

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 2 日現在

機関番号：11501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26860975

研究課題名(和文) 膠原病モデルマウスを用いた放射線障害増強のメカニズムの解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of radiation damage enhancement using collagen disease model mouse

研究代表者

市川 真由美 (ichikawa, mayumi)

山形大学・医学部・助教

研究者番号：20466634

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：RAモデルマウスとSLEモデルマウスと正常コントロールマウスを対象とし、左肺のみに20Gyおよび30Gyの単回照射を行った。皮膚炎は評価スコアで評価した結果、30Gy照射群で疾患モデルマウス2群共にスコアが高く、皮膚炎が遷延した。照射後7、14、28、56、84日目の皮膚組織学的評価は、各群ともに28日目で表皮肥厚が目立ち始め、56日目でコントロール群は表皮肥厚が正常化してきたが、疾患モデルマウス群は共に表皮肥厚が著明で、この反応は84日目でも観察された。肺組織学的評価では、各群ともに間質の肥厚や炎症細胞の浸潤がみられ、疾患モデルマウスでその程度は強かったが血管炎を反映している可能性があった。

研究成果の概要(英文)：We studied whether radiation damage was increased in collagen disease model mice. We irradiated RA model mice, SLE model mice and C3H/HeJ mice as normal control. We performed only on the left lung for 20 Gy and 30 Gy. Dermatitis was evaluated by the score. Both the collagen disease model mice groups had high scores and the dermatitis prolonged in the 30 Gy irradiation groups. In the histological evaluation at 7, 14, 28, 56, and 84 days after irradiation, epidermal hypertrophy began to be conspicuous on the 28th day in each groups. Although Epidermal hypertrophy in the control group was improved on the 56th day, it was not improved in both disease model mouse groups, and this response was also observed on day 84. In pulmonary histological evaluation, the interstitial thickening and the infiltration of inflammatory cells were gradually observed in each group compared with non-irradiated lungs, but it may reflected a vasculitis in disease model mice.

研究分野：放射線腫瘍学

キーワード：放射線障害 放射線皮膚炎 膠原病モデルマウス

1. 研究開始当初の背景

膠原病患者 (Collagen Vascular Disease) に対する放射線療法は以前から、急性皮膚反応および粘膜反応の増強、皮下組織の線維化や潰瘍を伴う皮膚壊死、脳神経麻痺、肺臓炎などの晩期有害事象による死亡の報告が散見されるため、例えば乳癌診療ガイドラインでは「膠原病のうち活動性の強皮症や全身性エリテマトーデスを合併している患者には全乳房照射は基本的には勧められない」とされている。しかし、これらの報告は症例報告がほとんどで放射線照射によって急性期、晩期有害事象の増強が有意差を持ってあると言い切れるデータはなく、議論が続いている。また、CVD の活動性や種類の違いによって有害事象の発生率に差があるのか、照射線量や部位によって有害事象の発生率に差があるかの確証もない。

一方で日常臨床上、CVD 合併癌患者に放射線療法の適応があるかとの相談は少なくなく、適応判断に迷うことも多い。実際には活動性病変合併の場合は適応外と判断せざるを得ず、また行う場合は我々の施設では、通常よりも1回線量、総線量ともに1割少なくしている。しかしその妥当性については不明であった。

2. 研究の目的

本研究ではCVD症例で放射線照射によって正常臓器の耐容線量が低下するのかわからないのかを調べるために、疾患モデルマウスを用いた研究でその傾向を把握し、定性的・定量的に検討、実験モデルの確立を目指した。

3. 研究の方法

a) 使用マウス

関節リウマチ (RA) モデルマウスとして McH/ *lpr/lpr*-RA1 マウスを用いた¹⁾。このマウスは関節強直を自然発症する近交系マウスで、その他に唾液腺炎も発症する。

全身性エリテマトーデス (SLE) モデルマウスとして NZB/W F1 マウスを用いた。このマウスは New Zealand black (NZB) mouse の

メスと New Zealand White (NZW) mouse のオスを交配させて生まれたメスのマウスでヒトの SLE に近い疾患モデルとされている。特徴は抗核抗体や抗 ds-DNA 抗体などが産生され、免疫複合体が血中に形成され、これによる糸球体腎炎が起こるとされており、この経過がヒトの SLE に類似している。

正常コントロールマウスとしては C3H/HeJ マウスを用いた。近交系マウスで遺伝子的なバックグラウンドが揃っているという特徴がある。

b) 実験方法

前述のマウス3群に対し、照射前に三種混合麻酔薬 (ドミツール、ドルミカム、ベトルファール) を腹腔内投与しマウスを鎮静した後、テープで固定。左胸部以外を鉛板で遮蔽した。



X線照射は当大学動物実験施設内に設置されている X線照射装置 X線照射システム (TITAN-225S: 管電圧 220KV、管電流 14mA、フィルタ Cu0.5mm, Al 0.5mm、線量率 1 Gy/分、field size 24cm) を用いて 20Gy と 30Gy の単回照射を行った。照射後は拮抗薬を投与し、速やかに鎮静解除した。

c) 評価方法

スコア評価

急性皮膚反応である放射線皮膚炎は Douglas ら²⁾ が提唱した皮膚炎スコアを一部改変し 0-3.5 までの 0.5 間隔で評価し、照射終了後より週 3 回観察し、平均スコアの推移をみた。図 1)

