

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K10034

研究課題名(和文)がん治療における放射線障害を最小化するための予防法と治療法の開発

研究課題名(英文) Research of preventive and therapeutic methods to minimize radiation damage in cancer treatment

研究代表者

菅原 康志 (Sugawara, Yasushi)

自治医科大学・医学部・客員教授

研究者番号：60260494

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：様々な線量の放射線照射による組織内幹細胞への影響を精査した。また、培養ヒト脂肪由来幹細胞(ASCs)に対して0.5 Gy～20 Gyの放射線を照射して、その影響を分析した。結果、ASCsは、2 Gy程度までは線量依存的に放射線照射の影響を受けるものの、それ以上において線量増加による影響はみられなかった。

動物実験においては、マウス背部皮膚に対して、皮膚の放射線照射後の経時的な変化を調査した。この結果、2 Gy程度の低線量放射線は、組織幹細胞に影響を及ぼすには十分であり、これが放射線による確定的影響の本質であると考えられた。また、放射線障害は、今後再生医療の重要な対象疾患になることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

放射線治療における線量分割の影響を、周囲健全皮膚組織への確定的放射線障害と癌細胞への治療効果の両面において検証した報告は、前例がないものである。また、慢性放射線皮膚障害は、その病因・病態はおろか、動物モデルすら確立されていないのが現状である。さらには、多能性間葉系幹細胞による創傷治癒に与える影響についての基礎研究は、近年報告が増加しているものの、放射線障害モデルに対する再生治療の有効性を検証した報告は少ない。それらの面において非常に意義のある研究である。

研究成果の概要(英文)：A single irradiation of cultured human ASCs resulted in a dose-dependent increase in cell death up to 2 Gy but with no further increases between 2 and 10 Gy. Most of the apoptotic ASCs were in the proliferation phase. Among the three in vivo irradiation protocols, the 2 Gy×20 group had the most severe chronic tissue damage (i.e., skin dysfunction, subcutaneous atrophy, and depletion of CD34+ stem cells) 6 months after the irradiation. Wound healing was also impaired most significantly in the 2 Gy×20 group. These results have important clinical implications for surgeons and radiotherapists such as the timing of surgical interventions and the optimization of fractionation protocols.

研究分野：再生医療

キーワード：放射線治療 分割照射 再生治療

## 1. 研究開始当初の背景

放射線照射は、様々な種類のがんに広く用いられている治療法である。化学療法に比べて臓器特異的な治療が可能な放射線照射法の普及は、がん治療に対する関心の増加、早期発見技術及び適切な補助療法の発達とともに、がん患者の生存率及び QOL 改善に大きく貢献してきた。全がん患者の約 50% が放射線治療を受けており、さらに回復事例の約 40% で放射線治療が使われたと見積もられている。しかしながら、放射線照射は健常組織に対して有害な確定的影響を及ぼす。具体的な所見は臓器によって異なるが、2 週間以内に認める障害を一般に急性障害と呼び、皮膚の紅斑、角質層の肥厚などが代表的な急性障害である。一方、放射線照射後数ヶ月から一年にわたって組織の萎縮や機能不全などがみられる場合もある。このような慢性障害は、急性障害に比べて予測及び治療が難しく、さらに進行性である例も報告されている。放射線治療を受けた患者は、長い期間を放射線照射の影響とともに過ごすこととなるため、放射線障害の影響、とくに慢性的影響を最低限に抑えることは、患者の QOL 向上に極めて重要である。

放射線照射が組織に及ぼす影響は、照射の量及び間隔に依存する。かつては、低線量を複数回に分けて照射する分割照射が組織障害を低減すると信じられていた。たとえば乳がんの治療においては、手術後に乳房全体に 50 Gy 程度の放射線を照射する治療が一般に行われてきたが、胸部全体に 2 Gy 程度の放射線を数週間かけて行うという分割照射が一般的なプロトコルであった。前立腺がんも、乳がんに並んで放射線治療が頻繁に用いられるがんであるが、やはり 74-78 Gy の放射線を 2 Gy 程度に分割して照射する方法が汎用されていた。しかしながら近年では、一回の線量を増やし、照射期間を減らす寡分割照射 (hypofractionated radiation) の有効性が認められつつある。乳がんでは、寡分割照射が従来の分割照射に対して非劣性であることが 10 年にわたる追跡調査で示されているほか、寡分割照射により同等の治療効果を得つつ組織損傷を減らせることが示唆されている。前立腺がんにおいても、寡分割照射が従来の分割照射に対して非劣性であることを示した臨床試験が最近報告された。寡分割照射には通院の負担を減らせるというメリットもあり、実際に日本国内の病院を対象とした 2016 年の調査では、43% の病院が乳がん治療に際して寡分割照射を提案しているとの結果が得られている。このように、大きな流れとして寡分割照射の有効性が認められつつあるものの、健常組織への慢性障害が少ない最適な分割照射条件 (一回照射量、照射間隔) については未だ不明な点が多く残されている。また、患者は照射後の急性傷害に伴う痛みが少ない低線量の分割照射を好む場合もあり、この点も一回照射量を決定する際に考慮に入れる必要がある。

