

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 15 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2009～2012

課題番号：21249065

研究課題名（和文） 動体追跡医科学研究

研究課題名（英文） Research for Real-time Tracking Medical Science

研究代表者 白土 博樹 (SHIRATO HIROKI)

北海道大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：20187537

研究成果の概要（和文）：

ミクロレベルから動物レベルまで種々の生体を対象にして、定位技術や動体追跡技術を加えることで、生命の空間的な情報を経時的に定量的に扱うことが可能となり、そのデータに基づく新たな病因の追及や治療法の開発につながった。“生命の動き”の膨大なデータ処理が可能になり、新たに生体内の腫瘍の実際の動きをもとにした、新たなリアルタイム放射線治療装置や正確な 4 次元 CT 装置の開発につながりつつある。

研究成果の概要（英文）：

Up to now, in the field of basic medicine from micro-level to animal level, to track and quantify the three-dimensional spatial information along the time axis in real-time has not caught up with the accuracy in the field of clinical medicine. By handling big data of “motion in life, a new idea of real-time radiotherapy and a new precise four-dimensional computed tomography has been developed based on the data of actual tumor motion in the human body.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	9,500,000	2,850,000	12,350,000
2010 年度	8,500,000	2,550,000	11,050,000
2011 年度	8,500,000	2,550,000	11,050,000
2012 年度	8,500,000	2,550,000	11,050,000
年度			
総計	35,000,000	10,500,000	45,500,000

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：放射線治療、動体追跡、医学研究、生体の動き

1. 研究開始当初の背景

動体追跡技術は、体内で呼吸などで動く癌に対する放射線治療の精度を向上させただけでなく、体内臓器の動きに関する数多く

の新事実の発見を促した。

2. 研究の目的

医工学の発展による動体追跡技術を分子レベルからヒトレベルまでの生体科学へ利用し、新たな知見を得、医療の発展に役立てることを目標とする。

ベッドサイドから生まれた技術で、リアルタイムで空間座標を捉える動体追跡観察を細胞・小動物レベルで可能にするとともに、ヒトへの動体追跡照射科学をさらに先鋭的研究により「動体追跡医科学」から「追跡生物学」や「追跡医学」への昇華を図る。時間的連続体である生体の本質である「予測不可能な動き」を個々の生物現象として観察し、その背後にある生命の本質を解明し、疾病の克服を進めるための研究に発展させる。

3. 研究の方法

細胞・小動物・人体各レベルでの動体追跡観察および動体追跡照射を開発研究しながら、本研究により画像を用いた放射線治療学の発展形としての「動体追跡医科学」創成を志向した基盤研究を行う。

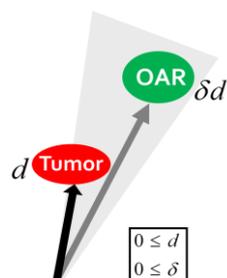
(1) 基礎的動体追跡技術研究、(2) *In vitro* のプレート上で移動する細胞の動体追跡科学の研究、(3) 小動物の観察ボックス内での動体追跡科学の研究、(4) ヒト臓器内での動体追跡科学の研究を行う。

4. 研究成果

(1) 放射線を軸に、ナノレベルの物理現象から患者までいずれのレベルにおいても、3次元の現象を2次元で考えると、誤謬に満ちた解析に陥る可能性が高いことが示唆された。生体の動体追跡科学の基盤研究を行うことの意義が示された。

① X線が生体に照射されたあとの電子線トラック特性解析から、細胞死に至る経路を研究し、それに基づく生存率モデルを提案した。

②細胞への放射線効果の予測を統計学的に行う際には、解析対象を分布値で表現する解析法を導入することで、より正しく記述できることが示唆

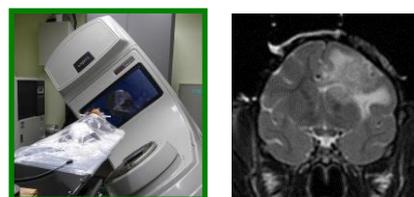


された(下図)。動体追跡照射を行う場合はLinear-quadratic model (LQ model)を利用した適切な線量分割方法の導出法に関する検討を進め、グラフィカル表示法を開発した。

