



Narrow microbeam is more effective for tumor growth suppression than wide microbeam : An in vivo study using implanted human glioma cells

鵜山, 淳

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2011-03-25

(Date of Publication)

2014-09-05

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲5322

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1005322>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(課程博士関係)

学位論文の内容要旨

Narrow microbeam is more effective for tumor growth suppression than wide microbeam: An in vivo study using implanted human glioma cells

幅狭マイクロビームは幅広マイクロビームより腫瘍制御効果に優れる：
移植したヒトグリオーマ細胞を使用した生体実験

鶴山 淳, 近藤 威, 成山展照, 梅谷啓二, 福本 学, 篠原邦夫, 甲村英二

神戸大学大学院医学系研究科医科学専攻

脳神経外科学

(指導教員：甲村英二教授)

鶴山 淳

緒言

微小平板ビーム療法は脳腫瘍に対する新しい放射線治療法として知られており、25-90 μm 幅のマイクロビームを用いての動物実験が報告されている。また、近年臨床応用の際実現しやすい、より幅広いビーム幅(500-700 μm)を用いたミニビーム療法が提唱されている。しかし、微小平板ビーム療法の腫瘍制御機構について未だ明らかにされておらず、ビーム幅が腫瘍制御効果に及ぼす影響は検討されていない。今回、我々は従来使用されているような 20 μm 幅と過去の報告よりやや幅広の 100 μm 幅のマイクロビームを用い動物実験を行い、その腫瘍の増殖抑制効果の比較と照射急性期の組織学的所見の検討を行った。

方法

動物モデルとして皮下に U251 ヒトグリオーマ細胞を移植したヌードマウスを用い、日本の大型放射光施設スプリング 8 にて照射実験を行った。可変式コリメーターを用い 20 μm 幅と 100 μm 幅のマイクロビームを作成した。それぞれの 1 秒あたりのピーク線量は 111Gy/秒と 124Gy/秒であり、谷線量は 4.1Gy/秒と 4.8Gy/秒であった。谷線量の影響を極力減らすべく、照射時間は両者とも 1 秒間とした。照射するビームの形状は、マイクロビームを平行に配列したすだれ状とすだれ状照射を直角に組み合わせた格子状とした。照射条件として、1)co-planar 100 群(すだれ状照射、ビーム幅:100 μm 、ビーム間隔:500 μm)、2)cross planar 100 群(格子状照射、ビーム幅:100 μm 、ビーム間隔:500 μm)、3)cross planar 20 群(格子状照射、ビーム幅:20 μm 、ビーム間隔:100 μm)、4) cross planar 100 x 2 群(格子状照射 連日 2 回照射、ビーム幅:100 μm 、ビーム間隔:500 μm)を設定し、照射を行わない群をコントロール群とした。腫瘍の増殖抑制効果の検討に 36 匹のマウスを用い、8 匹を co-planar 100 群、8 匹を cross planar 100 群、6 匹を cross planar 20 群、6 匹を cross planar 100 x 2 群、8 匹をコントロール群とした。1 週間に 2~3 回腫瘍体積を測定し、照射時の腫瘍体積と比した増大率を計算し統計学的解析を行った。組織学的検討には 42 匹のマウスを用いた。照射後 24 時間及び 72 時間後の co-planar 100 群、cross planar 100 群、cross planar 20 群の各群 3 匹ずつ及び control 群 3 匹の腫瘍組織を採取し、HE 染色を行った。また、cross planar 100 群、cross planar 20 群は照射後 3、6、9 時間後の各群 3 匹ずつの HE 染色所見についても検討した。アポトーシスを検出するため、cross planar 100 群、cross planar 20 群は照射後 24、72 時間後の各群 3 匹ずつの組織を TUNEL 法で染色し、陽性細胞率を統計学的に解析した。

