

平成 30 年 6 月 2 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09997

研究課題名(和文)放射光白色X線を用いた超高線量率X線照射における放射線生物学的効果についての検討

研究課題名(英文)Ultrahigh dose-rate, "FLASH" irradiation minimizes the side-effects of radiotherapy

研究代表者

宮脇 大輔(MIYAWAKI, Daisuke)

神戸大学・医学部附属病院・特命講師

研究者番号：30546502

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：肺転移モデルマウスを用いた実験の組織学的評価では、スリット状照射120Gyの照射側の肺の腫瘍は顕著に縮小していた。正常肺に対する検討は正常マウスを用いて両側肺に対してスリット照射を行い検討した。ビーム幅25 μm 、ビーム間隔200 μm または400 μm のスリット照射では、長期生存が得られ、FLASH照射では肺障害等の副作用が起こりにくいことが予想された。組織学的検討ではビーム通過部位に一致して、DNA2重鎖切断が起こっていたが、非照射部には炎症等は見られず、スリット状FLASH照射では肺障害は起こりにくいことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Ultrahigh dose-rate, "FLASH" micro-slit-beam irradiation shifted by a large factor the threshold dose required to initiate lung fibrosis without loss of the antitumor efficiency, suggesting that the method might be used to advantage to reduce the occurrence and severity of early and late complications affecting normal tissue.

研究分野：放射線腫瘍学

キーワード：超高線量率X線照射

1. 研究開始当初の背景

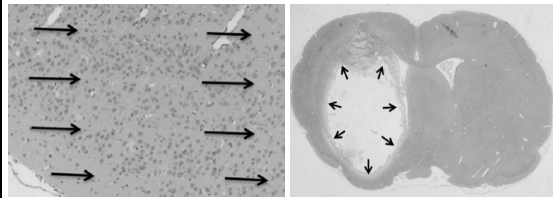
従来のX線治療ではターゲット内の線量分布を出来るだけ均一にすることが良いとされているが、高精細格子状照射では、従来の放射線治療の概念とは全く異なり、ターゲット内に対して格子状に照射を行う照射法である。通常のエックス線は指向性が乏しいために高精細の格子状照射は困難であるが、Spring-8では加速エネルギー8GeVという大型シンクロトロンによって極めて指向性の高い放射光(X線)を利用することが可能であり、幅25 μ mという精度での格子状照射が可能となる。高精細格子状照射では腫瘍は格子状に照射されるため腫瘍内の線量は不均一となるが、本照射法では従来の照射法では危険臓器の耐容線量から不可能であった超高線量の照射が可能となり、高い抗腫瘍効果が得られることが過去の実験にて証明されている。

申請者らはこれまでの研究で、放射線光を用いた高精細格子状照射では、高線量を照射される部位(peak部分)では100~1000Gyという大線量での1回照射が可能であることを確認している。正常組織においては、peak部位は高線量を照射され細胞の脱落を認めるが、valley部位の正常組織の損傷は僅かであった。格子状の細胞脱落を来しても、周囲の細胞から再生反応が起こり、組織の壊死・脱落や大きな機能的欠損をもたらさないものと想定される。一方、腫瘍組織においては、格子照射では腫瘍内に照射されない部位(valley部位)が存在するため腫瘍は根治し得ないように思われる。しかし、これまでの研究では、照射されていないvalley部位も含めて腫瘍が消失することが示されている。この機序に関してはいまだに解明されておらず、高線量照射によるバースタンド効果や、壊死した腫瘍からのサイトカインの放出などが想定されている。

右図は脳腫瘍に対するFLASH照射を用いた高精細格子状照射の実験結果であるが、正常大脳皮質のPeak照射の部分(右上図矢印)は線状に細胞が消失して、全体としてスリット状になっているが、valley部分、すなわち非照射領域の組織は破壊されずに保たれている。一方、同様の照射にて脳内に移植されていた腫瘍細胞はスリット状の腫瘍欠損ではなく、腫瘍全体が欠損していることがわかる(右下図)。

peak部位での線量は極めて高線量であり、高線量が照射された部位で細胞が線状に消失することは自然と考えられる。valley部位ではどのようなメカニズムが働いているかは不明である。正常組織では組織欠損や壊死を起こさないように、valley部位の組織がpeak部位の欠損した細胞を補うように分化・遊走していることが想定されるが、その詳細は解明されていない。一方、腫瘍組織に

