

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 30 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461915

研究課題名(和文)放射光を用いた高精細格子状照射による腫瘍および正常組織の生物学的効果の基礎的研究

研究課題名(英文)synchrotron micro beam irradiation for tumors and normal tissue

研究代表者

西村 英輝(Nishimura, Hideki)

神戸大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：80444610

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)：高輝度放射光設備(Spring-8)から供給される放射光を用いて、正常脳組織および脳腫瘍に対する高精細格子状照射(MRT)の研究を行った。マウスの脳に対するMRTでは、ビーム間隔300 μ mの照射において、50%致死線量が600Gyと、従来の照射方法と比し極めて高線量の照射が可能であった。病理標本においてもMRT照射後は脳組織が保存されていた。マウスの正常脳の耐用線量は、高精細格子状照射におけるピーク部の線量よりも、谷となる低線量域の線量において規定されている可能性が示唆された。

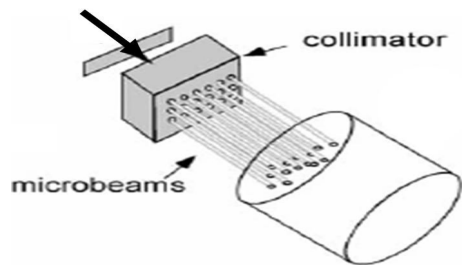
研究成果の概要(英文)：Micro beam radiation therapy (MRT) allows for extremely high-dose irradiation. However, the toxicity of MRT in central nervous system (CNS) is still unknown. We evaluated mortality in normal mice following CNS-targeted MRT. MRT using synchrotron X-ray beam was performed using BL28B2 beam-line at the Spring-8 facility. Fifty percent lethal dose by the 300 micrometer spacing MRT was 600 Gy. Our results indicated that the MRT enable to deliver extremely high doses without loss of normal brain function. Our results suggest that normal tissue damage in MRT is related to the valley dose in regardless of the peak dose and peak valley dose ratio.

研究分野：放射線腫瘍学

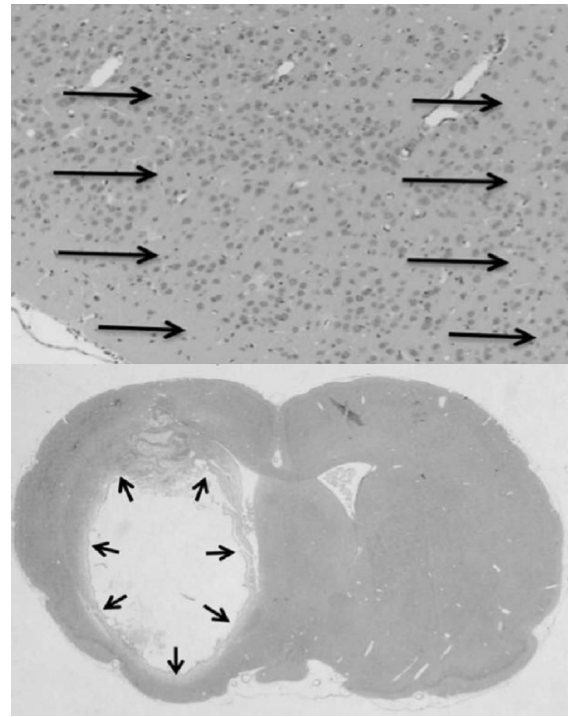
キーワード：Spring-8 格子状照射 マイクロビーム 放射線治療 放射光

1. 研究開始当初の背景

SPring-8 から供給される放射光を用いた高精細格子状照射 (microbeam radiation therapy: MRT) とは、従来の放射線治療のようにターゲットに対して均一な照射を行わず、ターゲット内を格子状に照射を行う照射法である。通常の放射線治療においても格子照射の臨床研究は散見されるが、これらの多くは根治困難な進行腫瘍に対して姑息的に用いられることが多く、有効性に関しては十分な知見が得られていない。これは、通常のエックス線による格子照射は格子幅が数センチと大きく、周囲正常組織に対する障害が問題となることが原因と考えられる。また、抗腫瘍効果に関しても格子幅が大きいため非照射部位での抗腫瘍効果が充分期待できないことも原因と考えられる。通常の X 線は指向性が高くなく、細かいグリッド状のマイクロビームを形成することが困難であったが、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。



