

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月10日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09007

研究課題名(和文)細胞周期を考慮した放射線被ばく影響の動態モデル解析

研究課題名(英文)Microdosimetric-kinetic (MK) model analysis of cells exposed to ionizing radiations considering the cell cycle

研究代表者

伊達 広行 (Date, Hiroyuki)

北海道大学・保健科学研究所・教授

研究者番号：10197600

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)：本研究では、X線をはじめとする電離放射線を照射した生体細胞について、細胞生存率に関するMK(微視的線量測定-動態)モデルによる理論解析と、細胞実験に基づく細胞核内DNA量およびその損傷量の測定から、被ばくの影響(細胞損傷)度合いを調べた。線量率や連続・分割等の照射条件を変えたX線照射細胞について、細胞周期に依存するDNA量や細胞核ごとのエネルギー付与を考慮したモデルが、細胞生存率の線量率依存性、損傷・修復率との関係、細胞増殖相による違い、等を適切に再現し得ることを提示した。さらに、放射線による直接ヒットの有無を考慮するモデルへと拡張し、低線量での高感受性現象を説明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生体組織へ電離放射線が及ぼす影響について、局所的な放射線エネルギー付与や線量率、細胞周期に依存するDNA量とその損傷・修復率といった因子を、微視的線量と損傷動態を考慮するMKモデルに基づいた細胞生存率の式に組み入れることができた。

放射線被ばくに関わる種々の現象量(パラメータ)を細胞実験による実測に即して決定すると共に、モデルを適切にカスタマイズすることによって、MKモデルが多くの細胞生存率の結果を忠実に再現しうることを明らかにした。これにより、放射線の生物学的影響がもたらされる機序を定量的に推定することが可能となった。

研究成果の概要(英文)： In this study, biological effects on the cells exposed to ionizing radiations such as X-rays were investigated based on the microdosimetric-kinetic model considering cell cycle and the experimental results for cellular damage. The parameters in the model were determined by comparisons with related quantities from the experiments.

It was shown that the model associated with amounts of DNA and repair probability of its damage enables us to reproduce properly the cell surviving fractions for various dose-rates and radiation energies. Further, non-targeted effects through intercellular communication (medium transfer bystander effects) and low-dose hyper-radiosensitivities were demonstrated by taking advantage of extensibility of the model.

研究分野：医用量子線工学

キーワード：細胞生存率モデル 細胞周期依存性 線量率効果 低線量での高感受性 標的・非標的効果 パラメータ不確定性 モンテカルロ法

## 1. 研究開始当初の背景

環境放射線におけるような低線量率の連続的照射条件から、高線量率の寡分割 (hypo-) あるいは多分割 (hyper-) による治療放射線照射下に至るまでの生体組織 (細胞) の応答を明らかにすることは重要である。こうした被ばく影響を論ずる際には、細胞損傷 (核内 DNA の切断など) の修復過程が不可欠な要素であり、例えば放射線治療では数か月にわたる分割照射によって正常組織と腫瘍組織のその過程の相違を利用してきた。しかしこれまで、線量率 (あるいは照射時間) を考慮に入れた被照射細胞の応答を解析した報告は少なく、治療では 1 回あたりの線量が問題とされても線量率が議論されることはなかった。

近年申請者らは、線量を変数とする細胞生存率曲線の決定においては線量率を考慮する必要があることを提示した。そして、治療分野で広く普及している生存率の Linear-Quadratic (LQ) モデルでは表現されない高線量域での直線性が、一定の線量率で高線量を与える時には「長い照射時間を要する」事実を考えに入れることによって再現できることを示した。しかしそれでもなお、照射時間内の細胞状態に関する考慮、すなわち細胞毎の周期 (G<sub>1</sub>,S,G<sub>2</sub>,M 期) 分布の情報が欠如しており、その照射細胞群の数分布を取り入れていなかった。

## 2. 研究の目的

本研究では、放射線を照射する細胞集団がどのような割合で各々の細胞相内に存在しており、それが照射によってどのように変化し最終的な生存率に影響するかを、放射線エネルギーが細胞核内の微小領域に付与される物理過程から数理的に解析する動態モデル (MK モデル) と、フローサイトメトリーでの核内 DNA 量測定による細胞周期分布の同定の両者によって明らかにする。より具体的には、周期相ごとの細胞分布と照射によるその分布の変化を調べることによって、特定期への蓄積や吸収線量当たりには生じる DNA 二本鎖切断 (DSB) 数を評価し、細胞死に至る割合を定量する。DNA 量の周期相依存情報は、MK モデル内のレート方程式に組み込むことが可能であり、線量率はもとより、連続照射や多分割照射の際のインターバル条件等を考慮する拡張モデルによって、細胞死をもたらす致死損傷数 (Lethal Lesion: LL) の同定と集団としての細胞生存率の実験的な予想を行う。