(2) ヒト由来がん細胞が軟らかい基盤上の動きを観察したところNF- κ BやLOXとの関係がわかり、細胞のゲル器質内への浸潤の3次元観察系を構築した。放射線照射後に生残したヒト肺腺癌由来細胞A549細胞の浸潤能が照射前よりも亢進するメカニズムは、アクチン結合タンパク質の一つであるFilaminBの発現が上昇し、浸潤能の亢進をもたらすことが明らかとなった。

(3) マウス体内の各部位における遺伝子発現をリアルタイムに長期間、自由行動中の動物から計測する小動物内の分子の動体追跡技術を開発した。ルシフェラーゼレポーターを用い、体表からの微弱発光レベルの三次元空間における長期間追跡を行うことができ、定量的追跡への土台が整った。小動物の追跡を実用可能とする技術的要件を明らかにし、複数同時動体追跡を可能にし、その有効性を明らかにした。長期間覚醒マウスの組織部位からの遺伝子発現を示す発光を2台のカメラで同時に追跡し、かつ発光量を定量する3次元動体追跡法を完成し、覚醒マウスの*in vivo*発光イメージングによる遺伝子発現を連続的に長期間計測できる方法が確立された。

(4) ヒトでの再現性に問題のあるマウスではなく、大型動物の脳定位照射・動体追跡照射の実験を可能にした。大動物の動体追跡実験が可能になると、生理学的検討に使える可能性が高い。実験動物の脳に治療用放射線の定位照射を行い、マカクサルスの脳の一部への放射線照射の影響をMRIと行動解析によつ



て追跡調査した例はなく、本研究が世界初の試みとなった。2頭のサルの前頭眼野を中心とし領域に計3回の照射を行い、照射後数週

間は浮腫が著明であり、行動指標として用いた眼球運動にも軽度の変化が認められたが、1か月程度の経過で画像所見、行動ともに照射前のレベルに落ち着いた（下図）。

(5) ヒトに関する研究

①ひとがんと腫瘍の動体追跡のために消化器への金マーカーの刺入を容易にする工夫を進めた。食道、胃、十二指腸の粘膜下層に粘膜下層剥離術の技術を応用して、金ボールマーカーの挿入法を確立。バルーン小腸鏡を活用し、臨床的に胃リンパ腫などを対象に金ボールを埋め込み、合併症なくRTRT 施行された。これにより、全消化管に金ボールマーカーの挿入は技術的に可能となり、これまで以上に RTRT の適用が拡大できることが判明した。

② 腫瘍が放射線治療にて縮小する時間的な変化を、新しい方法で評価し腫瘍は3次元的な相似型を保ったまま、縮小することを明らかにした。肺腫瘍の動きの範囲が其の日の患者の状態にて変化するベースラインシフトに関する研究を行った。

③ 金マーカーの代わりにPETからの信号を利用した位置決め、FDGに加えてFMISOを利用した治療計画などを検討し、新たな次元の動体追跡照射の研究開発の可能性が示唆された。治療前に投与したPET製剤を利用して、陽子線治療装置に設置されたPET装置を用



未照射群

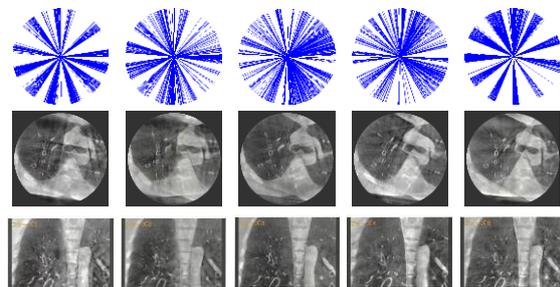
X線照射(13Gy)後の
F18-FMISO PET画像

いて、位置の確認できた症例を検討し、350kBqがあれば画像化できたが、通常の体内のactivityは数kBqであるとすれば、現状の装置では活用が難しく、新たな開発の方向として、RIプローブのがんへの集中性とPET装置のSN比の10～100倍の改善が