MRT 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。これまでの研究成果から、MRT 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 ~ 500Gy という大線量での 1 回照射が施行されている。従来の放射線腫瘍学の概念から考えると、格子照射では、腫瘍内に格子状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、これまでのデータで、照射されていない valley 部位の腫瘍組織までも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。一方、正常組織反応においては格子状に照射される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ごく僅かであり、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ことが確認されている。



MRT を用いた高精細格子状照射では peak 部に通常の放射線治療では実現できない大線量を照射しつつ、valley 部の線量を抑えることにより、従来の照射法では得られなかった強力な抗腫瘍効果を正常組織障害を増強させることなく得ることが期待される。

2. 研究の目的

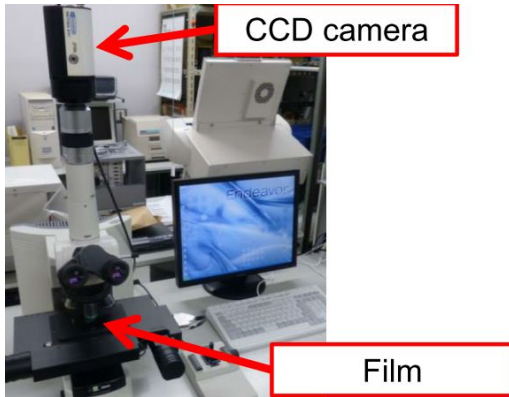
MRT では極めて微細なビームを用いるため、格子内の照射部と非照射部がどのような線量プロファイルになっているかは現在まで十分な検討が行われていない。しかし、最適な治療法の確立のためには正確なビームプロファイルの取得が重要となる。本研究ではファントムとガフクロミックフィルムを用いて、照射線量の物理的特性の解析を行った。特に、格子状照射における照射部 (peak) と非照射部 (valley) における照射線量比は、抗腫瘍効果・正常組織反応において大きな因子と考えられるため、格子幅の変化による線量分布の違いを検証する。また、マウスを用いた実験により MRT による高精細格子状照射後の正常組織および腫瘍組織に対する効果を解析する。

3. 研究の方法

照射実験として、兵庫県播磨の高輝度光科学研究センター (SPring-8) の BL28B2 第 2 光学ハッチを用いた。

・MRT における線量分布の解析にはガフクロミックフィルム HD-V2 および EBT3 を用いた。HD-V2 の線量範囲は 10-100Gy、EBT3 の線量範囲は 1cGy から 40Gy であり、それぞれ MRT の peak と valley の測定に使用した。照射後のフィルムの濃度解析には光学顕微鏡と CCD カ

メラを用い、解析ソフトを用いて線量の解析を行った。



・動物実験では、6週令の雄のマウス(C57BL/6)を用いた。ペントバルビタールナトリウムを腹腔内投与し麻酔したマウス頭部を定位の固定フレームを用いて固定し照射を行った。照射はブロードビームによる通常照射と、スリットビームを用いたMRT、ならびに、MRTのビーム間隔を100 μ m、200 μ m、300 μ mと変化させた照射を行った。照射後マウスは継時的に観察し、照射後90日の生存割合を解析した。



