malignancy in males and the second leading cause of cancer-related death in the United States and Europe (1). The incidence of prostate cancer has been increasing significantly in most of developed countries due to prevalence of Western-style diet and explosion of the aging population (1, 2). The screening using serum prostate-specific antigen (PSA) lead to dramatic improvement of early detection of prostate cancer and resulted in an increase of the proportion of patients with a localized disease that could be curable by surgical and radiation therapies (1, 2). However, 20% to 30% of these prostate cancer patients still suffer from the relapse of the disease (3–5).

Androgen/androgen receptor (AR) signaling pathway plays a central role in prostate cancer development, and the prostate cancer growth is usually androgen-dependent at a relatively early stage (3–5). Hence, most of the patients with relapsed or advanced disease respond well to androgen ablation therapy, which suppresses testicular androgen production by surgical castration or by administration of an agonist(s) to luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) and antiandrogen drugs. Nonetheless, they eventually acquire androgen-independent and more aggressive phenotype that has been termed hormone-refractory prostate cancers (HRPCs). Recently, the combination of docetaxel and prednisone was established as the new standard of care for HRPC patients (6, 7), but they are not curable and their survival benefit on HRPC patients is very limited. Hence, many groups are now attempting various approaches to identify novel molecule targets or signaling pathways that contribute to growth of HRPC (8).

Several studies using *in vitro* prostate cancer cell lines and mouse models have shown that the progression to HRPC could be associated with increased levels of *AR* expression, implicating that *AR* down-regulation by means of small interfering RNA (siRNA) or other methods should suppress tumor growth even in HRPCs (8–11). The *AR* gene was overexpressed in most of HRPCs, in 10% to 20% of which amplification of the *AR* gene was observed (12). In addition, a subset (<10%) of HRPCs was found to have somatic mutations in the *AR* gene, which could enhance ligand response (13). As consequence, expressions of several AR-regulated genes were reactivated even under androgen depletion (3, 14–16). Furthermore, the AR pathway in HRPCs was consider to rely on alterations in growth factors, such as insulin-like growth factor

Note: Supplementary data for this article are available at Cancer Research Online (<http://cancerres.aacrjournals.org/>).

Accession codes: The complete microarray data set is available from the Gene Expression Omnibus (GSE6811).

Requests for reprints: Hidewaki Nakagawa, Laboratory of Molecular Medicine, Human Genome Center, Institute of Medical Science, The University of Tokyo, 4-6-1 Shirokanedai, Minato-ku, Tokyo 108-8639, Japan. Phone: 81-3-5449-5375; Fax: 81-3-5449-5124; E-mail: hidewaki@ims.u-tokyo.ac.jp.

©2007 American Association for Cancer Research.
doi:10.1158/0008-5472.CAN-06-4040

(17), HER-2 (18), and cytokines, such as interleukin-6 (19), which could modify the AR activity. Overexpression of these growth factors or coactivators in HRPCs might change cancer cells to be independent of the AR signaling (8, 14, 20). Despite these latest advances in molecular analysis of AR pathways, the mechanisms by which prostate cancer cells survive and acquire their more aggressive phenotype after androgen ablation therapy are still not well understood.

In this report, to characterize the molecular feature of clinical HRPCs, we did genome-wide cDNA microarray analysis of cancer cells purified from HRPC tissues by means of laser microbeam microdissection (LMM) and identified several deregulated genes in

HRPCs, some of which might be involved in their androgen-independence and aggressive phenotype. These data should shed light on a better understanding of the molecular mechanisms underlying clinical HRPCs and could suggest candidate genes whose products could serve as molecular targets for development of novel treatment for HRPC.

Materials and Methods

Patients and tissue samples. Tissue samples were obtained with informed consent from 43 HRPC patients undergoing prostatic needle biopsy, bone biopsy, transurethral resection of the prostate (TUR-P), and "warm" autopsy. Clinical HRPC was defined by elevation of serum PSA

