

Title	治療用高エネルギー陽子線の生物学的効果比と治療効果改善比についての検討
Author(s)	佐藤, 眞一郎; 稲田, 哲雄; 江口, 清美 他
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1986, 46(5), p. 714-721
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/19731
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

治療用高エネルギー陽子線の生物学的効果比と 治療効果改善比についての検討

筑波大学基礎医学系
佐藤眞一郎 稲田 哲雄 江口 清美

筑波大学臨床医学系
立崎 英夫 北川 俊夫

広島市立安佐市民病院放射線科

広川 裕

（昭和60年10月9日受付）

（昭和60年12月9日最終原稿受付）

Studies on Relative Biological Effectiveness and Therapeutic Gain Factor of High Energy Protons Modulated for Radiotherapy

Shinichiro Satoh, Tetsuo Inada, Kiyomi Eguchi, Hideo Tatsuzaki,
Toshio Kitagawa and Yutaka Hirokawa*

Institute of Basic Medical Sciences, Institute of Clinical Medical Sciences, University of Tsukuba

*Department of Radiology, Asa City Hospital

Research Code No. : 407

Key Words : Proton biological effect

Various biological effects of 250 MeV proton beam modulated for therapeutic irradiation at Particle Radiation Medical Science Center (PARMS) were examined and compared with those of 180 kV X-rays and Cobalt-60 gamma-rays. RBE values in relation to X-rays on in vitro cell inactivation using HMV-I, NFSa (fibrosarcoma)-C3H/He mice lung colony assay, C3H/He mice acute skin reaction and tumor growth delay of NFSa transplanted in C3H/He mice were 0.95, 0.94—0.95, 0.77—0.87 and 0.77—0.81, respectively. RBE values on in vitro or lung colony assay was higher than that on either skin reaction or tumor growth delay. Dose dependency of RBE was observed in skin reaction. Therapeutic gain factor (TGF) of PARMS protons obtained from RBE values on skin reaction and tumor growth delay was approximately 1.0.

1. はじめに

陽子線はその深部線量分布特性を利用することにより、病巣に選択的・効果的に線量を付与しうる点で治療上有用である。すなわち、現在手術困難な重要臓器近傍の限局した腫瘍病巣周辺、あるいは体表面より病巣にいたるまでの臓器・組織の放射線障害をおさえることによるメリットは大きい。また陽子線は他の粒子線と異なり、その放射

線生物学的特性は、ほぼ従来の放射線と同等と考えられ、これまでの放射線治療の経験をそのまま活用できるため、その臨床応用が容易であるので、早くから世界各所でがん治療に利用されてきた。しかし、陽子線の線源やエネルギー、照射野形成装置は施設ごとに異なるので、臨床応用にあって上述の「光子線との放射線生物学的同等性」は各施設において十分に検討し、必要に応じて治療

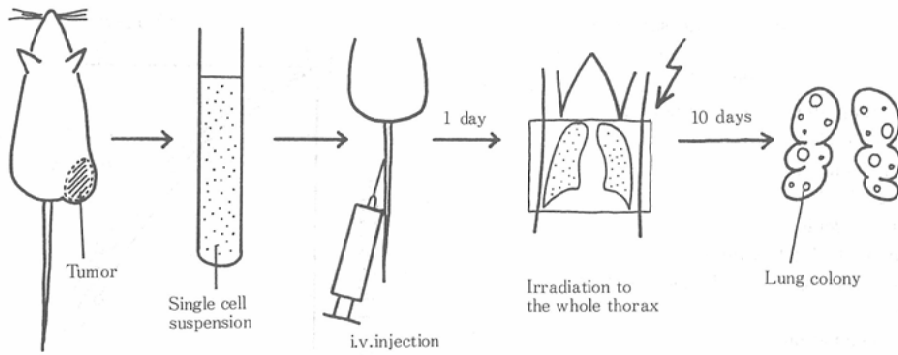


Fig. 1 Illustration of lung colony assay technique. (Refer to Table 1)