示された。

また、放射線治療計画・効果判定を志向した低酸素イメージングプローブとしてFMISO-PETを用いた頭頸部癌患者における腫瘍の低酸素イメージングの再現性を前向き臨床試験で確認した。X線照射により、SCCVII移植腫瘍内のFMISO集積の低下が認められた（上図）。また低酸素マーカーの二重染色により、X線照射24間後に再酸素化が観察された。FaDu移植モデルマウスにおいて、³H-FLTの腫瘍への集積は放射線照射6時間後に著明に低下し、その後時間とともに徐々に回復した。

④ 動体追跡技術を用いた四次元CT撮影が有効と考え、本研究では動体追跡放射線治療時



の金マーカーの動きの軌跡に基づいて体相の位相を判断し、投影画像データを区分して再構成する手法を提案した。その基礎検討として、静止したファントムを撮影した投影データを実際の肺の動きのデータに基づく位相分割に従って区分し、再構成を行った（下図）。

本手法における投影画像の角度分布および四次元再構成画像（Axial および Coronal 断面）を上記に示す。金マーカーの動きが不規則・非周期的であることによって生じると考えられる投影画像の角度分布の欠損は直交二方向からの撮影によって補われており、概ね均等な分布となっている。それでもなお呼気および吸気の終端の位相では角度分布に粗密が見られ、これは特に呼気終端において滞留時間が長くなっているためであると考えられる。

本検討では静止したファントムに対して、実際の肺の動きを適用した場合を想定して投影角度分布を区分し、四次元再構成を行った。これにより四次元再構成における投影角度分布の粗密が画質に与える影響を評価することが可能となった。

⑤ 肺癌患者へ動体追跡放射線治療により、手術不能群の局所制御率 83-93%で有害反応も少なく、有効性が示されたが、T2 での成績が不十分であり、X 線定位放射線治療での限界が示唆された。

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 200 件)

