

令和 2 年 7 月 10 日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K10405

研究課題名(和文) 一般直線2次モデルを用いて不均一な感受性を持つ癌の最適な分割照射を解明する

研究課題名(英文) To clarify the optimum fractionated radiotherapy of cancer with non-uniform radiosensitivity using the general linear quadratic model

研究代表者

関根 広 (Sekine, Hiroshi)

東京慈恵会医科大学・医学部・教授

研究者番号：40187852

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：不均一な放射線感受性をもつモデル化腫瘍(1～5cm)を分割照射して局所制御率とその条件を明らかにする。分割照射は高感受性腫瘍では46Gy/23回、それ以外は60Gy/30回とした。放射線治療による線量・効果関係はLQモデルに時間を変数とするモデルを用いた。腫瘍細胞を完全に死滅させないと局所制御できないと仮定すると、分割照射による局所制御率は臨床報告より極めて低くなった。局所制御に閾細胞数を設定することで局所制御率は臨床的に妥当な値になった。固形腫瘍の局所制御には「total cell kill」は必要ない可能性が高い。近年の研究されている腫瘍免疫やアブスコパル効果などの効果の関与が考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の特徴は、腫瘍の不均一性を放射線感受性の不均一性と相同と仮定して腫瘍モデル(ビッグバンモデル)を作成していることである。従来の数理モデルでは、生残率1(100%)から減少する直線2次モデルであり、生残率と言うよりは縮小率を表しているのと比べ、本研究では腫瘍細胞数の残存数を求めることで、局所制御ができるか検討したことに意義がある。腫瘍細胞数の推定は多数の癌の摘出標本の細胞数を直接カウントしたことに意義がある。

本研究の結果は、通常分割の放射線治療では生残腫瘍細胞を1個以下に減らさなくても局所制御ができていたことを示し、放射線治療の間接効果としての腫瘍免疫などの関与を示唆する結果である。

研究成果の概要(英文)：A modeled tumor (1-5 cm in diameter) with heterogeneous radiosensitivity will be irradiated to clarify the local control rate and its conditions. The fractionated radiotherapy was 46 Gy in 23 times for highly radiosensitive tumors and 60 Gy in 30 times for other tumors. For the analysis of the dose-effect relationship due to radiation therapy, an LQ model incorporating time as a variable was created and used. Assuming that local control cannot be achieved without completely killing the tumor cells, the control rate by fractionated radiotherapy was significantly lower than the previous clinical reports. By setting the threshold cell number for local control, the local control rate became a clinical reasonable value.

Local control of solid tumor likely does not require "total cell kill". Involvement of effects such as tumor immunity and abscopal effect, which have been studied in recent years, is considered.

研究分野：放射線治療

キーワード：放射線治療 分割照射 直線2次モデル 線量・効果関係 放射線感受性 癌細胞数

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1)放射線治療の線量効果関係のシミュレーションモデル(LQ モデル)では、想定した腫瘍の放射線感受性のパラメーター (α, β) によって一意的に決まってしまう。このモデルでは分割間隔の概念が導入されていないために、照射に伴う腫瘍の反応性や再増殖を説明することができなかった。

(2)放射線治療後の再発を観察すると、再発部位が必ずしも線量の低い部位(コールドスポット)ではない。腫瘍組織の遺伝子解析で、部位によって遺伝子配列に変異が認められることが示されてきた。このことは、癌の発生初期に遺伝子が突然変異を繰り返し多クローン性な癌組織が形成されることを示唆している。ここから、悪性腫瘍の発生についてビッグバンモデルが提唱されている(1,2)。