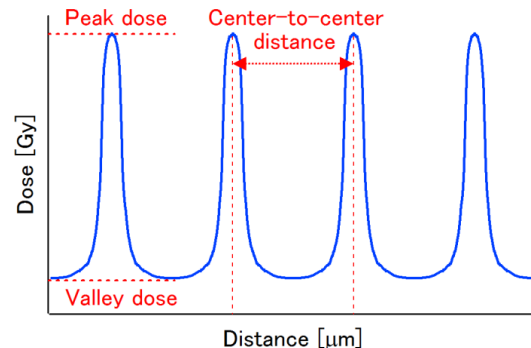
・照射後マウス脳の病理組織学的評価を行った。マウスより摘出後の脳をパラホルムアルデヒドにて還流し、パラフィン固定し、薄切標本作製した。標本はHE染色を行い、照射後脳の形態学的変化の観察を行った。

すべての動物実験はSPing-8ならびに神戸大学の動物実験実施規則に則って施行した。

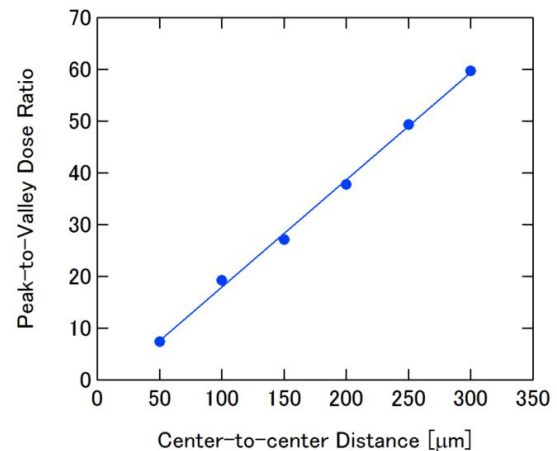
4. 研究成果

・MRTにおける線量分布の解析

MRTのビーム間隔(Center-to Center)を50 μ mから300 μ mまで50 μ m刻みで変更して、スリット幅によるpeak線量ならびに、valley線量を変化を測定した。

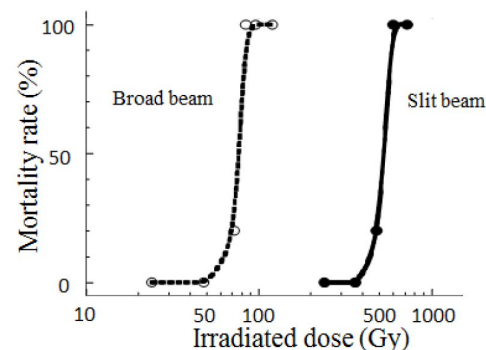


照射線量のピークと谷の線量比はビーム間隔100 μ m、200 μ m、300 μ mでそれぞれ、19、38、60であった。Peakとvalleyの線量比はMRTのスリット幅と相関していた。

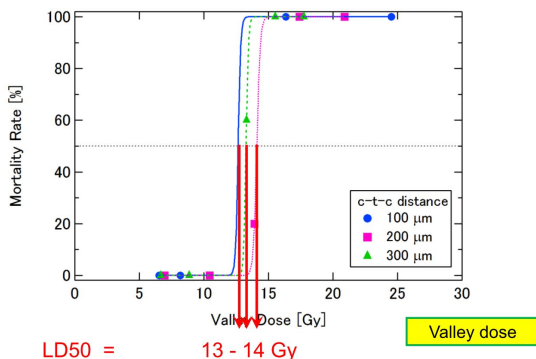
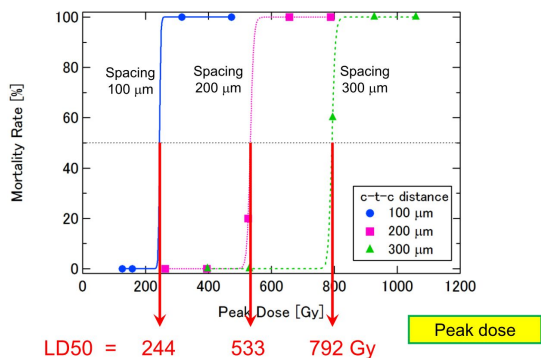


