

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K12862

研究課題名(和文)酸素分圧画像を指標とする強度変調放射線治療モデル実験

研究課題名(英文) Model experiments of partial pressure of oxygen-guided intensity modulated radiation therapy

研究代表者

平田 拓 (Hirata, Hiroshi)

北海道大学・情報科学研究科・教授

研究者番号：60250958

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題は、腫瘍内の酸素分圧を指標として放射線照射の線量を制御することにより、放射線治療モデル実験の効果が変化するかを明らかにすることを目指していた。モデル実験を行うために、マウス後肢に作製した腫瘍を対象とする小型マルチリーフコリメータの開発、マウス腫瘍内の酸素分圧データからマルチリーフコリメータの開口部を決定する計算法およびプログラムを開発した。加えて、均一放射線照射の場合の腫瘍成長カーブと通常の腫瘍成長カーブを取得し、酸素分圧を指標とする放射線照射実験の比較対象データを取得した。腫瘍モデルはSCC VII細胞をマウス後肢に移植し作製した。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to clarify the outcomes of the model experiments of oxygen partial pressure-guided radiation therapy. A miniature multi-leaf collimator (MLC) was developed for the model experiments using tumor-bearing mice. This miniature MLC was planned to control the intensity and the distribution of X-ray irradiation to tumor model mice. Also, the computation method for obtaining the collimator opening from the three-dimensional data of oxygen partial pressure in mouse tumors was developed and implemented. Moreover, tumor-growth curves were obtained for non-treated and uniform X-ray irradiated mice. These data will be the control data of tumor growth. For preparing tumor-bearing mice, murine squamous cell carcinoma (SCC VII) cells were subcutaneously implanted in mouse hind legs.

研究分野：計測工学

キーワード：腫瘍 放射線 酸素分圧 画像

1. 研究開始当初の背景

がん腫瘍内の低酸素状態 (Hypoxia) は放射線抵抗性を示すことが知られている。低酸素状態を可視化する研究は、陽子放射断層撮影 (PET) や核磁気共鳴イメージング、電子スピン共鳴 (ESR) イメージングの分野で世界的に展開されている (Nat Rev Cancer 11, 393, 2011)。低酸素状態の画像化には、酸素分圧を非侵襲的かつ定量的に可視化することが必須である。ESR イメージング法は定量性に優れており、酸素分圧画像を指標とした放射線照射の設計に有用であると考えられている (Cancer Res 73, 5328, 2013)。しかし、定量的な酸素分圧画像を指標とした放射線治療の効果はこれまで評価されてこなかった。

2. 研究の目的

酸素分圧を指標として低酸素領域にはより強い放射線照射を、低酸素領域ではない部分には弱い放射線照射を行う強度変調放射線治療 (IMRT) について、モデル実験により有効性の有無を明らかにすることを目指した。学術的には、酸素分圧を指標とする放射線治療システムの有効性が実験的に証明されると、新規な研究分野が生まれる端緒となる。社会的には、放射線治療の効果が改良されれば、放射線治療をうける患者の生存率が改善し、コミュニティのニーズに貢献することができる。

図1に酸素分圧を指標とする強度変調放射線照射のコンセプトを示す。放射線照射の空間分布をマルチリーフコリメータを用いて制御する。図1では二段階の照射により階段状の強度分布を作製することを想定している。

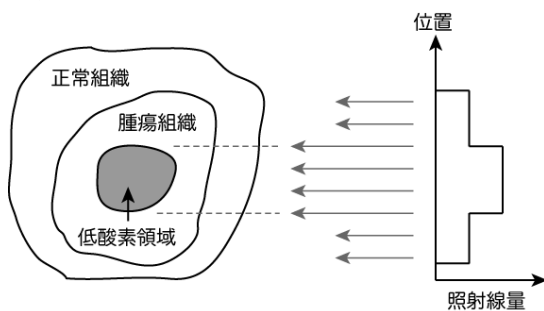


図1 腫瘍内の酸素分圧を指標として放射線照射の強度を制御する強度変調放射線治療法のコンセプト

3. 研究の方法

酸素分圧画像を指標として放射線照射分布を設計し、腫瘍へ照射するアプローチの有効性を検証するために、三つに課題を分割した。(1)酸素分圧画像から放射線照射分布を設計する、(2)設計した照射分布を実現する小型マルチリーフコリメータを開発する、(3)担がんマウスを用いた治療モデル実験により、均一な放射線照射との差異を明らかに