2. 研究の目的

不均一な放射線感受性腫瘍モデルを作成し、分割照射を行ったときの線量時間効果関係から最適な照射について解明することである。

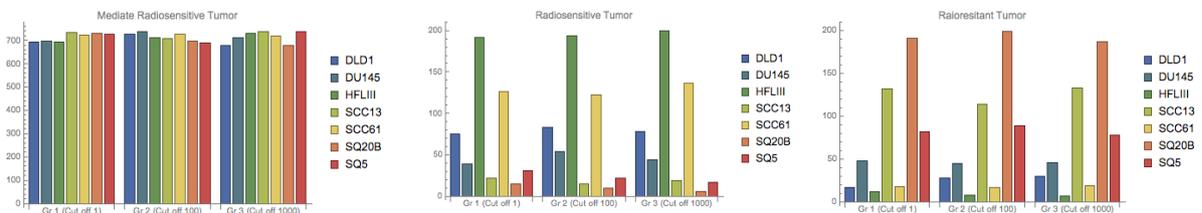
3. 研究の方法

(1) 不均一な放射線感受性腫瘍モデルの作成

ここでは癌が増殖するに従い放射線感受性も不均一になるとする。ビッグバンモデルのシミュレーションの仮定は以下のとおりとした。

- 腫瘍は単クローン性に倍加して増殖する。
- その発生の初期段階で突然変異を起こして異なるクローン性(放射線感受性)を獲得する。
- 各クローンの倍加時間は腫瘍の体積倍加時間の推定値を平均とするポアソン分布に従うとする。
- 発生するクローンは培養実験で用いている7種類の細胞(右表)のいずれかの放射線感受性をランダムに与えられる。放射線感受性が最も高いのが HFLIII で最も低い(抵抗性)のが SQ20B である。
- 癌によって放射線感受性の高・中・低があり、これは平均的な感受性で有り、突然変異を繰り返すときこの感受性の重みを賦与して上記の感受性のクローンが出現するとした。
- 放射線中感受性と高感受性腫瘍について、Big Bang モデルに基づき初発のクローンの分布を以下に示す。中感受性腫瘍は5000個、高感受性、低感受性腫瘍は500個作成した分布である。

Cell Line	α	β	α/β
SQ20B	0.10	0.028	3.7
SCC13	0.25	0.024	10.5
SQ5	0.25	0.025	10.1
DU145	0.22	0.038	5.9
DLD1	0.29	0.041	7.0
SCC61	0.34	0.037	9.1
HFLIII	0.58	0.073	8.0



(2) GLQ model による線量・時間・効果関係から局所制御の有無を判定する

腫瘍に対する分割照射後の線量・効果関係はLQモデルに従うと言われているが、時間因子を組み込んだGLQモデルにより時間・線量・効果関係式を作成した(以下式)。

$$Sf(t, t_i) = N_0 \left\{ p \prod_{i=1}^n \text{Exp} \left[-(\alpha d + \beta d^2) f_{cont}(t, t_i) \right] + k \prod_{i=1}^n \text{Exp} \left[-(\alpha d + \beta d^2) f_{apo}(t, t_i) \right] \right\} g(t)$$

N_0 は $t=0$ の時の腫瘍細胞数、分裂死の比率(p)、間期死の比率(k)、 $p+k=100$ (%)、 $g(t)$ は腫瘍の増殖関数。

t_i : 分割回数 i での治療期間 ($i=1 \sim n$)

分裂死の場合

$$f_{cont}(t, t_i) = 1 - \text{Exp} \left[\frac{-(t - t_i) \text{Log}(2)}{t_{1/2}} \right]$$

間期死の場合

$$f_{apo}(t, t_i) = 0, \quad (t < t_i)$$

$$f_{apo}(t, t_i) = 1, \quad (t \geq t_i)$$

腫瘍の増殖

$$g(t) = \text{Exp} \left[\frac{t \cdot \text{Log}(2)}{t_{dt}} \right]$$

t_{dt} : 体積倍加時間

	乳癌	悪性リンパ腫	神経膠芽腫
平均	457x10 ³	843x10 ³	452x10 ³
中央値	405 x10 ³	778 x10 ³	415 x10 ³
最小値	113 x10 ³	392 x10 ³	228 x10 ³
最大値	1200 x10 ³	1412 x10 ³	765 x10 ³

