

令和 5 年 5 月 10 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15779

研究課題名(和文)細胞外に留置した金粒子による放射線治療増感法の開発

研究課題名(英文)Development of radiotherapeutic sensitization using extracellularly implanted gold anchors

研究代表者

長野 拓也(Nagano, Takuya)

東京医科歯科大学・東京医科歯科大学病院・助教

研究者番号：80792019

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)：放射線治療における金属周囲の線量増加が腫瘍に与える生物学的効果は不明であった。

そこで、コロニー形成法と53BP1フォーカス形成法で金属周囲の増感剤効果比(SER)を評価し、かつその物理シミュレーション実験をした。物理実験では、Particle and Heavy Ion Transport code System (PHITS)を使用し、かつ、頭頸部癌患者への治療を再現した。金属周囲の生物学的効果比は1で、細胞実験で求めた増感剤効果比(SER)とPHITSによって計算したSERは高い相関を示した。また、PHITSで患者の歯冠からの距離1mmにおけるSERは1.2-1.33であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

金属の周囲にある放射線治療による線量の増加が腫瘍にどのような影響を与えるのか、わかっていませんでした。そこで、細胞実験で金属の周囲における増感剤効果比(SER)を評価しました。また、物理シミュレーション実験では、Particle and Heavy Ion Transport code System (PHITS)を使って細胞実験と比較しました。細胞実験とPHITSによる計算結果のSERは高い相関を示しました。金属の周囲の放射線治療の影響を評価し、その結果が細胞実験と物理シミュレーションで一致したので、体内留置金属があっても安全に照射可能かどうか予想できるようになりました。

研究成果の概要(英文)：Radiotherapy can cause intense mucositis around dental materials in the oral cavity. We used the PHITS code to estimate the biological effects of metal perimetry by simulating the amount of DNA strand breaks caused by physical processes of electrons. The sensitizer enhancement ratios (SER) obtained from colony formation assay and 53BP1 focus formation methods were 1.2-1.3, and the perimetallc relative biological effectiveness obtained from PHITS was found to be 1, indicating a high correlation between SER and perimetallc dose enhancement ratio. Results from biological experiments and PHITS simulations showed good correlation. Using a tetrahedral phantom in future simulations, accurate dose distribution can be calculated even with a metal plate implanted.

研究分野：放射線生物学

キーワード：放射線生物学 放射線増感剤 モンテカルロシミュレーション PHITS 歯冠 増感剤効果比 放射線治療 放射線物理学

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 放射線治療においては、金属と腫瘍を同時に照射することがある。この場合、後方散乱により金属の上流では照射線量が増加し、前方散乱により金属の下流では照射線量が低下することが知られている。

(2) 頭頸部腫瘍の放射線治療においては、頸部リンパ節を予防照射するために、口腔粘膜を含む照射野が必要となることが多く、口腔内に留置された歯科材料金属が問題となることがある。歯科材料を含む口腔内を照射する場合、金属の上流に口腔粘膜がある場合、強い粘膜炎の原因となることが報告されている。そのため、特に歯科材料を使用する場合は、物理計算や線量測定手法を用いて、金属周辺の線量増加を推定する必要がある。過去の研究により、厚さ 2mm の歯科金属板に放射線を照射した場合、後方散乱した光子や電子により、金属の上流 1mm でおおよそ 1.2 倍の線量増加が生じることが示されている。しかし、金属周囲の線量増加が腫瘍に与える生物学的効果については未解明のままである。

(3) また、我々は Particle and Heavy Ion Transport code System (PHITS)を用いて、電離放射線の生物学的効果を推定する研究を行ってきた。PHITS は、1meV から 1MeV の広い入射エネルギー範囲で液体水中の電子の飛跡構造をシミュレートすることができ、DNA 鎖切断収率の推定を通じて、電子の物理過程のみから DNA 鎖切断量 (シングルストランドブレイク:SSB、ダブルストランドブレイク:DSB、SSB 数、DSB 数、DSB/SSB 比) を推定することができる。

2. 研究の目的

本研究では、治療に使用される X 線が金属周辺の細胞に与える生物学的影響を明らかにし、in vitro の結果と、PHITS を用いた in silico の結果と比較した。さらに、計算により得られた生物学的効果比を用いて、頭頸部癌患者への放射線治療における口腔粘膜の線量増加について PHITS を用いたシミュレーションを行った。

