

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 5月27日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23791424

研究課題名（和文）

放射光を用いた微小グリッド高精細格子状照射による難治癌治療の基礎的研究

 研究課題名（英文） A basic research of synchrotron microbeam radiation therapy  
for irradiation resistant malignant tumors

研究代表者

西村 英輝 (NISHIMURA HIDEKI)

神戸大学・医学研究科・准教授

研究者番号：80444610

研究成果の概要（和文）：

放射光を用いた高精細格子状照射を用いて脳・脊髄に対して照射を行い、照射後の変化を病理学的に検討を行った。通常照射を行ったマウスにおいては広範囲に組織の欠損やDNA損傷が確認されたが、格子状照射を行ったマウスにおいては組織自体の脱落は見られなかった。全脳照射においては、スリット幅を広げたマイクロスリット照射においてLD50が高線量となることが確認された。また、照射後の脳組織の病理組織学的検討では、スリット照射では高線量を照射しても照射部位の細胞脱落が起こるのみであった。免疫染色においても、非照射部にはDNA二重鎖切断の痕跡は見られなかった。照射後マウスの経過観察では、480Gyのスリット照射後も摂餌や排泄等に異常はなく長期生存が得られた。

研究成果の概要（英文）：

Synchrotron microbeam radiation therapy (SMRT) permits the delivery of very high radiation doses to the tumors in a single fraction. In this study, we have challenged to evaluate normal tissue tolerance and mortality by SMRT to the brain of the mice with comparing to broad beam irradiation. Our results including histopathological findings, immunohistologic analysis and functional analysis indicated that the SMRT enables to deliver extremely high doses without loss of normal tissue function.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3200,000	960,000	4,160,000

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：放射光、格子状照射、マイクロビーム、放射線治療

## 1. 研究開始当初の背景

放射光を用いた高精細格子状照射（synchrotron microbeam radiation therapy: SMRT）とは、従来の放射線治療のようにターゲットに対して均一な照射を行わず、ターゲット内を格子状に照射を行う照射法である。腫瘍内の線量は不均一となるが、本照射法では従来の照射法では危険臓器の耐容線量から不可能であった超高線量の照

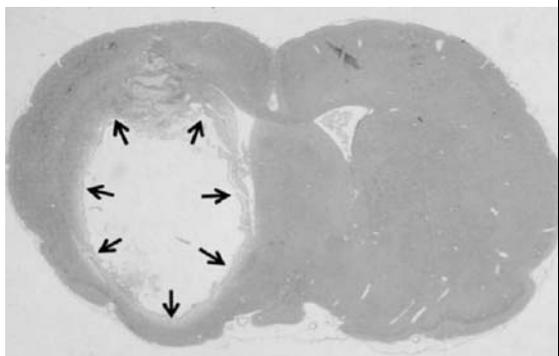
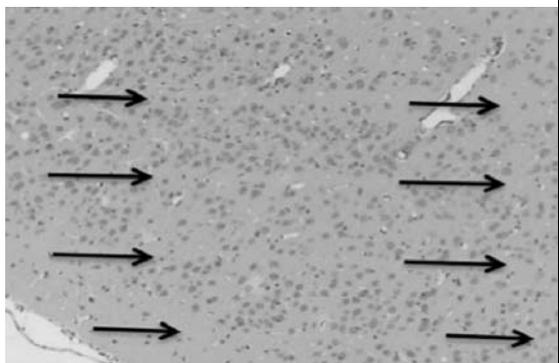
射が可能となり、高い抗腫瘍効果が得られることが過去の実験にて証明されつつある。

通常の放射線治療においても格子照射の臨床研究は散見されるが、これらの多くは根治困難な進行腫瘍に対して姑息的に用いられることが多く、有効性に関しては十分な見が得られていない。これは、通常のエクソ線による格子照射は格子幅が数センチと大きく、周囲正常組織に対する障害が問題と

なることが原因と考えられる。また、抗腫瘍効果に関しても格子幅が大きいために非照射部位での抗腫瘍効果が充分期待できないことも原因と考えられる。

通常の X 線は指向性が高くなく、細かいスリット状のマイクロビームを形成することが困難であったが、本研究では SPring-8 から供給される放射光を用いてスリット幅 25 $\mu\text{m}$ ～数 mm の高精細格子状照射を行い、それぞれの格子幅における抗腫瘍効果・正常組織反応を観察することにより最適な照射条件を探索するものである。