表 1. 1mm³中の腫瘍細胞数

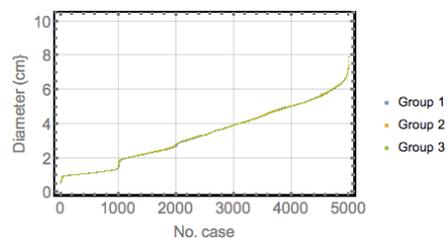
(3) 単位体積中に占める腫瘍細胞数の測定

放射線治療では照射する腫瘍内の癌細胞数を知ることはできない。そこで、様々な腫瘍の単位体積当たりの腫瘍細胞数を、手術で摘出した標本を対象として計数した。放射線感受性の異なる腫瘍として、乳癌、悪性リンパ腫、脳腫瘍（悪性神経膠腫）を対象とした。乳癌と悪性神経膠腫で1mm³中に約45万個、悪性リンパ腫（びまん性大細胞性）では約84万個と多い細胞を認めた。間質がなく腫瘍が密に集簇しているためである（表1）。

(4) 不均一な放射線感受性をもつ腫瘍の局所制御率

分割照射の時間・線量・効果関係は一般化LQモデル（GLQ model）に従うとする。

ビッグバンモデルに従い増殖する腫瘍が直径0.5cm～6cmの間にあるときに放射線治療を開始する。乳癌と悪性神経膠腫をそれぞれ放射線中感受性および低感受性として、60.0Gy/30回/6weeksを、悪性リンパ腫を高感受性として46.0Gy/23回/4.5weeks照射する計画を立てる。乳癌では5,000例を1群として3群作成し、リンパ腫と神経膠腫は500例を1群として3群作成した。同様に500個の腫瘍細胞を発生させて、60Gy/30回/6週の分割照射を行った。乳癌を想定して作成した腫瘍モデル5,000例3群の照射時の腫瘍の直径を図示した。3群で有意差はない。リンパ腫と悪性神経膠腫でも同様に有意差はなかった。



照射後の細胞数が全てのクローンで1未満になれば局所制御とし、いずれかのクローンで最小値が1以上であれば不制御とした。

捕捉研究として、局所制御の条件として「total cell kill」でなく、閾細胞数を設定して、敷地未満になれば局所制御できるとして局所制御率の変化を検討して。

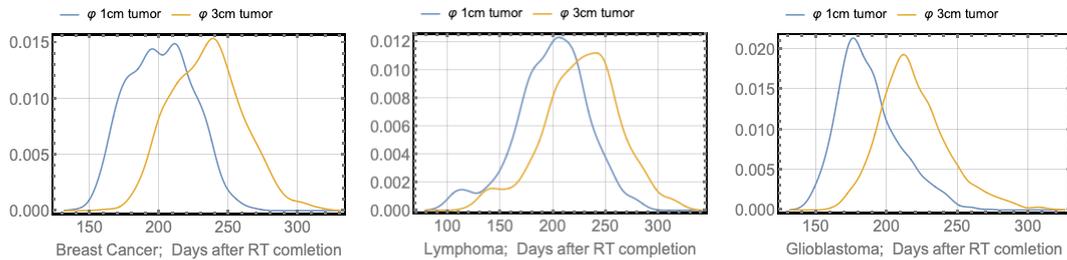
局所制御できなかった場合は、腫瘍は再増殖して直径 1cm および 3cm になるまでの照射終了からの日数を測定した。

4. 研究成果

- (1) 腫瘍が大きい方が局所制御は難しい。
- (2) 腫瘍内のクローン数が多いほど局所制御は難しい。
- (3) クローン数が 1 個でも局所制御が困難な場合がある。
- (4) SQ20B のような放射線抵抗性クローンが含まれると、腫瘍が小さくても局所制御が困難な場合がある。
- (5) 局所制御に Total cell kill が必要とした場合には、放射線感受性の如何に関わらず、極めて局所制御率は低くなり、多くの臨床報告との不一致を示した。

