

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25870609

研究課題名(和文)短時間間歇照射と寡分割照射の生物学的基礎研究にもとづく、最新陽子線技術の臨床応用

研究課題名(英文)Clinical application of the latest proton beam technology based on potentially lethal damage repair and sublethal damage repair after proton beam irradiation

研究代表者

杉江 愛生(Sugie, Chikao)

名古屋市立大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：80509258

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：陽子線の腫瘍細胞に対する生物学的効果を正確に評価するために、潜在致死損傷の回復(PLDR)・亜致死損傷の回復(SLDR)および直接作用の程度につき、陽子線・X線の両方にて細胞実験を施行し比較検討を施行した。その結果、陽子線では潜在致死損傷の回復(PLDR)・亜致死損傷の回復(SLDR)ともにX線に比し弱い傾向がみられた。

また並行して、低線量率線放出シートを用いた培養細胞実験にて、低線量率長時間持続線被曝による生物学的効果を評価した結果、適応応答により低線量率長時間持続線被曝に伴う放射線抵抗性が誘導されたと推測された。

研究成果の概要(英文)：In order to clarify the biological response of tumor cells to proton beam irradiation, potentially lethal damage repair (PLDR) and sublethal damage repair (SLDR) after proton beam irradiation were investigated in comparison with those after X-irradiation. Compared to X-irradiation, PLDR and SLDR may take place to a lesser extent after proton beam irradiation. And we investigated the effects of prolonged exposure to very low dose-rate radiation on cultured tumor cells. Adaptive responses were detected after continuous culture on the hormesis sheets emitting very low dose-rate gamma rays.

研究分野：放射線医学分野

キーワード：亜致死損傷の回復 潜在致死損傷の回復 直接作用・間接作用 低線量率長時間持続 線被曝 再酸素化

1. 研究開始当初の背景

レンジモジュレーションホイールを用いた二重散乱体方式、およびスポットスキニング法を用いた最新式の陽子線治療は、臨床での有用性が大いに期待される。しかしながら、新技術導入により積極的に用いられるであろう、短時間間歇照射や一回大線量寡分割照射による放射線生物学的影響については未知数な点が多い。最新鋭の陽子線治療技術が開発され臨床応用が進む陽子線治療において、相対的に評価が不十分な放射線生物学的評価を施行していくことは安全で最適な臨床応用のために必須と考えられる。また、相対的に高線量率の低線量線被曝の生物学的影響の評価は放射線ホルミシス仮説・適応応答についての報告が多くなされているが、低線量率長時間持続の低線量線被曝の生物学的影響については評価が不十分と考えられている。

2. 研究の目的

これまでの X 線を用いた研究経験にもとづき、最新方式の陽子線治療器を用いて、『潜在致死損傷の回復 (Potentially Lethal Damage Repair (PLDR))』・『亜致死損傷の回復 (Sub-Lethal Damage Repair (SLDR))』の短時間間歇照射に対する影響について評価する。当研究の成果により、放射線生物学的根拠にもとづいた陽子線治療指針につき考案・評価していきたい。また、低線量率長時間持続の低線量線被曝の生物学的影響についてもあわせて評価する。

3. 研究の方法

(1) 潜在致死損傷の回復 (PLDR) の評価

2 種類の培養細胞系 (EMT6 マウス乳腺肉腫細胞、HSG ヒト唾液腺細胞 (HeLa 汚染株)) を用いて、X 線について実験用 X 線照射装置、陽子線については日常診療で使用しているレンジモジュレーションホイールを用いた二重散乱体方式の Broad beam 法の port を使用した。

線量率は揃えており、総線量は RBE1.1 で補正した生物線量で揃えた。

各細胞系の Exponential Growth Phase (EGP) と Plateau Phase (PP) の状態の dish を用意し、それぞれ 8Gy を照射後、照射直後、2hr 後、4hr 後、6hr 後、12hr 後、24hr 後に播種し、一定期間培養後コロニーアッセイを施行し、X 線と陽子線の結果につき比較検討した。