1. Aoyama H, Onodera S, Takeichi N, Onimaru R, Terasaka S, Sawamura Y, Shirato H: Symptomatic Outcomes in Relation to Tumor Expansion After Fractionated Stereotactic Radiation Therapy for Vestibular Schwannomas: Single-Institutional Long-Term Experience, *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1;85(2), 査読有, (2013), 329-334, doi: 10.1016/j.ijrobp.2012.05.003
2. Okamoto S, Shiga T, Yasuda K, Ito YM, Magota K, Kasai K, Kuge Y, Shirato H, Tamaki N: High reproducibility of tumor hypoxia evaluated by 18F-fluoromisonidazole PET for head and neck cancer. *J Nucl Med*, 査読有, 54, (2013) 201-207. doi: 10.2967/jnumed.112.109330.
3. S. Ishihara, M. Yasuda, T. Nishioka, T. Mizutani, K. Kawabata, H. Shirato and H. Haga: Irradiation-tolerant Lung Cancer Cells Acquire Invasive Ability Dependent on Dephosphorylation of the Myosin Regulatory Light Chain, *FEBS Letters*, 査読有, 587, 732-736 (2013).
4. Masahiro Mizuta, Hiroyuki Date, Seishin Takao, Naoki Kishimoto, Kenneth L. Sutherland, Rikiya Onimaru, and Hiroki Shirato: Graphical representation of the effects on tumor and OAR for determining the appropriate fractionation regimen in radiation therapy planning. *Medical Physics* 39 (11), 6791-6795 (2012), doi:10.1118/1.4757580, 査読有
5. Matsushima, A. & Tanaka, M. : Neuronal correlates of multiple top-down signals during covert tracking of moving objects in macaque prefrontal cortex. *J. Cogn. Neurosci.* 24: 2043-2056. (2012) 査読有 doi: 10.4236/cellbio.2012.11001
6. Kato M, Asaka M. Recent Development of Gastric Cancer Prevention. *Jpn J Clin Oncol.* 42: 987-994, (2012)
7. Onodera Y, Nam JM, Hashimoto A, Norman JC, Shirato H, Hashimoto S, Sabe H. Rab5c promotes AMAP1-PRKD2 complex formation to enhance $\beta 1$ integrin recycling in EGF-induced cancer invasion. *J Cell Biol.* 197, 983-996, (2012)
8. Enoki R, Kuroda S, Ono C, Hasan MT, Honma S, Ueda T and Honma K: Topological specificity and hierarchical network of the circadian calcium rhythm in the suprachiasmatic nucleus. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 109:21498-21503, (2012). doi: 10.1073/pnas.1214415110 査読有
9. Sakakibara-Konishi J, Oizumi S, Kinoshita I, Shinagawa N, Kikuchi J, Kato M, Inoue T, Katoh N, Onimaru R, Shirato H, Dosaka-Akita H, Nishimura M: Phase I study of concurrent real-time tumor-tracking thoracic radiation therapy with paclitaxel and carboplatin in locally advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 74(2):248-252, (2011) 査読有
10. Shimizu S, Osaka Y, Shinohara N, Sazawa A, Nishioka K, Suzuki R, Onimaru R, Shirato H, : Use of implanted markers and interportal adjustment with real-time tracking radiotherapy system to reduce intrafraction prostate motion, *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 査読有, 81(4) (2011) 393-399, doi 10.1016/j.ijrobp.2011.04.043
11. Onodera Y, Nishioka N, Yasuda K, Fujima N, Torres M, Kamishima T, Ooyama N, Onimaru R, Terae S, Oizumi S, Nishimura M, Shirato H: Relationship Between Diseased Lung Tissues on Computed Tomography and Motion of Fiducial Marker Near Lung Cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 査読有, 79 (5) , (2011), 1408-1413, doi: 10.1016/j.ijrobp.2010.01.008
12. Tadano, S., Giri, B. : X-ray Diffraction as a Promising Tool to Characterize Bone Nanocomposites, *Science and Technology of Advanced Materials*, 12-6, (2011) pp064708 (11pages). 査読有
13. T. Nishio, A. Miyatake, T. Ogino, K. Nakagawa, N. Saijo, H. Esumi: The development and clinical use of a beam ON-LINE PET system mounted on a rotating gantry port in proton therapy, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 76(1), 277-286 (2010) 査読有

[学会発表] (計 311 件)

1. 浜田俊幸, 石川正純, Kenneth Sutherland, 宮本直樹, 白土博樹, 本間さと, 本間研一, 動体追跡技術による全身の時計遺伝子発現定量解析と行動解析, 第 155 回日本獣医学会大会, 東京大学, 3

- 月 28 日 2013 年
2. Oizumi S, Shinagawa N, Yamada N, Asahina H, Sakakibara-Konishi J, Inoue T, Kato N, Shirato H. Insertion and fixation of gold markers using new disposable insertion system for Real-Time Tumor-Tracking Radiotherapy against lung cancer. 3rd International Conference on Real-time Tumor-tracking Radiation Therapy with 4D Molecular Imaging Technique. Sapporo, Japan 8/FEB/2013
 3. 芳賀 永、Invasive Migration of Irradiation Survived Human Lung Adenocarcinoma Cells in 3D Matrix, 第 31 回札幌国際がんシンポジウム (招待講演)、2012. 7. 23-24、北海道大学 (札幌市)
 4. 久下裕司: IGRT に PET を用いるための基礎研究。シンポジウム 高精度放射線治療における PET/CT の役割。第 51 回日本核医学会学術総会, 2011. 10. 29. つくば国際会議場 (つくば)
 5. Y. Ohtsubo, K. Tsutsumi, K. Sasaki, K. Wakui, and H. Date. Microdosimetric Kinetic Analysis of the Lesions in Bio-Cells by Radiation Exposure. PROGRAMME GUIDE & BOOK OF ABSTRACTS of 14th International Congress of Radiation Research (ICRR), 40-09, p329, Warsaw, Poland, The Palace of Culture and Science, 2011. 8. 28-9. 1
 6. Tanaka, M. "Neural mechanism of timing: a role for the cerebellum": David Mahoney Center Laboratory Seminar. Organized by Michael E Goldberg. New York. Columbia University Medical Center. 2011. 11. 17
 7. T. Nishio, A. Miyatake, T. Tachikawa, M. Yamada, "The beam ON-LINE PET system mounted on a rotating gantry port for proton therapy in National Cancer Center. Kashiwa," PTCOG 48, Heidelberg, University of Heidelberg, Germany, September 28 - October 3, 2009
 8. Honma S. Photic regulation of phase and tau; adaptive role of a kinase in the SCN. Salve Regina Collage, New Port, Road Island. Gordon Conference on Chronobiology, July 19-24, 2009.

