

開発研究多機能ビームライン に対する医学利用Gの提案

医学利用UG代表

松下昌之助

(筑波技術大学)

医学利用Gの提案

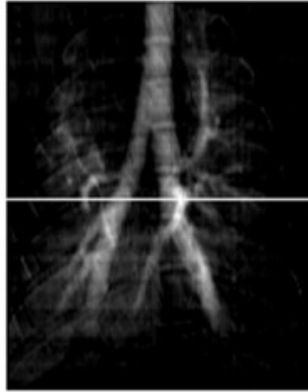
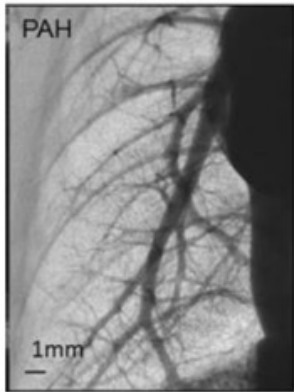
A. Imaging + Imaging

1) 2ビーム2エネルギーによるX線イメージング

生きている生体の血管と気管の動きを同時に動的観察

血管：液体造影剤
(I, 吸収端33.2 keV)

気管：気体造影剤
(Xe, 吸収端34.6keV)



S. Fuji et al., Gen Thorac Cardiovasc Surg (2016) 64:597-603

S Bayat et al 2001 Phys. Med. Biol. 46 3287

2) 2ビーム1エネルギーによるX線イメージング

- 腫瘍内血管等の微小血管の立体画像の作成

B. Pump (照射、励起) + Imaging

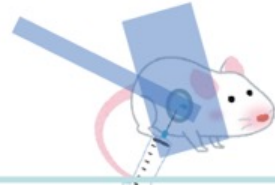
1) X線イメージングによる放射線治療関連についてその場観察 (高線量)

・DDS (ドラッグデリバリーシステム) の薬剤放出のその場観察

X線の照射によってキャリアが崩壊し、内包薬剤が放出

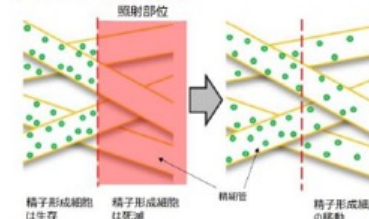
これまでにドラッグ運搬分子が抱えてきた問題点：「例えば、薬剤放出の不完全さに起因する不十分な薬効発現」はX線を用いることによって解決できる[1]

[1]K. Tanabe, Drug Delivery System 30-5, 2015, など



・放射線照射治療による周辺領域の影響をその場観察

ストライプ状にX線照射することで、均一に照射した場合には起こらない組織機能の回復が生じた (PF, BL-27)



精細管を通り、照射部位へ正常な細胞が移動するモデル[2,3]

[2]<https://www.kek.jp/ja/newsroom/attic/PR20190930.pdf>
[3]Fukunaga, et al. Sci Rep 9, 12618 (2019).

・オージェ電子治療の様子をその場観察

ナノ粒子をがん細胞のかたまりに取り込ませ、放射光を照射しオージェ電子を発生させることでがん細胞を攻撃 (SP8, BL14B1)

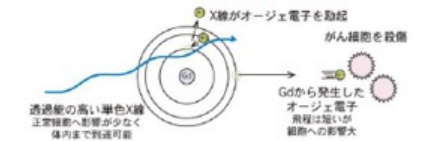


図2 オージェ電子によるがん殺傷作用の模式図
高線量X線(オージェ電子)を照射し、照射部位にナノ粒子(オージェ電子)を発生させることで、がん細胞を殺傷させる。オージェ電子は照射部位にのみ発生し、照射部位以外には発生しない。

様々な量子ビームとナノ材料の組み合わせが可能[4]

[4]玉ノ井他, Isotope News 2020 8月号 No. 770.

2) 放射線照射(低線量)関連のX線イメージングによるin vivo観察

- 低線量放射線照射による細胞内のストレス応答性タンパク質の惹起とその生体作用(細胞、組織、個体レベル)の観察

3) 細胞観察にはコード選択的取り込み法(遺伝子操作、ナノ粒子)を用いる。

Imaging + Imaging

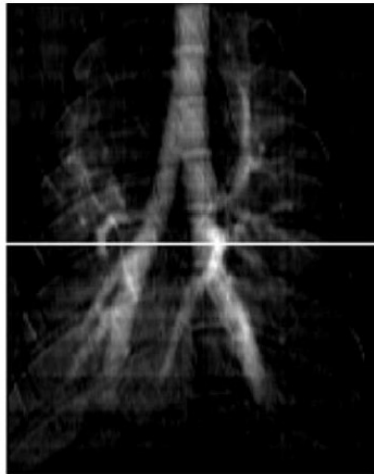
- 2ビーム2エネルギーによるX線イメージング
- 生きている生体の血管と気管の動きを同時に動的観察

