

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 24 年 6 月 19 日現在

機関番号：82502

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010 ～ 2011

課題番号：22791235

研究課題名（和文）重粒子線照射による肺障害発症の分子メカニズム解析

研究課題名（英文） Analysis of molecular mechanisms of lung injury by carbon-ion therapy

研究代表者

藤田 英俊 (Fujita Hidetoshi)

独立行政法人放射線医学総合研究所・重粒子医科学センター・研究員

研究者番号：90571802

研究成果の概要（和文）：

放射線治療のひとつである炭素線治療は、肺がん治療においては、高齢者や低肺機能で手術適応のない患者に有効な治療法と考えられている。本研究では、炭素線治療に資する基礎研究として、マウス肺晩期障害実験モデルを用いて、重粒子線治療後の放射性肺炎および肺線維症の特徴を明らかとし、その発症メカニズムを解明することを目的とした。その結果、線維化部位での MMP-9 の高発現が、肺線維症から改善するかしないかのポイントに重要であることを明らかとした。

研究成果の概要（英文）：

In lung cancer treatment, carbon-ion (C-ion) radiotherapy is considered to be a cure effective in elderly patients or patients with non-operation adaptation. In this study, we investigated the feature of pneumonia and pulmonary fibrosis after C-ion radiotherapy and molecular mechanisms of lung injury by this treatment using *in vivo* mouse model. We elucidated that high expression of MMP-9 in fibrotic areas might be a turning point to recover from pulmonary fibrosis after irradiation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

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：炭素線、肺線維症、MMP-9、系統差

1. 研究開始当初の背景

現在、手術のように体の一部を切り取ることなく、組織や機能を残したま

ま治療ができる放射線療法の重要性は、がん治療において高まりつつある。放射線の一種である重粒子線は、従来の放射線に比

べて体の表面や他の組織への影響を最小限に抑え、深部のがん病巣に集中的に照射できる性質があり、高度先進医療として承認され、治療が開始されている。

肺がんは、年々その数が増加し、部位別がん死亡数(2007年)一位であり、かつ、重粒子線治療の重要なターゲットの一つでもある。重粒子線照射は、従来の放射線治療に比べて、副作用の軽減が期待されているが、一方で、複雑な放射線肺炎発症が指摘されている。しかしながら、その詳細なメカニズムは解明されておらず、かつ、重粒子線照射後の肺障害に関する動物実験の報告はない。

2. 研究の目的

放射線治療のひとつである重粒子線治療は、近年、高度先端医療として承認され治療が開始されている。肺がん治療においては、高齢者や低肺機能で手術適応のない患者に有効な治療法と考えられている。重粒子線照射による肺組織での炎症反応や正常組織への照射による有害事象が今後の課題となっているが、現在その詳細は明らかとされていない。本研究では、重粒子線治療に資する基礎研究として、マウス晩期障害実験モデルを用いて、重粒子線治療後の放射性肺炎および肺線維症の特徴を明らかとし、その発症メカニズムを解明する。

3. 研究の方法

マウス全肺に重粒子照射を行う。用いるマウスは、放射線感受性が異なる近交系2種マウス(C3H/He, C56BL/6J)。

(1) 重粒子線照射

照射条件として、290 MeV/n、SOBP 6 cmで10Gyを全肺照射した。その後、32週にわたり、照射後肺のサンプリングを行う。サンプリング時期は12, 24, 28, 32週後に行った。

(2) 組織学的解析

回収したマウス肺組織をHE染色にてその構造、免疫細胞の流入について検討した。さらに、マッソントリクローム染色による肺に沈着した抗原線維を指標として、肺の線維化を比較検討した。また、表面抗原マーカーを用いた免疫染色により、マクロファージや炎症性細胞の有無を観察した。さらに、線維化に重要であるMMP-2, MMP-9, TIMP-1、細胞外基質であるコラーゲンIVの発現を組織染色にて検討した。

(3) 遺伝子発現解析

肺の線維化に重要であるMMP-2, MMP-9, TIMP-1の肺での発現量をリアルタイムPCRに

て検討した。

4. 研究成果

炭素イオン線10Gyを2系統のマウス(C57BL/6J, C3H/He)の肺に照射し経時観察を行った。C57BL/6Jでは照射後24週から肺の線維化が認められ、28週では5匹中5匹で線維化が観察された。一方で、C3H/Heでは24週で線維化が5匹中3匹観察されたが、28週では線維化が観察されなかった。この結果は、C57BL/6Jは経時的に線維化が進行していくが、C3H/Heでは一過性に線維化が起こりその後改善されたことを示している。そこで、この2系統間でのMMP-2, MMP-9, TIMP-1の発現をリアルタイムPCRと免疫染色にて比較解析した。その結果、MMP-2, TIMP-1は線維化した肺での発現亢進が両系統で同様に認められた。一方で、MMP-9の線維化部位における発現量は、線維化が修復されるC3H/Heマウスで顕著に増加していた。これらの結果は、線維化部位でのMMP-9の高発現が、肺線維症から改善するかしないかのポイントに重要であることを示している。

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 3件)

- ① Moritake T, Fujita H, Yanagisawa M, Nakawatari M, Imadome K, Nakamura E, Iwakawa M, Imai T.
Strain-dependent Damage in Mouse Lung After Carbon Ion Irradiation.
Int J Radiat Oncol Biol Phys. In press
(2012) 査読あり
- ② Saito-Fujita T, Iwakawa M, Nakamura E, Nakawatari M, Fujita H, Moritake T, Imai T.
Attenuated lung fibrosis in interleukin 6 knock-out mice after C-ion irradiation to lung.
J Radiat Res (Tokyo). 52, 270-277
(2011). 査読あり

③ Imadome K, Iwakawa M, Nakawatari M, **Fujita H**, Kato S, Ohno T, Nakamura E, Ohkubo Y, Tamaki T, Kiyohara H, Imai T. Subtypes of cervical adenosquamous carcinomas classified by EpCAM expression related to radiosensitivity. 査読あり *Cancer Biol. Ther.* 10 1019-1026 (2010).

[学会発表] (計 4 件)

① Moritake T, **Fujita H**, Yanagisawa M, Nakawatari M, Imadome K, Nakamura E, Iwakawa M, Imai T. Strain-dependent intra-alveolar hemorrhage with the accumulation of CD44 and Mac3 positive cells after carbon-ion irradiation. 14th International Congress of Radiation Research (ICRR' 2011). Warszawa

② **藤田 英俊**、中渡 美也子、中村 悦子、森竹 浩之、下川 卓志、今井 高志
炭素イオン線誘発肺線維症における肺組織リモデリング関連タンパク質の系統間発現解析
第 54 回 日本放射線影響学会
2011 年 11 月、兵庫

③ **藤田 英俊**
重粒子線治療がもたらす生物学的効果—
がん転移抑制と肺晩発障害—
第 12 回運動器科学研究会 2011 年 9 月、
高知

④ **Fujita H**, Saito-Fujita T, Iwakawa M, Nakamura E, Nakawatari M, Moritake T and Imai T.
Reduction of lung fibrosis after

carbon-ion irradiation in Interleukin-6 knock-out mice
第 53 回 日本放射線影響学会、京都
2010 年 10 月

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤田 英俊 (Fujita Hidetoshi)
独立行政法人 放射線医学総合研究所・重
粒子医科学センター・研究員
研究者番号：90571802

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：