

平成 22 年 4 月 8 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2009

課題番号：20790922

研究課題名（和文）放射線誘発肺線維症の分子メカニズムの解明とその抑制法の開発に関する実験的研究

研究課題名（英文）Analysis of molecular mechanism and development of preventive methods against the radiation-induced lung fibrosis

研究代表者

加藤 弘之（KATOH HIROYUKI）

群馬大学・重粒子線医学推進機構・助教

研究者番号：30334121

研究成果の概要（和文）：放射線照射における生体の防御機能の一環として、それぞれの組織・臓器に炎症および線維化が生じることが知られている。しかしながら、がん患者に対する放射線治療では、正常組織の線維化による障害の程度を可能な限り軽減することは、治療に伴う有害事象の発生を抑制し、治療の成功を決定づける重要な因子の1つである。放射線誘発肺線維症は、肺がんや乳がんなどの胸部の悪性腫瘍に対する放射線治療を行う際に、もっとも重要視される有害事象であり、これが広範囲かつ重度に発生した場合には、治療後の呼吸機能を大きく損なうことになる。この放射線誘発肺線維症は、経験的に数か月から数年の潜伏期をもって生じることが知られているが、その経過が長期間にわたることもあり、多くの研究がなされているにも関わらず、放射線誘発肺線維症の形成機序については未だに不明な点が多い。このため、放射線誘発肺線維症を軽減させる手法は未だ確立していない。本研究の目的は、線維化モデルである C57BL/6 マウスを用い、ウリナスタチン投与による肺照射後の放射線誘発肺線維症を軽減させる可能性およびその至適な投与時期について明らかにすることである。本研究により、放射線照射後のウリナスタチン投与によって、放射線誘発肺線維症の程度を軽減できること、また、この軽減効果を得るにはウリナスタチンの投与時期が重要であることが示された。効果が得られたウリナスタチンの投与時期は、マウス肺への照射後に TGF- β mRNA の発現レベルが増加する時期に一致していること、肺線維症の程度と TGF- β 陽性細胞の発現率に有意な正の相関関係が示されていることなどから、ウリナスタチン投与によって TGF- β の発現が抑制され、その結果として放射線誘発肺線維症が軽減している可能性が考えられた。

研究成果の概要（英文）：Radiation-induced lung injury is one of the major dose-limiting factors of radiotherapy for thoracic malignancies such as lung and breast cancers. Radiation-induced lung fibrosis develops several months to years after radiation exposure at least in the irradiated field. Moreover, there are non-negligible critical risks of developing generalized lung fibrosis that is usually life-threatening. Although many studies have tried to analyze the mechanisms underlying the pathogenesis of radiation-induced lung fibrosis, the mechanisms still remain unclear. Hence, the prevention of radiation-induced lung fibrosis is difficult to realize in a clinical setting although extensive efforts have been undertaken in the exploration of this condition. The present study examined whether Ulinastatin reduced radiation-induced lung fibrosis in C57BL/6J mice, the standard mouse strain for studying the pathophysiology of radiation-induced fibrosis. In addition, the therapeutic potential of Ulinastatin was analyzed for prolongation of the lifespan of mice irradiated with a significant dose for inducing lung fibrosis. The present study clearly indicated that administration of Ulinastatin reduced radiation-induced lung fibrosis in mice, and timing and the injection

timing of Ulinastatin for irradiation was important. It is noteworthy that the Ulinastatin administration period, which caused positive suppression of lung fibrosis, corresponded to the period of the increase in TGF- β level by irradiation, and especially before reaching the peak level of TGF- β . Therefore, it was suggested that the suppression of lung fibrosis might be due to the suppression of TGF- β by Ulinastatin.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：医歯薬学

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，X線，粒子線」、「放射線」、「トランスリレーションナルリサーチ」、「放射線防護」、「放射線肺臓炎」

1. 研究開始当初の背景

放射線照射における生体の防御機能の一環として、それぞれの組織・臓器に炎症および線維化が生じることが知られている。しかしながら、がん患者に対する放射線治療では、正常組織の線維化による障害の程度を可能な限り軽減することは、治療に伴う有害事象の発生を抑制し、治療の成功を決定づける重要な因子の1つである。放射線誘発肺線維症は、肺がんや乳がんなどの胸部の悪性腫瘍に対する放射線治療を行う際に、もっとも重要視される有害事象であり、これが広範囲かつ重度に発生した場合には、治療後の呼吸機能を大きく損なうことになる。この放射線誘発肺線維症は、経験的に数か月から数年の潜伏期をもって生じることが知られているが、その経過が長期間にわたることもあり、多くの研究がなされているにも関わらず、放射線誘発肺線維症の形成機序については未だに不明な点が多い。このため、放射線誘発肺線維症を軽減させる手法は未だ確立していない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、マウスを用い、薬剤投与による肺照射後の放射線誘発肺線維症を軽減させる可能性およびその至適な投与時期について明らかにすることである。

3. 研究の方法

ペントバルビタール麻酔下で9週齢の雌性マウス (C57BL/6) の左肺に対して、200 kVp X線による1回照射とウリナスタチンの腹腔内投与を行なった。照射線量による肺障害発生の程度を検討するために、照射線量によって12Gy照射群、24Gy照射群に分け、また、薬剤投与時期によるウリナスタチンの防護効果を検討するために、Rubeらの報告に基づき、マウスの肺への照射後TGF- β mRNAの発現レベルがピークに達すると考えられる照射後8日目から14日目までの間、連日20万単位/kgの投与を行う照射後ウリナスタチン投与群と、照射前30分と照射後6時間に20万単位/kgの投与を行うウリナスタチン同時投与群の2群に分けて実験を行った。片肺照射後16週後に照射肺を摘出し、フォルマリン固定標本を作製し、各標本について、Ashcroftらの報告に基づく線維化病変指数の計測を行った。また、TGF- β の免疫染色を行い、各標本についてTGF- β 陽性細胞の発現率を計測した。さらに、マウスの両肺に24Gyの1回照射とウリナスタチン投与を行い、生存期間への影響を検討した。