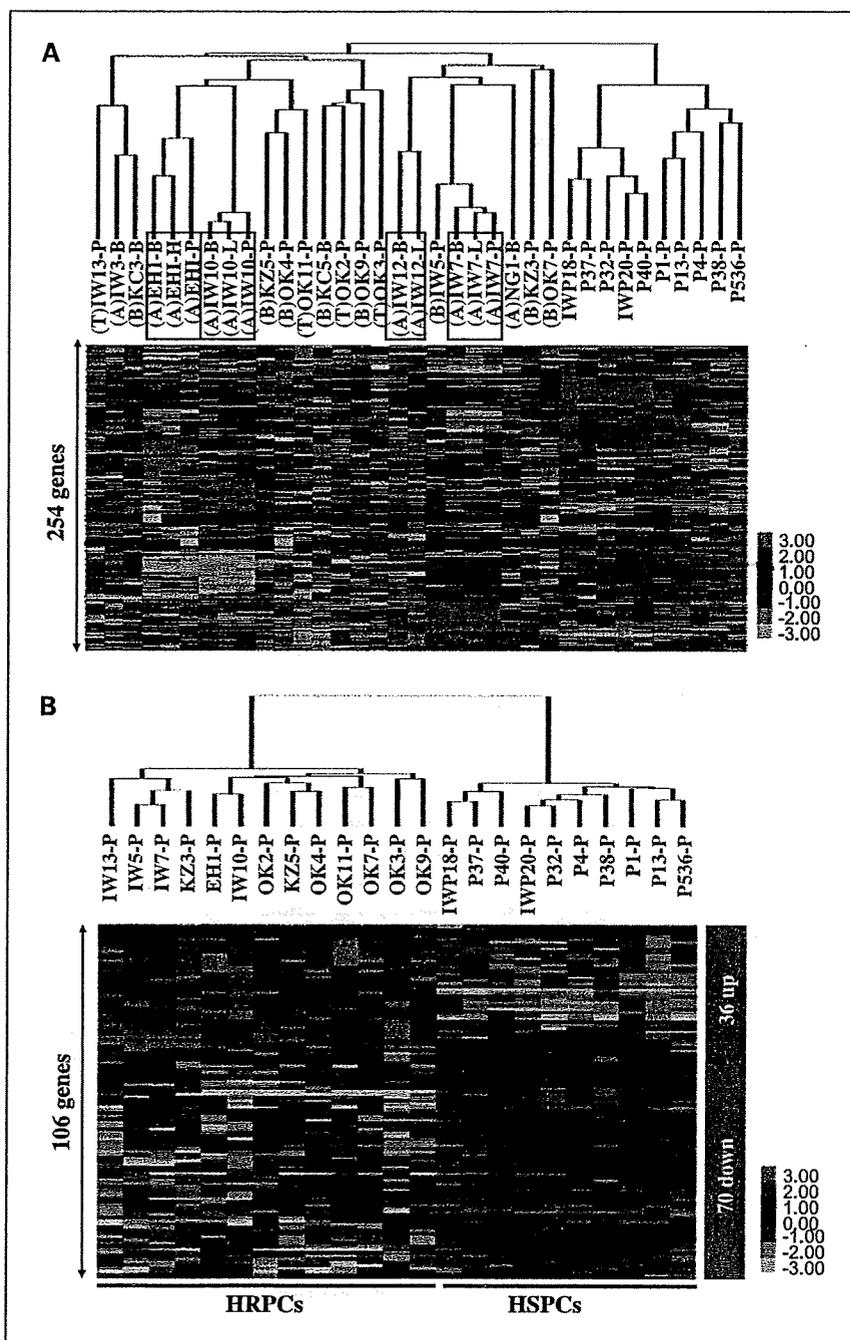


Figure 1. A, dendrogram of an unsupervised hierarchical clustering analysis of 254 genes (vertical columns) across 35 prostate cancers (horizontal rows). The unsupervised hierarchical clustering analysis clearly distinguished 25 HRPCs (red) from 10 HSPCs (blue). Small subsets of cluster constituted by metastatic HRPC cells (-B, bone metastasis; -L, lymph node metastasis; -H, liver metastasis) and HRPC cells at the primary site (-P, prostate) from the same individuals (black boxes). Tissue procurement methods for each HRPC specimen (A, autopsy; B, biopsy; T, TUR-P). All HSPC tissues were procured by radical prostatectomy. B, dendrogram of a supervised analysis of 106 genes (vertical columns) across 13 HRPCs at the prostate and 10 HSPCs (horizontal rows). Each cell in the matrix represents the expression level of a single transcript in a single sample. Red and green, transcript levels, above and below the median for that gene across all samples. Black, unchanged expression; gray, no detectable expression. The 36 up-regulated genes and 70 down-regulated genes that can distinguish HRPC cells from HSPC cells are listed in Tables 1 and 2, respectively.