する。

以下に、三つの課題についての概略を説明する。

(サブプロジェクト1) 研究代表者が開発した 750 MHz 連続波 ESR イメージング装置 (Anal Chem 81, 7501, 2009) により撮像された酸素分圧 pO_2 画像から、低酸素領域 ($pO_2 < 10\text{mmHg}$) に放射線を照射する分布を計算する手法を開発した。この際、3 方向 (-45 度、0 度、45 度) から放射線をマウス後肢の腫瘍に照射することを想定した。なお、将来の実験ではトータルの放射線照射線量はサンプルによらず一定とするように調整を行うことを想定した。

(サブプロジェクト2) 腫瘍内の低酸素領域の形状に応じて設計された放射線照射分布を実現するために、マウス後肢に作られた腫瘍に合わせて放射線照射範囲を調整する小型のマルチリーフコリメータを開発した。放射線が通過する開口部は最大 20 mm 程度とし、1 mm 厚の鉛板を移動できる構造とした。上下 20 枚で合計 40 枚の鉛板の位置を調整し、放射線照射の形状を任意に変化させる機構を実現した。また、3 方向にマウスを回転できる動物固定ホルダーを合わせて製作した。

(サブプロジェクト3) 酸素分圧画像から放射線照射分布を設計する手法の有効性を明らかにすることを目指した。有効性の評価では、均一に放射線照射した場合の腫瘍サイズの縮小をリファレンスとすることにした。マウス後肢に腫瘍細胞 (Squamous Cell Carcinoma, SCC VII) を皮下に移植した。移植後一週間程度で腫瘍が約 10mm 程度に成長するのを待ち (NMR Biomed 27, 453, 2014)、放射線照射実験を行った。放射線照射後、腫瘍体積を測定し、治療効果の評価を行った。最終的には、酸素分圧を指標として放射線照射を行う場合と、均一に放射線照射する場合の違いを、腫瘍サイズの縮小または成長の鈍化により評価することを目指した。動物実験は北海道大学動物実験委員会の承認を得て実施した (承認番号 15-0120)。

4. 研究成果

(1) マルチリーフコリメータの開口部を決定する計算法の開発

測定対象 (腫瘍モデルマウス) から酸素分圧画像を取得した後、三次元の酸素分圧画像から小型マルチリーフコリメータの開口部形状を求める計算法を開発した。以下のステップに従い開口部の形状を計算した。

- (a) 放射線照射を行う角度に応じて、酸素分圧の三次元画像を回転する。本研究では、マウス胴体の軸方向を回転軸とし、任意の角度で回転角を設定する。
- (b) 三次元酸素分圧データのスライス画像に

- において（例えば、酸素分圧が 10 mmHg 以下の部位のみに放射線照射を行う場合）しきい値として定める酸素分圧を基準に 0 または 1 の二値化マップを作成する。
- (c) 酸素分圧の二値化マップを積み上げ、それらのデータの投影を求め、しきい値以下の酸素分圧がある部位の投影画像を得る。この投影画像が、マルチリーフコリメータの開口部の形状となる。
 - (d) 投影画像のピクセルサイズを変更する。

酸素分圧の三次元データの Field-of-View (FOV) とデータ点数（ボクセル数）から画像のピクセルサイズが決定される。ピクセルサイズがマルチリーフコリメータのリーフ厚（次節で詳細を説明）と一致しない場合には、投影画像のピクセルサイズを変更し、ピクセルサイズが 1mm の画像を最終的に得ることにした。ピクセルサイズの変更に際し、幾つかの補間方法があるが、最終的にバイキュービック法を採用された。

入力される酸素分圧画像の典型的なパラメータは FOV=39mm、マトリックスサイズ 64 × 64 × 64 である。この場合、ピクセルのサイズが 0.61mm となるが、最終的に 1mm のピクセルサイズに変更されることになる（リーフ厚 1mm の場合）。