これまでの研究成果から、SMRT を用いた高精細格子状照射では、高線量を照射される部位(peak 部分)では 100～500Gy という大線量での 1 回照射が施行されている。従来の放射線腫瘍学の概念から考えると、格子照射では、腫瘍内に格子状に照射されない部位(valley 部位)が存在するため腫瘍は根治し得ないように思われる。しかし、これまでのデータで、照射されていない valley 部位の腫瘍組織までもがすべて消失することが示されている。この機序に関してはいまだに解明されていない(高線量照射によるバイスタンダー効果や、壊死した腫瘍からのサイトカインの放出などが想定される)。一方、正常組織反応においては格子状に照射される部位は高線量を照射され細胞の脱落を認めるが、valley 部位の正常組織の損傷はごく僅かであり、周囲の細胞から再生反応が起こり、組織の壊死・脱



落や大きな機能的欠損をもたらさないことが確認されている。上図は脳腫瘍に対する

SMRT を用いた高精細格子状照射の実験結果であるが、正常大脳皮質の Peak 照射の部分(矢印→)は線状にそれぞれ細胞体が消失して、全体としてスリット状になっているが、正常組織での valley 部分、すなわち非照射領域の反応は、その構築は基本的には破壊されずに保たれている。一方、同様の SMRT の照射にて脳内に移植されていた腫瘍細胞はスリット状の腫瘍欠損ではなく、腫瘍全体が欠損していることがわかる。SMRT を用いた高精細格子状照射では peak 部に通常の放射線治療では実現できない大線量を照射しつつ、valley 部の線量を抑えることにより、従来の照射法では得られなかった強力な抗腫瘍効果を正常組織障害を増強させることなく得ることが期待される。

## 2. 研究の目的

本研究では、SMRT を用いた高精細格子状照射による適正な格子幅・照射線量の探索を行う。申請者らは、これまでの SMRT を用いた高精細格子状照射の研究において、マウス・ラットにおける正常組織の耐容線量や、物理学的特性の研究を行ってきた。その結果から、正常組織と腫瘍組織では valley 部位において異なる反応が存在するものと想定されるが、そのメカニズムはまったく解明されていない。本研究では、実験動物に対する照射を行い、特に正常組織の病理学的・生理学的・行動学的な観察を加えて SMRT における最適な照射線量・格子サイズの探索を行う。SPring-8 から供給される放射光を用いてスリット幅 25 $\mu\text{m}$ ～数 mm の高精細格子状照射を行い、抗腫瘍効果・正常組織反応を観察することにより最適な照射条件を探索するものである。

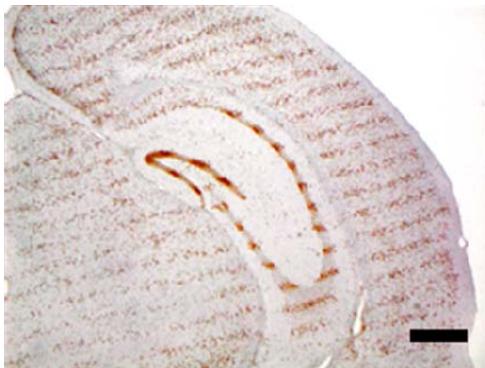
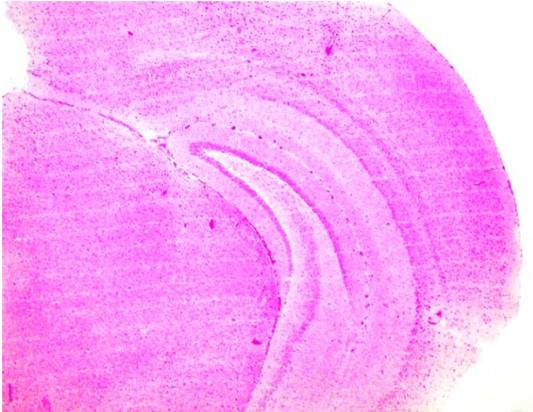
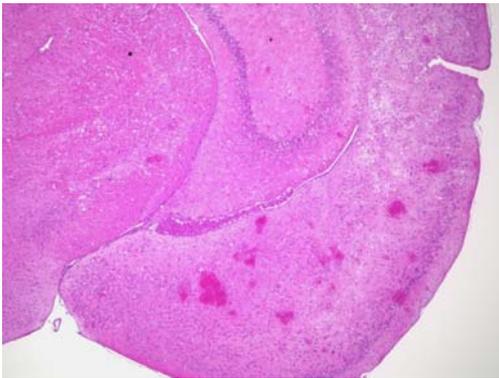
## 3. 研究の方法