Table 1. Up-regulated genes in the progression to HRPC

Accession no.	Difference	P value	Symbol	Gene name
NM_003094.2	3.306386323	3.77×10^{-7}	<i>SNRPE</i>	<i>Small nuclear ribonucleoprotein polypeptide E</i>
NM_018685.2	3.219579761	3.32×10^{-6}	<i>ANLN</i>	<i>Anillin, actin binding protein (scraps homologue, Drosophila)</i>
AA976712.1	3.182541782	5.99×10^{-7}	<i>TMEM46</i>	<i>Transmembrane protein 46</i>
AI357641.1	3.146687689	7.51×10^{-6}	<i>CDKN2C</i>	<i>Cyclin-dependent kinase inhibitor 2C (p18, inhibits CDK4)</i>
W67209.1	3.087139806	5.93×10^{-8}	<i>SESN3</i>	<i>Sestrin 3</i>
DB340904.1	2.985071675	8.00×10^{-8}	<i>AR</i>	<i>AR, 3 untranslated region</i>
NM_018144.2	2.890854838	3.62×10^{-9}	<i>SEC61A2</i>	<i>Sec61 $\alpha 2$ subunit (S. cerevisiae)</i>
NM_016448.1	2.811368667	7.78×10^{-5}	<i>DTL</i>	<i>Denticleless homologue (Drosophila)</i>
Z74616.1	2.538137903	1.92×10^{-5}	<i>COL1A2</i>	<i>Collagen, type I, $\alpha 2$</i>
NM_000090.2	2.491419709	5.12×10^{-5}	<i>COL3A1</i>	<i>Collagen, type III, $\alpha 1$</i>
R41754.1	2.447849423	1.19×10^{-10}	<i>TMEM132B</i>	<i>Transmembrane protein 132B</i>
NM_006607.1	2.440825064	5.09×10^{-7}	<i>PTTG2</i>	<i>Pituitary tumor-transforming 2</i>
U73727.1	2.333606143	2.40×10^{-5}	<i>PTPRU</i>	<i>Protein tyrosine phosphatase, receptor type, U</i>
AK021786.1	2.319361143	3.24×10^{-7}	<i>C17orf72</i>	<i>Chromosome 17 open reading frame 72</i>
AA910060.1	2.236962817	8.99×10^{-5}		<i>EST</i>
AA621719.1	2.220224258	8.14×10^{-6}	<i>SMC4</i>	<i>SMC4 structural maintenance of chromosomes 4-like 1</i>
AK024438.1	2.198639235	7.77×10^{-5}	<i>ZFP41</i>	<i>Zinc finger protein 41 homologue (mouse)</i>
NM_006229.1	2.192827851	6.66×10^{-5}	<i>PNLIPRP1</i>	<i>Pancreatic lipase-related protein 1</i>
AA195210.1	2.170830793	2.46×10^{-6}	<i>DKFZP761M1511</i>	<i>Hypothetical protein DKFZP761M1511</i>
AK096164.1	2.04647546	4.34×10^{-6}	<i>EIF2C2</i>	<i>Eukaryotic translation initiation factor 2C, 2</i>
AF035594.1	2.002516001	6.59×10^{-6}	<i>PRKCA</i>	<i>Protein kinase C, α</i>
NM_004442.5	1.921607125	1.06×10^{-5}	<i>EPHB2</i>	<i>EPH receptor B2</i>
AK096873.1	1.78604725	7.02×10^{-5}	<i>NPEPL1</i>	<i>Aminopeptidase-like 1</i>
NM_005733.1	1.739425422	2.56×10^{-5}	<i>KIF20A</i>	<i>Kinesin family member 20A</i>
AA757026.1	1.678056856	8.32×10^{-5}		<i>EST</i>
X63679.1	1.644063667	9.85×10^{-7}	<i>TRAM1</i>	<i>Translocation associated membrane protein 1</i>
NM_001211.4	1.636586307	9.84×10^{-5}	<i>BUB1B</i>	<i>BUB1 budding uninhibited by benzimidazoles 1 homologue β</i>
NM_017915.2	1.61745888	3.12×10^{-5}	<i>C12orf48</i>	<i>Chromosome 12 open reading frame 48</i>
NM_014176.1	1.589009131	1.95×10^{-8}	<i>UBE2T</i>	<i>Ubiquitin-conjugating enzyme E2T (putative)</i>
NM_006265.1	1.56936713	1.03×10^{-7}	<i>RAD21</i>	<i>RAD21 homologue (S. pombe)</i>
NM_007220.3	1.563745272	3.02×10^{-13}	<i>CA5B</i>	<i>Carbonic anhydrase VB, mitochondrial</i>
BC044310.1	1.563713145	2.78×10^{-5}	<i>TNK2</i>	<i>Tyrosine kinase, non-receptor, 2</i>
N51406.1	1.541763744	3.79×10^{-5}	<i>RP11-393H10.2</i>	<i>Hypothetical protein FLJ14503</i>
NM_005055.3	1.525830663	5.79×10^{-5}	<i>RAPSN</i>	<i>Receptor-associated protein of the synapse, 43 kDa</i>
NM_016275.3	1.519432356	1.63×10^{-5}	<i>SELT</i>	<i>Selenoprotein T</i>
NM_006988.3	1.504404832	6.73×10^{-5}	<i>ADAMTS1</i>	<i>ADAM metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif, 1</i>

NOTE: Difference: the average fold difference in expression level between HRPCs and HSPCs.

levels at three consecutive times and/or enlargement of tumor in spite of androgen ablation therapy. All of the samples were embedded in OTC Compound (Tissue-Tek) immediately after tissue procurement and stored at -80°C until their use. Histopathologic diagnoses were made by a single pathologist (M.F.) before LMM, and H&E-stained sections from adjacent frozen tissues were prepared to confirm the histologic diagnosis. Among the 43 HRPC patients we obtained, 25 primary or metastatic tumor specimens from 18 HRPC patients had sufficient amounts and good quality of RNAs for our microarray analysis. Tissue procurement method and therapeutic treatments for these 18 HRPC patients are shown in Supplementary Table S1. We microdissected cancer cells from these frozen slides by means of LMM (EZ cut system with a pulsed UV narrow beam-focus laser, SL Microtest GmbH). Simultaneously, 10 hormone-sensitive prostate cancers (HSPCs) or hormone-naive prostate cancers were also microdissected from 10 untreated operable cases undergoing radical prostatectomy, and normal prostatic (NP) epithelial cells were also microdissected from one benign prostatic hyperplasia patient and four bladder cancer patients, where we confirmed no apparent prostate cancers or prostatic intraepithelial neoplasias histopathologically.

Genome-wide cDNA microarray analysis and acquisition of data. LMM and T7-based RNA amplification were done as described previously (21). Amplified RNAs of 2.5 μg each were labeled by reverse transcription with Cy5-dCTP for cancer cells or Cy3-dCTP for normal cells (Amersham Biosciences) as described previously (21). We fabricated a genome-wide cDNA microarray with 36,864 cDNAs selected from the UniGene database (build no. 131) of the National Center for Biotechnology Information. Construction, hybridization, washing, and scanning were carried out according to methods described previously (21). Signal intensities of Cy3 and Cy5 from the 36,864 spots were quantified and analyzed by substituting backgrounds with ArrayVision software (Imaging Research, Inc.). Subsequently, the fluorescent intensities of Cy5 (cancer) and Cy3 (normal control) for each target spot were adjusted so that the mean Cy3/Cy5 ratio of 52 housekeeping genes was equal to one. Because data with low-signal intensities are less reliable, we determined a cutoff value on each slide, and we excluded genes from further analysis when both the Cy3 and the Cy5 dyes yielded signal intensities lower than that of the cutoff value. For other genes, we calculated the Cy5/Cy3 ratio using the raw data of each sample.