血管：液体造影剤
(I、吸収端33.2 keV)



S. Fuji et al., Gen Thorac
Cardiovasc Surg (2016) 64:597–
603

気管：気体造影剤
(Xe、吸収端34.6 keV)



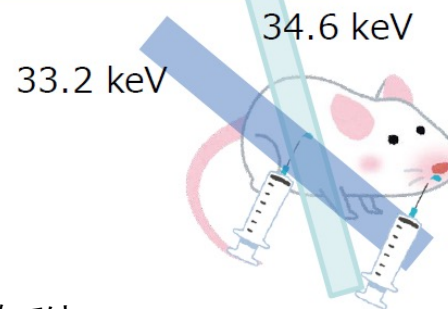
a
S Bayat et al 2001 Phys. Med. Biol. 46 3287

肺胞の機能の理解には、同時に血流と呼吸の様子を観察することが必要

Understanding the lung function on the alveolar level requires high-resolution mapping of **ventilation and perfusion simultaneously**.

S Bayat et al, Physica Medica 79 (2020) 22–3

プローブ×プローブによる同時観察



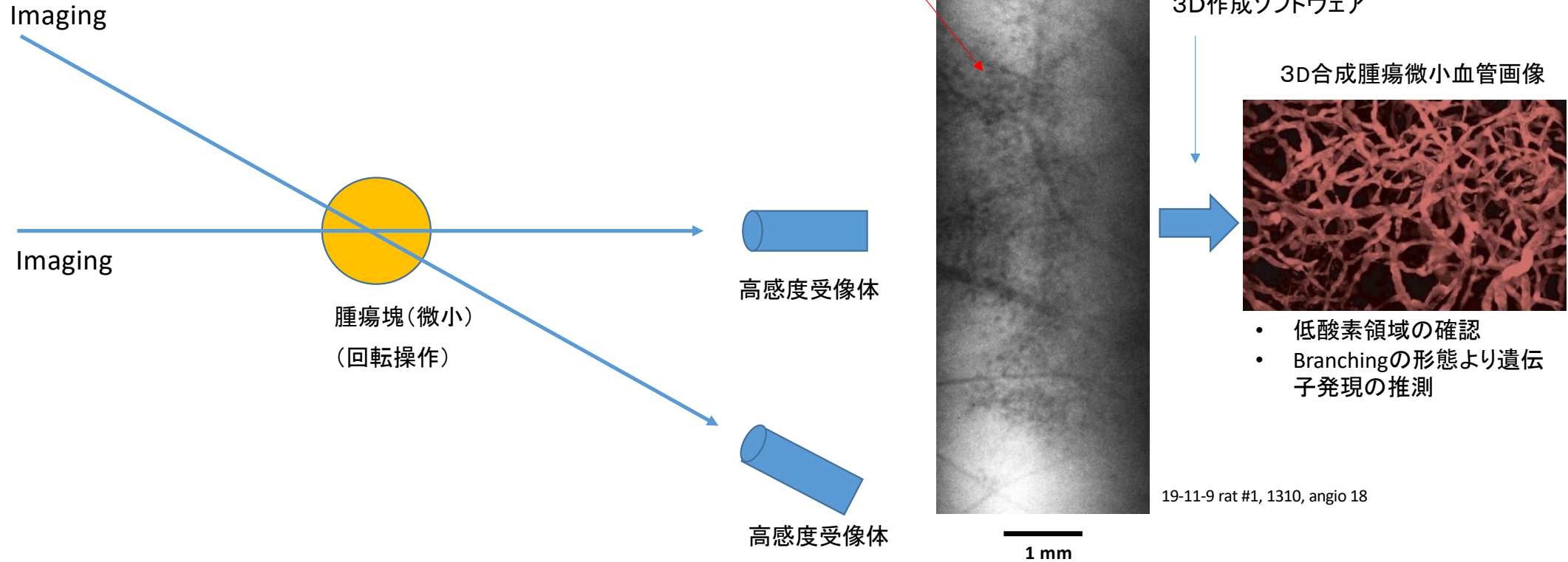
• 研究の背景

- 肺循環と肺気流の酸素交換における最適化の検討(哺乳動物では肺胞での酸素交換をエネルギー効率からみて最適化をめざすフェーズと、それを無視しても酸素交換の最大化を目指すフェーズがある)