計画に反映されてゆかねばならない。たとえばマサチューセッツ総合病院では、ハーバード大学シンクロサイクロトロンによる陽子線を用いてすでに1,300例をこえる症例の治療を行なっていたが、これに際しては各種の生物学的効果に関するRBEの測定を行ない、その結果を考慮して治療効果比(TGF)を1.1~1.2と求めている¹⁾。筑波大学では、1981年に最大250MeVの垂直陽子線によるがん治療施設を粒子線医科学センター内に開設した。

この250MeV陽子線による培養細胞致死効果、lung colony assayによる細胞致死効果、マウス皮膚反応およびマウス移植腫瘍の増殖遅延効果について、180kV-X線、⁶⁰Co-γ線との比較検討を行なったので、その結果について報告する。

2. 材料と方法

1) 培養細胞としてはヒト悪性黒色腫由来株細胞 HMV-I²⁾を10%ウシ胎児血清加HAM-F12培地中で培養したものを用いた。X線、陽子線、γ線とも、照射後14日目に50個以上の細胞からなるコロニーを計数し、生残率を求めた。

2) Lung colony assayは、C3H/He ♂マウス10週齢と、同系マウスに自然発生し、移植継代されている線維肉腫 NFSa とを用い、Table 1, Fig. 1および文献³⁾に示された方法によって行なった。この2法による線量-効果関係は、linear-quadratic modelに基き、least square methodを併用して解析を行なった。

3) 皮膚反応については同じくC3H/He ♂マウ

Table 1 Procedure sequence for obtaining single cell suspension for lung colony assay.

1. Surgical removal of the NFSa tumor
2. Mincing with scissors
3. Mixing with 20 ml of Dulbecco's solution with 0.2% trypsin, 0.02% pancreatin and 5 mg DNase
4. Agitating at 35 C for 5 min.
5. Discarding the supernatant and adding the fresh solution for another 20 min. trypsinization
6. Filtrating the second supernatant through a stainless steel mesh(#200)
7. Centrifuging at 1100 rpm for 8 min.
8. Resuspending the cells in Hanks' solution containing 10% calf serum
9. Counting the number of cells by a hemocytometer under phase contrast microscopy

ス10週齢に大腿外側部を脱毛クリームにて照射3日前に脱毛し、照射後相沢のスコアシステム⁴⁾(Table 2)によって経過を観察した。

4) 移植腫瘍増殖遅延効果は、C3H/He ♂マウス10週齢の大腿皮下に前述のNFSa腫瘍片を移植し、腫瘍径7~8mmにて放射線を照射し、以後の腫瘍径の経時変化により求めた。

照射に用いた放射線と照射方法は以下の通りである。

⁶⁰Co γ線照射には、⁶⁰Co 5000Ci治療用遠隔照射装置を用い、SSD 80cm、線量率0.9Gy/minで照射した。X線照射には、180kV 25mA 深部治療用X線装置を用い、RADOCON電離箱型線量計のモニタ下で照射した。0.5mmCu+0.5mmAlフィルタを併用し、線量率は0.77~1.08Gy/min

Table 2 Score system for acute skin reaction⁴⁾.

Score	Findings
0.5	doubt of any difference from normal, graying ($A \geq 1/2$)
1.0	slight reddening, graying ($A \leq 1/2$)
1.5	definite reddening, no hair with slight atrophy
2.0	severe reddening or dry desquamation(+), atrophy
2.5	dry desquamation (+), scales ($A \leq 1/3$)
3.0	moist desquamation, scales ($1/3 < A < 2/3$)
3.5	moist desquamation, scales ($A \geq 2/3$)
3.0	moist desquamation (±) (+) (++)
-5.0	
	$A \leq 1/3$ 3.0 3.5 4.0
	$1/3 < A < 2/3$ 3.5 4.0 4.5
	$A \geq 2/3$ 4.0 4.5 5.0