結果

コントロール群と比較すると、co-planar 100 群は照射後 10 日後まで腫瘍増大を

有意に抑制し、cross planar 100 群は照射後 18 日後まで有意に抑制し、cross planar 20 群と cross planar 100 x 2 群は照射後 28 日後まで有意に抑制した。HE 染色所見ではマイクロビームの通過部位に沿って核濃縮像が見られ、これらの所見は照射後 6 時間後から出現し 72 時間後でも残存していた。各ビーム間には明らかな壊死所見は認めなかった。TUNEL 染色での陽性細胞率は、control 群は $0.56 \pm 0.23\%$ 、cross planar 100 群の照射 24 時間後は $0.54 \pm 0.11\%$ 、cross planar 100 群の照射 72 時間後は $0.53 \pm 0.17\%$ 、cross planar 20 群の照射 24 時間後は $0.84 \pm 0.37\%$ 、cross planar 20 群の照射 72 時間後は $0.80 \pm 0.42\%$ であり、いずれの条件間でも有意差は認めなかった。

考察・結語

過去の報告では谷線量は 12.1-40Gy であり腫瘍や正常組織への影響は無視できない線量であるが、今回の我々の研究では谷線量を 4.8-9.6Gy に抑えることができた。従来の報告よりやや幅広の 100 μm 幅のマイクロビームでも腫瘍の増大抑制効果を示したが、20 μm 幅のマイクロビームの方が長期間増大抑制効果を示すことが明らかにされた。格子状照射において、100 μm 幅でも連日 2 回照射を行うことにより 20 μm 幅と同等の腫瘍抑制効果があり、臨床応用の際分割照射も考慮すべきである。微小平板ビーム療法の腫瘍制御機構については、バイスタンダー効果や腫瘍栄養血管の傷害等が考えられるが生体実験でそれらを証明した報告はない。組織所見上では組織全体に壊死やアポトーシスが誘発されている所見はなく、腫瘍制御機構にはマイクロビームによる直接的な障害よりも腫瘍組織の機能的な増殖抑制が働いている可能性が示唆された。

| 論文審査の結果の要旨 | | | |
|----------------------------------|--|-----|------|
| 受付番号 | 甲 第2196号 | 氏 名 | 鷗山 淳 |
| 論文題目 Title of Dissertation | <p>Narrow microbeam is more effective for tumor growth suppression than wide microbeam: An in vivo study using implanted human glioma cells</p> <p>幅狭マイクロビームは幅広マイクロビームより腫瘍制御効果に優れる: 移植したヒトグリオーマ細胞を使用した生体実験</p> | | |
| 審査委員 Examiner | <p>主 査 寺島 俊雄 Chief Examiner</p> <p>副 査 芥川 信博 Vice-examiner</p> <p>副 査 丹生 謙一 Vice-examiner</p> | | |

(要旨は1,000字~2,000字程度)

【緒言】

微小平板ビーム療法は脳腫瘍に対する新しい放射線治療法として知られており、25-90 μm 幅のマイクロビームを用いての動物実験が報告されている。また、近年臨床応用の際実現しやすい、より幅広いビーム幅(500-700 μm)を用いたミニビーム療法が提唱されている。しかし、微小平板ビーム療法の腫瘍制御機構について未だ明らかにされておらず、ビーム幅が腫瘍制御効果に及ぼす影響は検討されていない。今回我々は従来使用されているような20 μm 幅と過去報告よりやや幅広の100 μm 幅のマイクロビームを用い動物実験を行い、その腫瘍の増殖抑制効果の比較と照射急性期の組織学的所見の検討を行った。