Hierarchical clustering and statistical analysis for genome-wide gene expression profiles. We applied an unsupervised hierarchical

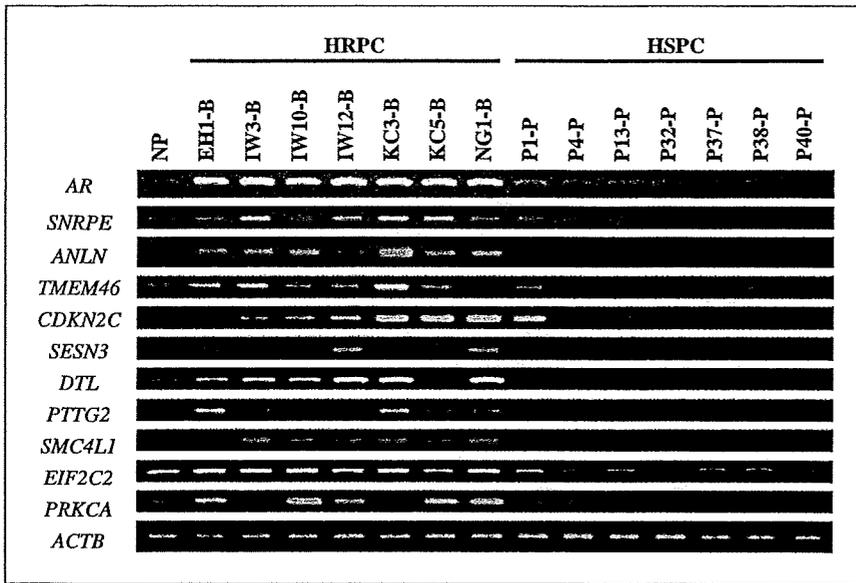


Figure 2. Semiquantitative RT-PCR confirmed the elevated expression of 11 genes that could distinguish HRPC cells from HSPC cells (7 HRPCs and 7 HRPCs microdissected from prostate cancer tissues). *ACTB* was used to quantify the each of cDNA contents.

clustering method to both genes and tumors, excluding genes, for which both Cy3 and Cy5 fluorescence intensities were below the cutoff value. To obtain reproducible clusters for classification of the 35 tumors, we selected 254 genes (about one percentile of the whole human transcripts) for which valid data were obtained in 80% of the experiments and whose expression ratios varied by SDs of >1.75. We log transformed the fluorescence ratio for each spot and then median centered the data for each sample to remove experimental biases. The unsupervised clustering analysis was done with web-available software (Cluster version 3.0 and TreeView version 1.0.12) written by Eisen.¹² As a supervised analysis, we applied a random permutation test to identify genes that were expressed at a significantly different level between the two groups (HRPC: 1 versus HSPC: 2). For each gene (*g*), we used a measure of correlation $P(g, c) = \frac{|\mu_1(g) - \mu_2(g)|}{[SD_1(g) + SD_2(g)]}$, which reflects the difference of average (μ) between the groups relative to the SD within the groups (22). The results are compared with the corresponding distribution obtained for random idealized expression patterns c^* , obtained by randomly permuting the coordinates of $c = (c_1, c_2, \dots, c_n)$, where $c_i = +1$ or 0 according to whether the *i*-th sample belongs to group 1 or group 2 (22). The random permutations were applied so that each group had a constant number of samples. Using thus obtained empirical distribution of null hypothesis, we calculated *P* value for each gene. We selected 106 genes for which valid data were obtained by *P* value of <0.0001, average fold difference of >1.5, and one group present of >60%.

Semiquantitative reverse transcription-PCR and real-time quantitative reverse transcription-PCR. Total RNA was extracted using RNeasy kit (Qiagen) according to the manufacturer's instruction, treated with DNase I (Roche Diagnostics), and reversely transcribed to single-stranded cDNA using random hexamer or oligo(dT)₁₂₋₁₈ primer with SuperScript reverse transcriptase II (Invitrogen). We prepared appropriate dilutions of each single-strand cDNA followed by normalizing cDNA content using β -actin (*ACTB*) as a quantitative control, showing PCR using single-strand cDNA as PCR templates. The primers of each transcripts were the following: *ACTB* [5'-TTGGCTTGACTCAGGATTA-3' (forward) and 5'-ATGCTATCACCTCCCTGTG-3' (reverse)], *SNRPE* [5'-CAAGTGAATATGCGGATAGAAGG-3' (forward) and 5'-CCATCTTGTAAGTAAACACGAGGGT-3' (reverse)], *ANLN* [5'-GCTGCGTAGCTTACAGACTTAGC-3' (forward) and 5'-AAGCGGTTAAAGGTGATAGTG-3' (reverse)], and *AR* [5'-GTGCTGTCCTTGGAAATTAATCTG-3' (forward) and 5'-AACAGAACTAGCGCTTGGAG-3' (reverse)]. The PCR primers of other transcripts will be informed when they are requested. The conditions for PCR

are follows: initial denaturation at 95°C for 5 min; 23 cycles (for *ACTB*, *SNRPE*, and *AR*), 30 cycles (for *TMEM46*, *CDKN2C*, *DTL*, *PTTG2*, *SMCA*, *EIF2C2*, and *PRKCA*), or 35 cycles (for *SESN3*) of denaturation at 95°C for 30 s; annealing at 55°C for 30 s; and elongation at 72°C for 30 s on a GeneAmp PCR system 9700 (PE Applied Biosystems). We carried out real-time quantitative PCRs using a Prism 7700 sequence detector (PE Applied Biosystems) with the SYBR Premix ExTaq (TaKaRa) in accordance with the manufacturer's instructions. The primers of each transcript were the following: *AR* [5'-GAGAGAGAGAAA-GAAAGCATCACAC-3' (forward) and 5'-AACACTAGCGCTTGGAGCTG-3' (reverse)], *PSA* [5'-CCAGACACTCACAGCAAGGA-3' (forward) and 5'-ATCC-CATGCCAAAGGAAGAC-3' (reverse)], and *NKX3.1* [5'-TGGTTTGTGAATC-CATCTGC-3' (forward) and 5'-AACAGGCTGTCTGGGTGAAA-3' (reverse)]. *ACTB* was used to normalize each expression and the primer sequences of *ACTB* were described above.