(2) 亜致死損傷の回復 (SLDR) の評価

PLDR と同様の培養細胞系、X 線・陽子線照射

装置を用いた。

2 分割照射実験

8Gy 連続照射群と、照射間隔時間 0.5hr, 1hr, 2hr, 4hr, 6hr の 4Gy × 2 回照射群に対し、一定期間培養後コロニーアッセイを施行し、X 線と陽子線の結果につき比較検討した。

5 分割照射実験

8Gy 連続照射群と、照射間隔時間 1min, 2min, 3min, 5min の 1.6Gy × 5 回照射群に対し、一定期間培養後コロニーアッセイを施行し、X 線と陽子線の結果につき比較検討した。

(3) 直接作用の評価

PLDR・SLDR と同様の培養細胞系、X 線・陽子線照射装置を用いた。0H ラジカルのスカベンジャーである Dimethyl sulfoxide (DMSO) を投与することで放射線の間接作用を抑制した状態で陽子線照射と X 線照射をそれぞれ施行し、X 線と陽子線の直接作用を比較検討した。

(4) 低線量率長時間持続の低線量線被曝の生物学的影響の評価

細胞増殖速度の検討

HSG 細胞を解凍後直ちに、線放出する種々の放射線同位元素を微量に含む低線量率線放出シート上で培養した。線量率は約 0.7 μ Sv/hr であった。6 週間の間、週 1 回ずつ細胞計数と継代を施行した。

適応応答の評価

培養期間 2 週後・4 週後・6 週後の細胞につき、それぞれトリプシン処理して単細胞とし dish に撒き直してそれぞれ 2, 4, 6 および 8 Gy の X 線照射を行い、コロニーアッセイ法を用いて評価し、コントロール群の結果と比較検討した。

4. 研究成果

(1) 潜在致死損傷の回復 (PLDR) の評価

X 線照射における PLDR と比較検討した結果、EMT6 細胞では陽子線照射下では PLDR が X 線照射下と同様に起こったが、HSG 細胞では陽子線照射下において PLDR が非常に弱くなっており、陽子線 PLDR は HSG 細胞では抑制傾向と考えられた (図 1)。

(2) 亜致死損傷の回復 (SLDR) の評価

2 分割照射実験

EMT6 細胞、HSG 細胞ともに、有意差を持って X 線に比し陽子線で SLDR が抑制される傾向にあった。また陽子線のみ絞ってみると、EMT6 細胞では 8Gy 連続照射群と比較して有意に回復がみられるのに対して、HSG 細胞では有意差がみられなかった (図 2)。

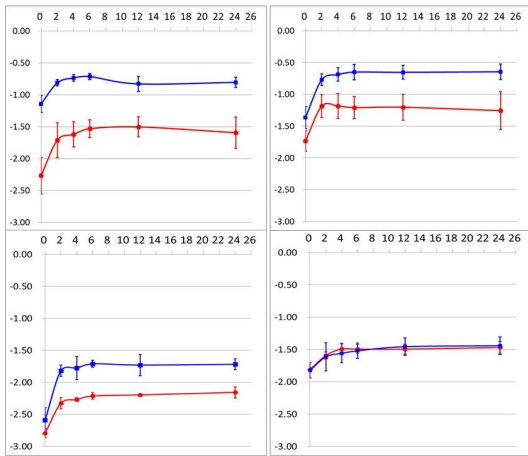


図1 潜在致死損傷の回復(PLDR)の評価
(左上図: X線 EMT6、右上図: 陽子線 EMT6、
左下図: X線 HSG、右下図: 陽子線 HSG、赤:
Exponential Growth Phase (EGP)、青: Plateau
Phase (PP)、X軸: 照射後播腫までの時間(hr)、
Y軸: 対数生存率)

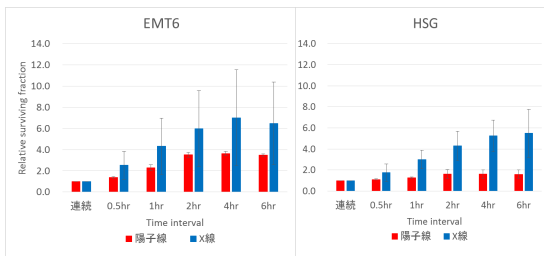


図2 2分割照射実験における相対生存率
(左図: EMT6、右図: HSG)