【方法】

皮下に U251 ヒトグリオーマ細胞を移植したヌードマウスを用い、大型放射光施設スプリング 8 にて照射実験を行った。可変式コリメーターを用い 20 μm 幅と 100 μm 幅のマイクロビームを作成した。それぞれの 1 秒あたりのピーク線量は 111Gy/秒と 124Gy/秒であり、谷線量は 4.1Gy/秒と 4.8Gy/秒であった。谷線量の影響を極力減らすべく、照射時間は両者とも 1 秒間とした。照射するビームの形状は、マイクロビームを平行に配列したすだれ状とすだれ状照射を直角に組み合わせた格子状とした。MRT の照射条件として、1)co-planar 100 群 (すだれ状照射、ビーム幅: 100 μm 、ビーム間隔: 500 μm)、2)cross planar 100 群(格子状照射、ビーム幅: 100 μm 、ビーム間隔: 500 μm)、3)cross planar 20 群 (格子状照射、ビーム幅: 20 μm 、ビーム間隔: 100 μm)、4) cross planar 100 x 2 群 (格子状照射 連日 2 回照射、ビーム幅: 100 μm 、ビーム間隔: 500 μm)を設定し、照射を行わない群をコントロール群とした。腫瘍の増殖抑制効果の検討に 36 匹のマウスを用い、8 匹を co-planar 100 群、8 匹を cross planar 100 群、6 匹を cross planar 20 群、6 匹を cross planar 100 x 2 群、8 匹をコントロール群とした。1 週間に 2~3 回腫瘍体積を測定し、照射時の腫瘍体積と比した増大率を計算し統計学的解析を行った。組織学的検討には 42 匹のマウスを用いた。照射後 24 時間及び 72 時間後の co-planar 100 群、cross planar 100 群、cross planar 20 群、control 群の腫瘍組織を採取し、HE 染色を行った。また、cross planar 100 群、cross planar 20 群は照射後 24 時間以内の超急性期の HE 染色所見についても検討した。アポトーシスを検出するため、cross planar 100 群、cross planar 20 群は照射後 24、72 時間後の組織を TUNEL 法で染色し、陽性細胞率を統計学的に解析した。

【結果】

コントロール群と比較すると、co-planar 100 群は照射後 10 日後まで腫瘍増大を有意に抑制し、cross planar 100 群は照射後 18 日後まで有意に抑制し、cross planar 20 群と cross planar 100 x 2 群は照射後 28 日後まで有意に抑制した。HE 染色所見ではマイクロビー

ムの通過部位に沿って核濃縮像が見られ、これらの所見は照射後 6 時間後から出現し 72 時間後でも残存していた。各ビーム間には明らかな壊死所見は認めなかった。TUNEL 染色での陽性細胞率は、control 群は $0.56 \pm 0.23\%$ 、cross planar 100 群の照射 24 時間後は $0.54 \pm 0.11\%$ 、cross planar 100 群の照射 72 時間後は $0.53 \pm 0.17\%$ 、cross planar 20 群の照射 24 時間後は $0.84 \pm 0.37\%$ 、cross planar 20 群の照射 72 時間後は $0.80 \pm 0.42\%$ であり、いずれの条件間でも有意差は認めなかった。

【考察】

従来の報告よりやや幅広の 100 μm 幅のマイクロビームでも腫瘍の増大抑制効果を示したが、20 μm 幅のマイクロビームの方が長期間増大抑制効果を示すことが明らかになった。格子状照射において、100 μm 幅でも連日 2 回照射を行うことにより 20 μm 幅と同等の腫瘍抑制効果があり、臨床応用の際に分割照射も検討すべきである。過去の報告では谷線量は 12.1-40Gy であり腫瘍や正常組織への影響は無視できない線量であるが、今回の我々の研究では谷線量をさらに 4.8-9.6Gy に抑えることができた。微小平板ビーム療法の腫瘍制御機構については、バスタンダー効果や腫瘍栄養血管の傷害等が考えられるが生体実験でそれらを証明した報告はない。組織所見上では組織全体に壊死やアポトーシスが誘発されている所見は認められず、腫瘍制御機構にはマイクロビームによる直接的な障害よりも腫瘍組織の機能的な増殖抑制が働いている可能性が示唆された。

本研究はマイクロビームによる脳腫瘍増殖抑制効果について詳細に検討したものであり、脳腫瘍の放射線治療を行う上でマイクロビームの照射方法や照射線量等に関して重要な示唆を与えるものとして価値ある業績であると認める。よって本研究は、博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。