Immunohistochemistry. Paraffin-embedded tissue sections were deparaffinized, subjected to treatment with microwave at 360 W for 1 min four times in antigen retrieval solution, high pH (DAKO), and then treated with peroxidase blocking reagent (DAKO) followed by protein block reagent (DAKO). Immunohistochemical study was carried out using the Ventana automated IHC systems (Discovery™, Ventana Medical systems, Inc.). Sections were incubated with a 1:100 diluted solution of a mouse monoclonal antibody (mAb; NCL-AR-318, Novocastra) against the NH₂-terminal portion of the human AR overnight at 4°C. The automated protocol is based on an indirect biotin-avidin system using a biotinylated universal secondary antibody and diaminobenzidine substrate with hematoxylin counterstaining.

siRNA-expressing constructs and colony formation/3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide assay. We used siRNA expression vector (psiU6BX) for RNA interference effect to the target genes as described previously (23). Plasmids designed to express siRNA were prepared by cloning of double-stranded oligonucleotides into psiU6BX vector. The oligonucleotide sequences of target sequences for *SNRPE* and *ANLN* are as follows: sense strand sequence for *SNRPE*-si1 (5'-GGAAAGAAAT-GAAGTGCCTT-3'), *SNRPE*-si2 (5'-GCTGGTAGGCAAATTGTTA-3'), *SNRPE*-si3 (5'-GGTGAATGCAGAAAGTGTAT-3'), *siANLN* (5'-CCAGTTGAGTCGA-CATCTG-3'), and *siEGFP* (5'-GAAGCAGCAGCACTTCTTC-3') as a negative control. Prostate cancer cell line 22Rv1 was purchased from American Type Culture Collection, and 2×10^6 22Rv1 cells were grown on 10-cm dishes, transfected with psiU6-SNRPE (si-3) or psiU6-ANLN or psiU6-EGFP using Fugene 6 reagent (Roche) according to the manufacturer's instruction, and cultured in appropriate medium containing 800 μ g/mL geneticin (Sigma-Aldrich) for 2 weeks. The cells were fixed with 100% methanol and

¹² <http://rana.lbl.gov/EisenSoftware.htm>

Table 2. Down-regulated genes in the progression to HRPC

Accession no.	Difference	P value	Symbol	Gene name
BC092418.1	5.558869662	1.22×10^{-6}	MYBPC1	Myosin binding protein C, slow type
X04325.1	5.062445046	1.06×10^{-5}	GJB1	Gap junction protein, β 1, 32 kDa
NM_001150.1	4.826495535	7.40×10^{-10}	ANPEP	Alanine (membrane) aminopeptidase
NM_024080.3	4.090779772	9.33×10^{-12}	TRPM8	Transient receptor potential cation channel, subfamily M member 8
NM_002443.2	3.771232027	4.03×10^{-9}	MSMB	Microseminoprotein, β
L13740.1	3.204461772	7.41×10^{-35}	NR4A1	Nuclear receptor subfamily 4, group A, member 1
NM_000784.2	3.176792485	2.03×10^{-12}	CYP27A1	Cytochrome P450, family 27, subfamily A, polypeptide 1
AA243967.1	3.119889956	3.91×10^{-5}	ACPP	Acid phosphatase, prostate
NM_138342.2	3.049236542	5.45×10^{-5}	LOC89944	Hypothetical protein BC008326
AF266280.1	2.994099827	7.11×10^{-6}	LGALS3	Lectin, galactoside-binding, soluble, 3 (galectin 3)
AB010419.1	2.95051338	2.21×10^{-5}	CBFA2T3	Core-binding factor, runt domain, α subunit 2; translocated 3
NM_003407.1	2.906880911	1.24×10^{-9}	ZFP36	Zinc finger protein 36, C3H type, homologue (mouse)
NM_032801.3	2.863996452	1.93×10^{-8}	JAM3	Junctional adhesion molecule 3
NM_004417.2	2.840006269	2.20×10^{-10}	DUSP1	Dual specificity phosphatase 1
NM_005252.2	2.779578672	2.58×10^{-6}	FOS	V-fos FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homologue
Y11339.2	2.673481738	1.55×10^{-13}	ST6GALNAC1	ST6-N-acetylgalactosaminide α -2,6-sialyltransferase 1
L19871.1	2.519745453	1.64×10^{-9}	ATF3	Activating transcription factor 3
BC016952.1	2.420887227	4.47×10^{-10}	CYR61	Cysteine-rich, angiogenic inducer, 61
N70019.1	2.393780488	1.28×10^{-5}	MT1M	Metallothionein 1M
NM_005139.2	2.30234995	7.04×10^{-20}	ANXA3	Annexin A3
NM_005767.3	2.292587029	2.07×10^{-5}	P2RY5	Purinergic receptor P2Y, G-protein coupled, 5
M62829.1	2.268933663	5.38×10^{-5}	EGRI	Early growth response 1
R38989.1	2.188002228	8.97×10^{-8}	SH3BGRL2	SH3 domain binding glutamic acid-rich protein like 2
NM_001669.2	2.186821444	5.88×10^{-11}	ARSD	Arylsulfatase D
NM_001584.1	2.17939094	3.05×10^{-6}	MPPED2	Metallophosphoesterase domain containing 2
L02950.1	2.16892321	1.08×10^{-9}	CRYM	Crystallin, mu
NM_032592.1	2.148649429	3.29×10^{-5}	PHACS	1-Aminocyclopropane-1-carboxylate synthase
NM_015267.1	2.123686657	6.64×10^{-7}	CUTL2	Cut-like 2 (Drosophila)
R42862.1	2.085435644	2.09×10^{-6}	EST	EST
NM_014861.1	2.024649382	7.07×10^{-9}	KIAA0703	KIAA0703 gene product
AL832642.2	2.022123591	5.38×10^{-6}	CD44	CD44 molecule (Indian blood group)
NM_005891.1	2.020215882	8.92×10^{-11}	ACAT2	Acetyl-CoA acetyltransferase 2
AF070632.1	2.020131066	2.51×10^{-15}	EST	EST
AA742701.1	2.017839777	4.39×10^{-10}	LCPI	Lymphocyte cytosolic protein 1 (L-plastin)
NM_014841.1	2.007560931	5.59×10^{-5}	SNAP91	Synaptosomal-associated protein, 91 kDa homologue (mouse)
M62831.1	2.005374607	3.91×10^{-11}	IER2	Immediate early response 2
NM_178835.2	1.975475229	3.50×10^{-5}	LOC152485	Hypothetical protein LOC152485
NM_024709.2	1.96745649	3.60×10^{-5}	Clorf115	Chromosome 1 open reading frame 115
DA313595.1	1.961835426	2.05×10^{-5}	HLA-A	MHC, class I, A
X04481.1	1.915026305	6.40×10^{-6}	C2	Complement component 2
NM_173653.1	1.912986031	2.69×10^{-9}	SLC9A9	Solute carrier family 9 (sodium/hydrogen exchanger), member 9
NM_002228.3	1.872688976	3.02×10^{-5}	JUN	V-jun sarcoma virus 17 oncogene homologue (avian)
X07549.1	1.852416069	1.51×10^{-7}	CTSH	Cathepsin H
L05779.1	1.835437702	7.24×10^{-8}	EPHX2	Epoxide hydrolase 2, cytoplasmic
BC012037.1	1.832746195	5.02×10^{-6}	NBL1	Neuroblastoma, suppression of tumorigenicity 1
L13288.1	1.830209324	1.63×10^{-8}	VIPR1	Vasoactive intestinal peptide receptor 1
NM_004842.2	1.817118309	7.01×10^{-12}	AKAP7	A kinase (PRKA) anchor protein 7
NM_016573.2	1.813774769	1.80×10^{-11}	GMIP	GEM interacting protein
AF237813.1	1.811745708	1.59×10^{-8}	ABAT	4-Aminobutyrate aminotransferase
U47025.1	1.752036006	3.21×10^{-8}	PYGB	Phosphorylase, glycogen; brain
NM_005080.2	1.745150156	1.13×10^{-8}	XBPI	X-box binding protein 1
BQ182018.1	1.709983737	1.27×10^{-7}	SSU72	SSU72 RNA polymerase II CTD phosphatase homologue
AK129574.1	1.702855987	1.32×10^{-5}	DOCK5	Dedicator of cytokinesis 5
AK026400.1	1.691754511	1.85×10^{-7}	FLJ42562	Similar to echinoderm microtubule associated protein like 5
X51345.1	1.688349706	1.63×10^{-9}	JUNB	Jun B proto-oncogene
NM_014010.3	1.66324122	6.53×10^{-5}	ASTN2	Astrotactin 2
NM_000527.2	1.647252497	1.35×10^{-5}	LDLR	Low density lipoprotein receptor (familial hypercholesterolemia)
NM_014174.2	1.645153682	1.13×10^{-5}	THYNI	Thymocyte nuclear protein 1
AA523303.1	1.63829997	2.70×10^{-8}	DEF6	Differentially expressed in FDCP 6 homologue (mouse)