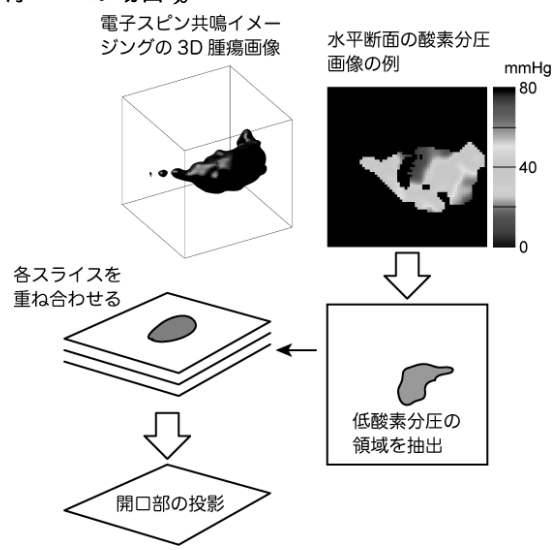
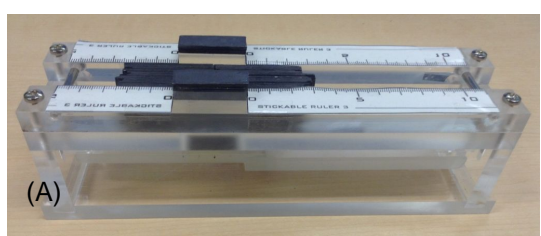


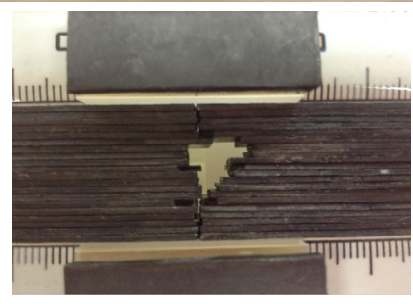
図 2 三次元酸素分圧画像から開口部を求める計算プロセス

(2) マウス用の小型マルチリーフコリメータの開発

マウス後肢に作製した腫瘍に X 線を照射する実験を想定し、最大 20mm × 20mm の開口部が設定できる小型マルチリーフコリメータを開発した。X 線を遮蔽するために、幅 10mm、厚さ 1mm の鉛板を片側 20 枚ずつ並べ、合計 40 枚の鉛板でマルチリーフコリメータを構成した。照射された X 線は各リーフの 10mm の距離で十分に減衰し、リーフ開口部を除き X 線は試料に照射されない。本研究課題では、



(A)



(B)

図 3 (A) 小型マルチリーフコリメータの写真 (B) マルチリーフコリメータの開口部

小型マルチリーフコリメータの実現可能性

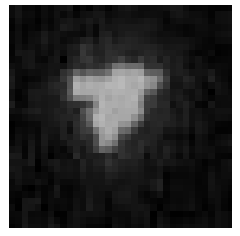


図 4 照射分布

を検証することが目的であるため、各リーフの位置制御は手動で行うこととした。

図 3(A) に開発した小型マルチリーフコリメータの写真を示す。マルチリーフの下ホルダーにマウスを置き、後肢の位置をマルチリーフコリメータの開口部直下に設置する。マウスのホルダーは、回転軸に対して +45 度、0 度、-45 度回転することができ、ホルダーの両端に設置した板に開けた孔に位置合わせのストッパーを差し込むことによりマウスホルダーが固定される。図 3(B) にマルチリーフコリメータの開口部の写真を示す。各リーフの厚さは 1mm である。マルチリーフコリメータの脇に貼られたスケールから、開口部およびマルチリーフのサイズが読み取れる。

図 4 に図 3(B) の開口部に対応する放射線照射分布を示す。図 3(B) のマルチリーフコリメータ開口部と良く一致しており、照射しない部分は十分に放射線が遮蔽されていることが確認された。X 線照射は、北海道大学大学院獣医学研究院放射線学教室（稲波修教授）の協力のもと実施した。X 線照射装置は Precision X-Ray 社の iR225（電圧 20 kV、電流 15mA、フィルター Al 1.0 mm, Cu 0.5 mm、焦点表面間距離 40cm）を使用し、X 線を 30 秒間照射した。マルチリーフコリメータの下にイメージングプレート（FUJIFILM BAS-SR2040）を設置し、コリメータの上から X 線を下方へ照射した。イメージングプレートで観測した X 線の分布は、バイオイメージングアナライザー（FUJIFILM BAS-2500）で

