

## 公益財団法人 中山人間科学振興財団

### 2022(令和4)年度「空間デザインの人間科学」中山賞奨励賞

「マイクロビームによる精密な空間制御と精子形成能の温存—マイクロビーム放射線治療の開発」

福永久典

北海道大学 大学院保健科学研究所 医用生体理工学分野

#### 1. はじめに

近年のがん治療成績の向上によって、小児や思春期・若年成人(AYA)世代の患者が命を落とすことは少なくなり、患者の妊孕性の保護を考慮した治療選択がより重要性を増している。放射線治療技術の進歩によって、腫瘍部位を含む計画標的体積(PTV)に対して効率的に線量を集中させることができるようになったものの、完全になん細胞のみに放射線を照射させるという技術は依然として確立されていない。現状では、PTV周囲の正常組織に空間的に不均一な線量分布が生じることにより、結果として放射線障害を原因とする有害事象が起こりえる。男性の場合、例えば精巣がんにおける精巣への照射、泌尿器系腫瘍における骨盤照射によって、一時的あるいは永久的な造精機能喪失(放射線不妊)というリスクを伴う。そして、このような男性の放射線不妊が生じる生物学的メカニズムの詳細は依然として明らかになってはいない [1]。

2006年米国臨床腫瘍学会と米国生殖医学会は共同で、若年がん患者における妊孕性温存のための最初のガイドラインを発表した。このガイドラインでは「生殖年齢にある全てのがん患者は治療に伴う不妊の可能性について知らされるべきであり、がん治療医は診断の早い段階から生殖医療を専門とする医師と連携するべきである」と強調されている。さらに、2013年改訂ガイドラインや2018年改訂ガイドラインでも、医療従事者と患者が可及的速やかに妊孕性温存について話し合う必要性が強調されている。このように、近年、小児やAYA世代を対象としたがん・生殖医学の発展に対する社会的要請により、新規放射線治療技術の開発による放射線不妊の克服は喫緊の課題といえる[2]。

#### 2. マイクロビーム精巣照射と妊孕性の温存

これまでに実験動物を用いて行われた放射線の生殖機能障害や遺伝的影響への影響を検討した研究の多くは、実験動物に対して全体的に均一に照射される人工的条件で検討されてきた。しかし、放射線治療では、前述の通り、時空間的に不均一な放射線被ばくによってPTV周囲正常組織に生じた有害事象が課題であり、とくに空間的に不均一な被ばく条件で検討する必要がある[3]。そのような放射線影響の空間的離散性に着目した我々は、遺伝子改変マウス、精巣器官培養法、放射光X線マイクロビームを組み合わ

せ[4]、培養精巣 (*ex vivo* 条件) の精子形成中における不均一な放射線被ばく影響についてこれまで検討を重ねてきた。そして、2019 年に不均一な放射線被ばく (マイクロスリット照射) 後の精巣で「組織代償効果 (Tissue-sparing Effect: TSE)」が生じ、精子形成能が温存される」ことを発見した[5]。すなわち、マイクロビームの精密な空間制御によって、精子形成能の温存が可能となることを明らかにした (図 1)。

