

令和 2 年 5 月 7 日現在

機関番号：34419

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16493

研究課題名(和文)放射線治療後再発に対する再照射実験モデルの確立 - 放射線感受性と生体応答の検証 -

研究課題名(英文)Assessment of an experimental re-irradiation model

研究代表者

土井 啓至(DOI, Hiroshi)

近畿大学・医学部・講師

研究者番号：50529047

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：マウスを使用し、非照射コントロール群、初回照射後12週の経過観察群、再照射のみ施行群(A群)、初回照射の7日後に再照射群(B群)、初回照射の12週後に再照射群(C群)に群分けし、初回照射の後に再照射を施行した。細胞死を含む陰窩の割合は、C群はA群よりも有意に少なかった。B群はA群・C群よりも同一陰窩での細胞死割合が高値であった。照射後細胞増殖はA群とC群で有意差を認めなかった。長期経過観察後の腹部への再照射後の急性期反応は細胞死、細胞増殖能ともに初回照射と同等であることを示した。再照射までの待機期間が短い場合には障害が増強されることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年の放射線治療技術により、腫瘍に限局した放射線治療が可能となり、照射野内再発に対する再照射が試みられている。再照射後の有害事象が臨床研究から報告されているものの、組織学的に解析した報告は臨床・基礎実験ともに乏しい。本研究では、前臨床試験で使用可能な再照射の動物実験モデルを確立できた。長期経過観察後の腹部への再照射における急性期反応は細胞死、放射線障害後の細胞増殖能ともに初回照射と同等であることを示した。一方で待機期間が短い場合には障害が増強されることが明らかになった。これらの知見は将来の臨床研究の礎にすることができ、意義深い。

研究成果の概要(英文)：We aimed to elucidate the pathological findings following acute and late re-irradiation in a preclinical model. Mice were divided into five treatment groups: sham-irradiation (Sham-IR), 10-12 Gy (Single IR Acute), 15 Gy (Single IR Late), 15 Gy followed by 10-12 Gy re-irradiation 7 days later (Re-IR Acute), or 15 Gy followed by 10-12 Gy re-irradiation 12 weeks later (Re-IR Late). Mice were sacrificed after either single irradiation or re-irradiation for pathological assessment. The Re-IR Late group had significantly lower numbers of crypts with apoptotic cells than those observed in mice in the Single IR Acute group. There were no significant differences between the Single IR Acute and re-IR Acute groups in cell proliferation or in a crypt survival assay. Re-irradiation with a long interval after the first irradiation may cause similar acute biological effects in normal intestine as observed following irradiation without re-irradiation.

研究分野：放射線腫瘍学

キーワード：再照射 強度変調放射線治療 定位放射線治療 動物実験モデル 放射線治療 放射線照射 マウスモデル 低酸素

1. 研究開始当初の背景

従来、放射線治療後の再発癌に対する放射線治療は正常組織障害への障害の残存の可能性があり、相対的禁忌と考えられてきた。しかしながら、定位放射線治療、強度変調放射線治療に代表される近年の放射線治療技術の発展により、腫瘍に局限した放射線治療が可能となり、照射野内再発に対する根治的放射線療法（再照射）が試みられている [1]。

照射野内再発腫瘍は一度目の線量で死滅しなかった腫瘍細胞の生き残りであると考えられる。加えて毛細血管障害による酸素分圧低下状態は腫瘍の放射線感受性をさらに低下させている。一方で、正常組織は、放射線照射後の慢性変化として線維化、末梢循環での虚血による慢性炎症状態が存在するものと考え、これらにより種々の晩期有害事象が発生すると考えられている。

すなわち、再発癌の発生母地と周辺組織は既に晩期障害を起こす直前までの放射線量を受け、その影響を残している。したがって、たとえ期間が空いても次の照射が加えられるとその線量が晩期障害を起こす線量として加算される。しかしながら、初回照射と再照射の間隔が放射線障害にどの様に影響するかは不明である。