3. 研究の方法

歯冠や体内留置マーカーとして金が利用されることがある。これは金が重元素であり、X 線と強く相互作用する特性を持つからである。本研究では、この特性を利用して細胞への影響を調べる実験を行った。しかし、金は高価であり、円板状に加工することが困難である。そこで、代替材料として同じく重元素でありながら安価で加工しやすい鉛も併用し、様々な条件下での実験を行った。また、Varian 社製のリニアック Clinac 4EX および Clinac 6EX (Varian Medical Systems, Palo Alto, CA, USA) を用いて、公称エネルギーが 4, 6, 10 MV の X 線を 2.4 Gy/min の線量率で照射した。10 cm 厚のソリッドウォーターの上に培養皿を置き、その上に 5 cm 厚のソリッドウォーターを重ねた。培養皿の底には、培養皿と同じ大きさに切り抜かれた金と鉛の円盤状の金属板をそれぞれ配置し、コントロールと比較した。培養皿をアイソセンターとして、照射口からの距離は 100 cm、フィールドサイズは 20 cm×20 cm とした。

(1) コロニー形成アッセイ

金や鉛のディスクを用いて X 線の強度を変化させ、HeLa-Fucci (SA) 細胞の放射線感受性を評価した。

(2) 免疫染色

金や鉛のディスクを用いて 6MV の X 線の強度における DNA 損傷応答に關与するタンパク質の一つである 53BP1 の局在変化を蛍光顕微鏡で観察した。

(3) PHITS を用いた線量計算と DNA ダメージシミュレーション

上記(1)(2)の実験系において PHITS を用いてシミュレーションし(図 1) DSB 数から増感剤効果比 :Sensitizer enhancement ratio(SER)、及び、DSB 数から得られた生物学的効果比(RBE_{DSB})を計算した。また、金属の有無により線量が増加するが Dose enhancement ratio(DER)を以下の式(1)の通り定義し計算を行った。E_{w0}は金属なしの吸収線量、E_wは金属ありの吸収線量とする。また、このとき SER、DER、RBE_{DSB}には以下の式(2)が成り立つ。

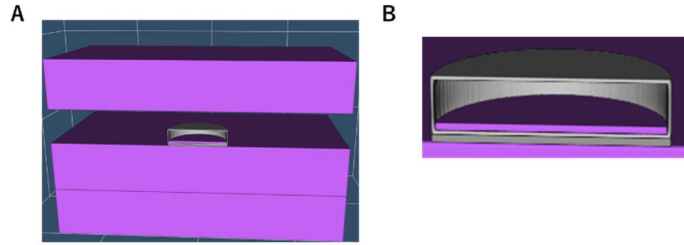


図1 PHITSにおける実験系のシミュレーション
A.実験系の断面図 ソリッドウォーターファントムの中心に培養皿と金属板が置いてある B.培養皿と培養液、金属板の断面図を拡大した様子

$$DER = \frac{E_w}{E_{w0}} \quad (1)$$

$$SER = DER \times RBE_{DSB} \quad (2)$$

(4) PHITS を用いた歯冠周囲の線量計算

上記(3)の結果を用いて、頭部と口腔を単純化した四面体ファントム、また CT ファントムを用いたボクセルファントムを用いて、実際の歯冠周囲の線量をシミュレーションした。舌転移した病変に対する左右対向 2 門照射の緩和照射を想定して 5 × 5cm の照射を行った際の歯冠周囲の線量を評価した。

4 . 研究成果

(1) コロニー形成アッセイ

X 線照射後の線量-生存率曲線から得られた生存率 0.1 において、SER は 1.2-1.3 という値が得られた。図 2A の通り、Au と Pb では有意な差が見られなかった。図 2B の通り、4, 6, 10MV の放射線強度の違いによる有意な差は得られなかった。図 2C の通り、厚さが 0.5-3mm の鉛板では、厚さが 1mm 以上の鉛板において、SER に違いは認めなかった。