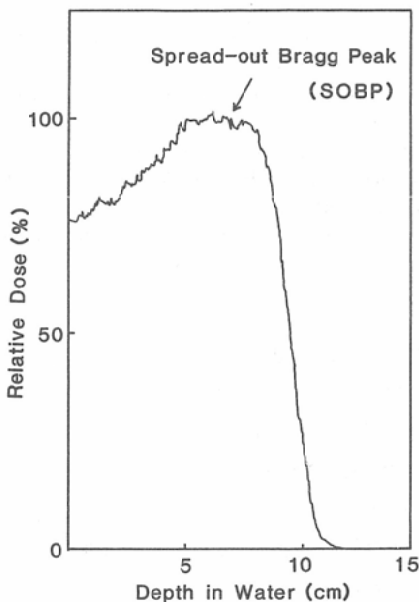


Fig. 2 Depth dose curve of modulated proton beam (PARMS) in water

であった。陽子線照射には、筑波大学粒子線医学科学センターの垂直陽子線を用い⁵⁾、初期エネルギー250MeV、SOBP (Spread Out Bragg Peak) 35mm (Fig. 2)、線量率0.7~0.9Gy/minで行なった。

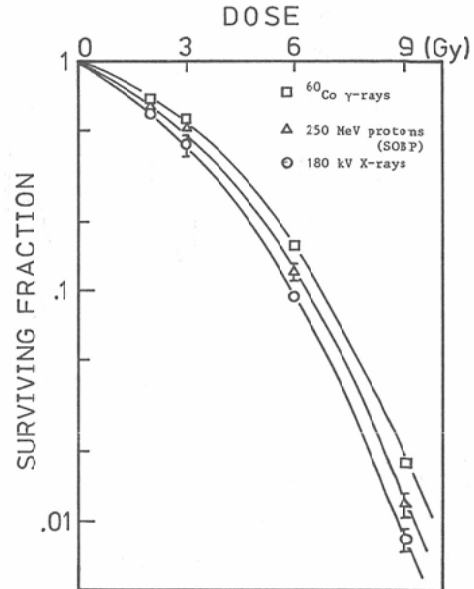


Fig. 3 Dose survival curve of HMV-I cells irradiated with ^{60}Co γ -rays ($\log(S) = -0.0397D - 0.0166D^2$), modulated protons ($\log(S) = -0.0543D - 0.0172D^2$) or 180kV X-rays ($\log(S) = -0.0726D - 0.0170D^2$). Error bars represent standard errors.

培養細胞照射は、培養フラスコ密閉・室温の下でおこない、マウスはいずれもネブタル麻酔下固定、室温にて、鉛または真鍮のコリメータを併用して行なった。

3. 結果

1) ヒト悪性黒色腫培養細胞 HMV-I を用いた in vitro 細胞致死効果についての線量効果関係を Fig. 3 に示した。これよりもめた生存率 0.1 および 0.01 における陽子線の 180kV X 線に対する RBE (以下、単に RBE と略す) はいずれも 0.95 であった。また、 ^{60}Co γ 線に対する RBE はそれぞれ 1.08, 1.05 であった。

2) NFSa-C3H/He lung colony assay による 180kV X 線および 250MeV 陽子線の線量効果関係を Fig. 4 に示した。いずれも低線量域で shoulder をもった log-linear な関係を示し、生存率 0.1 および 0.01 における陽子線の RBE はそれぞれ 0.94, 0.95 であった。

3) C3H/He マウス大腿皮膚に対し、1 回照射

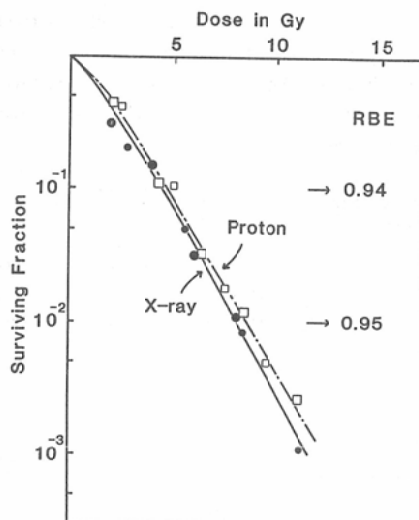


Fig. 4 Dose survival curves in lung colony assay with C3H/He mouse and NFSa tumor (X-rays: $\log(S) = -0.192D - 0.00652D^2$ and modulated protons: $\log(S) = -0.195D - 0.00469D^2$). Size of symbols represents different series of experiment.