2. 研究の目的

本研究は前臨床試験に応用可能な再照射の動物実験モデルを確立し、再照射後の正常組織における生体反応の初回照射時との違いを明らかにすることを目的とした。

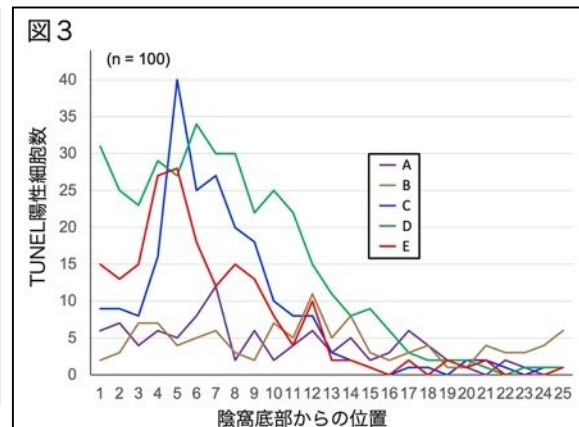
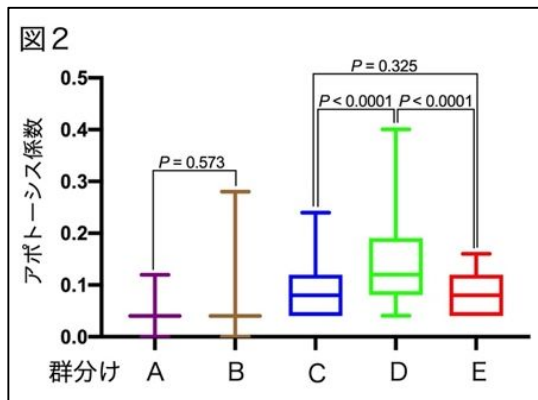
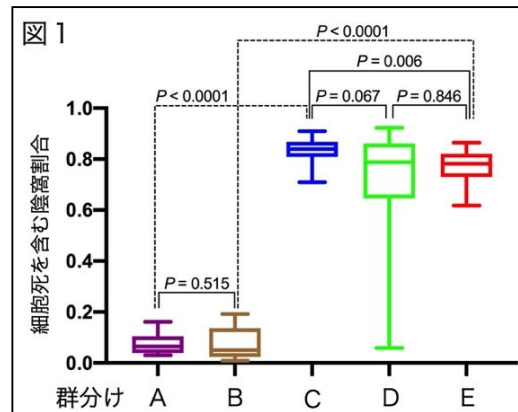
3. 研究の方法

8週齢雄性 C57BL/6J マウスを使用した。マウスは、非照射コントロール群（A群）、初回照射後12週の経過観察群（B群）、初回照射を行わず再照射相当の単回照射のみ施行群（C群）、初回照射の7日後に再照射群（D群）、初回照射の12週後に再照射群（E群）に群分けした。初回照射は15Gy単回、再照射は10Gyまたは12Gy単回のエックス線照射を施行した。初回照射の際には下腹部以外の体幹部を本実験専用で作成した鉛板で被覆した状態で放射線照射を行った。マウスは再照射後6時間でTdT-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) 染色を用いて細胞死を評価した。本研究では、TUNEL染色陽性細胞を細胞死を起こしている細胞と定義した。放射線照射後72時間で安楽死前にプロモデオキシウリジン (BrdU) を腹腔内投与した上で腸管を摘出し、細胞増殖能を評価した。放射線照射後84時間では腸管陰窩幹細胞生存数を定量評価した。

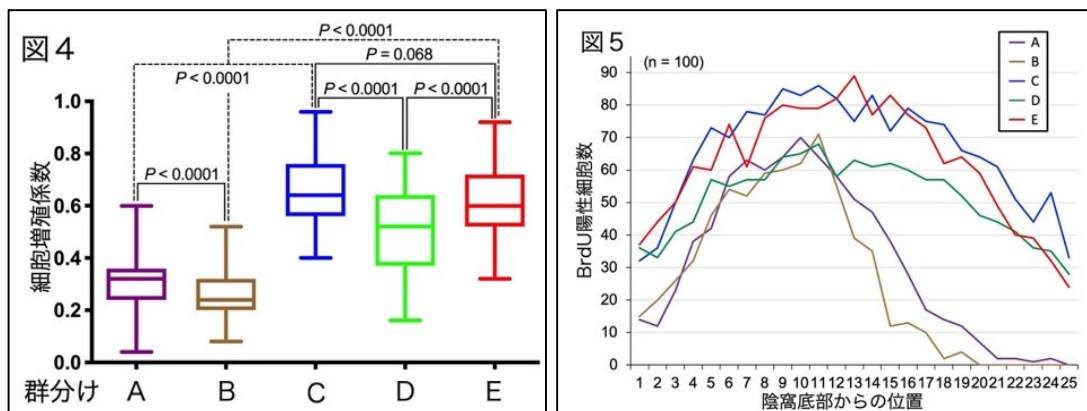
4. 研究成果

初回照射・再照射とも細胞死を含む陰窩を有意に増加させた（A群・C群、B群・E群）。細胞死を含む陰窩の割合は、A群とB群に有意差を認めなかった一方でE群はC群よりも有意に少なかった（図1）。