[図書] (計 24 件)

1. S. Takao, S. Tadano, H. Taguchi, H. Shirato: Computer Simulation and Analysis of Three-Dimensional Tumor Geometry in Radiotherapy, Applied Biological Engineering - Principles and Practice, 662(29-46), InTech, (2013)
2. 上坂充、中川恵一、西尾禎治、金井達明監修、「医学物理の理工学-上巻-」、養賢堂、(2012)
3. Tanaka, M. & Kunimatsu, J. "Thalamic roles in eye movements"

- In: Oxford Handbook of Eye Movements (S.P. Liversedge, I.D. Glichrist, S. Everling, Eds.), pp. 235-256, Oxford University Press, UK. 査読有 (2011)
4. Kuge Y et al.: Molecular Imaging for the Assessment of Tumor Malignancy and Response to Therapy. Tamaki N, Kuge Y eds. Springer (Springer Science+Business Media), Heidelberg, (2010), pp. 19-29/303pages
 5. Honma S and Honma K. Single cell neuronal circadian clocks. Editor-in-Chief: LR. Squire, New Encyclopedia of Neuroscience, Elsevier, pp. 843-847, (2009)

[産業財産権]

○出願状況 (計 2 件)

1. 名称: ターゲット位置追跡装置およびターゲット発光検出装置
発明者: 石川正純、浜田俊幸、本間研一、本間さと、ケネス・リー・サザーランド
権利者: 北海道大学
種類: PCT/JP
番号: 2011/075225
出願年月日: 2011年11月1日
国内外の別: 国外
2. 名称: ターゲット位置追跡装置およびターゲット発光検出装置
発明者: 石川正純、浜田俊幸、本間研一、本間さと、ケネス・リー・サザーランド
権利者: 北海道大学
種類: 特願
番号: 2010-245624
取得年月日: 2010年11月1日
国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

白土 博樹 (SHIRATO HIROKI)
北海道大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号: 20187537

(2) 研究分担者

本間 さと (HONMA SATO)
北海道大学・大学院医学研究科・特任教授
研究者番号: 20142713
玉木 長良 (TAMAKI NAGARA)
北海道大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号: 30171888
久下 裕司 (KUGE YUJI)
北海道大学・アイトープ総合センター・教授
研究者番号: 70321958
水田 正弘 (MIZUTA MASAHIRO)
北海道大学・情報科学研究科・教授
研究者番号: 70174026
伊達 広行 (DATE HIROYUKI)
北海道大学・大学院保健科学研究院・教授
研究者番号: 10197600
田中 真樹 (TANAKA MASAKI)
北海道大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号: 90301887
芳賀 永 (HAGA HISASHI)

