

マイクロビーム照射後の腫瘍血管形態変化の解析（照射実験） Analysis of microplanar beam radiation response to tumor blood vessel

天野 貴司^a、荒尾 信一^a、梅谷 啓二^b、北山 彰^a、釋舎 竜司^c、
成廣 直正^a、原内 一^a、松宮 昭^a
Takashi Amano^a, Shinichi Arao^a, Keiji Umetani^b, Akira Kitayama^a, Ryoji Tokiya^c,
Naomasa Narihiro^a, Harauchi Hajime^a, Matsumiya Akira^a

^a川崎医療短期大学, ^b(財)高輝度光科学研究センター, ^c川崎医科大学附属病院

Kawasaki College of Allied Health Professions, JASRI, Kawasaki Medical School Hospital

＜目的＞スリット状 microbeam 照射が腫瘍細胞や生体の血管にどのように反応するかを実験的に明らかにする。＜方法＞ラット乳癌とヒト頭頸部扁平上皮癌由来の2種の培養細胞を移植したラット下腿移植モデルにおけるスリット状 microbeam 照射の血管系への影響を、broad ビーム照射と比較することで評価する。使用する各 microbeam の線量を、スリット状が 500Gy、broad ビームが 63Gy とした。スリット状 microbeam または broad ビーム照射約1週間後のラットモデルの下肢の血管造影を施行し、その微細血管の形態を評価した。＜結果＞生体ラットの下肢血管造影では、スリット状に照射された照射部には、broad ビーム照射に比較して、正常の血管系に近い像を示した。＜考察＞今回の実験結果により、スリット状のコリメータを間に置く事により、何らの放射線生物学的あるいは物理学的な緩衝効果が働き、腫瘍血管系への形態学的な影響が軽減されたと思われる。

Purpose: To assess through experiments how microplanar beam (MPB) irradiation affects tumor cells and vascular vessels. **Methods and Materials:** Rat mammary adenocarcinoma (NMU) and human head-and-neck squamous cell carcinoma (KB) cell lines were irradiated with MPBs or broad beams (BBs) to compare the effects of the two beam types. The SPring-8 BL28B2 beam line device used employs a microplanar collimator to emit an array of white X-ray parallel MPBs at approximately 25 μm in width at intervals of 200 μm. The beam doses were set 500 Gy for the MPBs and 63 Gy for the BBs. Microangiography of the inferior limbs of the rats was performed about one week after MPB or BB irradiation to evaluate the morphology of microvasculatures. **Results:** Microangiographic images of inferior limbs of the live rats showed that microvasculatures irradiated with the MPBs had a more normal morphology than those irradiated with BBs. **Conclusion:** These results demonstrate that MPBs irradiated through a collimator reduce tumor growth speeds in established cell lines to a greater extent than the current clinical method involving BBs, suggesting that the microplanar collimator may provide radiation-biological and physical buffering effects.

背景と研究目的：

現代のがん治療の3本柱は、手術と化学療法および放射線治療であり、それぞれの進歩によりがん治療の成績は確実に向上しつつあるが、残念なことに我が国の死因の第一は依然としてがんであり、今後、がん治療戦略の上で、個々の治療法や技術のさらなる進歩が期待されている。

現在、SPring-8 では放射光の有効な医学利

用に向けての準備が進行しており、放射線治療に関係する分野においては、スリット状のコリメータを用い Micro planar beam を利用し放射線治療を行う Microbeam Radiation Therapy (MRT) の実用化に向けた研究が盛んに行われている。MRT の最大の利点は、腫瘍組織への効果が著明である一方で、正常組織への障害が少ないという特徴を有しており、これは臨床の現場で汎用されているライナッ

ク型の放射線発生装置から作られる放射線と比較して、望ましい効果ではあるが、その作用機序は十分理解されておらず、臨床応用の際にはその解明が重要な課題となっている。

今回、我々は MRT の臨床応用のための基礎実験として、これまで報告例の少ない移植固形腫瘍組織に対するマイクロビーム照射とブロードビーム照射の生物学的効果、特に照射野内や照射野周囲に存在する微細血管の形態変化(放射線感受性)に着目し実験を行う。その結果、マイクロビーム照射群とブロードビーム照射群では、各血管の造影所見に差が認められたか否かを検討し、正常血管・腫瘍血管へのマイクロビーム照射とブロードビーム照射の感受性の違いを検討したい。

実験：

1. T 細胞機能欠如ラット (雌：150～200g：6～8 週、以下ラットとする) の下腿に、ラット乳癌由来の NMU 細胞と KB (ヒト鼻咽頭腔癌) 細胞を $1 \times 10^7/\text{ml}$ 個の単細胞浮遊液を移植し、大腿動静脈を栄養血管とする移植島を作製する。各腫瘍径 5～7mm 前後に発育した時点 (約 2 週間程度) の腫瘍に、放射光 X 線マイクロビーム照射 (BL28B2) を行い、照射 5 日後と 9 日後の放射線照射の影響、特に血管系を標的に SPring-8 放射光のイメージングを用いた微細血管造影法^{1),2)}で観察する。マイクロビーム照射は、28B2 ハッチ内に、線量計測用イオンチェンバー、マイクロスリットとこれの位置合わせ機構、ハッチ据付のメインゴニオメータの上に載せた検体、照射位置確認用の画像検出器の順で配置し、施行する (Figure 1)。スリット状マイクロビームの照射は、ハッチ据付の X 線シャッターで照射時間