・マウス照射後の致死線量の測定

ブロードビーム照射ならびにスリットビームによるMRT照射後のマウスの生存観察を行った。MRTによる照射後のマウスはブロードビームによる照射に比し明らかに致死率が低かった。MRTによる50%致死線量ならびに100%致死線量はそれぞれ600Gyならびに720Gyであったのに対し、ブロードビームによる50%致死線量、100%致死線量はそれぞれ80Gy、96Gyであった。

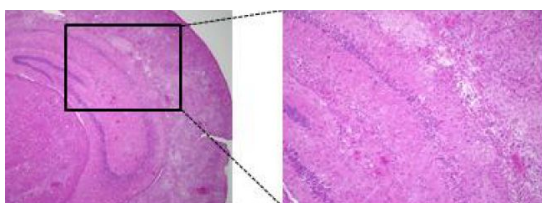


同様に、MRT のビーム間隔を 100 μm 、200 μm 、300 μm とし、マウスに MRT を施行し、MRT 後の致死線量の測定を行った。ビーム間隔 100 μm 、200 μm 、300 μm それぞれでの 50%致死線量は peak 部では 244、533、792Gy であった。一方、50%致死線量となる valley 線量はそれぞれ 13、14、13Gy であった。これらの結果からは、スリット照射を行った際の正常脳の耐用線量は peak 部の線量よりも、valley 線量に依存する可能性が示唆された。

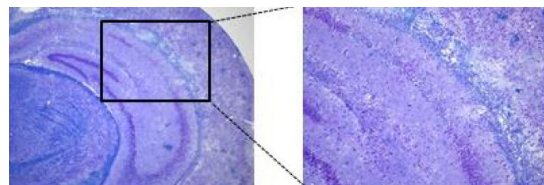


・照射後脳の組織学的評価

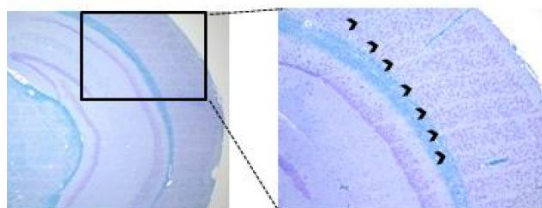
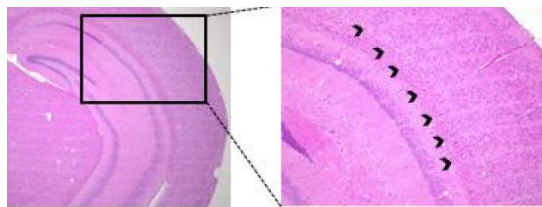
ブロードビーム 120Gy および MRT による 480Gy 照射後の脳組織の病理組織学的検索を行った。HE 染色および Klüver-Barrera 染色による評価を行った。ブロードビーム照射後の脳では広い範囲で神経細胞の脱落や脱髄、出血が観察された。さらに 120Gy のブロードビーム照射では 13 日以内にすべてのマウスが死亡した。一方、MRT 照射では peak に相当する部位に限局した神経細胞の脱落は見られるものの脱髄は見られなかった。MRT の 480Gy 照射では、80%のマウスが 90 日間生存した。



(ブロードビーム照射 HE 染色)



(ブロードビーム照射 Klüver-Barrera 染色)



(MRT 照射 HE 染色(上段)と Klüver-Barrera 染色(下段))

これらの結果から、MRT では従来の放射線治療では困難であった高線量の照射が可能であり、高線量照射を行っても脳組織は保たれ、多くのマウスが長期間生存可能であった。また、脳の耐用線量は valley 線量によって規定される可能性が示唆された。

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)

[雑誌論文](計3件)

1) Naritoshi Mukumoto, Masao Nakayama, Hiroaki Akasaka, Yasuyuki Shimizu, Saki Osuga, Daisuke Miyawaki, Kenji Yoshida, Yasuo Ejima, Yasushi Miura, Keiji Umetani, Takeshi Kondoh, Ryohei Sasaki
Sparing of tissue minimizes neurotoxicity when using micro-slit beam versus broad beam radiation therapy
J Radiat Res. 査読有 In press

2) 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. 査読有 In press

3) Nakayama M, Yoshida K, Nishimura H, Miyawaki D, Uehara K, Okamoto Y, Okayama T, Sasaki R.