Imaging + Imaging

- 2ビーム1エネルギーによるX線イメージング
- 腫瘍内血管等の微小血管の立体画像の作成

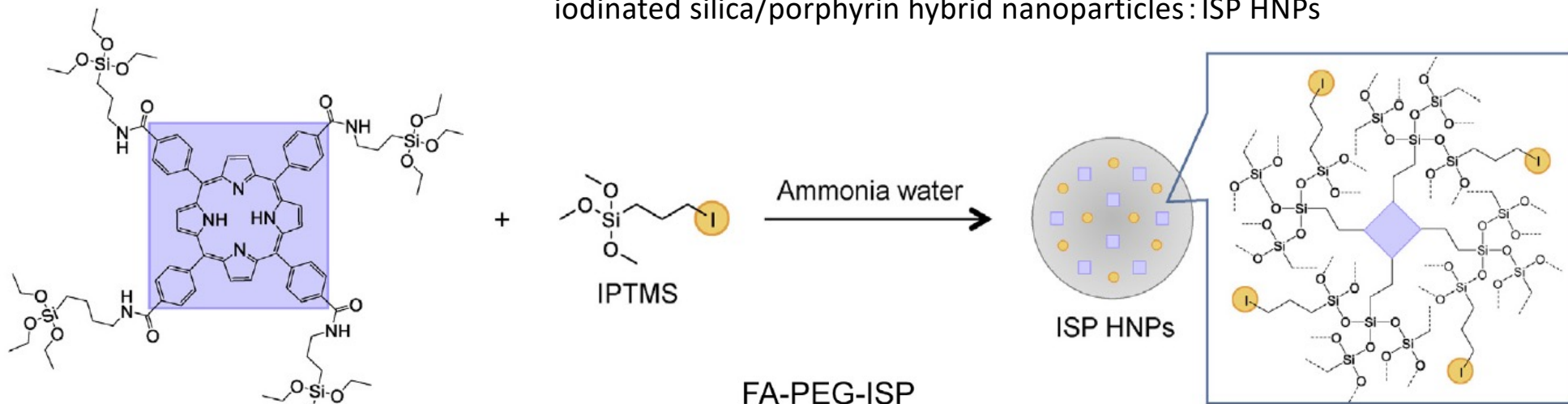
- 腫瘍内微小血管密度は腫瘍の悪性度を反映する。



- 低酸素領域の確認
- Branchingの形態より遺伝子発現の推測

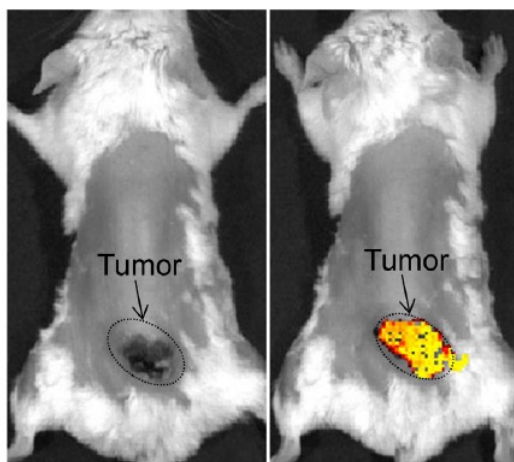
ヨード含有ナノ粒子 (ISP HNPs) と腫瘍への集積性

iodinated silica/porphyrin hybrid nanoparticles: ISP HNPs



FA-PEG-ISP

Pre Post



Fluorescence images of tumor-bearing mice before and after injection of FA-PEG-ISP HNPs.

- 腫瘍へのNPの集積性の根拠
 - 腫瘍血管の透過性亢進
 - 腫瘍細胞環境の低酸素性

Pump(照射、励起) + Imaging

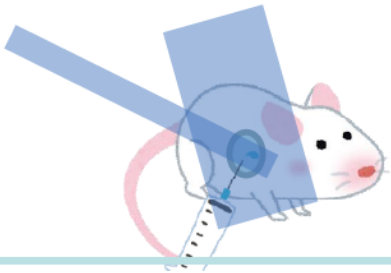
- X線イメージングによる放射線治療関連についてその場観察 (高線量)
- DDSの放射線による放出調整とその場観察(細胞の「運命」)

