

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 4 月 8 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591835

研究課題名(和文)放射線肺臓炎の新規予防法開発を目指した基礎研究

研究課題名(英文)Fundamental study for development of a new preventive method of radiation pneumonitis

研究代表者

井垣 浩(Igaki, Hiroshi)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：90361344

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：右肺スピロラクトン90日徐放200mgペレットをメスWistarラットの左背部皮下に留置し、X線15Gy単回照射して13週後の肺の状態を病理学的に検討した。32匹を4群に分け、A群は照射1週間前、B群は照射1週間後、C群は照射1か月後にスピロラクトンの留置術を行い、残る1群はコントロールとしてX線照射のみ行った。ラット肺の線維化を0～3の4段階で評価した。右肺はA群がコントロール群と比較して線維化スコアが有意に低かった。右肺のB群・C群とコントロールの間および、左肺の各群間には線維化スコアの有意差はなかった。以上より、照射前のスピロラクトン投与はX線照射後の肺線維化を有意に抑制した。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to reveal the anti-fibrotic effect of spironolactone after pulmonary irradiation by an experimental system of rats. Female Wistar rats underwent local irradiation of the right whole thorax with a single dose of 15Gy by 200kVp x-rays. 90-day release pellets of 200mg of spironolactone were implanted in the rat's left back subcutaneously before or after irradiation. 13 weeks after irradiation, rats were sacrificed and bilateral lungs were removed and fixed in buffered formaldehyde for histopathological examinations. Fibrotic changes and foamy macrophage infiltrations were evaluated for each lung. The fibrotic changes of the irradiated lungs were severer when spironolactone was administered before irradiation. If spironolactone administration was delayed after irradiation, fibrotic change was not suppressed by spironolactone. Foamy macrophage infiltrations were not significantly different among the groups of different timings of spironolactone administration.

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：放射線肺臓炎 スピロラクトン レニン アンジオテンシン アルドステロン系

## 1. 研究開始当初の背景

放射線肺臓炎は、胸部の放射線治療において重篤な有害事象であり、これが線量制限因子となるために肺癌や食道癌の放射線治療成績はなかなか上昇しない。喫煙歴や正常肺線量 (mean lung dose や V20) など、放射線肺臓炎発症リスクを評価する方法については多くの研究がなされているが、放射線治療計画に際して肺線量を下げる努力をする以外には、肺臓炎の発症予防に確立した方法はないのが現状である。

本研究では、臓器障害に重要な役割を持つとされるアルドステロンに注目し、スピロラク톤を投与したラットの肺に放射線を照射する実験によって、組織の線維化が原因となって生じる放射線障害を予防するスピロラク톤の作用を確認し、放射線肺臓炎の予防効果を確認することを目的とする。

アルドステロンによって心臓や腎臓の線維化が生じることは古くから知られており、アルドステロンが全身のその他の臓器障害にも強くかかわっていることが示唆されている。アルドステロンは鉱質コルチコイド受容体に結合して炎症誘発性サイトカインを放出するとされており、これによって誘導される TGF- $\beta$  が放射線肺臓炎発症の重要な因子となる。

先行研究では、アンギオテンシン II 変換酵素阻害剤を用いてアルドステロン以下の経路を遮断し、ラットによる実験系で放射線肺臓炎の軽減が確認されている (Ghosh et al., *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2009)。しかし、この実験系で投与された体重あたりのカプトプリル量は、人間の通常使用量の約 10 倍であり、臨床的には応用不可能なシステムと言わざるを得ない。実際、レニン - アンギオテンシン系の阻害だけでは、数週程度で血漿アルドステロン濃度は抑制されなくなってしまいうアルドステロンエスケープ現象が起きることが知られており、これを反映した結果と考えられる。

臨床的有用性を考えると、この炎症誘発カスケードの下流を阻害するのが適切かつ有効と考えられ (Ku et al., *Pediatr Nephrol*, 2009)、鉱質コルチコイド受容体へのアルドステロン結合を阻害するスピロラク톤を用いてこの炎症誘発カスケードを阻害し、放射線肺臓炎の予防効果を実験的に確かめるのが本研究の目的である。

腎に関しては比較的低用量のスピロラク톤投与でも線維化予防効果が示唆されている。また、腎の線維化にも、放射線肺臓炎と同様に TGF- $\beta$  がその発症に強く関与していることも示されている。スピロラク톤と肺線維化との関連についてはこれまでほとんど文献が存在しないが、比較的低用量 (少なくとも日常臨床上の使用量レベル) のスピロラク톤投与によって、放射線肺臓