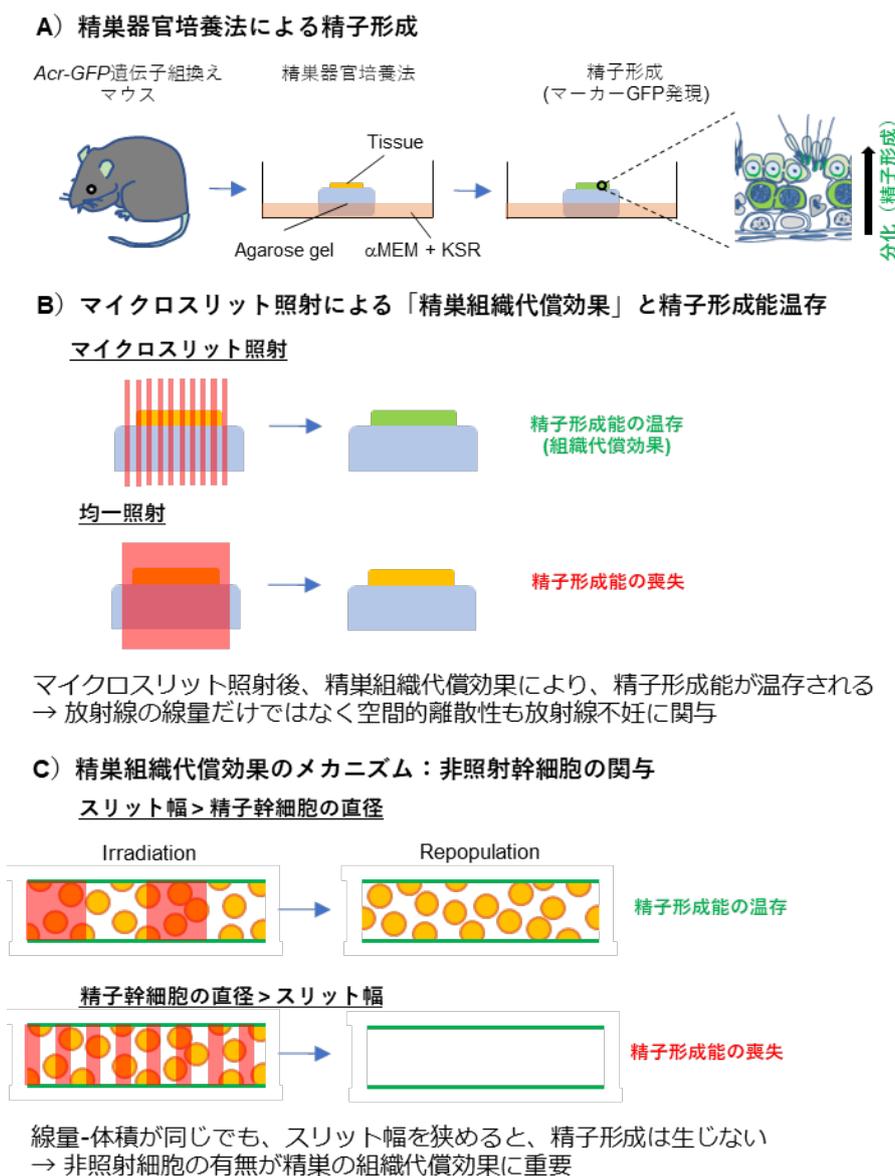


図 1 培養精巣における精子形成と組織代償効果

(A) Acr-GFP 遺伝子組み換えマウスを用いた精巣器官培養法。マーカーGFP の発現によって、精子形成の進行がモニタリングできる。(B) マイクロスリット照射による組織代償効果と精子形成能の温存。(C) 精巣組織代償効果のメカニズム。非照射精子幹細胞が存在できるようなスリット幅でしか組織代償効果による精子形成能温存が生じない。(Fukunaga et al. Sci Rep 2019 改変)

さらに、このブレイクスルーに続き、この TSE は放射光 X 線マイクロビームのような特殊な装置だけでなく一般的な X 線照射装置を用いても再現できること[6]、TSE のメカニズムとして非照射生殖幹細胞の精細管内移動が重要であることも明らかにした[7,8]。

### 3. 今後の研究展開: マイクロビーム放射線治療の開発に向けて

前述の通り、我々の研究グループは放射線被ばく後の精巣で精子形成を可能とする TSE を発見した。しかし、今後の臨床応用に向けて、このような TSE が生体内 (*in vivo* 条件) でも生じるのか、どの照射条件が効率的なのか、次世代影響 (遺伝的影響) は生じるのか等を明らかにする課題が残っている。

そこで我々は、「TSE による精子形成維持」が *in vivo* 条件でも生じるのかどうかを明らかにするため、最近、減数分裂期特異的に発現する Acrosin に発光タンパク質 Luciferase を遺伝子導入したモデル動物 *Acr-Luc* 遺伝子改変マウスの作成に取り組んでいる。この遺伝子改変マウスに対して生体外から発光タンパク質発現を検出する方法 (*in vivo* イメージング) を用いることで、精子形成に対する放射線影響をリアルタイムで観察することが可能になると考えられる。2022 年度末の時点でキメラマウス作製まで完了しており、今後、この遺伝子改変マウスを用いた照射実験が可能になる見込みである。

