

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 10 日現在

機関番号：15401

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19582

研究課題名(和文) 肺癌診療でのCT検査の安全性を調べるハイスループット放射線被曝評価法の開発

研究課題名(英文) Novel high-throughput assessment of radiation exposure at computed-tomography for lung cancer

研究代表者

岡田 守人 (Okada, Morihito)

広島大学・原爆放射線医科学研究所・教授

研究者番号：70446045

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：画像認識ソフトウェアでは重なり合った染色体を認識することが困難であるため、まず最適な染色体標本の作製条件を設定した。さらにPNAプローブを認識する赤色および緑色の化学色素を用いて光学顕微鏡においても観察可能なPNA-FISH法を確立した。ギムザ染色による染色体標本用の自動解析ソフトウェアを基盤とし、PNAプローブにより赤色と緑色の色素で可視化されたセントロメア、テロメアからなる染色体の自動解析ソフトウェアを開発した。これらを用いて、肺癌患者において通常CTと低線量CTによるDNA二本鎖切断と共に染色体異常を測定した。前者では人体に悪影響が見られたが、後者ではそれが見られなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

福島原発事故を契機に国民の放射線被曝に関する懸念は一気に高まった。これまでCT検査による放射線被曝の障害に関する科学的データは皆無である。染色体異常の発生頻度は放射線被曝線量と強い相関を示すため、その定量的評価に有用な指標となる。染色体異常の検出を迅速に行うハイスループット染色体解析法を確立した本研究により、個々の患者におけるCT検査の安全性、術後フォローでの頻度、リスク評価スコアリング、抗癌剤の影響、利益/リスク比を示すことができ、肺癌診療のみならず一般の実地診療においても有意義であり、患者や医療従事者の安心に繋がる。

研究成果の概要(英文)：Because it was difficult to recognize the chromosome which overlapped as two another chromosome by the image recognition software, at first we have set the manufacture condition of the most suitable chromosome specimen. Furthermore, we have established the PNA-FISH method which was observable in the optical microscope using red or green chemical pigments to recognize PNA probe as well as a fluorescent dye. We have developed the automatic analysis software of the chromosome consisting of the centromere and the telomere visualized with red and green pigments by PNA probe, based on the automatic analysis software for the chromosome specimen by the Giemsa's stain. DNA double-strand breaks and chromosome aberrations increased after a single standard-dose chest CT examination, whereas there was no difference in the number of DNA damages observed before and after a single low-dose chest CT examination.

研究分野：呼吸器外科

キーワード：放射線被曝 低線量CT 染色体異常

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本邦において全人口の 1/3~1/2 が罹患する悪性新生物、特に固形腫瘍の診断治療および治療後の経過観察において CT 検査は必須検査の 1 つである。しかし CT 検査における放射線低線量被曝の人体に及ぼす影響に関して多数の検体を用い科学的根拠をもとにしたデータはほぼ皆無であり、CT 検査の安全性や至適頻度は明らかとされていない。そのため、東日本大震災時の原発事故を契機に国民の放射線被曝に関する懸念は一気に高まったが、放射線を用いた検査に対する社会的不安は払拭されていない。また、抗癌剤治療は DNA 損傷を引き起こす恐れがあり、治療中の CT 検査は人体への悪影響を増強するリスクが考えられる。

2. 研究の目的

東日本大震災時の原発事故により国民の放射線被曝に対する関心が高まり、その危険性への不安は払拭されていない。肺癌などの悪性新生物の診断・治療および治療後経過観察において CT 検査は欠かせないが、その放射線被曝による人体への有害事象(2次癌の発生など)が危惧される。しかし CT 検査による生体への放射線影響に関する科学的知見は皆無である。簡便な染色体異常検出法として PNA-FISH 法が近年開発され、従来のギムザ染色法とは比較にならないほど診断が容易となった。本技術は低線量(15-80mGy レベル)照射においても血液細胞の染色体異常の有無評価が可能である。本研究では PNA-FISH 法を用いてエビデンス提示には欠かせないが従来法では困難であった多数検体の解析法としてハイスループット染色体全自動解析システムの構築を目指す。さらに肺癌患者において抗癌剤使用の有無を考慮して CT 検査の前後に採血を行い、新システムを用いて放射線被曝の影響を染色体異常などのゲノムレベルおよび遺伝子発現レベルで解析、スコア化して、被曝における CT 検査の安全性や至適使用頻度、抗癌剤併用リスクの提唱を目指す。

3. 研究の方法

1) 自動解析用染色体標本の最適化

画像認識ソフトウェアでは重なり合った染色体を 2 つの別の染色体として認識することが困難であるため、まず最適な染色体標本の作製条件を確立する。さらに蛍光色素だけでなく、PNA プローブを認識する赤色および緑色の化学色素を用いて光学顕微鏡においても観察可能な PNA-FISH 法の確立に取り組む。

2) 染色体画像解析ソフトウェアの改良

ギムザ染色による染色体標本用の二動原体染色体・環状染色体用の自動解析ソフトウェアを基盤とし、PNA プローブにより赤色と緑色の色素で可視化されたセントロメア、テロメアからなる染色体の自動解析ソフトウェアの開発に取り組む。学習ソフトウェアを用いて染色体認識率と染色体異常検出率の向上を図る。また、ゲノム損傷マーカーである H2AX などのゲノム修復関連タンパク質について免疫蛍光抗体法による解析も施行する。

3) 患者血液検体における染色体異常(PNA-FISH 法)、ゲノムおよび遺伝子発現解析

肺癌手術後のフォロー中に施行される CT 検査前後に抗癌剤使用の有無を層別化して採血を行う。末梢血リンパ球を分離培養後、PNA-FISH 法による染色体標本を作製する。検体品質のバラツキを考慮し、マニュアルと自動の両解析による二動原体染色体・環状染色体の検出を行い、自動解析の最適化を図る。自動化後には多数の検査前後の検体で染色体異常の検索を試みる。

4. 研究成果

画像認識ソフトウェアでは重なり合った染色体を認識することが困難であるため、まず最適な染色体標本の作製条件を設定した。さらにPNAプローブを認識する赤色および緑色の化学色素を用いて光学顕微鏡においても観察可能なPNA-FISH法を確立した。ギムザ染色による染色体標本の自動解析ソフトウェアを基盤とし、PNAプローブにより赤色と緑色の色素で可視化されたセントロメア、テロメアからなる染色体の自動解析ソフトウェアを開発した。

これらを用いて、肺癌患者において通常CTと低線量CTによるDNA二本鎖切断と共に染色体異常を測定した。前者では人体に悪影響が見られたが、後者ではそれが見られなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sakane H, Ishida M, Shi L, Fukumoto W, Sakai C, Miyata Y, Ishida T, Akita T, Okada M, Awai K, Tashiro S	4. 巻 in press
2. 論文標題 Biological Effects of Low-Dose Chest CT on Chromosomal DNA	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Radiology	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1148/radiol.2020190389	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 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----