## 3. 研究の方法

放射線 (主として X 線) を細胞集団に照射した際の細胞応答を、物理的なエネルギーの付与 (ランダムな局所的点分布の様相を呈する) 過程から始まり、修復する可能性のある潜在的致死損傷 (Potentially Lethal Lesion: PLL) から致死損傷 LL へ転化する確率を考慮し、評価項目 (エンドポイント) としての細胞生存率の曲線を可能な限り忠実に描きだすこととした。そのために、線量率や照射方法の異なる (連続あるいは分割) 放射線照射における細胞応答を解析するモデルを開発し、細胞実験 (X 線照射後のコロニー形成能の評価や核内 DNA の染色による細胞周期解析) をもとに、各条件での被ばく時の放射線感受性と致死率の同定を行った。

遂行した個々の課題を以下に列挙する。

(1) 線量率や連続・分割照射を変えた種々の条件における X 線照射細胞について、細胞周期をフローサイトメーターにより定量化し、放射線感受性との関係を調べた。また、免疫抗体蛍光染色法により、蛍光顕微鏡を用いて細胞核内の DNA 損傷 (DSB) 数の観測を行った。

(2) MK モデルを照射条件に適合するようカスタマイズし、必要なパラメータを決定した。

(3) その他の影響として、細胞間シグナル伝達効果 (媒質伝達バースタンダー効果) を MK モデルに組み込み、その時間依存性を見積もった。

(4) MK モデルにおける細胞核内のドメインに付与されるエネルギー分布を、モンテカルロ法電子線トラック解析から算定した。

(5) 以上の結果を総合評価し、低線量放射線被ばく時の放射線高感受性の解明を試みた。

## 4. 研究成果

(1) 放射線治療に用いられるような比較的高線量率の X 線照射においても一定の照射時間が必要となるが、その時間を考慮した MK モデルによって、細胞生存率に与える線量率の効果を調べた。マルコフ連鎖モンテカルロ (MCMC) 法と偏差情報量基準 (DIC) に基づいて、モデルの妥当性を検証し、線量率を考慮することの重要性を提示した。

(2) 線量率や連続・分割照射の条件を変えた実験における X 線照射細胞について、細胞周期をフローサイトメーターにより定量化し放射線感受性との関係を調べる一方、免疫抗体蛍光染色法により、蛍光顕微鏡を用いて細胞核内の DNA 二本鎖切断 (DSB) 数を観測した。それらに対して、細胞周期に依存する DNA 量と細胞核ごとに付与されるエネルギーの統計的変動を考慮したモデルを立て、実測 DSB 数とよく一致する結果を得た。さらに、細胞生存率の線量率依存性、損傷・修復率との関係、細胞の対数増殖相やプラトー増殖相による違いに関して、亜致死損傷量や線量率を考慮した MK モデルが実測結果をうまく再現していることを示した。

(3) 放射線照射において、放射線が直接ヒットしない非標的細胞が、ヒット細胞からのシグナルによって細胞死に至る効果を組み入れられるよう MK モデルを拡張し (IMK モデル) そのモデルによって低線量での高感受性現象などを説明できることを示した。

(4) 放射線治療に用いられるような比較的高線量率の X 線照射に対する前立腺がんの放射線

抵抗性に関し、癌幹細胞 (CSC) を組み入れた解析を、従来の LQ モデルおよび MK モデルをもとに行った。これにより、前立腺がんの放射線治療計画では、CSC の存在割合を適切に考慮する必要があることが示唆された。

以上で得られた結果をまとめて英文誌に投稿し、当該 3 年間で、7 編が受理・掲載された。また、2017 年度に主催した放射線被ばく関連の国際シンポジウムの開催報告を環境放射線被ばく関連の学会誌にて行った。さらに、関連する成果を、国際学会で 26 件、国内学会で 34 件発表し、総計 12 件の発表賞等を受賞した。

## 5 . 主な発表論文等

### [ 雑誌論文 ] ( 計 8 件 )

Radio-resistance analysis in high-dose range of prostate cancer cells including cancer stem cells based on a stochastic model. *J. Radiat. Res.*, in press (2019), Ryo Saga, Yusuke Matsuya, Rei Takahashi, Kazuki Hasegawa, [Hiroyuki Date](#), Yoishiro Hosokawa. ( 査読有 )

