

機関番号：12301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20790880

研究課題名（和文）

放射線照射後の肝障害シグナル伝達機構の解明とHGFによる修飾について

研究課題名（英文）

Signaling mechanism and the role of HGF for radiation-induced liver damage

研究代表者

今枝 真澄（IMAEDA MASUMI）

群馬大学・医学部・医員

研究者番号：30451727

研究成果の概要（和文）：

未照射群および15Gy照射群では長期生存を認めたのに対し、30Gy照射群では4週以降に徐々に死亡が確認され、長期生存は2割程度であった。15Gyおよび30Gy照射群では照射後4週程度で肝細胞障害と再生現象が出現しており、30Gy照射群では肝障害での死亡が示唆されたが、いずれの群でも明らかな肝線維化の所見は認めなかった。照射後4週までの肝組織内のTGF-beta発現は照射線量依存性に有意に発現の上昇を認めた。血清中アルブミン値は2週まで徐々に低下し4週以降で回復する傾向にあった。

研究成果の概要（英文）：

In the control (0Gy) and 15Gy groups, all mice survived but 80% of the mice in the 30Gy group died 6 months after irradiation. TGF-beta expression was significantly induced from 1 day to 4 weeks in the 15Gy and 30Gy groups compared with the control and 5Gy groups. Plasma albumin was decreased immediately after liver irradiation but was gradually resolved 4 weeks after irradiation. Similarly, recovery from liver damage 4 weeks after 30Gy and 15Gy irradiation was observed using the immunohistochemical staining method but no liver fibrosis was detected. TGF-beta may predict radiation-induced liver damage and death from the damage without a close relationship with liver fibrosis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,800,000	540,000	2,340,000

研究分野：放射線障害

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：放射線照射後肝障害、TGF-beta

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 放射線照射による癌治療は治療装置および治療計画コンピュータの導入により、高精度に照射する技術が飛躍的に向上し、“ピンポイント”に放射線照射を行えるようになった。しかしながら、こうした最新の技術を応用しても、照射範囲内に放射線に感受性の高い正常組織が存在する場合には、放射線線維症などにより、照射後にその正常機能を損なうことが問題となることが少なくない。QOLの高い治療を指向するためにも、放射線生物学的研究を強力に推進し、放射線による有害事象をできる限り、軽減する努力が必要である。

(2) 肝細胞癌は肝炎ウイルスによる慢性肝障害から誘発された肝硬変を経過して発生するため、肝細胞癌の患者の大部分は肝硬変を合併し、中等度から高度の肝機能異常を有している。さらに、病変が単発ではなく多発しているケースも多い。このため、手術不能症例となる症例が多く、その代替の根治的治療として、低侵襲治療である高精度放射線治療の重要性が高まっている。

しかしながら、最新技術を応用した高精度ピンポイント照射をもってしても、中線量(30Gy)以上を照射した場合、照射範囲内の肝臓には後々線維化が生じるため、肝機能異常を有している症例に与える影響は無視できない。

(3) HGF は肝再生因子として同定され、その後広い細胞特異性を持つ多彩な生物活性が明らかになり、発生過程では多く器官の形成に関与する器官形成因子として機能する一方、成体では組織器官の維持・修復を担う

再生因子としてはたらいている。HGF は肝細胞の増殖、再生において重要な役割を果たす

とともに、肝細胞のアポトーシスを抑制するはたらきも認められる。一方で TGF-beta は細胞増殖の促進や抑制、細胞外マトリックスの産生促進、細胞の密着性や遊走性の制御、アポトーシスの誘導などの作用があり、これらの機能のバランスを取りながら、組織の形成や改変を制御しているサイトカインである。肝の組織障害により過剰産生された TGF-beta は肝の線維化へ大きな役割を果たしていると考えられる。肝への放射線照射での晩期有害事象としての肝線維化の発生メカニズムにおける TGF-beta, またその細胞内シグナル伝達物質である smad の役割と、HGF による修飾作用について検討する。

## 2. 研究の目的

肝への放射線照射における肝障害および肝線維化発生メカニズムを解明するために、とくに TGF-beta に注目し、これらの放射線照射後の肝細胞での発現の変化と線維化との関連を分子生物学的に研究する。

## 3. 研究の方法

### (1) 肝障害モデルラットの作成

6週齢雄ラットを麻酔下で開腹し、肝臓を露出させ、肝臓の背側にタングステン鉛板を挿入、肝背側腸管への照射を避けるようにセットした状態で肝への選択的照射を行った。照射群は 15Gy および 30Gy の 1 回照射を施行し、未照射群、各線量群での生存と死亡時の組織を検討した。