5分割照射実験

EMT6細胞、HSG細胞ともに、有意差を持ってX線に比し陽子線でSLDRが抑制される傾向にあった。また陽子線のみ絞ってみると、EMT6細胞では8Gy連続照射群と比較して有意にわずかながら回復がみられるのに対して、HSG細胞では有意差がみられなかった(図3)。

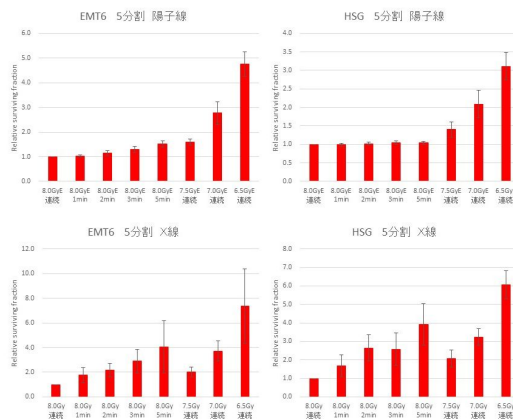


図3 5分割照射実験における相対生存率
(左上図: 陽子線 EMT6、右上図: 陽子線 HSG、
左下図: X線 EMT6、右下図: X線 HSG)

(3) 直接作用の評価

EMT6細胞では陽子線にて直接作用の割合がX線より有意に高い傾向がみられた。HSG細胞

でも陽子線の直接作用の割合がわずかに高い傾向がみられた。

(4) 低線量率長時間持続の低線量線被曝の生物学的影響の評価

細胞増殖速度の検討

各週ごとの細胞数につき、低線量率線放出シート上で培養していないコントロール群の細胞数と、t検定を用いて比較した結果、有意差はみられなかった。

適応応答の評価

二元配置分散分析にてコントロール群の結果と比較検討した結果、コロニー形成率には有意差はみられなかったが、2-8 GyのX線照射後では2週間・4週間・6週後のいずれにおいても、低線量率線放出シート上で培養した群はコントロール群に比し有意に高い細胞生存率を示し(p < 0.01)、適応応答により低線量率長時間持続線被曝に伴う放射線抵抗性が誘導されたと推測された(図4)。

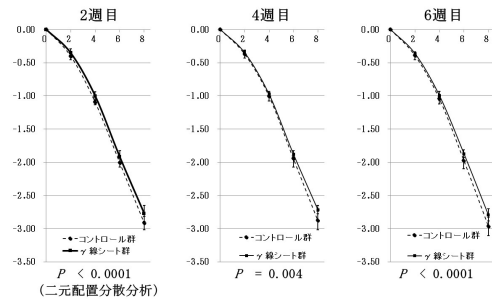


図4 適応応答の評価

(X軸: 照射線量 (Gy)、Y軸: 対数生存率)

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 0件)

〔学会発表〕(計 3件)

橋本真吾、杉江愛生、陽子線の潜在性致死障害・亜致死障害からの回復 in vitro study、日本医学放射線学会第159回中部地方会、2016年1月31日、名古屋市立大学(愛知県名古屋市)

Sugie C、Biological effects of a radiation hormesis sheet emitting very low dose-rate gamma rays.、日本放射線腫瘍学会第28回学術大会、2015年11月20日、ベイシア文化ホール(群馬県前橋市)

杉江愛生、in vitroにおける低線量率長時間持続被曝の影響、日本医学放射線学会第158回中部地方会、2015年7月5日、アクトシティ浜松 コンgressセンター(静岡県浜松市)

〔図書〕(計 1件)

Nishimura Y, Komaki R, Shibamoto Y, Sugie C, Ogino H, Tomita N, Springer、

Intensity-Modulated Radiation Therapy、
2015、473 (43-57)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

杉江 愛生 (SUGIE, Chikao)
名古屋市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：80509258

(2)研究協力者

芝本 雄太 (SHIBAMOTO, Yuta)
岩田 宏満 (IWATA, Hiromitsu)
橋本 眞吾 (HASHIMOTO, Shingo)
荻野 浩幸 (OGINO, Hiroyuki)