Investigation of dose-rate effects and cell-cycle distribution under protracted exposure to ionizing radiation for various dose-rates. *Scientific Reports* **8**: 8287 (2018), Yusuke Matsuya, Stephen J. McMahon, Kaori Tsutsumi, [Kohei Sasaki](#), Go Okuyama, Yuji Yoshii, Ryosuke Mori, Joma Oikawa, Kevin M. Prise, [Hiroyuki Date](#). ( 査読有 )

Integrated Modelling of Cell Responses after Irradiation for DNA-Targeted Effects and Non-Targeted Effects. *Scientific Reports* **8**: 4849 (2018), Yusuke Matsuya, [Kohei Sasaki](#), Yuji Yoshii, Go Okuyama and [Hiroyuki Date](#). ( 査読有 )

Meeting Report on “The 4th Educational Symposium on Radiation and Health (ESRAH) by Young Scientists in 2017”. *Radiation Environment and Medicine* **7** (2): 121-124 (2018), Ryo Saga, Takakiyo Tsujiguchi, Masaru Yamaguchi, Yasuyo Fukushi, Yohei Fujishima, Yusuke Matsuya, Joma Oikawa, Marin Terashima, [Hiroyuki Date](#), Toshiya Nakamura and Yoichiro Hosokawa. ( 査読有 )

Estimation of the radiation-induced DNA double-strand breaks number considering cell cycle and absorbed dose per cell nucleus. *J. Radiat. Res.* **59**: 253-260 (2018), R. Mori, Y. Matsuya, Y. Yoshii, [H. Date](#). ( 査読有 )

Comparison of the average surviving fraction model with the integral biologically effective dose model for an optimal irradiation scheme. *J. Radiat. Res.* **59**, No. S: i32-i39 (2018), Ryo Takagi, Yuriko Komiya, Kenneth L. Sutherland, Hiroki Shirato, [Hiroyuki Date](#) and Masahiro Mizuta. ( 査読有 )

Markov chain Monte Carlo analysis for the selection of a cell-killing model under high-dose-rate irradiation. *Med. Phys.* **44** (10): 5522-5532 (2017), Y. Matsuya, T. Kimura, [H. Date](#). ( 査読有 )

Inorganic polyphosphate enhances radio-sensitivity in a human non-small-cell lung cancer cell line, H1299. *Tumor Biology* **39** (6): 1-6 (2017), K. Tsutsumi, Y. Matsuya, T. Sugahara, M. Tamura, S. Sawada, S. Fukura, H. Nakano, [H. Date](#). ( 査読有 )

### [ 学会発表 ] ( 計 59 件 : 国際 25、国内 34 )

R. Saga, Y. Matsuya, R. Takahashi, K. Hasegawa, [H. Date](#), Y. Hosokawa. Fundamental Study for Radioresistance Prediction in Prostate Cancer Using Stochastic model. 9th International Conference on High Level Environmental Radiation Areas - For Understanding Chronic Low-Dose-Rate Radiation Exposure Health Effects and Social Impacts (ICHLERA 2018), 2018.9.24-27, Hirosaki, Aomori, Japan

S. Naijyo, Y. Matsuya, [H. Date](#). Cell surviving fraction model for multi-fractionated radiotherapy considering cancer stem cells (CSCs). The 5th meeting of educational symposium of radiation and health (ESRAH), 2018.9.29-30, Sapporo, Hokkaido, Japan (Poster)

T. Miyao, Y. Matsuya, [H. Date](#). Estimation of biological effect on normal and tumor cells in IMRT. The 5th meeting of educational symposium of radiation and health (ESRAH), 2018.9.29-30,

Sapporo, Hokkaido, Japan (Poster)

Y. Yachi, Y. Yoshii, Y. Matsuya, H. Date. Effects of X-rays energy spectrum and electron track structure on DNA damage. The 5th meeting of educational symposium of radiation and health (ESRAH), 2018.9.29-30, Sapporo, Hokkaido, Japan (Poster)

J. Oikawa, Y. Matsuya, N. Hamada, H. Date. Modeling for colony formation of human lens epithelial cells following ionizing radiation exposure. The 5th meeting of educational symposium of radiation and health (ESRAH), 2018.9.29-30, Sapporo, Hokkaido, Japan (Poster)

C. Yu, Y. Matsuya, M. Ishikawa, H. Date. Cell responses of lung cancer after exposure to X-rays following in-field and out-of-field configuration. The 18th AOCMP & The 16th SECOMP, 2018.11.11-14, Connexion Convention & Event Centre Bangsar South, Kuala Lumpur, Malaysia (Oral)

Y. Yachi, Y. Yoshii, Y. Matsuya, H. Date. Micro- and nano-dosimetric analyses of the energy deposition by ionizing radiations. The 18th AOCMP & The 16th SECOMP, 2018.11.11-14, Connexion Convention & Event Centre Bangsar South, Kuala Lumpur, Malaysia (Oral)