動物は 7 週齢の C57BL/6 マウスを用いた。照射実験として、兵庫県播磨の高輝度光科学研究センター (SPring-8) の BL28B2 第 2 光学ハッチを用いた。マイクロリメータの設定として、ビーム幅を 25 $\mu\text{m}$ 、ビーム間隔 100-300  $\mu\text{m}$ 、peak 部位で 12Gy から 960Gy までの照射を行った。脳・脊髄に対して通常照射とマイクロスリット照射を行い、マウスの生存率、行動試験、病理学的・免疫組織学的に照射後の変化を観察した。

## 4. 研究成果

通常照射を行ったマウスにおいては広範囲に組織の欠損や DNA 損傷が確認されたが、高精細格子状照射 (SMRT) を行ったマウスにおいては、スリット状に細胞の脱落や DNA 損傷

が見られるが組織自体の脱落はなく、SMRT に対する正常組織の耐容線量が高いことが示唆された。脊髄に対する照射を行ったマウスに対して、Ladder climb 試験や inclined plane 試験による行動試験を行った。これらの結果からは、通常照射とグリッド照射による差を認めることが出来なかった。マウス全脳照射においては、通常ビームによる照射での半致死線量(LD50)が 80Gy であったのに対し、100 $\mu$ m 間隔のスリット照射では約 180Gy、200 $\mu$ m 間隔では約 500Gy、300 $\mu$ m 間隔では約 700Gy と、スリット幅を広げたマイクロスリット照射において LD50 が高線量となることが確認された。



照射後の脳組織の病理組織学的検討では、通常の全脳照射では 96Gy 以上の照射で微細な出血や照射部位における広範な神経細胞の脱落が見られた(上図上段)のに対し、スリッ

ト照射では 480Gy という高線量を照射しても、照射部位の細胞脱落が起こるのみであった(上図中段)。ヒストン H2AX による免疫染色においても、照射されたスリットに一致して H2AX の集積がみられ(上図下段)、同部に照射による DNA 二重鎖切断が発生したものと考えられるが、非照射部には DNA 二重鎖切断の痕跡は見られなかった。照射後マウスの経過観察では、480Gy のスリット照射後も摂餌や排泄等に異常はなく長期生存が得られた。これらの結果から、放射光を用いた高精細格子状照射により高線量の全脳照射を行っても組織は耐容可能であることが示された。

## 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 6 件)

Nishimura H, Sasaki R, Yoshida K, Miyawaki D, Okamoto Y, Kiyota N, Saito M, Otsuki N, Nibu KI.

Radiotherapy for Stage I or II hypopharyngeal carcinoma.

J Radiat Res. 2012 Nov 1;53(6):892-899.

DOI: 10.1093/jrr/rrs044, 査読有

Uehara K, Sasayama T, Miyawaki D, Nishimura H, Yoshida K, Okamoto Y, Mukumoto N, Akasaka H, Nishihara M, Fujii O, Soejima T, Sugimura K, Kohmura E, Sasaki R.

Patterns of failure after multimodal treatments for high-grade glioma: effectiveness of MIB-1 labeling index.

Radiat Oncol. 2012 Jun 26;7:104. DOI:

10.1186/1748-717X-7-104. 査読有

Hashimoto N, Sasaki R, Nishimura H, Yoshida K, Miyawaki D, Nakayama M, Uehara K, Okamoto Y, Ejima Y, Azumi A, Matsui T, Sugimura K: Long-term outcome and patterns of failure in primary ocular adnexal mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma treated with radiotherapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2012;82:1509-1514. DOI: 10.1016/j.ijrobp, 査読有

Yoshida K, Sasaki R, Nishimura H, Miyawaki D, Kawabe T, Okamoto Y, Nakabayashi K, Yoshida S, Sugimura K Radiotherapy for Japanese elderly patients with cervical cancer: preliminary survival outcomes and evaluation of treatment-related toxicity Arch Gynecol Obstet 2011 Oct;284(4):1007-1014.