閾細胞数	<1			<100			<1,000		
	乳癌	リンパ腫	神経膠腫	乳癌	リンパ腫	神経膠腫	乳癌	リンパ腫	神経膠腫
Control Rate (%)	8.72	16.0	1.0	30.98	39.8	10.4	47.42	65.8	27.4

(6) 腫瘍の局所制御が失敗したとき、腫瘍は再増殖する。再発する腫瘍が肉眼的に再発を疑う大きさとして直径 1cm として、さらに再発を確信する大きさとして直径 3cm の腫瘍になるまでの照射終了からの日数を算定した。下記に、乳癌、リンパ腫、悪性神経膠腫の場合を示す。



直径 1cm までの腫瘍になるまでの日数の中央値は乳癌、リンパ腫、悪性神経膠腫でそれぞれ 200 日、201 日、184 日であり、更に 3cm の腫瘍になるのはそれぞれ 235 日、228 日、216 日であった。1cm～3cm になるまでは乳癌で 35 日、リンパ腫で 27 日、悪性神経膠腫で 31 日であった。

放射線感受性が中等度の腫瘍に対して根治線量として 60.0Gy/30fr/6weeks、高感受性の悪性リンパ腫では 46.0Gy/23fr/4.5weeks は標準的な線量として妥当とされている。この分割照射で治療した腫瘍の局所制御率は、本シミュレーションの結果、局所制御率としては” Total Cell Kill” を仮定した場合はきわめて低い値であった。局所制御が得られる残存細胞の Threshold をそれぞれ 100、1000 と仮定することで、臨床的な局所制御率に近くなることがわかった。固形腫瘍の放射線治療による局所制御には” Total Cell Kill” は必須では無い可能性がある。例えば、癌細胞が宿主の免疫から逃れる機構を放射線が断ち切り、宿主の免疫が発動されるようになる可能性が考えられる。放射線に直接曝露した細胞だけでなく、その周囲の直接放射線に曝露していない細胞も放射線の影響を受けるというバイスタンダー効果により、GLQ モデルにより導かれる細胞死以上の致死効果が発現される可能性も考えられる。

放射線感受性が中等度の腫瘍では局所再発には放射線抵抗性クローンの存在が決定的である。一方、放射線高感受性腫瘍では、増殖しても放射線抵抗性クローンはほとんどサブクローンとして出現しないため、再発の要因としての放射線抵抗性クローンは決定的では無い。

局所再発が起こる時期は照射終了後 6～7 ヶ月が最も多くなるので、この時期の経過観察は一月の間隔で行う必要が示唆される。

<引用文献>

1. Gerlinger M, Rowan AJ, Horswell S, et al. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *N Engl J Med.* 2012; 366:883-892.
2. Sottoriva A, Kang H, Ma Z, et al. A Big Bang model of human colorectal tumor growth. *Nat Genet.* 2015;47:209-216.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 関根 広、木下真実、池上雅博
2. 発表標題 乳癌組織の単位体積中に占める腫瘍細胞数の測定
3. 学会等名 第26回日本乳癌学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 関根 広、池上雅博
2. 発表標題 放射線治療では「Total Cell Kill」は必要か
3. 学会等名 第56回日本放射線腫瘍学会生物部会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 関根 広
2. 発表標題 ビッグバンモデルの基づき増殖する腫瘍に対する分割照射後の局所再発について
3. 学会等名 日本放射線腫瘍学会生物部会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 関根 広
2. 発表標題 ビッグバンモデルに基づき増殖する腫瘍に対する放射線治療後の局所再発の要因を解析する
3. 学会等名 WOLFRAMコンファレンス2016TOKYO（招待講演）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 関根 広、池上雅博、本下真実、阿部文代
2. 発表標題 放射線治療では「Total Cell Kill」が必要か-悪性リンパ腫での解析
3. 学会等名 第57回日本放射線腫瘍学会生物部会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>一般直線2次モデルを用いて不均一な感受性を持つ癌の最適な分割照射を解明する https://radbiolog.jp</p>

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考