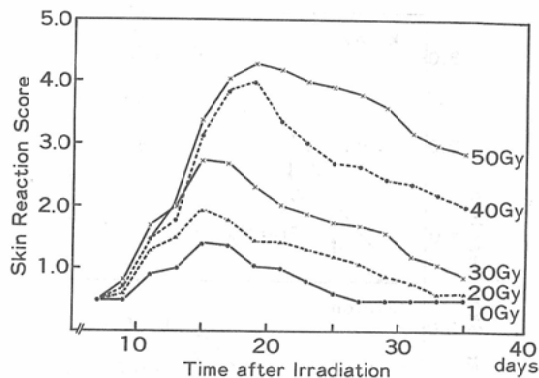


Fig. 6 Temporal development of acute skin reactions in the logs of C3H mouse irradiated with modulated protons.

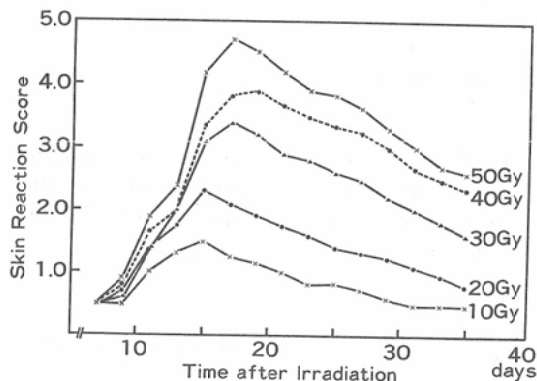


Fig. 5 Temporal development of acute skin reactions in the legs of C3H mouse irradiated with 180 kV X-rays.

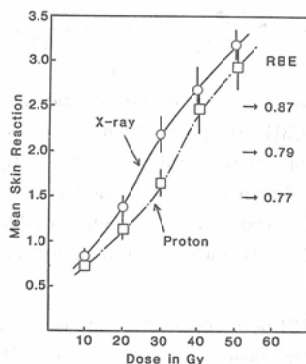


Fig. 7 Dose response curves of mean skin reactions in C3H/He mouse during 7 to 35 days after irradiation with 180kV X-rays or modulated protons. Error bars are standard deviation.

をおこなった後の急性皮膚反応の経日変化を Fig. 5 (X線) および Fig. 6 (陽子線) に示した。Peak skin reaction score については、X線においてより高い傾向が認められたが、反応が極大に達するまでの期間および反応の消退の過程については、両者の間で有意の差異はみとめられなかった。

また、照射後 7 日より 35 日に至る期間の mean

skin reaction score を算出し、これを X 線および陽子線線量についてプロットしたものを、急性皮膚反応についての線量効果曲線として Fig. 7 に示した。図に示すように、皮膚反応に関する線量効果関係はほぼ sigmoid であり、RBE の算定はその急勾配部分かつ判定の明確な score 1.5~3.0 の領域でおこなわれるべきと考え、score 1.5, 2.0 および 3.0 の点において求めた陽子線の RBE は、それぞれ 0.77, 0.79, 0.87 であり、線量依存が認められた。

24 時間間隔等線量 2 分割照射による皮膚反応線量効果関係を Fig. 8 に示した。Mean skin reaction score 1.5, 2.0, 2.5 の各等効果を与える 1 回

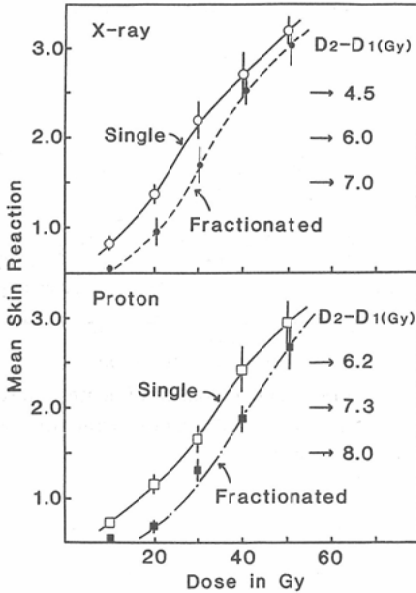


Fig. 8 Dose response curves of mean skin reactions in C3H/He mouse during 7 to 35days after irradiation with 180kV X-rays (upper) or modulated Protons (lower), and same total doses given in two equal fractions separated by 24hours in terval. D_2-D_1 means 24hour recovery dose.