図 1) マウスの皮膚反応のスコア

0	変化なし
0.5	わずかな変化
1	発赤出現
1.5	小範囲の皮膚乾燥
2	広範囲の皮膚乾燥
2.5	一部の浸出を伴った皮膚乾燥の欠損
3	浸出を伴った皮膚乾燥の欠損
3.5	皮膚壊死

組織学的評価

照射後 7, 14, 28, 56, 84 日目にマウスを屠殺し、照射肺と対側右肺(非照射)、照射部皮膚(左胸背部)を採取した。ホルマリン固定後、Hematoxylin-Eosin (HE) 染色と Masson-Trichrome (MT) 染色を施行し、組織学的に評価した。

4 . 研究成果

スコア評価

20Gy 照射群では3群間で有意な差は認められなかったが、30Gy 照射群では疾患モデルマウス2群ともにコントロールマウス群よりもスコアが最も高く、皮膚炎が遷延した。各群の30Gy 照射後、皮膚反応極期の肉眼所見を図2に、3群の評価スコアの推移を図3に示す。

図 2) 3 0 Gy 照射後皮膚反応極期の比較

左上 : 正常コントロール 右上 : SLE モデル
 左下 : RA モデル

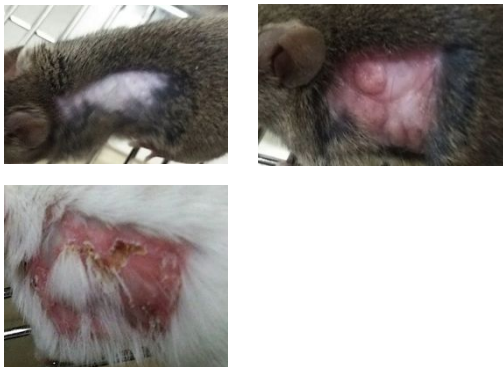
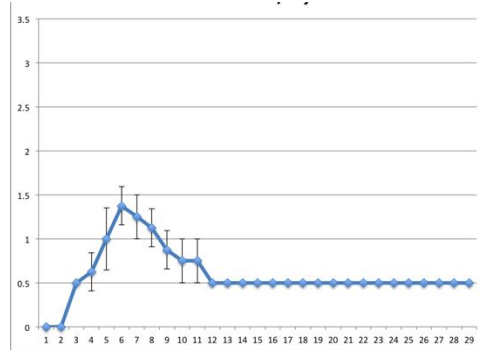
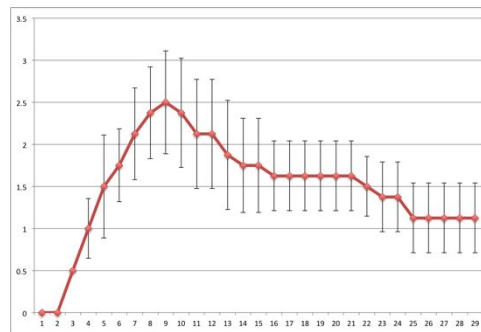