北海道大学・大学院先端生命科学研究院
・准教授
研究者番号：00292045
西岡 健 (NISHIOKA TAKESHI)
北海道大学・大学院保健科学研究院・教授
研究者番号：80271659
加藤 元嗣 (KATO MOTOTHUGU)
北海道大学・北海道大学病院・准教授
研究者番号：60271673
茶本 健司 (CHAMOTO KENJI)
北海道大学・遺伝子病制御研究所・助教
研究者番号：50447041 (H21 のみ)
大泉 聡史 (OIZUMI SATOSHI)
北海道大学・北海道大学病院・准教授
研究者番号：10421968
松永 尚文 (MATSUNAGA NAOFUMI)
山口大学・医学部・教授
研究者番号：40157334
沖本 智昭 (OKIMOTO TOMOAKI)
北海道がんセンター・診療部長
研究者番号：20295067 (H24→連携研究者)
早川 和重 (HAYAKAWA KAZUSHIGE)
北里大学・医学部・教授
研究者番号：70114189
西尾 禎治 (NISHIO TEIJI)
独立行政法人国立がん研究センター・
臨床開発センター粒子線医学開発部
粒子線生物学室・室長
研究者番号：40415526
但野 茂 (TADANO SHIGERU)
北海道大学・大学院工学研究科・教授
研究者番号：50175444
石川 正純 (ISHIKAWA MASAYORI)
北海道大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：80314772
小野寺 康仁 (ONODERA YASUHIRO)
北海道大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：90435561
澁谷 景子 (SHIBUYA KEIKO)
山口大学・医学部・教授
研究者番号：50335262 (H24 のみ)
浜田 俊幸 (HAMADA TOSHIYUKI)
北海道大学・大学院医学研究科・
特任講師
研究者番号：20360208 (H24 のみ)
鬼丸 力也 (ONIMARU RIKIYA)
北海道大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号：80374461 (H24 のみ)
清水 伸一 (SHIMIZU SHINICHI)
北海道大学・大学院医学研究科・
特任准教授
研究者番号：50463724 (H24 のみ)
土屋 和彦 (TSUCHIYA KAZUHIKO)
北海道大学・北海道大学病院・准教授
研究者番号：60580892 (H24 のみ)
加藤 徳雄 (KATOH NORIO)
北海道大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：80572495 (H24 のみ)
木下 留美子 (KINOSHITA RUMIKO)
北海道大学・大学院医学研究科・特任助教
研究者番号：70507582 (H24 のみ)
井上 哲也 (INOUE TETSUYA)
北海道大学・北海道大学病院・助教

研究者番号：10431363 (H24 のみ)
小野寺 俊輔 (ONODERA SYUNSUKE)
北海道大学・大学院医学研究科・特任助教
研究者番号：30374458 (H24 のみ)
高尾 聖心 (TAKAO SEISHIN)
北海道大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：10614216 (H24 のみ)
加賀 基知三 (KAGA KICHIZO)
北海道大学・北海道大学病院・講師
研究者番号：80224335 (H24 のみ)

(3)連携研究者

寺江 聡 (TERAE SATOSHI)
北海道大学・北海道大学病院・准教授
研究者番号：40240634
小野寺 祐也 (ONODERA YUYA)
北海道大学・北海道大学病院・講師
研究者番号：10272064
作原 祐介 (SAKUHARA YUSUKE)
北海道大学・北海道大学病院・助教
研究者番号：40374459
真鍋 徳子 (MANABE NORIKO)
北海道大学・北海道大学病院・講師
研究者番号：70463742
阿保 大介 (ABO DAISUKE)
北海道大学・北海道大学病院・助教
研究者番号：30399844
加藤 扶美 (KATO FUMI)
北海道大学・北海道大学病院・助教
研究者番号：80399865
キンキン ター (KHIN KHIN THA)
北海道大学・大学院医学研究科・特任助教
研究者番号：20451445
南 ジンミン (NAM JIN-MIN)
北海道大学・大学院医学研究科・特任助教
研究者番号：60414132
佐邊 壽孝 (SABE HISATAKA)
北海道大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：40187282
犬伏 正幸 (INUBUSHI MASAYUKI)
(独)放射線医学総合研究所・分子イメー
ジング研究センター・研究員
研究者番号：70399830
品川 尚文 (SHINAGAWA NAOFUMI)
北海道大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：20431372
ケネス サザランド
(KENNETH SUTHERLAND)
北海道大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：30451446