於いては正常組織と異なり格子状照射によりvalley部位の腫瘍組織までもが消失する。



Crosbieらの報告では、腫瘍組織において照射直後には高線量が照射されたpeak部位に一致して見られたDNA二重鎖切断が、時間経過とともに低線量しか照射されていないvalley部位にまで広がることが観察されている(下図:DNA二重鎖切断を反映する γ -H2AXによる染色の経時変化)。valley部位の腫瘍細胞にこれらの変化が見られることは、前述のとおり何らかのバースタンド効果や、壊死した腫瘍からのサイトカインの放出などが想定されているが、その詳細は解明されていない。

また、Favaudonらは、FLASH照射(≥ 40 Gy/s, ≤ 500 ms)と通常照射(≤ 0.03 Gy/s)を行った実験で、FLASH照射では通常照射と比較し同等の抗腫瘍効果を有しつつ、急性期・晩期有害反応は軽減されるかもしれないことを報告している。(Favaudon V, Bourhis J et al. Sci Transl Med. 2014 Jul 16;6(245))

2. 研究の目的

申請者らはこれまでに放射線光を用いた高精細格子状照射の研究を行い、マウス・ラットにおける正常組織の耐容線量や、物理学的特性の研究を行ってきた。その結果から、正常組織と腫瘍組織ではvalley部位において異なる反応が存在するものと想定されるが、そのメカニズムはまだ解明されていない。本研究は、肺の正常組織・腫瘍組織のそれぞれにおいてFLASH照射によって引き起こされる反応にどのような経路が介在するかを、バースタンド効果、サイトカインの放出、細胞と組織の分化/遊走に着目して解明しようとするものである。

本研究で用いるSpring-8から提供される放射線によるFLASH照射は、120 Gy/秒という超高線量率X線であるので、直接臨床への応用は難しいと考えられる。しかし近年、放射線治療で用いられているリニアックは、平坦化フィルタを除いた照射モード(Flattening Filter Free: FFF)による高線量率照射が臨床使用可能となっており、その生物学的影響や物理学的特性が注目されている。本研究における抗腫瘍効果・正常組織耐容線量を基礎として、臨床で用いられる強度変調放射線治療(IMRT)や体幹部定位放射線治療(SBRT)においても高線量率照射の基礎が作られれば、難治がんに対する今後の新たな治療戦略として大きな進歩につながるものと期待される。

3. 研究の方法

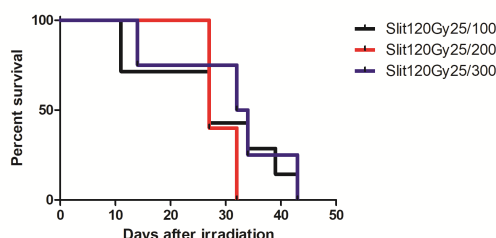
本研究は、兵庫県播磨の高輝度光科学研究センター(SPring-8)のBL28B2第2光学ハッチを用いる。申請者らはこれまで、正常組織に対する高精細格子状照射の研究で最大耐容線量・最適な格子サイズの探索を行ってきた。これまでの研究で、格子幅 25mm、peak 間隔 200μm での全脳照射において 600Gy/1 回という大線量照射が可能であり、上記の条件にて全脳照射を受けたマウスは長期間生存可能というデータを得ている。上記の照射条件における線量分布は右図の通りであり、peak が 100%とした場合の valley の線量は約 0.6%(peak が 600Gy の場合 valley は 3.6Gy)であった。

今回申請する研究は、上記条件で照射を行い、正常組織・腫瘍組織での FLASH 照射による高精細格子状照射後の反応を培養細胞およびマウスの肺転移モデルを用い、腫瘍・周囲正常組織の観察から検討する。

in vivo 実験として、FLASH 照射による高精細格子状照射後の正常組織および腫瘍組織に対する効果を解析する。正常肺への照射はマウスの腹側から右肺に FLASH 照射を行う。線量は、20 Gy、40Gy、60Gy、120 Gy (1 秒照射)と変化させて照射を行う。肺転移腫瘍モデルマウスについても同様に右肺に FLASH 照射を行う。*in vitro* 実験と同様に腫瘍組織および、周囲の正常組織におけるアポトーシス・DNA 二重鎖切断および修復、バイスタンダー効果に関する因子の解析を行う。正常組織の観察においては、周囲の細胞・組織環境にどのような変化が起こっているかも形態学的、免疫組織学に検討する。