## (2) 照射線量別経時的変化の検討

未照射群・5Gy・15Gy・30Gy 群の照射後 24 時間・1 週・2 週・4 週で血清及び肝組織を採取。血清肝酵素やアルブミン値の変化の検討、およびパラフィン切片にて肝組織の線維化の検討および免疫染色にて TGF-beta 発現の経時的変化について検討した。

## (3) 長期的な検討

長期的な検討は(1)の結果より未照射群および 15Gy 群にて施行することとした。照射後 24 時間・1 週・2 週・4 週に加え照射後 12 週・24 週・40 週で血清および肝組織を採取し、血清肝酵素やアルブミン値の変化の検討、およびパラフィン切片にて肝組織の線維化の検討および免疫染色にて TGF-beta 発現の経時的変化について検討した。また、肝障害および再生の検討として MIB-1 染色、TUNEL 染色を行い線量別経時的変化の検討を追加した。

## 4. 研究成果

(1) 未照射群および 15Gy 照射群では照射 6 か月時点で全例生存していたのに対し、30Gy 群では照射後 4 週以降に徐々に死亡が確認され、6 か月以上の長期生存は 2 割程度であった(図 1)。死亡ラットについては解剖を行った結果、明らかな腸管穿孔などの消化管障害は認めなかった。病理学的には肝組織に肝障害の所見、およびアポトーシス細胞の有意な増加を認めた。さらに、照射 4 週後からは MIB-1index の有意な増加を認め、病理学的な肝障害の程度には線量依存性があるものと考えられた。しかしながら、いずれの群でも死亡例および長期生存において明らかな肝線維化の所見は認められなかった。

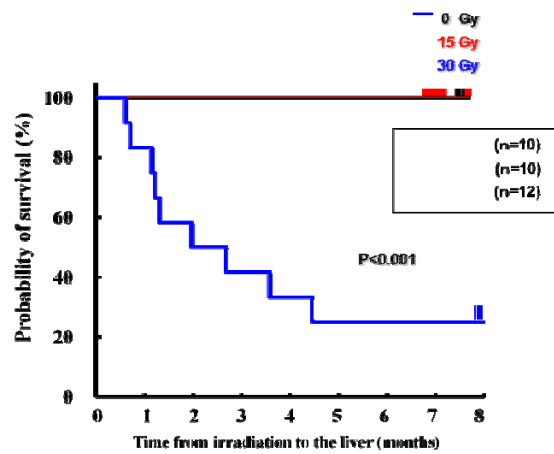


図 1 線量別生存割合

(2) 肝組織での TGF-beta 発現は線量依存性に有意に上昇を認めたものの、15Gy 群と 30Gy 群では照射 4 週目では発現率の差は消失した。

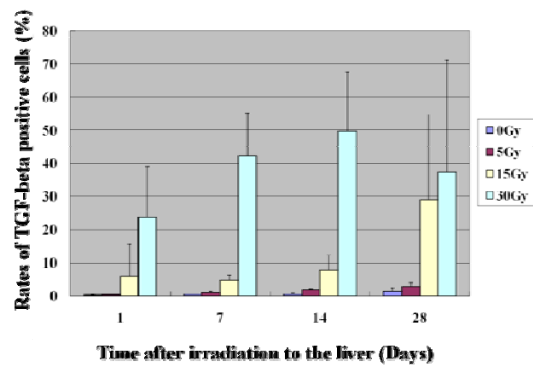


図 2 TGF-beta 発現の線量別経時的変化

(3) 長期的な経時的変化の観察については(1)の結果から、30Gy 照射群では困難と考えられたため、未照射群および 15Gy 照射群で行うこととした。

TGF-beta 発現については 15Gy 照射群で 24 週まで徐々に上昇し、40 週では減少していた。血清アルブミン値は照射 2 週後より低下し、4 週以降徐々に回復する傾向にあった。

15Gy では肝の線維化は認められず、マウスの死亡も 40 週までは認められなかった。これらは肝細胞の肝障害からの回復による結果と考えられ、TGF-beta とアポトーシスが肝障害の予測マーカーとなるものの、修復過程を予測するモデルの開発が重要と考えられた。

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)

6. 研究組織  
(1) 研究代表者

今枝 真澄 (IMAEDA MASUMI)

群馬大学・医学部・医員

研究者番号：30451727