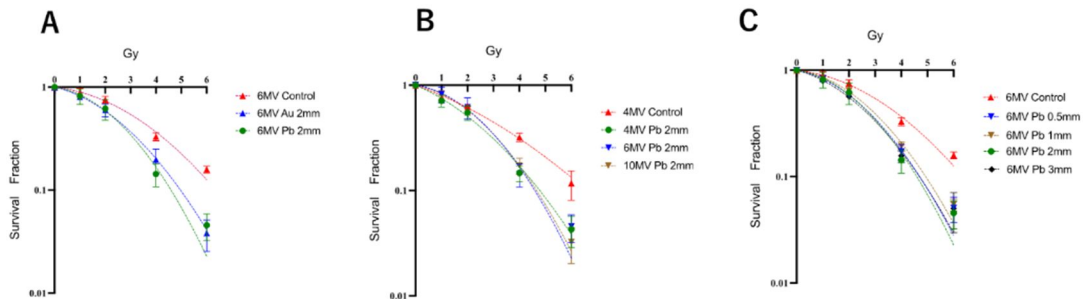


図 2 コロニーアッセイ

A.同じ2mm厚でAuとPbを比較 B.X線強度で比較 C.同じPbで様々な厚みで比較

(2) 53BP1 の Foci 数

図 3 の通り、53BP1 の Foci 数をバイオリンプロットで定量的に確認した。

これらの結果から、金板と鉛板で同じ厚みであれば、違いがないことが示唆された。金属なしと鉛板ありと比較し、鉛板ありのほうが有意に DSB 数が多いことが示された (p<0.003)。また、興味深いことに、鉛の厚みの違いによる DSB の違いには有意差を認めなかった。金属が X 線を散乱させて生成される二次電子の量は、金属の厚みが 0.5mm 以上で飽和することが示唆された。

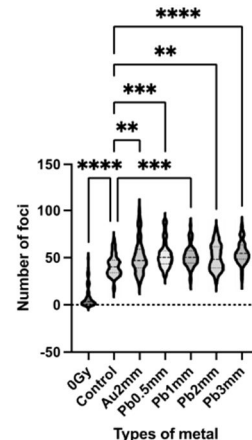


図 3 金属の種類別の53BP1のFoci数

(3) PHITS を用いた線量計算と DNA ダメージシミュレーション

PHITS を用いて、線量分布を計算した。図 4A の通り、金属ありの条件下の線量分布を示している。

また、4MV、6MV、10MV のエネルギーで、さまざまな条件下（金板、鉛板、厚さの違い、鉛ビーズ、金属との距離を離れた条件、金属で遮蔽した条件）で照射した細胞のコロニー形成能を測定し、生存率が 10%となる線量を基準として、各エネルギーでの SER を算出した。また、PHITS を用いて、それぞれのエネルギーの同様の条件下でシミュレーションした線量増感比 (DER) を計算した。この結果の散布図を図 4B に示す。in vivo の SER と DER はよく一致していることがわかる ($R^2 = 0.8808$)。

53BP1 foci 数から求めた SER と PHITS コードで求めた RBE_{DSB} で補正した SER との関係を図 4C 示す。これも高い相関を示している ($R^2 = 0.8565$)。

最後に、PHITS コードで求めた RBE_{DSB} の値を用いて、DER を乗じ、補正した SER の値とコロニーアッセイから得られた SER との散布図を示す。 RBE_{DSB} で補正した場合、SER の間には高い相関が見られた ($R^2 = 0.8709$)。予想に反し、 RBE_{DSB} の値はほぼ 1 であり、補正の有無にかかわらずシミュレーション結果とよく一致した。