4. 研究成果

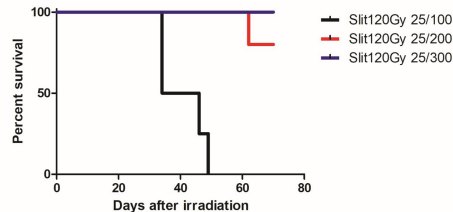
本研究では、超高線量率の白色 X 線の短時間照射 (FLASH 照射) を用いて、高精細格子状に放射線を照射することにより、正常組織・腫瘍組織がそれぞれどのような反応を占めるか、*in vivo* 実験にて解明を行うことを目的としている。白色 X 線の超高線量率 FLASH 照射を用いて、高精細格子状照射後の正常組織および腫瘍組織に対する実験を行った。ビーム幅 25 μm、ビーム間隔 200 μm、ピーク線量 120Gy/sec のマイクロビームを創出し、照射時間を変化させ照射を行った。また、ブロード照射は線量率 120Gy/sec で照射時間を変化させ照射を行った。呼吸性移動を考慮し、ビーム間隔 100 μm、300 μm のスリット照射に関しても検討した。



肺転移モデルマウスを用いた実験では、生存率の結果ではブロード照射 36Gy との中央生存期間に差はなかった。

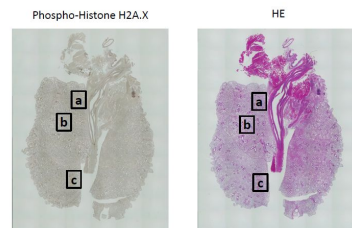
組織学的評価では、スリット状照射 120Gy の照射側の肺の腫瘍は顕著に縮小しており、非照射側の転移性肺腫瘍が生存率に影響した可能性が考えられた。

正常肺に対する検討は正常マウスを用いて両側肺に対してスリット照射を行い検討した。ビーム幅 25 μm、ビーム間隔 200 μm または 400 μm のスリット照射では、長期生存が得られ、FLASH 照射では肺障害等の副作用が起こりにくいことが予想された。

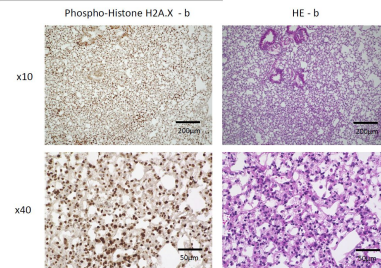


組織学的検討ではビーム通過部位に一致して、DNA2 重鎖切断が起こっていたが、非照射部の炎症等は見られず、スリット状 FLASH 照射では肺障害は起こりにくいことが示唆された。

1. Slit120Gy 25/200 (①)(ビーム間隔200μm)



1. Slit120Gy 25/200 (①)(ビーム間隔200μm)



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計6件)

Matsuo Y, Yoshida K, Nishimura H, Ejima Y, Miyawaki D, Uezono H, Ishihara T, Mayahara H, Fukumoto T, Ku Y, Yamaguchi M, Sugimoto K, Sasaki R. Efficacy of stereotactic body radiotherapy for hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombosis/inferior vena cava tumor

thrombosis: evaluation by comparison with conventional three-dimensional conformal radiotherapy. *J Radiat Res.* 2016 Sep;57(5):512-523.

Yoshida K, Sulaiman NS, Miyawaki D, Ejima Y, Nishimura H, Ishihara T, Matsuo Y, Nishikawa R, Sasayama T, Hayakawa A, Kohmura E, Sasaki R. Radiotherapy for brainstem gliomas in children and adults: A single-institution experience and literature review. *Asia Pac J Clin Oncol.* 2017 Apr;13(2):e153-e160. DOI: 10.1111/ajco.12451.

Mukumoto N, Nakayama M, Akasaka H, Shimizu Y, Osuga S, Miyawaki D, Yoshida K, Ejima Y, Miura Y, Umetani K, Kondoh T, Sasaki R. Sparing of tissue by using micro-slit-beam radiation therapy reduces neurotoxicity compared with broad-beam radiation therapy. *J Radiat Res.* 2017 Jan;58(1):17-23. DOI: 10.1093/jrr/rrw065.

Ishihara T, Yamada K, Harada A, Isogai K, Tonosaki Y, Demizu Y, Miyawaki D, Yoshida K, Ejima Y, Sasaki R. Hypofractionated stereotactic radiotherapy for brain metastases from lung cancer: Evaluation of indications and predictors of local control. *Strahlenther Onkol.* 2016 Jun;192(6):386-93. DOI: 10.1007/s00066-016-0963-2.