炎発症リスクが低減できる可能性が高いことが予想される。

放射線障害を予防するための放射線防護剤に関する研究は多数行われているが、その多くはラジカルスカベンジャーであり、これまでも多くの薬剤が試されてきている。理論上は有効であっても、薬剤による副作用などのため、臨床的に有効なレベルの血中濃度を保てるものがほとんど開発できていないのが現状である。

本研究でその有効性を検証するスピロラク톤は、抗アルドステロン薬としての長い臨床実績があり、組織線維化に対する予防効果が多数の研究で報告されており、その他の臓器の線維化への関与も強く示唆されている。しかし、レニン - アンギオテンシン系の阻害による放射線照射後線維化の抑制効果に関する研究報告はこれまでほとんどなされていない。

以上より、放射線肺臓炎における肺線維化を抑制するスピロラク톤の効果が示されれば、新たな放射線防護剤としての役割が示されることによって臨床的な有用性があるばかりでなく、これまでほとんど研究がなされてこなかった放射線照射後の線維化や組織変化に関する鉱質ステロイド受容体の役割を解明する糸口となると予想される。

## 2. 研究の目的

本研究では、放射線肺臓炎の予防方法確立のための基礎実験として、スピロラク톤の投与により、アルドステロンの作用を阻害して放射線照射後の肺線維化予防作用を確かめる基礎実験を行い、その肺線維化予防効果を確かめる。アルドステロンは TGF- $\beta$  を誘導することにより、多臓器の線維化に強く関与していることが知られていることから、これを阻害することによる線維化予防が実証されれば放射線肺臓炎の新たな予防方法確立の手がかりとなり、肺癌や食道癌などの放射線治療で線量増加ができる可能性がある。

## 3. 研究の方法

メス Wister ラットの皮下にスピロラク톤の徐放性ペレット (Innovative Research of America 社製) を埋め込み、ラットの右肺に放射線を 15Gy 照射する。照射後 3 カ月の時点で開胸し、生理食塩水・中性緩衝ホルマリンで灌流固定して病理標本を作成する。病理所見 (ヘマトキシリン・エオジン染色、アザン・マロリー染色) により肺線維症に係わる項目 (線維化および泡沫マクロファージ浸潤) を評価し、グレード分類を行うこととした。

まず、予備実験としてスピロラク톤投与量の異なるラットを用意し、スピロラク톤投与 1 週間後に肺照射を行って組織学的

変化を比較し、スピロラクトンの至適投与量を決定した。スピロラクトンは90日当たり50mg・100mg・200mgの徐放ペレットによる投与もしくはコントロールの4群にわけて照射を行って組織学的変化を見た。

その後、肺線維化の抑制効果が、どのタイミングで生じるのかを確かめるために、スピロラクトンの投与タイミングを変えて更に実験を行った。予備実験で得られた至適投与量200mg/body/90daysで、スピロラクトンの投与タイミングと肺照射のタイミングを変えて実験を行った。

スピロラクトン投与タイミングは、照射1週間前、照射1週間後、照射1か月後およびコントロール(無投与)の4群として肺の組織学的変化を比較した。

#### 4. 研究成果

スピロラクトン90日徐放200mgペレットをメスWistarラットの左背部皮下に留置し、X線15Gy単回照射して13週後の肺の状態を病理学的に検討した。32匹を4群に分け、A群は照射1週間前、B群は照射1週間後、C群は照射1か月後にスピロラクトンの留置術を行い、残る1群はコントロールとしてX線照射のみ行った。ラット肺の線維化を0~3の4段階で評価した。右肺はA群がコントロール群と比較して線維化スコアが有意に低かった。右肺のB群・C群とコントロールの間および、左肺の各群間には線維化スコアの有意差はなかった。泡沫マクロファージ浸潤の程度は、各群間に有意な差は認められなかった。以上より、照射前のスピロラクトン投与はX線照射後の肺線維化を有意に抑制した。

#### 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12件)

Igaki H, Sakumi A, Mukasa A, Saito K, Kunimatsu A, Masutani Y, Hanakita S, Ino K, Haga A, Nakagawa K, Ohtomo K. Corticospinal tract-sparing intensity-modulated radiotherapy treatment planning. Rep Pract Oncol Radiother 2014 in press.

Hanakita S, Koga T, Shin M, Takayanagi S, Mukasa A, Tago M, Igaki H, Saito N. The long-term outcomes of radiosurgery for intracranial hemangioblastomas. Neuro Oncol. 2013 in press.

Yamashita H, Omori M, Okuma K, Kobayashi R, Igaki H, Nakagawa K. Longitudinal Assessments of Quality of Life and Late Toxicities Before and After Definitive Chemoradiation for Esophageal

Cancer. Jpn J Clin Oncol 2014 Jan;44(1):78-84.