放射線照射による組織障害の病態は複雑であり、DNA 損傷修復、細胞死、炎症、血管新生、細胞外マトリクスの再構築など多くの異なるメカニズムが関わっている。慢性障害の病態及び治療は急性障害よりもさらに複雑であるが、組織に含まれる幹細胞が、放射線照射による組織の慢性障害の程度ととくに密接に関わることを示唆する知見が得られている。形成外科においては、乳癌治療後の乳房再建時に、しばしばこのような病態に遭遇するが、放射線照射により固く菲薄化した皮膚組織を用いた乳房再建は難渋する場合が多い。こうした場合、たとえば、放射線照射後の組織に脂肪移植 (fat grafting) を行うと、慢性障害が低減される。その詳細なメカニズムは不明とされているものの、脂肪組織から得られる脂肪由来幹細胞 (adipose-derived stem cells; ASCs) を用いても同様の効果が得られることから、幹細胞の分裂及び分化が放射線障害からの修復で果たす役割は極めて大きいと言える。ASCs は細胞表面マーカー CD13、CD29、CD44、CD73、CD90、CD105 陽性かつ CD31 及び CD45 陰性の間葉系幹細胞として定義される細胞で [25]、同じ間葉系幹細胞である骨髄由来幹細胞に比べて大量に調製が可能である上、*in vitro* で培養できるため応用への期待が大きい。実際に、近年では放射線障害の治療に幹細胞治療を併用すると高い効果が得られるとする報告も相次いでいる。以上の知見は、最適な放射線照射条件の決定にも有用である。つまり、最適な分割照射条件は、短期間に治癒が期待できる急性障害よりも慢性障害を最小限にするように決定されるべきであるが、それは幹細胞への障害を最小限にするような条件に非常に近い可能性がある。

一方、放射線照射は幹細胞だけでなく血管系にも障害を与える。一般に、幹細胞の分裂や分化には十分な酸素や成長因子が必要であることから、血管系の回復も慢性障害の低減に重要な役割を果たす。なお、ASCs は間葉系幹細胞でありながら上皮細胞にも分化することが可能であり、血管形成にも寄与することが知られている。組織損傷からの回復過程はこのように複雑な組織・細胞間の連携により制御されているため、最適な分割照射条件の決定には *in vivo* での検討が不可欠である。我々は、以前の研究で、ヌードマウスを用いた *in vivo* 実験系を確立した。この研究から、15 Gy、1 日 3 回の照射はマウス皮膚に障害をもたらすものの、10 Gy、1 日 2 回の照射では目立った皮膚障害を認めないという結果が得られている。さらにこの研究では、15 Gy、1 日 3 回の高線量照射後、培養ヒト ASCs または脂肪組織の遠心沈渣を注入したマウスでは、対照群に比べて組織の回復が促進されることが示された。以上の結果は、当該マウスモデルにおいて 10 Gy 程度までの高線量を用いた寡分割照射の影響ならびに ASCs の治療効果を検討できることを示している。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、癌治療における小線量多数回照射後の慢性放射線障害を予防・最小化し、癌細胞への十分な治療効果を維持しつつ確定的障害を最小化する、最適な線量分割プロトコルの確立と、その病因・病態を幹細胞生物学的に解明し、その根本的予防法と、正常化への治療法を開発することである。放射線治療における線量分割の影響を、周囲健全皮膚組織への確定的放射線障害と癌細胞への治療効果の両面において検証した報告は、前例がないものである。また、慢性放射線皮膚障害は、その病因・病態はおろか、動物モデルすら確立されていないのが現状である。さらには、多能性間葉系幹細胞による創傷治癒に与える影響についての基礎研究は、近年報告が増加しているものの、放射線障害モデルに対する再生治療の有効性を検証した報告は少ない。以上の点において、本研究はきわめて独自性のあるものである。

### 3. 研究の方法

本研究では、脂肪幹細胞や、担癌マウスモデルを用いて、一定の放射線治療量を設定し、様々な分割照射プロトコル（一回照射量、照射回数、照射間隔など）で照射を行い、その癌治療効果と共に、周囲健全組織および間葉系幹細胞への長期的放射線障害を評価する。これにより、確定的放射線障害の病態解析を行うとともに、放射線照射プロトコルを最適化することにより、放射線治療により誘導される慢性放射線障害を最小化することを目的とする。さらに、慢性放射線障害の予防治療の可能性、障害確立後の治療の可能性として、幹細胞を利用した再生医療についての検討を行う。

### 4. 研究成果

様々な線量の放射線照射による組織内幹細胞への影響を精査した。培養ヒト脂肪由来幹細胞（ASCs）に対して0.5 Gy～20 Gyの放射線を照射して、その影響を分析した。ASCsは、2 Gy程度までは線量依存的に放射線照射の影響を受けるものの、それ以上において線量増加による影響はみられなかった。

動物実験においては、マウス背部皮膚に対して、【2 Gy×20日間照射、10 Gy（隔週）×4回照射、10 Gy（隔4週）×4回照射、無処置】の計4群各5匹に関して、皮膚の経時的な変化を調査した。この結果、2 Gy×20日間照射群において、放射線照射後6カ月時点で、皮膚粘弾性、Hb酸素飽和度、皮膚酸素分圧いずれにおいても無処置群と比して優位に低下（ $p < 0.05$ ）がみられた。また、照射後6カ月時点における組織学的解析においても、2 Gy×20日間照射群において皮膚の肥厚及び皮下組織の萎縮が確認できた。組織採取部位の創治癒過程を記録したところ、無処置群において創治癒に平均15日要したのに対して、2 Gy×20日間照射群においては平均30日間を要した。

以上より、2 Gy程度の低線量放射線は、組織幹細胞に影響を及ぼすには十分であり、これが放射線による確定的影響の本質であると考えられた。また、放射線障害は、今後再生医療の重要な対象疾患になることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
研究分担者	須永 中  (SUNAGA ATARU)  (00406117)	自治医科大学・医学部・講師   (32202)	
研究分担者	吉村 浩太郎  (YOSHIMURA KOTARO)  (60210762)	自治医科大学・医学部・教授   (32202)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関