(Continued on the following page)

Table 2. Down-regulated genes in the progression to HRPC (Cont'd)

Accession no.	Difference	P value	Symbol	Gene name
X12548.1	1.620216872	1.61×10^{-8}	<i>ACP2</i>	<i>Acid phosphatase 2, lysosomal</i>
BX648582.1	1.611126501	5.56×10^{-9}	<i>SPRY2</i>	<i>Sprouty homologue 2 (Drosophila)</i>
NM_005951.1	1.598742883	5.62×10^{-8}	<i>MT1H</i>	<i>Metallothionein 1H</i>
NM_014553.1	1.594509479	8.36×10^{-5}	<i>TFCP2L1</i>	<i>Transcription factor CP2-like 1</i>
M96824.1	1.593941987	1.88×10^{-9}	<i>NUCB1</i>	<i>Nucleobindin 1</i>
U79240.1	1.567475917	5.60×10^{-8}	<i>PASK</i>	<i>PAS domain containing serine/threonine kinase</i>
NM_006633.1	1.564791961	7.99×10^{-5}	<i>IQGAP2</i>	<i>IQ motif containing GTPase activating protein 2</i>
NM_017679.2	1.547638171	5.30×10^{-9}	<i>BCAS3</i>	<i>Breast carcinoma amplified sequence 3</i>
NM_000295.3	1.545151445	6.49×10^{-6}	<i>SERPINA1</i>	<i>Serpin peptidase inhibitor, clade A, member 1</i>
AL390079.1	1.52908521	4.32×10^{-8}	<i>LOC58489</i>	<i>Hypothetical protein from EUROIMAGE 588495</i>
NM_000282.2	1.527984534	3.77×10^{-10}	<i>PCCA</i>	<i>Propionyl CoA carboxylase, α polypeptide</i>

NOTE: Difference: the average fold difference in expression level between HRPCs and HSPCs.

stained with 0.1% of crystal violet-H₂O for colony formation assay. In 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay, cell viability was measured using Cell Counting Kit-8 (Dojindo) at 10 days after the transfection. Absorbance was measured at 490 nm, and at 630 nm as reference, with a Microplate Reader 550 (Bio-Rad). Preliminarily, knockdown effects of these siRNA expression vectors on the endogenous expression of the target genes were validated 7 days after the transfection by reverse transcription-PCR (RT-PCR) using the primers described above.