Table 3 24 hour recovery of mouse skin between two equal doses of 180kV X-rays. Data were derived from Fig. 8.

Mean Skin Reaction	Single (D_1)	2 fraction (D_2)	Recovery Dose (D_2-D_1) _x
1.5	21.5Gy	23.5Gy	7.0Gy
2.0	28.0Gy	34.0Gy	6.0Gy
2.5	36.0Gy	40.5Gy	4.5Gy

Table 4 24 hour recovery of mouse skin between two equal doses of modulated protons. Data were derived from Fig. 8. Corrected recovery doses, (D_1-D_2) RBE, are similar to recovery doses of 180kV X-rays in Table 3.

Mean Skin Reaction	Single (D_1)	2 fraction (D_2)	Recovery Dose (D_2-D_1) _p	(D_2-D_1)RBE
1.5	27.5Gy	35.5Gy	8.0Gy	6.2Gy
2.0	34.5Gy	41.8Gy	7.3Gy	5.8Gy
2.5	41.5Gy	41.5Gy	6.2Gy	5.4Gy

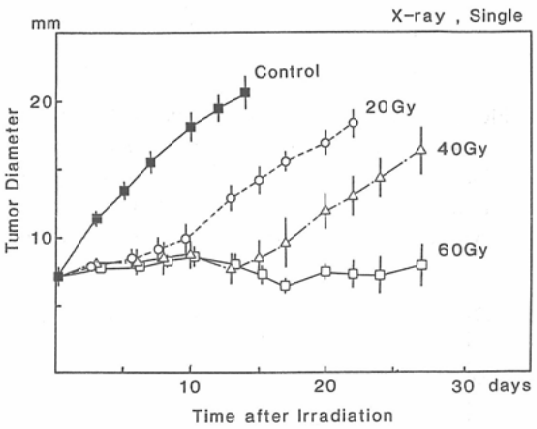


Fig. 9 Time course of growth of 180kV X-rays irradiated NFSa tumors transplanted in C3H/He mouse. Error bars are standard deviations of tumor diameter.

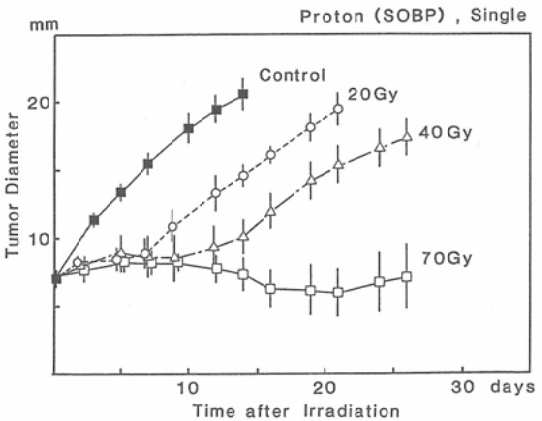


Fig. 10 Time course of growth of modulated proton irradiated NFSa tumor transplanted in C3H/He mouse.

線量と等線量 2 回分割の総線量との差を recovery dose とし、陽子線については各点における RBE を乗じてその実効値とし、Table 3, 4 に示した。Recovery dose およびその実効値は、X 線および陽子線双方において低線量域で大きく、initial damage が小さいほど容易に修復がおこなわれることを示唆した。

4) C3H/He マウス移植線維肉腫 NFSa に対する X 線および陽子線 1 回照射後の腫瘍増殖曲線を Fig. 9, 10 に、また腫瘍径が 15mm に達するに要する期間より求めた増殖遅延時間と線量との関係を Fig. 11 に示した。陽子線照射は SOBP および

Table 5 Summary of RBE studies for modulated protons (PARMS), compared with 180kV X-rays.