Nakagawa K, Haga A, Sakumi A, Yamashita H, Igaki H, Shiraki T, Ohtomo K, Iwai Y, Yoda K. Impact of flattening-filter-free techniques on delivery time for lung stereotactic volumetric modulated arc therapy and image quality of concurrent kilovoltage cone-beam computed tomography: a preliminary phantom study. J Radiat Res. 2014 Jan 1;55(1):200-202.

Fujimaki Y, Tsunoda K, Ishimoto SI, Okada K, Kinoshita M, Igaki H, Terahara A, Asakage T, Yamasoba T. Non-invasive objective evaluation of radiotherapy-induced dry mouth. J Oral Pathol Med. 2014 Feb;43(2):97-102.

Igaki H, Onishi H, Nakagawa K, Dokiya T, Nemoto K, Shigematsu N, Nishimura Y, Hiraoka M; Japanese Society for Therapeutic Radiology and Oncology Health Insurance Committee. A Newly Introduced Comprehensive Consultation fee in the National Health Insurance System in Japan: A Promotive Effect of Multidisciplinary Medical Care in the Field of Radiation Oncology--Results from a Questionnaire Survey. Jpn J Clin Oncol 2013 Dec;43(12):1233-1237.

Hanakita S, Koga T, Igaki H, Murakami N, Oya S, Shin M, Saito N. Role of Gamma Knife surgery for intracranial atypical (WHO Grade II) meningiomas. J Neurosurg 2013 Dec;119(6):1410-1414.

Haga A, Sakumi A, Okano Y, Itoh S, Saotome N, Kida S, Igaki H, Shiraiishi K, Yamashita H, Ohtomo K, Nakagawa K. Dose verification of volumetric modulated arc therapy (VMAT) by use of in-treatment linac parameters. Radiol Phys Technol. 2013 Jul;6(2):335-342.

井垣 浩、大西洋、中川 恵一、茂松 直之、根本 建二、西村 恭昌、平岡 眞寛. 外来放射線照射診療料運用の実態—日本放射線腫瘍学会アンケート調査結果の解析— 臨床放射線 2013;58(2):364-371.

井垣浩、櫻井英幸. 肝細胞癌治療アルゴリズムからみた放射線治療 肝胆膵 2013, 67(2):211-220.

井垣浩、花北俊哉、中川恵一、大友邦. 悪性

黒色腫に対する定位放射線治療の適応と臨床効果（特集 皮膚悪性腫瘍—基礎と臨床の最新研究動向—） 日本臨牀 2013, 71(Suppl4):365-369.

井垣 浩、白木 尚、山上 睦実、芳賀 昭弘、中川 恵一．放射線治療におけるチーム医療（特集 チーム医療で支えるがん医療） 癌と化学療法 2013, 40(4):440-443.

〔学会発表〕(計7件)

Igaki H, Nomoto A, Shiraishi K, Enomoto A, Miyagawa K, Nakagawa K. Effect Of Radiation-induced Pulmonary Fibrosis By Spironolactone. ASTRO 55th annual meeting, 2013.9.22-25 Georgia, Atlanta

Igaki H, Hanakita S, Sakumi A, Nomoto A, Shin M, Nakagawa K, Ohtomo K. The effect of skull shape approximation methods on Gamma Plan dose calculation. 11th International Stereotactic Radiosurgery Society Congress, 2013.6.16-20 Toronto, Canada

Igaki H, Hanakita S, Onoe T, Nakagawa K. Conventional and stereotactic radiotherapy for WHO grade II/III meningiomas. 2nd ESTRO Forum, 2013.4.19-23, Geneva, Switzerland

井垣浩、野元昭弘、白石憲史郎、榎本敦、宮川清、中川恵一．スピロノラクトンによる放射線照射後の肺線維化阻害作用．日本放射線腫瘍学会第26回学術大会 東京 2013.10.18-20

井垣浩、白石憲史郎、中川恵一．膵癌放射線治療方法の検討．第8回膵癌術前治療研究会 東京 2013.10.13

井垣浩．肝癌診療ガイドライン第3版試案公聴会 放射線治療．第49回日本肝臓学会総会 東京 2013.6.6-7

井垣浩、花北俊哉、作美明、野元昭弘、辛正廣、中川恵一、大友邦．頭蓋形状計測方法の違いによるガンマナイフ治療時間の変化．第22回日本定位放射線治療学会 桑名 2013.5.24-25

〔図書〕(計1件)

井垣浩他．科学的根拠に基づく肝癌診療ガイドライン 2013年版．日本肝臓学会編 金原出版 東京.

〔産業財産権〕

なし

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者：井垣 浩  
(東京大学・医学部附属病院・講師)  
研究者番号：90361344