図 3) 皮膚反応評価スコアの推移

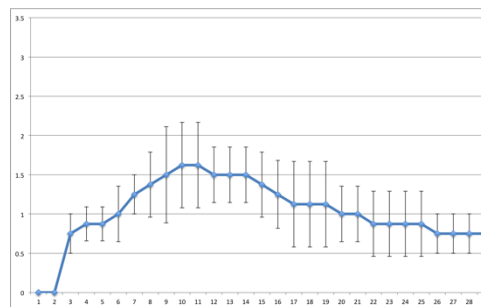
< C3H/Hej >



< NZB/W >



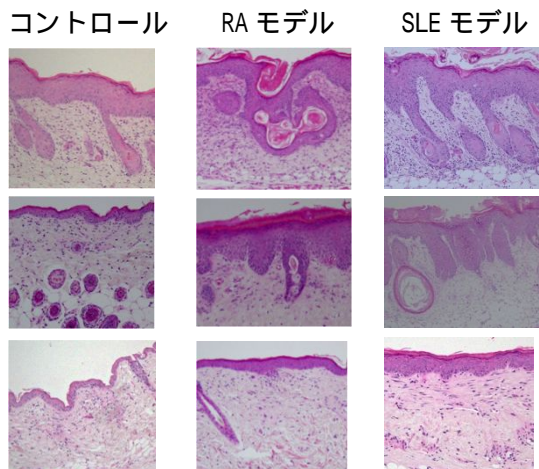
< Mch/ lpr/ lpr-RA >



組織学的評価

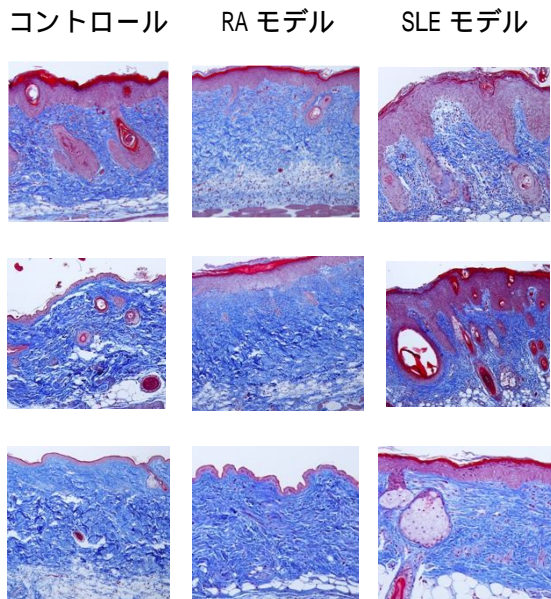
照射部皮膚の組織学的評価を行ったところ、各群ともに照射後 28 日経過したもので表皮肥厚が目立ち始めた。その後、56 日目にはコントロール群で表皮肥厚が正常化してきていたにも関わらず、疾患モデルマウスの2群ではともに表皮肥厚が著明であった。また、この急性皮膚反応は SLE モデルマウス群では 84 日目でも観察された。また、その程度は NZB/W F1 マウスで Mch/ lpr/ lpr-RA1 マウスよりも強かった。図 4、5)

図4) 皮膚組織学的所見 (HE 染色)



上) 照射後 28 日目、中) 照射後 56 日目
下) 照射後 84 日目

図5) 皮膚組織学的所見 (MT 染色)



上) 照射後 28 日目、中) 照射後 56 日目
下) 照射後 84 日目

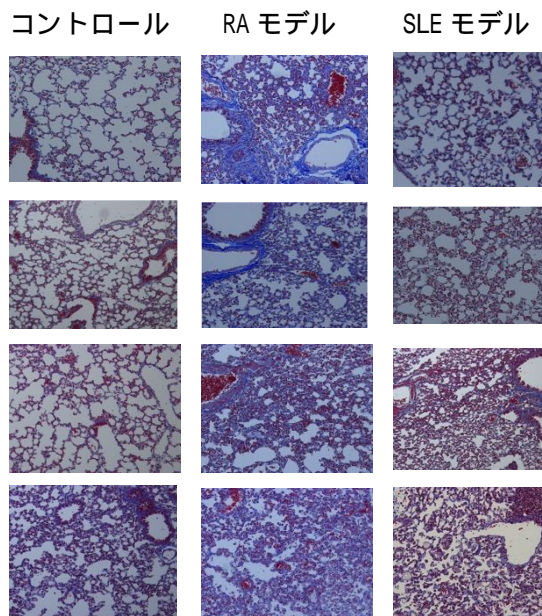
肺の組織学的評価では、MT 染色では各群ともに経時的に間質の肥厚が目立ってきたが、RA モデル群では他の 2 群に比べ早期からの肥厚が認められた。図 6)

また、HE 染色では炎症細胞の浸潤がみられるようになったが、血管周囲に特に強く、血管炎の状態を観察している可能性が考えられた。図 7)

これらの結果から、コントロールマウスに比

べ、膠原病疾患モデルマウスでは照射部位の急性障害である放射線皮膚炎は増強し、遷延する傾向があると判明した。亜急性期障害である放射線肺臓炎および晩期の線維化については今回の検討では増強するかどうかは不明であった。

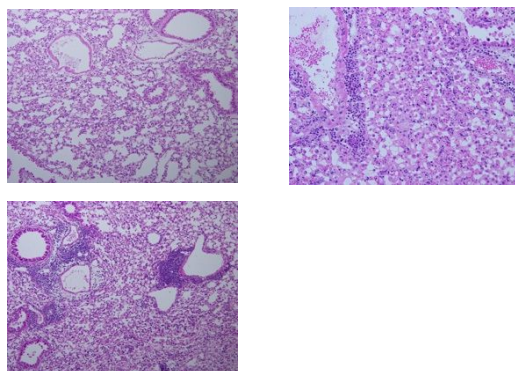
図6) 肺組織学的所見 (MT 染色)



* 上段より照射後 7, 14, 28, 56, 84 日

図7) 照射後 84 日目の肺組織学的所見 (HE 染色)

左上: コントロール 右上: RA モデル
左下: SLE モデル



< 引用文献 >

- 1) Shiro Mori et al.: Novel recombinant congenic mouse strain developing arthritis with enthesopathy; Pathology International 2008; 58:

2) Douglas et al;Radiation Reserch, 1976

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)

〔学会発表〕(計 1 件)

市川真由美：膠原病モデルマウスを用いた放射線障害増強の検討：第 136 回日本医学放射線学会北日本地方会：2017 年 6 月 16 日：
山形テルサ：山形

6. 研究組織

(1)研究代表者

市川 真由美 (Ichikawa Mayumi)

山形大学医学部・助教

研究者番号：20466634

(2)研究協力者

福本 学 (Fukumoto Manabu)

森 士朗 (Mori Shiro)