End point	RBE	
in vitro cell cell inactivation	0.95 (at 10% survival)	0.95 (at 1% survival)
lung colony assay	0.94 (at 10% survival)	0.95 (at 1% survival)
skin reaction	0.77 (at score=1.5)	0.79 (at score=2.0) 0.87 (at score=2.5)
tumor growth delay	0.81 (at 10 days delay)	0.77 (at 15 days delay)

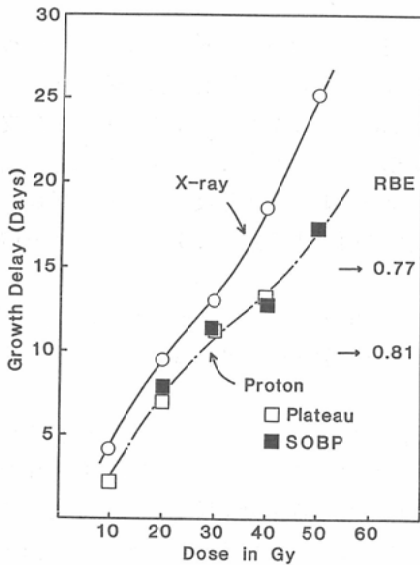


Fig. 11 Dose effect curve in tumor growth delay of NFSa tumor in C3H/He mouse irradiated with 180kV X-rays or modulated protons.

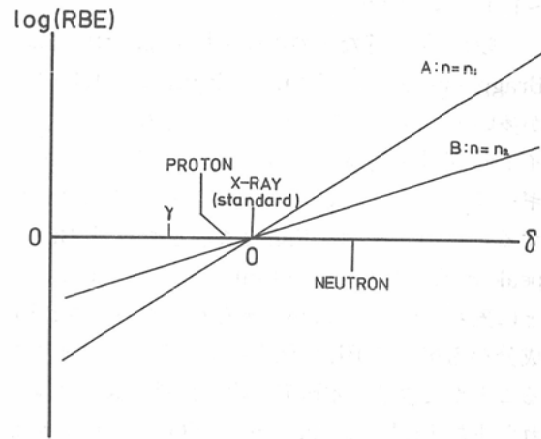


Fig. 12 Scheme of relationship between δ (intent) and RBE. Line A ($n=n_1 > n_2$) stands for more complex system, i. e. skin reaction or tumor growth delay and line B ($n=n_2 > n_1$) for simple system, i.e. lung colony assay or in vitro cell inactivation

4. 考 察

plateau 部でおこなったが、両者間に有意の差を認めなかった。腫瘍増殖遅延時間10日および15日における陽子線のRBEはそれぞれ0.81および0.77であった。

結果のまとめ) 筑波大学粒子線医科学センターにおける垂直陽子線の180kV X線に対するRBEをTable 5にまとめて示した。すなわち、in vitro細胞不活化効果において0.95、lung colony assayにおいては0.94~0.95という値が得られた。また、早期皮膚反応および腫瘍増殖遅延効果についてのRBEはそれぞれ0.77~0.87および0.77~0.81であった。また、SOBPおよびplateau部での陽子線照射効果に有意差を認めなかった。

1) 陽子線の各種の生物学的効果についてのレビューを初めて行なったのはRobertsonらのグループで⁶⁾、多くの研究者のデータおよび彼らの培養細胞による結果より、陽子線の生物学的効果においては何ら注目すべき特性はなく、その治療応用について生物学的効果を期待すべきでない結論した。また、Hallら⁷⁾はチャイニーズハムスター培養細胞を用いて多くの他の放射線との不活化効果の比較を行ない、一方、Tepperら⁸⁾はマウス空腸および皮膚反応に注目し、いずれも陽子線分割照射治療において障害となる生物効果を認めないと結論した。その後Uranoらは、ハーバード大学サイクロトロンより得られる160MeV

陽子線の各種 end point に関する⁶⁰Co γ線に対する平均 RBE を1.17とし、その値が1よりわずかに大きい原因をビーム中に混在する高 LET 成分に求めている⁹⁾¹⁰⁾。本報でのべた筑波大学陽子線の RBE は180kV X線を基準放射線としたものであるが、このことを勘案しても、筆者らの得た RBE 値は Urano らのものに比べて小さく、また、安藤および筆者ら³⁾が lung colony assay について相互比較を行なった⁶⁰Co γ線に対する RBE 値(1.04~1.07)も同様であった。