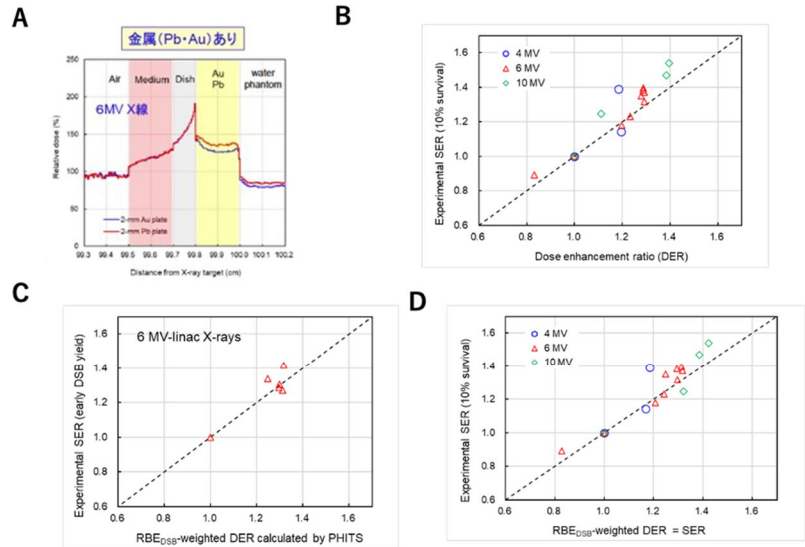


図4 PHITSによるシミュレーション結果
金属近傍の線量分布 B.C.Dでそれぞれ以下の通りの散布図を示す。(B)コロニーアッセイから得られたSERとPHITSで計算したDER、(C)53BP1のFoci数から得られたSERとPHITSで計算したSER、(D)コロニーアッセイから得られたSERとPHITSで計算したSER

(4) PHITS を用いた転移性舌腫瘍の緩和照射シミュレーション

PHITS において DER が SER と近似して計算できることが示唆されたため、実際に、人の歯冠周囲の線量分布がどうなるか検証を行った。図 5 のように、歯冠の周囲で線量は高くなる計算結果が得られた。図 5A は四面体ファントムの結果であり、それぞれ赤、青、緑、黄色の線は純金、金歯、銀歯、チタンの金属材料での結果を示している。Z(cm)における 0-0.2cm の

黄色の領域は金属の存在を示す。純金からの 1mm の距離 ($Z = -0.1\text{cm}$) における頬粘膜側の SER は 1.33 であり、in vitro、in silico で得られた SER の値をサポートする結果となった。一方、図 5B のように、CT 画像によるボクセルファントムでは、空間分解能に限界があるため金属との境界を正確に特定することができず、定量的な評価が困難であった ($Z(\text{cm})$ における約 0-0.2cm の青色の領域は金属の存在が推定されるが、確かめる方法ない)。また、ボクセルにはポリウム効果があるため SER 値が過小評価された。

以上の結果のように、in vitro および in silico 解析に基づき、口腔内金属材料付近の放射線増感効果について評価した。in vitro での生存率および早期 DSB 収量の SER は 1.2-1.3 であり、PHITS コードによる線量増感比 (DER) で再現することができる。このことから、PHITS コードを用いて、金属周辺口腔粘膜における SER 分布を推定することができることが示された。しかし、CT 画像を用いて SER を評価する場合、空間分解能が不十分なためポリウム効果により SER が過小評価されることがある。今後、このボクセルファントムによる問題を解決するために、人体構造を詳細に考慮した四面体ファントムの開発が必要である。

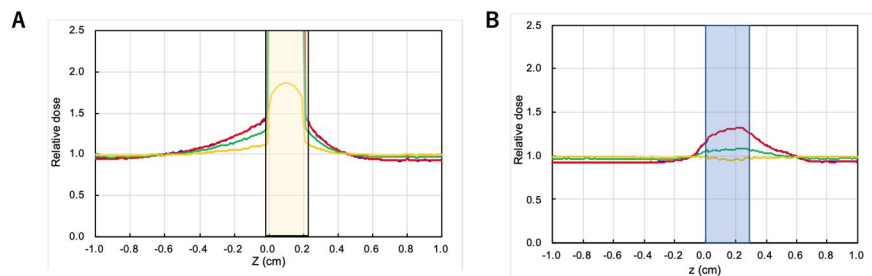


図5 PHITSによる歯冠周囲の線量分布
A. 四面体ファントムにおける歯冠周囲の線量分布 B. ボクセルファントムにおける歯冠周囲の線量分布

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 長野拓也
2. 発表標題 PHITSを用いた口腔内金属周囲の放射線増加シミュレーション結果とその生物学的効果の比較
3. 学会等名 日本放射線腫瘍学会第35回学術大会
4. 発表年 2022年

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

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
---------	---------