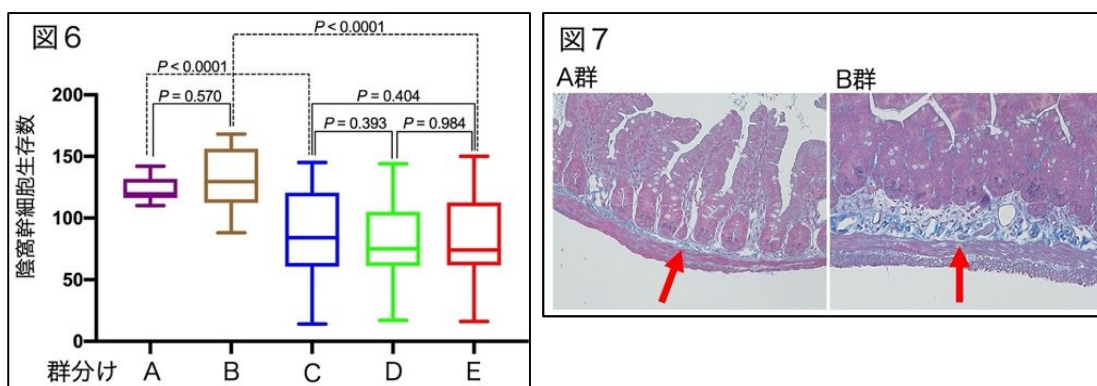
細胞死を含む陰窩内において細胞死を起こしている細胞の割合をアポトーシス係数と定義し、定量的に評価した。アポトーシス係数はA群とB群、C群とE群に有意差を認めなかった。D群はC群・E群よりも有意に高いアポトーシス係数であった（図2）。陰窩内の細胞死が発生している位置はD群でC群・E群よりも高位にみられ、細胞死の遺残が認められた（図3）。



細胞増殖は陰窩内における BrdU 陽性細胞の割合を細胞増殖係数と定義し、定量的に計測した。B 群は A 群よりも細胞増殖係数は有意に低値であった (図 4)。D 群は C 群と E 群よりも有意に低い細胞増殖係数であったものの、C 群と E 群で有意差を認めなかった。陰窩内における BrdU 陽性細胞の位置は A 群と B 群、C 群と E 群で同様であった。一方、D 群は C 群・E 群と比較して全ての位置で BrdU 陽性細胞数は少なかった (図 5)。



腸管陰窩幹細胞生存数は初回照射 (A 群・C 群)・再照射 (B 群・E 群) の後に有意に減少していた (図 6)。一方で、A 群と B 群、C 群と E 群での比較では有意差を認めなかった。さらに、B 群では A 群と比較して、粘膜下の線維化が増強していることを確認した (図 7)。粘膜下線維化によりもたらされる低酸素状態によって、急性期の放射線障害は抑制されている可能性が示唆された [2]。



正常腸管に対する再照射の動物実験モデルを報告した。再照射初回照射から再照射までの待機期間が短い場合には障害が増強されるものの、長期経過観察後の腹部への再照射における急性期反応は細胞死、放射線障害後の回復能とも初回照射と同等であることが示された [3]。