放射線基礎研究成果のヒトへの外挿については、従来、動物実験、疫学調査、バイオインフォマティクスなどを駆使して行われてきた。本研究においても、モデル動物を用いた実験結果から「種」の壁を越えたヒトへの外挿を最終的な目標にしている。組織代償効果による精子形成能温存が *in vivo* 条件でも実現できれば、今後、臨床試験や治験を行うことで、放射線治療への応用も可能になると考えられる。

### 4. おわりに

本研究は、マイクロビームによる精密な空間制御によって、精子形成能の温存を可能とするマイクロビーム放射線治療の開発を目標としている。がん・生殖医療への貢献という観点から、本研究から期待される成果が現代社会に与えるインパクトはきわめて大きいと予想される。とくに、小児期・AYA 世代のがんサバイバーの妊孕性を温存するための新しい放射線治療技術の開発が求められている中、本研究成果はその端緒になるものと期待される。

また、「精巣組織内で TSE が生じることで精子形成能が温存される」という我々の発見は、「被ばく線量依存的に組織反応 (障害) が生じる」という従来の放射線生物学・防護学の常識を覆すブレイクスルーである。本研究に依って、マイクロビーム空間制御による TSE メカニズムの解明がさらに進むことで、放射線生体影響に対する理解がより深まることが期待されており、その学術的な重要性は大きいと考えられる。

## 謝辞

本研究の遂行にあたり、英国 Queen's University Belfast の Prof. Kevin Prise、茨城大学の横谷明德教授、横浜市立大学の小川毅彦教授をはじめ多くの方々のご指導とご協力を賜りました。ここに謹んで感謝申し上げます。

また、この度の令和4年度中山賞奨励賞を受賞するという栄誉に浴し、審査員の先生方、財団関係者の皆様方に衷心より御礼申し上げます。

## 参考文献

1. [Fukunaga H](#), Butterworth KT, Yokoya A, Ogawa T, Prise KM: Low-dose radiation-induced risk in spermatogenesis. *International Journal of Radiation Biology* 93: 1291–8 (2017).
2. [Fukunaga H](#), Yokoya A, Prise KM: A Brief Overview of Radiation-Induced Effects on Spermatogenesis and Oncofertility. *Cancers* 14: 805 (2022).
3. [Fukunaga H](#), Prise KM: Non-uniform radiation-induced biological responses at the tissue level involved in the health risk of environmental radiation: a radiobiological hypothesis. *Environmental Health* 17: 93 (2018).
4. [Fukunaga H](#), Kaminaga K, Sato T, Usami N, Watanabe R, Butterworth KT, Ogawa T, Yokoya A, Prise KM: Application of an Ex Vivo Tissue Model to Investigate Radiobiological Effects on Spermatogenesis. *Radiation Research* 189: 661–7 (2018).
5. [Fukunaga H](#), Kaminaga K, Sato T, Butterworth KT, Watanabe R, Usami N, Ogawa T, Yokoya A, Prise KM: High-precision microbeam radiotherapy reveals testicular tissue-sparing effects for male fertility preservation. *Scientific Reports* 9: 12618 (2019).
6. [Fukunaga H](#), Kaminaga K, Sato T, Watanabe R, Ogawa T, Yokoya A, Prise KM: The Tissue-Sparing Effect of Spatially Fractionated X-rays for Maintaining Spermatogenesis: A Radiobiological Approach for the Preservation of Male Fertility after Radiotherapy. *Journal of Clinical Medicine* 9: 1089 (2020).
7. [Fukunaga H](#), Kaminaga K, Sato T, Butterworth KT, Watanabe R, Usami N, Ogawa T, Yokoya A, Prise KM: Spatially Fractionated Microbeam Analysis of Tissue-sparing Effect for Spermatogenesis. *Radiation Research* 194: 698–706 (2020).
8. [Fukunaga H](#): Stem Cell Migration: A Possible Mechanism for the Tissue-Sparing Effect of Spatially Fractionated Radiation. *Radiation Research* 196: 680–5 (2021).