Effect of heterogeneity correction on dosimetric parameters of radiotherapy planning for thoracic esophageal cancer. Med Dosim. 査読有、2014;39(1):31-3.

〔学会発表〕(計6件)

1) Masao Nakayama, Naritoshi Mukumoto, Hiroaki Akasaka, Daisuke Miyawaki, Hideki Nishimura, Keiji Umetani, Takeshi Kondoh, Ryohei Sasaki

Effects of the synchrotron X-ray microbeam spacing on mouse normal brain tissue
日本放射線腫瘍学会第28回学術大会 ベイシア文化ホール・前橋商工会議所会館 (群馬県) 2015/11/19-21

2) Naritoshi Mukumoto, Masao Nakayama, Hiroaki Akasaka, Ray Cory Uchida, Keiji Umetani, Nobuteru Nariyama, Takeaki Ishihara, Daisuke Miyawaki, Kenji Yoshida, Yasuo Ejima, Ryohei Sasaki

Response of multiple lung-metastatic tumor to microplanar beam irradiation
日本放射線腫瘍学会第28回学術大会 ベイシア文化ホール・前橋商工会議所会館 (群馬県) 2015/11/19-21

3) Hideki Nishimura, Hiroshi Mayahara, Aya Harada, Naoki Hashimoto, Haruka Uezono, Toshiyuki Ogata, Masao Nakayama, Kazuyuki Uehara, Shinji Tsudo, Yasuo Ejima, Daisuke Miyawaki, Ryohei Sasaki, Masahiko Fujii
Salvage radiotherapy for recurrent head and neck malignant tumors using Cyberknife Radiosurgery System
ICRR2015 (International Congress of Radiation Research) 2015/05/25-29 京都国際会議場(京都府)

4) Naritoshi Mukumoto, Hiroaki Akasaka, Masao Nakayama, Yasushi Miura, Daisuke Miyawaki, Keiji Umetani, Nobuteru Nariyama, Kunio Shinohara, Takeshi Kondoh, Ryohei Sasaki

Tolerance for Micro-slit beam X-ray radiation to Central Nervous System
ICRR2015 (International Congress of Radiation Research) 2015/05/25-29 京都国際会議場(京都府)

5) Masao Nakayama, Naritoshi Mukumoto, Hiroaki Akasaka, Daisuke Miyawaki, Hideki Nishimura, Keiji Umetani, Nobuteru Nariyama, Takeshi Kondoh, Kunio Shinohara,

Ryohei Sasaki

Dose Estimation Of Normal Brain Tissue Tolerance For Microbeam Radiation Therapy
56th Annual Meeting ASTRO (米国放射線腫瘍学会) 2014/09/14-17 サンフランシスコ(USA)

6) Hideki Nishimura, Kazuyuki Uehara, Hiroshi Mayahara, Aya Harada, Toshiyuki Ogata, Masao Nakayama, Yasuo Ejima, Daisuke Miyawaki, Ryohei Sasaki, Masahiko Fujii

Dosimetric analysis of SBRT for hepatic tumors using Varian TrueBeam and flattening filter free (FFF) beams
第73回日本医学放射線学会総会、2014/04/10-13 パシフィコ横浜(神奈川県)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西村 英輝 (NISHIMURA, Hideki)

神戸大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：80444610

(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

(3) 連携研究者

吉田 賢史 (YOSHIDA, Kenji)

神戸大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：80351906