一般に、陽子線などの重荷電粒子線においては、Bragg curve 上の distal peak 部に高 LET 成分が多いとされている。本施設の陽子線はグラフィット減速材を通過してきたもので、そのエネルギーはハーバード大学陽子線のものより広く分布する。このことは、Fig. 2に示した拡大 Bragg peak 後部での線量の cut-off がシャープでないことに表れている。これが本来存在していた高 LET 成分を希釈し、RBE の低下をもたらすものと考えることができる(本研究で用いた陽子線の計算された平均 LET は、Plateau 部、SOBP 近位部および遠位部 (Fig. 2)においてそれぞれ0.65, 0.78および8.2keV/μmであった)。

また、がん培養細胞による in vitro 生物効果では、180kV X線と⁶⁰Co γ線との比較を行ない、陽子線の生物効果は両者の中間にあることを認めた。他の in vivo 系に関してもこの関係が成立すると考えることは妥当であろう。

2) 速中性子線を中心とした高 LET 放射線については、beam source, end point, 照射方法により異なった値を示すが¹¹⁾、一般に resistant な系での値が sensitive な系での値に比べて大きく¹²⁾¹³⁾、また、in vivo での値が in vitro での値より大きいとされている¹⁴⁾。一方、本報における LET の低い陽子線については、in vitro 系では RBE は1よりわずかに小さく、in vivo 系では1より明らかに小さくなっている。いかえると線質による RBE の1から偏位は in vitro 系では小さく、in vivo 系では大きいのかかという仮説が成り立つ。すなわち、生物効果の発現が複数のプロセスから成り立つと考え、その各プロセ

スについて線質によって異なる RBE の寄与を考えれば、多くのプロセスの存在する in vivo 系で線質の差が RBE の差に大きく影響すると考えられた。これは式(1)のように書きあらわせる。

$$RBE = \prod_{i=1}^n RBE_i = \prod_{i=1}^n (1 + \delta_i) \dots\dots\dots(1)$$

δ_i : 各プロセスにおける RBE の1からの偏位

n: 効果発現にかかわる潜在的プロセスの数

Fig. 12は $\delta_i = \delta$ とし、 $n = n_1$ および n_2 について式(1)にもとづき δ と RBE との関係を示したものである。ここで $n_1 > n_2$ であり、 n_1 は皮膚反応や腫瘍増殖遅延効果などの複雑な系に相当し、 n_2 は in vitro 細胞不活化などの比較的単純と考えられる系に相当する。また、 δ は、大略的に線質(=LET)と読みかえることができ、このモデルが種々の放射線についての end point による RBE の差の系統的解釈の一助となりうることを示された。

また、皮膚反応において RBE の線量依存性があきらかに認められた。これは LET の異なる放射能についての線量効果関係から説明できる。すなわちよく知られているように⁸⁾¹⁵⁾¹⁶⁾、高 LET 放射線においては RBE は線量が高くなるほど小さくなるが、逆に、低 LET 放射線においては RBE は線量が高いほど大きくなると考えられた。

3) 皮膚反応における RBE (0.77~0.87) および腫瘍増殖遅延効果における RBE (0.77~0.81) より、TGF (therapeutic gain factor) は1.0と考えられた。したがって治療への応用にあたっては、後障害に対して従来の放射線に関する以上の特別な考慮をばらうことなく、陽子線のすぐれた局所線量分布特性の十分な活用が容易なので、これにより治療成績の改善が期待できよう。

5. 結 論

筑波大学粒子線医科学センターの250MeV 陽子線の生物効果について検討を行ない、以下の結論を得た。

1) In vitro 系および lung colony assay での180kV X線に対する RBE は0.94~0.95であっ

た。

2) マウス急性皮膚反応における RBE は 0.77 ~ 0.87 であった。

3) 腫瘍増殖遅延効果における RBE は 0.77 ~ 0.81 であった。

4) 2), 3) から得られた TGF は 1.0 とみなされるので、陽子線の治療計画、線量配分は容易であり、よってその局所線量分布特性による治療効果改善が期待できた。

本研究を遂行するについて、筑波大学粒子線医学センター高田義久、小林克己および早川吉則講師の助言と激励をえた。また、実験の多くの部分に矢口牧子技官の協力をえた。本研究の一部は文部省科研費「がん特 I (恒元班)」(課題番号 60010087) によった。