4. 研究成果

線維化病変指数は、ウリナスタチン非投与群について、非照射群 (n=5) で 3.1 ± 1.9 、12Gy照射群 (n=5) で 3.9 ± 0.5 、24Gy照射群 (n=5) で 6.6 ± 0.2 と、24Gy照射群で、

他の2群に対し線維化病変指数の有意な上昇が認められた ($p < 0.05$). ウリナスタチン投与群では, 24Gy 照射群の線維化病変指数は, ウリナスタチン同時投与群 ($n=10$) で 6.4 ± 0.5 , 照射後ウリナスタチン投与群 ($n=10$) で 3.2 ± 1.0 と, 同時投与群ではウリナスタチン非投与対照群と比較して明らかな差はなかったものの, 照射後ウリナスタチン投与群では有意な低下が認められた ($p < 0.05$). (図1)

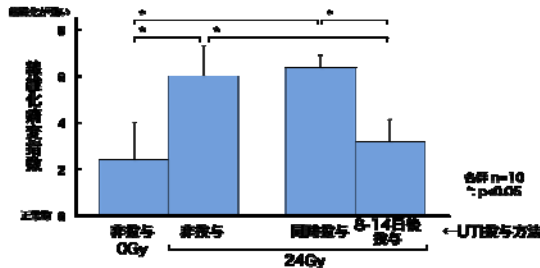


図1. ウリナスタチン投与方法による線維化病変指数の変化

24Gy 照射群の TGF- β 陽性細胞の発現率は, ウリナスタチン非投与対照群 ($n=10$) で 0.23 ± 0.04 , 照射後ウリナスタチン群 ($n=10$) で 0.18 ± 0.03 と, ウリナスタチン投与によって有意に低下が認められた ($p < 0.01$). (図2)

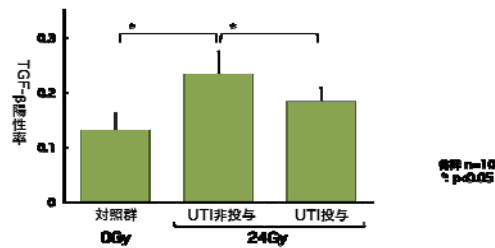


図2. ウリナスタチン投与による TGF- β 陽性率の変化

線維化病変指数と TGF- β 陽性細胞の発現率の間には, 正の相関関係が認められた ($R^2 = 0.26$, $p < 0.01$). (図3)

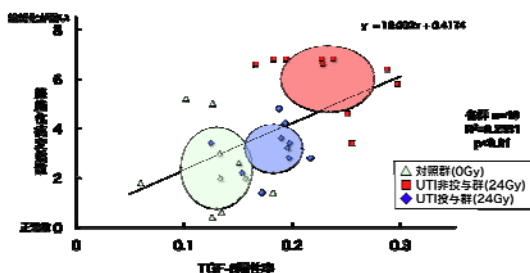


図3. TGF- β 陽性率と線維化病変指数の関係

さらに, 両肺照射 30 週後でのマウスの生存率は, ウリナスタチン非投与群 ($n=10$) で 10%, 照射後ウリナスタチン投与群 ($n=30$) で 33%と, 照射後のウリナスタチン投与によって生存期間の有意な延長が認められた ($p < 0.05$). (図4)

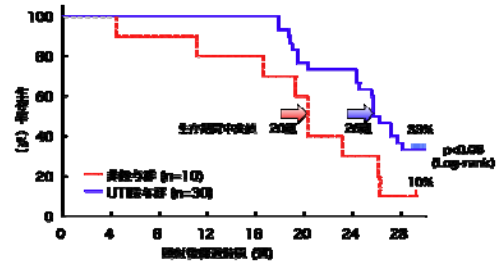


図4. ウリナスタチン投与による生存率への影響

本研究により, 放射線照射後のウリナスタチン投与によって, 放射線誘発肺線維症の程度を軽減できること, また, この軽減効果を得るにはウリナスタチンの投与時期が重要であることが示された. 効果が得られたウリナスタチンの投与時期は, マウス肺への照射後に TGF- β mRNA の発現レベルが増加する時期に一致していること, 肺線維症の程度と TGF- β 陽性細胞の発現率に有意な正の相関関係が示されていることなどから, ウリナスタチン投与によって TGF- β の発現が抑制され, その結果として放射線誘発肺線維症が軽減している可能性が考えられた.

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)

[雑誌論文] (計1件)

① Hiroyuki KATOH, Hitoshi ISHIKAWA, Masatoshi HASEGAWA, Yukari YOSHIDA, Yoshiyuki SUZUKI, Tatsuya OHNO, Takeo TAKAHASHI, Takashi NAKANO, Protective Effect of Urinary Trypsin Inhibitor on the Development of Radiation-Induced Lung Fibrosis in Mice, Journal of Radiation Research, Review paper, 2010, in press
査読有

[学会発表] (計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

加藤 弘之 (KATOH HIROYUKI)
群馬大学・重粒子線医学推進機構・助教
研究者番号：30334121

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者