R. Mori, Y. Matsuya, Y. Yoshii, H. Date. Computational estimation of the number of DNA double-strand breaks per nucleus in mammalian cells after X-ray exposure in consideration of cell cycle. The 3rd FHS (Faculty of Health Sciences) International Conference, 2017.7.07, Sapporo, Hokkaido, Japan. (Poster)

R. Yamada, Y. Matsuya, H. Date. Estimation of OER in consideration of LET and oxygen partial pressure by the Microdosimetric-Kinetic model. The 3rd FHS (Faculty of Health Sciences) International Conference, 2017.7.07, Sapporo, Hokkaido, Japan. (Poster)

R. Mori, Y. Matsuya, Y. Yoshii, H. Date. A model analysis to estimate the number of DNA double-strand breaks in cells exposed to X-rays. The 43rd Annual Meeting of the European Radiation Research Society, Universitätsklinikum Essen, 2017.9.4-8, Essen, Germany. (Poster)

R. Yamada, Y. Matsuya, H. Date. Modelling of oxygen enhancement ratio in consideration of LET and oxygen partial pressure by using a microdosimetric-kinetic model. The 43rd Annual Meeting of the European Radiation Research Society, Universitätsklinikum Essen, 2017.9.4-8, Essen, Germany. (Poster)

Y. Matsuya, SJ. McMahon, KM. Prise, H. Date. Application of the IMK model to cell survival curves following the exposure to intensity modulated radiation fields. The 43rd Annual Meeting of the European Radiation Research Society, Universitätsklinikum Essen, 2017.9.4-8, Essen, Germany. (Oral and Poster)

K. Sasaki, Y. Matsuya, Y. Yoshii, T. Sanada, Y. Yaegashi, and H. Date. A simulation study for both of the targeted and untargeted effect on the uniformly irradiated cells. 43rd Annual Meeting of the European Radiation Research Society, Universitätsklinikum Essen, 2017.9.4-8, Essen, Germany. (Symposium)

R. Mori, Y. Matsuya, Y. Yoshii, H. Date. Mathematical estimation of the number of DNA double-strand breaks induced by radiation exposure. The 4th meeting of educational symposium of radiation and health (ESRAH), Hirosaki University, 2017.9.23-24, Hirosaki, Aomori, Japan. (Poster)

R. Yamada, Y. Matsuya, H. Date. Estimation of OER by function considering variation of LET, dose rate and oxygen partial pressure. The 4th meeting of educational symposium of radiation and health (ESRAH), Hirosaki University, Hirosaki, 2017.9.23-24, Hirosaki, Aomori, Japan. (Poster)

Joma Oikawa, Tetsuya Sakashita, Yusuke Matsuya, Ryosuke Mori, Hiroyuki Date. A cell cycle model for long term exposures of ionizing radiations. The 4th meeting of educational symposium of radiation and health (ESRAH), 2017.9.23-24, Hirosaki, Aomori, Japan. (Oral and Poster)

Y. Matsuya, K. Tsutsumi, K. Sasaki, Y. Yoshii, T. Kimura, H. Date. "Mathematical analysis of the cell viability under low dose-rate exposure: the change of DNA amount during the protracted

irradiation”, 42nd Annual Meeting of the European Radiation Research Society, 2016.9.4-8., Royal Tropical Institute, Amsterdam, Netherlands. (Poster)

T. Kimura, Y. Matsuya, H. Date. “Determination of cell surviving fraction for radiotherapy in fractionated irradiation considering dose rates and repopulation of tumor cells”, 42nd Annual Meeting of the European Radiation Research Society, 2016.9.4-8., Royal Tropical Institute, Amsterdam, Netherlands. (Poster)

K. Sasaki, Y. Matsuya, H. Date. “Estimation of DNA damage kinetics in both targeted and non-targeted cells using a stochastic model with the microdosimetric analysis”. The 62nd Radiation Research Society (RRS) Annual Meeting in Waikoloa, Hawaii, 2016.10.16-19. (Poster)

他、6件 + 国内発表 34件

〔図書〕(計1件)

伊達 広行．診療放射線基礎テキストシリーズ2「放射線物理学」：第4章 物質との相互作用  
4.2 電子，p92～p111．共立出版，2019.3.10

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<https://www.hs.hokudai.ac.jp/date/>

## 6．研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：佐々木 恒平

ローマ字氏名：Sasaki Kohei

所属研究機関名：北海道科学大学

部局名：保健医療学部

職名：准教授

研究者番号(8桁)：20736376

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。