Results

Sample collecting and hierarchical clustering analysis of expression profiles. For this study, we collected 77 frozen specimens from 43 HRPC patients through prostatic needle biopsy, bone biopsy, TUR-P, or "warm" autopsy. Nearly two thirds of specimens were not qualified for LMM and microarray analysis through the pathologic evaluation by H&E staining or after evaluation of their RNA quality, and finally, RNAs of 25 HRPC specimens from 18 HRPC patients were available for further microarray analysis. All of these 18 patients had been treated with maximum androgen blockade with LH-RH agonist treatment or surgical castration as shown in Supplementary Table S1. Tissue procurements from six autopsies were done immediately after patient death. Twenty-five HRPC specimens from 18 patients included 13 HRPCs at the primary site (prostate), 8 bone metastases, 3 lymph node metastases, and 1 liver metastasis. Simultaneously, HSPC cells were also microdissected from 10 untreated operable patients undergoing radical prostatectomy, and NP epithelial cells were also microdissected from five non-prostate cancer patients. These NP cells from five males were used as a normal mixture control for our cDNA microarray analysis. We successfully microdissected HRPC cells, HSPC cells, and NP cells from each clinical sample to exclude the contamination of stromal cells and host organ cells at the metastatic sites, such as bone marrow cells, lymphocytes, and hepatocytes (Supplementary Fig.).

An unsupervised hierarchical clustering analysis using expression patterns of 254 genes that we selected based on strict conditions (i.e., valid data obtained in 80% of the experiments and expression ratios that varied by >1.75 SDs) clearly classified the 35 tumors into two major groups, the HRPC and HSPC groups (Fig. 1A). This unsupervised hierarchical clustering analysis also

classified multiple tumors from the same individuals to small subgroups regardless to the metastatic organs (Fig. 1A, *black boxes*), suggesting little influence on expression patterns by host organs of their metastatic sites due to the precise microdissection technique in our laboratory.

Identification of deregulated genes in the progression from HSPC to HRPC. To extract genes that showed significantly differential expression levels in HRPCs and HSPCs, we carried out a random permutation test using the expression profiles of 13 HRPCs at the prostate and 10 HSPCs. We selected 13 HRPCs at the primary site (prostate) among 25 HRPC specimens for this random permutation test because multiple HRPC samples from one individual showed quite similar patterns in the unsupervised hierarchical clustering analysis (Fig. 1A) and also because potential microenvironmental influence from host organs should be excluded as much as possible. The supervised analysis and this random permutation test (average fold difference > 1.5; $P < 0.0001$) identified 36 up-regulated genes and 70 down-regulated genes in HRPCs compared with HSPCs, which were considered to be involved in the presumably HRPC progression, that is to say, their androgen-independent growth and more aggressive or malignant phenotype (Fig. 1B). Table 1 listed 36 up-regulated genes in HRPC, including *AR*, *small nuclear ribonucleoprotein peptide E (SNRPE)*, and *anillin, actin binding protein (ANLN)*. Notably, the expression level of *AR* in HRPC cells was much higher than that in HSPCs, which was concordant with several previous reports studying the cell line models (9–11) and clinical samples (9). As shown in Fig. 2, semiquantitative RT-PCR validated overexpression of 11 genes in HRPC cells. On the other hand, Table 2 listed 70 down-regulated genes in the progression to HRPCs, including *NR4A1*, *CYP27A1*, and *HLA-A*.

AR expression and activity in clinical HRPC cells. We further analyzed AR protein expression in clinical HRPCs by immunohistochemistry and the transcriptional level of AR-regulated genes by real-time quantitative PCR, which should reflect the actual AR activity as a transcriptional factor in the nucleus. Immunohistochemical analysis for AR using 6 HRPCs and 16 HSPCs showed the positive staining in the nuclei of all HRPC, HSPC, and normal prostate. The staining intensity or patterns in HRPC cells (Fig. 3A) were similar to those in HSPC (Fig. 3B) and NP cells (Fig. 3B), although the transcript levels of *AR* in HRPC cells were much

higher than in HSPC and NP cells, which were analyzed by semi-quantitative PCR (Fig. 2) and also quantified by real-time PCR (Fig. 3D). Furthermore, real-time quantitative PCR showed that transcriptional levels of AR-regulated or downstream genes, *PSA* and *NKX3.1* (24), in HRPC cells were also similar to those in HSPC and NP cells (Fig. 3D), in spite of >10 times overexpression of the *AR* transcript in HRPC cells. These findings implicated that clinical HRPC cells are likely to maintain AR activity in the cell by overexpressing *AR* mRNA, under very low level of circulating testicular androgen, but the stabilized AR protein and the actual AR activity levels as a transcriptional factor in the nuclei of HRPC cells were similar to that in HSPC cells and NP cells.

Knockdown effect of *ANLN* and *SNRPE* on HRPC cell growth.

To investigate the contribution of non-AR pathways or genes to HRPC phenotype, we selected *ANLN* and *SNRPE*, whose expressions were most significantly high in HRPCs (Fig. 2; Table 1). We constructed several vectors, designed to express siRNA specifically to *ANLN* (siANLN) and *SNRPE* (si1-3), and transfected each of them into prostate cancer cell line 22Rv1, which expressed *ANLN* and *SNRPE* at high level. The transfection with siANLN showed the significant knockdown effect on the *ANLN* transcript (Fig. 4A) and resulted in drastic reduction of the numbers of colonies (Fig. 4B, left) as well as those of the viable cells measured by MTT assay (Fig. 4B, right), whereas the transfection of a negative

control (siEGFP) did not show any effect. Among three siRNA constructs to *SNRPE*, *SNRPE*-si1 and *SNRPE*-si3 significantly knocked down *SNRPE* expression (Fig. 4C) and caused drastic reduction of the numbers of colonies (Fig. 4D, left) as well as those of the viable cells measured by MTT assay (Fig. 4D, right), whereas the transfection of the other plasmid (si2) or a negative control (siEGFP) showed no or little knockdown effect on *SNRPE* expression and did not affect prostate cancer cell viability. These findings suggested that non-AR pathways represented by over-expressing genes in HRPC, such as *SNRPE* and *ANLN*, could play some important roles in the prostate cancer cell viability as well as the AR pathway.