ここに記して謝意を表する。

文 献

- 1) Suit, H.D., Goitein, M., Munzenrider, J.E., Verhey, L., Gragoudas, E., Koehler, A.M., Urano, M., Shipley, W.U., Longgood, R.M., Friedberg, C. and Wangner, M.: Clinical experience with proton beam radiation therapy. *J. Can. Assoc. Radiol.*, 31: 35—39, 1980
- 2) 春日 孟, 古瀬 健, 稲田哲雄, 高橋イチ: 放射線抵抗性腫瘍“黒色腫”に対する高 LET 放射の効果. 癌の臨床, 17: 380—385, 1971
- 3) 安藤典一, 小池幸子, 河内清光, 平岡 武, 大原弘, 横田昌彦, 稲田哲雄, 広川 裕, 佐藤眞一郎, 江口清美, 浦野宗保: 放医研および筑波大学治療陽子線の生物学的効果比. 日本医放会誌, 45: 531—535, 1985
- 4) 相沢 恒: C3H/He マウスの皮膚反応に及ぼす速中性子線および X 線の 1 回照射, 2 分割照射の影響. 日本医放会誌, 33: 602—616, 1973
- 5) 稲田哲雄, 早川吉則, 丸橋 晃, 大原 潔, 北川俊夫, 秋 貞雄, 河内清光, 金井達明: 高エネルギー垂直陽子線治療装置. 日本医放会誌, 44: 844—853, 1984
- 6) Robertson, J.B., Williams, J.R., Schmidt, R.A., Little, J.B., Flynn, D.F. and Suit, H.D.: Radiobiological studies of high energy modulated proton beam utilizing cultured mammalian cells. *Cancer*, 35: 1664—1677, 1975
- 7) Hall, E.J., Kellerer, A.M., Rossi, H.H. and Lam, Y.-M.P.: The relative biological effectiveness of 160 MeV protons. II. Biological data and their interpretation in terms of micro dosimetry. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 4: 1009—1014, 1978
- 8) Tepper, J., Verhey, L., Goitein, M. and Suit, H. D.: In vivo determinations of RBE in a high energy modulated proton beam using normal tissue reactions and fractionated dose schedules. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2: 1115—1122, 1977
- 9) Urano, M., Verhey, L.J., Goitein, M., Tepper, J. E., Suit, H.D., Mendiondo, O., Gragoudas, E.S. and Koehler, A.: Relative biological effectiveness of modulated proton beams in various murine tissues. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 10: 502—514, 1984
- 10) Kliauga, P.J., Colvett, R.D., Lam, Y.-M.P. and Rossi, H.H.: The relative biological effectiveness of 160 MeV protons. I. Microdosimetry. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 4: 1002—1008, 1978
- 11) Hall, E.J.(浦野宗保訳): 放射線科医のための放射線生物学. 91—105, 篠原出版, 1980
- 12) Chamberlanin, S.M., Kirk, J. and Nias, A.H. W.: Variation in neutron relative biological effectiveness values for human lymphocytes. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 6: 341—344, 1980
- 13) Dewyngart, J.K., Leith, J.T., Peck, R.A. Jr., Bliven, S.F., Zeman, E.M., Marino, S.A. and Glicksman, A.S.: Differential relative biological effectiveness values obtained for mammary adenocarcinoma tumor cell subpopulations after 14.8 MeV neutron irradiation. *Radiat. Res.*, 88: 118—131, 1981
- 14) Hanson, W.R., Crouse, D.A., Fry, R.J. and Ainsworth, E.J.: Relative biological effectiveness measurements using murine lethality and survival of intestinal and hematopoietic stem cells after FERMLAB neutrons compared to Janus reactor neutrons and cobalt-60 gamma rays. *Radiat. Res.*, 100: 290—297, 1984
- 15) Merkle, K. and Schmidt, W.: Assessment of relative biological effectiveness of fast neutrons in Ehrlich ascites tumor cells by analysis of mitotic depression. *Arch. Geschwulstforsch.*, 47: 525—530, 1977
- 16) Kavakova, M.M., Videnskili, V.G. and Farnakeev, V.V.: The oxygen effect on postradiation recovery and relative biological effectiveness of fast neutrons in diploid yeast *Saccharomyces Ellipsoideus* cells. *Radio-biologiya*, 19: 763—766, 1979