〔引用文献〕

1. Doi H, Uemoto K, Masai N, et al. Definitive re-irradiation using intensity modulated radiation therapy in cancers of the head and neck, focusing on rare tumors. *Acta Otolaryngol.* 2018;138(8):750-758.
2. Doi H, Kamikonya N, Takada Y, et al. Long-term sequential changes of radiation proctitis and angiopathy in rats. *J Radiat Res.* 2012;53(2):217-24.
3. Doi H, Tamura M, Nakamatsu K, et al. Experimental animal model of re-irradiation to evaluate radiation-induced damage in the normal intestine. *Anticancer Res.* 2020;40(4):1981-1988.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Doi H, Tamura M, Nakamatsu K, Monzen H, Nishimura Y.	4. 巻 40
2. 論文標題 Experimental animal model of re-irradiation to evaluate radiation-induced damage in the normal intestine.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 1981-1988
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/anticancer.14153	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Anami S, Doi H, Nakamatsu K, Uehara T, Wada Y, Fukuda K, Inada M, Ishikawa K, Kanamori S, Nishimura Y.	4. 巻 60
2. 論文標題 Serum lactate dehydrogenase predicts survival in small-cell lung cancer patients with brain metastases that were treated with whole-brain radiotherapy.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Radiation Research	6. 最初と最後の頁 257-263
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/jrr/rry107.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Doi H, Nakamatsu K, Anami S, Fukuda K, Inada M, Ishikawa K, Kanamori S, Monzen H, Nishimura Y.	4. 巻 33
2. 論文標題 Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio Predicts Survival After Whole-brain Radiotherapy in Non-small Cell Lung Cancer.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 In Vivo	6. 最初と最後の頁 195-201
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/invivo.11459.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Doi H, Fujiwara M, Kitajima K, Tanooka M, Terada T, Noguchi K, Ishikura R, Kamikonya N, Yamakado K.	4. 巻 80
2. 論文標題 Clinical T staging is superior to fluorodeoxyglucose positron emission tomography for predicting local outcomes after intra-arterial infusion chemoradiotherapy for maxillary sinus squamous cell carcinoma.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nagoya Journal of Medical Science	6. 最初と最後の頁 541-550
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18999/nagjms.80.4.541.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Doi H, Uemoto K, Masai N, Tatsumi D, Shiomi H, Oh RJ.	4. 巻 138
2. 論文標題 Definitive re-irradiation using intensity modulated radiation therapy in cancers of the head and neck, focusing on rare tumors.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Acta Oto-Laryngologica.	6. 最初と最後の頁 750-758
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/00016489.2018.1438662	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Doi H, Kuribayashi K, Kijima T.	4. 巻 14
2. 論文標題 Utility of polaprezinc in reducing toxicities during radiotherapy: A literature review.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Future Oncology	6. 最初と最後の頁 1977-1988
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2217/fon-2018-0021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Doi H, Tamura M, Monzen H, Nishimura Y.
2. 発表標題 An Experimental Animal Model of Re-Irradiation in Terms of Radiation-Induced Damages in Normal Intestine.
3. 学会等名 61st ASTRO Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Doi H, Tamura M, Monzen H, Nishimura Y.
2. 発表標題 An experimental animal model of re-irradiation in terms of radiation-induced intestinal damages.
3. 学会等名 The 7th Japan-Taiwan Radiation Oncology Symposium. (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 土井啓至、玉利慶介、正井範尚、秋野祐一、辰己大作、塩見浩也、呉隆進.
2. 発表標題 当院における脊椎に対する再照射の遡及的検討.
3. 学会等名 日本放射線腫瘍学会第32回学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 土井啓至、田村 命、門前 一、西村 恭昌.
2. 発表標題 再照射の動物実験モデルの確立と正常腸管における生体応答の検証.
3. 学会等名 日本放射線腫瘍学会第32回学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Doi H, Fujiwara M, Kitajima K, Tanooka M, Terada T, Noguchi K, Ishikura R, Kamikonya N, Yamakado K.
2. 発表標題 Comparison between T staging and FDG-PET for predicting outcomes of maxillary sinus carcinoma.
3. 学会等名 European Society for Therapeutic Radiotherapy & Oncology (ESTRO) 37 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 土井啓至、上本賢司、正井範尚、辰己大作、塩見浩也、呉隆進.
2. 発表標題 Salvage re-irradiation using intensity modulated radiation therapy in head and neck rare tumors.
3. 学会等名 第77回日本医学放射線学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 土井啓至, 上本賢司, 正井範尚, 辰己大作, 塩見浩也, 呉隆進.
2. 発表標題 上顎洞癌放射線治療後局所再発に対する救済治療として強度変調放射線治療での再照射の検討.
3. 学会等名 第31回高精度放射線外部照射部会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 土井啓至, 富士原将之, 北島一宏, 田ノ岡征雄, 高田康弘, 寺田友紀, 野口一馬, 石藏礼一, 上紺屋憲彦, 山門亨一郎.
2. 発表標題 上顎洞扁平上皮癌に対する動注癌化学放射線療法の前予後予測因子.
3. 学会等名 日本放射線腫瘍学会第30回学術大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Doi H, Shiomi H, Oh RJ.	4. 発行年 2018年
2. 出版社 InTech (Rijeka, Croatia)	5. 総ページ数 83-112
3. 書名 Cirrhosis (Xingshun Qi編)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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