Wang T, Ishihara T, Kono A, Yoshida N, Akasaka H, Mukumoto N, Yada R, Ejima Y, Yoshida K, Miyawaki D, Kakutani K, Nishida K, Negi N, Minami T, Aoyama Y, Takahashi S, Sasaki R. Application of dual-energy CT to suppression of metal artefact caused by pedicle screw fixation in radiotherapy: a feasibility study using original phantom. *Phys Med Biol.* 2017 Jul 17;62(15):6226-6245. DOI: 10.1088/1361-6560/aa7d7f.

Shimizu Y, Akasaka H, Miyawaki D, Mukumoto N, Nakayama M, Wang T, Osuga S, Inubushi S, Yada R, Ejima Y, Yoshida K, Ishihara T, Sasaki R. Evaluation of a Small Animal Irradiation System for Animal Experiments Using EBT3 Model GAFCHROMIC™ Film. *Kobe J Med Sci.* 2018 Jan 17;63(3):E84-E91.

〔学会発表〕(計 件)

D. Miyawaki, N. Mukumoto, Y. Ejima, K. Yoshida, T. Ishihara, N. Kiyota, M. Saito, N. Otsuki, K.I. Nibu, R. Sasaki. Radiation-Induced Hypothyroidism in Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck: A Dose-Volume Histogram Analysis. 2015 ASTRO Annual Meeting, 2015.10.18, サンアントニオ (アメリカ)

T. Ishihara, K. Yamada, A. Harada, K. Isogai, D. Miyawaki, K. Yoshida, Y. Ejima, R. Sasaki. Hypofractionated Stereotactic Radiation Therapy Compared with Stereotactic Radiosurgery for Brain Metastases from Lung Cancer: Experience at a Single-Institution. 2015 ASTRO Annual Meeting, 2015.10.18, サンアントニオ (アメリカ)

Naritoshi Mukumoto, Masao Nakayama, Hiroaki Akasaka, Ray Cory Uchida, Kenji Umetani, Nobuteru Nariyama, Takeaki Ishihara, Daisuke Miyawaki, Kenji Yoshida, Yasuo Ejima, Ryohei Sasaki. Response of multiple lung metastatic tumor to microplanar irradiation. 日本放射線腫瘍学会第28回学術大会, 2015.11.19, 前橋市 (群馬県)

Tianyuan Wang, Hiroaki Akasaka, Yasuo Ejima, Kenji Yoshida, Daisuke Miyawaki, Takeaki Ishihara, Sachiko Inubushi, Naritoshi Mukumoto, Takumi Fukumoto, Ryohei Sasaki. Assessment of the threshold dose for radiation fibrosis in thoracic esophageal cancer patients. The 29th Annual Meeting of the Japanese Society for Radiation Oncology, 2016.11.25, 京都市 (京都府)

Naritoshi Mukumoto, Ryuichi Yada, Keisuke Okumura, Takuro Nishio, Hiroaki Akasaka, Yasuyuki Shimizu, Takaharu Nishitani, Yuichi Aoyama, Daisuke Miyawaki, Ryohei Sasaki. Assessment of dose calculation accuracy with lung heterogeneity phantom. The 29th Annual Meeting of the Japanese Society for Radiation Oncology, 2016.11.25, 京都 (日本)

Ryuichi Yada, Naoki Hayashi, Naritoshi Mukumoto, Hiroaki Akasaka, Ryohei Sasaki. Influence of the

applied voltage on the ion recombination correction factor using the two-voltage technique in FFF beams. AAPM 59th Annual Meeting & Exhibition, 2017.7.30, デンバー (アメリカ)

Naritoshi Mukumoto*, Ryuichi Yada*, Yasuyuki Shimizu*, Keisuke Okumura, Tianyuan Wang*, Saki Osuga*, Hiroaki Akasaka*, Yuichi Aoyama, Ryohei Sasaki*. Assessment of adaptive radiation therapy with deformable image registration software. AAPM 59th Annual Meeting & Exhibition, 2017.7.30, デンバー (アメリカ)

〔図書〕(計0件)

該当なし

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

該当なし

取得状況(計0件)

該当なし

〔その他〕

ホームページ等

該当なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

宮脇 大輔 (MIYAWAKI, Daisuke)

神戸大学・医学部附属病院・特命講師

研究者番号：30546502

(2)研究分担者

佐々木 良平 (SASAKI, Ryohei)

神戸大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：30346267

江島 泰生 (EJIMA, Yasuo)

獨協医科大学・医学部・准教授

研究者番号：70423233

椋本 成俊 (MUKUMOTO, Naritoshi)

神戸大学・医学部附属病院・特命技術員

研究者番号：70634278

(3)連携研究者

該当なし

(4)研究協力者

該当なし