を制御する。また、白色光をスリット幅 25 μm (スリットピッチ 200 μm) にマイクロビーム化し 500Gy のスリット状の X 線マイクロビームと 63Gy のブロードビームを照射する。ラットは照射時、専用の固定器具に固定され、全身麻酔を施す。

2. 次に、スリット状マイクロビーム、またはブロードビームを照射された各ラットは、同ビームラインで、微細血管造影法を用いて形態学的な血管構築の変化を比較検討する。その後、ラットをただちに犠牲死させ、皮膚・筋膜を含めた腫瘍塊を摘出し 10%緩衝ホルマリンにて固定後、パラフィン包埋、薄切して Hematoxylin-Eosin 染色で染色する。

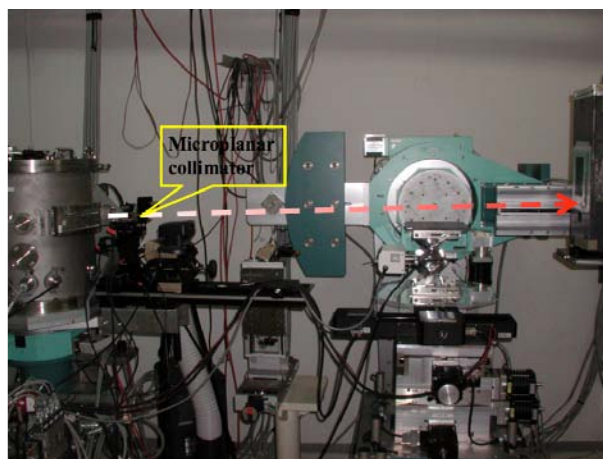


Fig. 1. SPring-8 BL28B2 beam line

結果：

今回使用した各腫瘍移植ラットの匹数、各照射法への数量配分、血管造影の施行時期とその所見を Table 1 に示した。また、Figure 2 に、今回の実験で得られた代表的な血管造影所見を示す。

	照射	移植腫瘍細胞	数 (匹)	血管造影所見 (狭窄・閉塞)
day 5	500Gy	NMU	2	狭窄・閉塞なし
day 9	500Gy	NMU	3	1例に狭窄・閉塞あり
day 5	630y	NMU	1	狭窄・閉塞なし
day 9	630y	NMU	2	2例で狭窄・閉塞あり
day 5	500Gy	KB	1	狭窄・閉塞なし
day 9	500Gy	KB	2	狭窄・閉塞なし
day 5	630y	KB	1	狭窄・閉塞なし
day 9	630y	KB	2	2例で狭窄・閉塞あり
コントロール	照射なし	移植なし	1	狭窄・閉塞なし
			計 15	

Table 1.

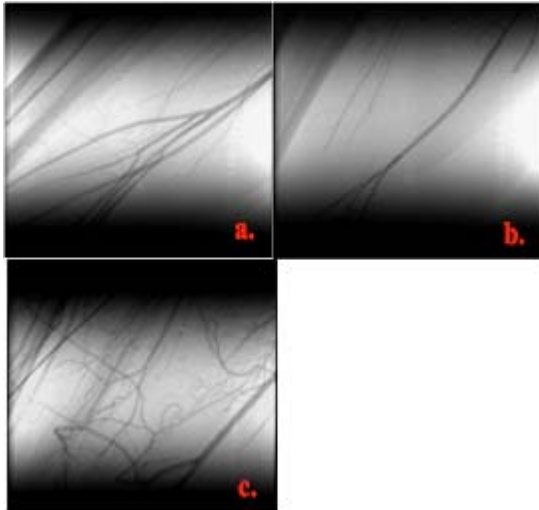


Fig. 2. a. normal vascular vessels of the inferior limbs of the rat., b. 9 days after the broad beam irradiation (63Gy)., c. 9 days after the microplanar beam irradiation (500Gy).

考察 :

今回の実験で得られた放射光 X線マイクロビーム照射後の微細血管造影所見は、単に腫瘍血管の閉塞あるいは狭窄像の有無に留まるものではあったが、今後、MRT の医学利用を念頭に実用化をすすめた場合、腫瘍組織内の酸素化や抗癌剤あるいは分子標的治療薬の併用の際のドラッグ・デリバリーに大きく関与する所見と考えられる。

参考文献 :

1) Tokiya, R. et al. Observation of microvasculatures

in athymic nude rat transplanted tumor using synchrotron radiation microangiography system. Acad Radiol. Vol.11, No.9 1039-1046, 2004

2) 釋舎竜司:放射光 (単色 X線) 微細血管造影法を用いた腫瘍微細血管の形態評価:放射線照射および血管新生関与因子投与の腫瘍微小循環系への影響.川崎医学会誌 30 卷 2 号 83-97, 2005

論文発表状況・特許状況 :

これらの一連の実験経過・成果を下記の国際学会で報告した。

- 1) 15th INTERNATIONAL VASCULAR BIOLOGY MEETING, 1-5 June 2008, Sydney, Australia
- 2) UICC 2008 World Cancer Congress meeting in Geneva, POS-A297

キーワード :

MPB: microplanar beam

BB: broad beam

NMU: rat mammary adenocarcinoma

KB: human head-and-neck squamous cell carcinoma