読み取った。

(3) 腫瘍モデルマウスへの放射線照射実験

強度変調放射線照射実験に先立ち、均一照射による腫瘍成長カーブを取得した。SCC VII 細胞を C3H HeJ マウス(オス、7 週齢)の右後肢に移植した。腫瘍サイズの計測には、ノギスを用いて腫瘍の三方向の寸法から楕円体の体積を求め、腫瘍サイズとした。SCC VII 細胞の培養およびマウスへの移植は、北大獣医学研究院放射線学教室・大学院生山本久美子氏にご協力頂いた。

図 5 に、腫瘍成長カーブを示す。放射線を照射しない群、13Gy 均一照射群、24Gy 均一照射群の三群を測定した。放射線照射は何れも単回照射とした。この際、腫瘍成長の再現性を確保するために、腫瘍細胞移植後に腫瘍体積が 0.55cm^3 から 0.65cm^3 の範囲に到達したマウスを選択し、その日を 0 日目として腫瘍成長カーブを記録した。所定の腫瘍サイズに達したマウスに対して放射線照射が実施された。この実験の目的は、強度変調放射線照射を行った場合に、比較対象として均一照射時の腫瘍成長カーブを得るためである。

腫瘍体積が倍加する時間(DT)は、非照射群では 4 日、13Gy 照射群では 7 日、24Gy 照射群では 19 日であった。

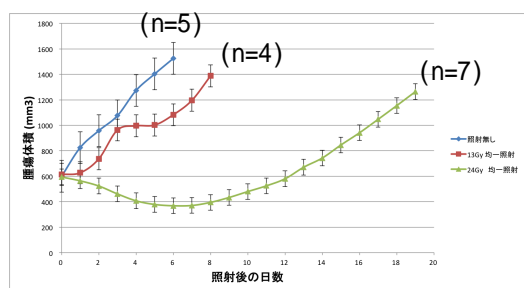


図 5 腫瘍成長カーブ(非照射群(n=5)、13G 照射群(n=4)、24G 照射群(n=7))

ここまでの実験段階で研究期間が終了した。当初予定した酸素分圧を指標とする放射線照射実験には到達できなかったが、必要な要素技術が開発された。比較対象とするコントロールデータが取得されたことにより、今後強度変調放射線照射のモデル実験を進める基礎が完成した。

その他のハードウェア開発

放射線照射に関わる小型マルチリーフコリメータの開発や計算法開発に加え、マウス腫瘍の酸素分圧画像を取得する電子スピン共鳴分光のために高周波共振器の開発も合わせて行った。マウス後肢に作製する腫瘍のサイズに合わせ、内径 16mm、長さ 20mm のサンプルスペースをもつ 750MHz チューナブル共振器の開発を行い、腫瘍モデルマウスの実験に使用可能か検証を行った。これらのハ-

ードウェア開発については雑誌論文 2 件を発表した。

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 2 件)

1. R. Nakaoka, D. A. Komarov, S. Matsumoto, and H. Hirata. Impact of the characteristic impedance of coaxial lines on the sensitivity of a 750-MHz electronically tunable EPR resonator. Applied Magnetic Resonance, 査読有 (2018). doi: 10.1007/s00723-018-1001-6
2. T. Amida, R. Nakaoka, D. A. Komarov, K. Yamamoto, O. Inanami, S. Matsumoto, and H. Hirata. A 750-MHz electronically tunable resonator using microstrip line couplers for electron paramagnetic resonance imaging of a mouse tumor-bearing leg. IEEE Transactions on Biomedical Engineering, 査読有, Vol. 65, No. 5, pp. 1124-1132 (2018). doi: 10.1109/TBME.2017.2743232

[学会発表](計 2 件)

1. 中岡梨々子, 平田拓, 腫瘍モデルマウス用 750MHz チューナブル共振器の最適設計, 第 56 回電子スピンサイエンス学会年会, PS64 (2017).
2. 金丸多良, 平田拓, EPR イメージングによる酸素マップを用いる放射線照射モデル実験の装置開発, 第 55 回電子スピンサイエンス学会年会, 2P73 (2016).

[その他]

ホームページ等

<http://www.ist.hokudai.ac.jp/labo/mre/index-j.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

平田 拓 (HIRATA, Hiroshi)
北海道大学・大学院情報科学研究科・教授
研究者番号: 6 0 2 5 0 9 5 8

(2) 連携研究者

松元慎吾 (MATSUMOTO, Shingo)
北海道大学・大学院情報科学研究科・准教授
研究者番号: 9 0 7 4 1 0 4 1