Discussion

Most of the patients with relapsed or advanced prostate cancer respond well to androgen ablation therapy. However, the tumors eventually acquire androgen-independent and more aggressive phenotype for which most anticancer drugs or therapies are not effective, finally leading prostate cancer patients to death. (8). In this study, we approached to the molecular mechanism of acquirement of this more aggressive phenotype by analyzing human HRPC clinical samples but not by the use of cell lines or mouse models. The gene expression studies for clinical HRPCs have been very limited thus far, largely due to difficulties to obtain

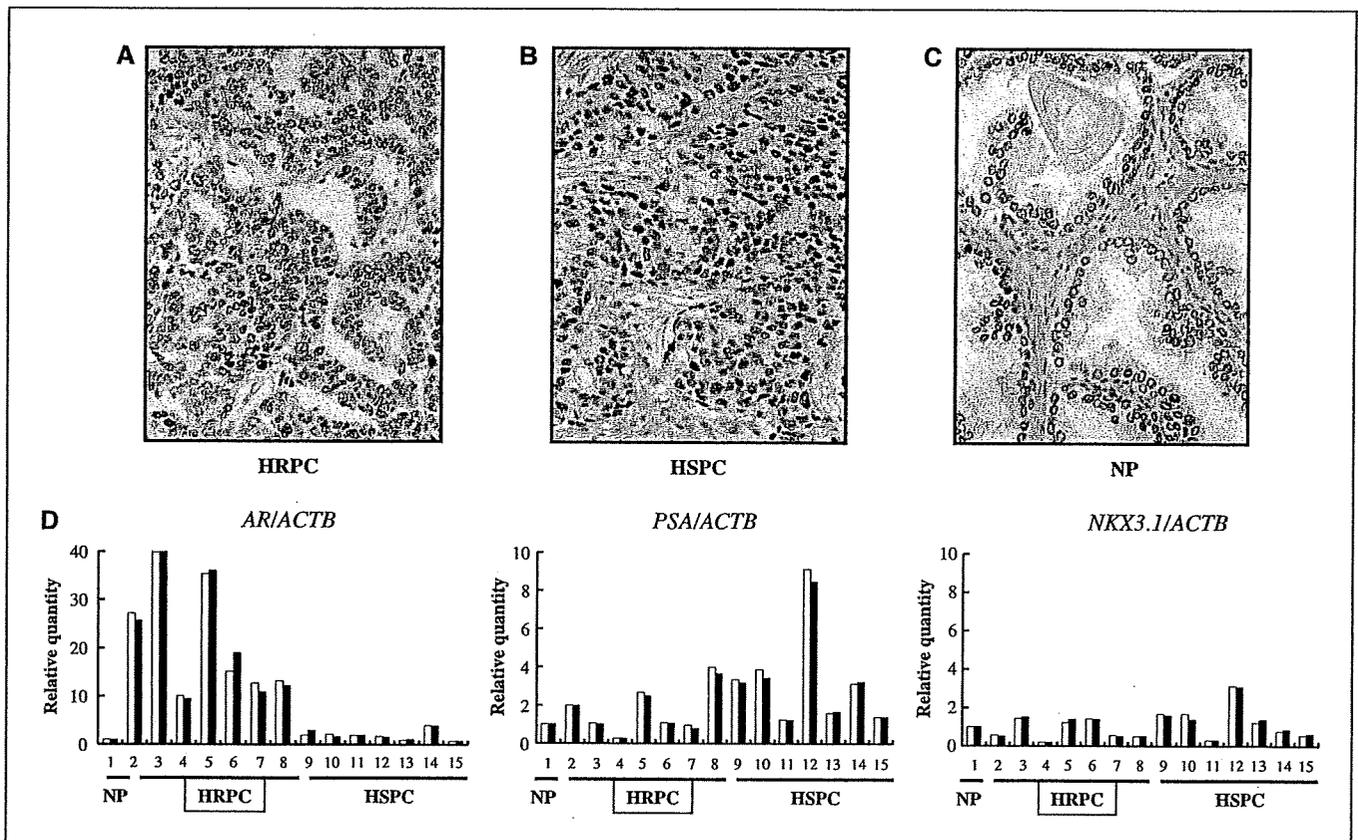


Figure 3. Immunohistochemical analysis of prostate cancer tissues by anti-AR mAb. Immunoreactivity with anti-AR antibody exhibited positive staining in the nuclei of HRPC cells (A), HSPC cells (B), and NP epithelial cells (C). Their staining intensity or patterns in HRPC cells is similar to those in HSPC and NP cells, although the mRNA level of *AR* in HRPC cells was much higher than in HSPC and NP cells (Figs. 2 and 3D). D, left, real-time quantitative PCR showed >10 times overexpression of *AR* transcript in HRPC cells (samples 2–8) comparing with that of HSPC cells (samples 9–15) and NP cells (sample 1). On the other hand, transcriptional levels of *PSA* (middle) and *NKX3.1* (right) of HRPC cells, which reflect AR activity, were similar to those of HSPC cells and NP cells. *ACTB* was used to quantify each of the cDNA contents, and the relative quantity (Y-axis) was calculated so that the expression in NP cells was one. Real-time PCR was done duplicated for each sample (white and black columns).