DOI; 10.1007/s00404-010-1777-6, 査読有

西村 英輝, 佐々木 良平, 吉田 賢史, 宮脇 大輔, 大月 直樹, 齊藤 幹, 清田 尚臣, 副島 俊典, 杉村 和朗, 丹生 健一  
局所進行下咽頭癌に対する術後放射線療法の適及的検討  
頭頸部癌 . 2011;37(1):62-66, DOI: 10.5981/jjhnc.37.62, 査読有

耳下腺癌における予防的頸部郭清と術後放射線治療について  
柴田智久, 米澤宏一郎, 森本浩一, 山下大介, 大月直樹, 西村英輝, 佐々木良平, 丹生健一  
頭頸部癌 . 2011;37(1):78-82, DOI:10.5981/jjhnc.37.78, 査読有

[学会発表] (計 11 件)

発表者 (代表) 名: 椋本成俊  
発表 標 題 : Normal tissue tolerance microbeam X-ray irradiation  
学会等名: The 6th S.Takahashi Memorial Symposium & The 6th Japan-US Cancer Therapy International Joint Symposium  
発表年月日: 2012年07月07日~2012年07月09日  
発表場所: 広島市

発表者 (代表) 名: 西村英輝  
発表 標 題 : Chemoradiotherapy in Patients with Locally Advanced Unresectable Esophageal Squamous Cell Carcinoma  
学会等名: The 6th S.Takahashi Memorial Symposium & The 6th Japan-US Cancer Therapy International Joint Symposium  
発表年月日: 2012年07月07日~2012年07月09日  
発表場所: 広島市

発表者 (代表) 名: 西村英輝  
発表 標 題 : Patterns of Local Recurrence and Metachronous Malignancy Following Radiation Therapy for Stage I or II Hypopharyngeal Carcinoma: Role of Close Observation and Multidisciplinary Approach  
学会等名: 54th ASTRO Annual Meeting  
発表年月日: 2012年10月28日~2012年10月31日  
発表場所: ボストン(米国)

発表者 (代表) 名: 椋本成俊  
発表 標 題 : マイクロスリットビーム X 線照射における最適条件の検討  
学会等名: 日本放射線腫瘍学会第 25 回学術大会

発表年月日: 2012年11月23日~2012年11月25日  
発表場所: 東京

発表者 (代表) 名: 西村英輝  
発表 標 題 : 再建遊離空腸に対する術後(化学)放射線療法の検討  
学会等名: 日本放射線腫瘍学会第 24 回学術大会  
発表年月日: 2011年11月17日~2011年11月19日  
発表場所: 神戸

発表者 (代表) 名: 西村英輝  
発表 標 題 : 局所進行切除不能食道癌(T4/MILYM)に対する化学放射線療法の適及的検討  
学会等名: 第 65 回日本食道学会学術集会  
発表年月日: 2011年9月26日  
発表場所: 仙台

発表者 (代表) 名: 西村英輝  
発表 標 題 : 遊離空腸再建後の高リスク頭頸部癌に対する術後放射線治療の検討  
学会等名: 第 35 回日本頭頸部癌学会  
発表年月日: 2011年6月9日~2011年6月10日  
発表場所: 名古屋

発表者 (代表) 名: 吉田賢史  
発表 標 題 : Radiotherapy for Elderly Patients With Cervical Cancer  
学会等名: European Cancer Conference (ECCO)  
発表年月日: 2011年9月24日-2011年9月28日  
発表場所: ストックホルム(スウェーデン)

発表者 (代表) 名: 吉田賢史  
発表 標 題 : Radiation Therapy For Brain Stem Gliomas In Children And Adultsh  
学会等名: American Society for Radiation Oncology (ASTRO)  
発表年月日: 2011年10月2日~2011年10月6日  
発表場所: マイアミ(米国)

発表者 (代表) 名: 宮脇大輔  
発表 標 題 : 上顎洞扁平上皮癌に対する放射線治療成績  
学会等名: 第 35 回日本頭頸部癌学会  
発表年月日: 2011年6月9日~2011年6月10日  
発表場所: 名古屋

発表者 (代表) 名: 佐々木良平  
発表 標 題 : 頭皮原発血管肉腫の Recursive

partitioning analysis (RPA)の検討  
学会等名：第 24 回日本放射線腫瘍学会  
発表年月日：2011 年 11 月 17 日～2011 年 11  
月 19 日  
発表場所：神戸

6. 研究組織

(1)研究代表者

西村 英輝 (NISHIMURA HIDEKI)  
神戸大学・医学研究科・准教授  
研究者番号：80444610