• DDS (ドラッグデリバリーシステム) の薬剤放出のその場観察

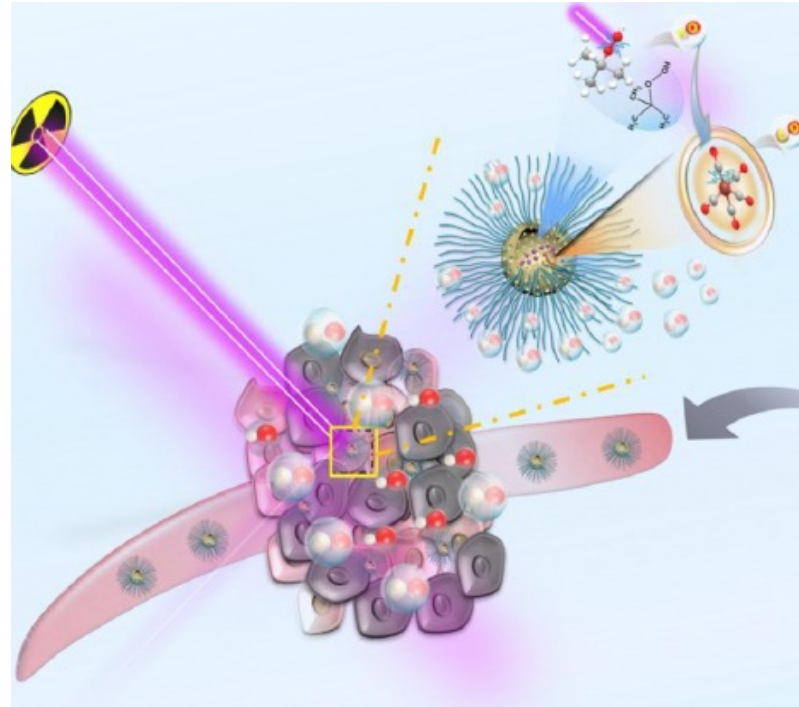
X線の照射によってキャリアが崩壊し、内包薬剤が放出

これまでにドラッグ運搬分子が抱えてきた問題点: 「例えば、薬剤放出の不完全さに起因する不十分な薬効発現」はX線を用いることによって解決できる[1]

[1]K. Tanabe, Drug Delivery System 30-5, 2015, など



X線照射により活性化し、開裂したナノ粒子。



Fan W, et al. Generic synthesis of small-sized hollow mesoporous organosilica nanoparticles for oxygen-independent X-ray-activated synergistic therapy. Nat Commun. 2019; 10: 1241.

検討課題: X線照射によって行われる下記のDDSの調節作用をin vivoで検証する。

1. X線活性型プロドラッグ
 1. N3-FdURD → 5-FdURD (抗がん剤)・・・副作用の軽減
2. X線によって活性化される核酸型プロドラッグ
 1. → X線によるmRNAの発現調節
3. X線によって崩壊するドラッグキャリア
 1. → 薬剤放出の不完全さに起因する不十分な薬効発現を防ぐ。

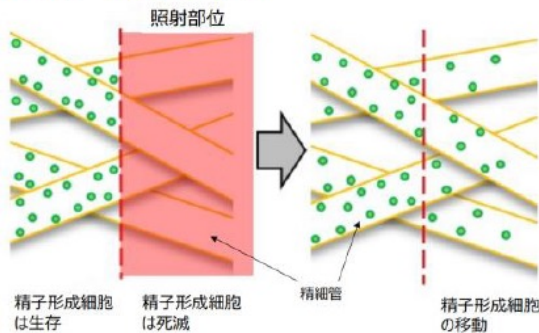
Tanabe K, et al. Radiolytic Reduction Characteristics of Drug-Encapsulating DNA Aggregates Possessing Disulfide Bond, Bioconjugate. Chem, 2012;23: 1909-1914.

Pump(照射、励起) + Imaging

- X線イメージングによる放射線治療関連についてその場観察（高線量）
- がん放射線治療におけるすだれ照射と正常細胞の維持の観察

• 放射線照射治療による周辺領域の影響をその場観察

ストライプ状にX線照射することで、均一に照射した場合には起こらない組織機能の回復が生じた (PF、BL-27)



精細管を通り、照射部位へ正常な細胞が移動するモデル[2,3]

[2]<https://www.kek.jp/ja/newsroom/attic/PR20190930.pdf>

[3]Fukunaga, et al. Sci Rep 9, 12618 (2019).

1. 背景と研究効果

1. 男性不妊症は、放射線がん治療の重要な副作用である。
2. 放射線生物学の観点からは、放射線被ばく後の不妊の根底にある機序は不明のままである。
3. 一般に、組織レベルでの放射線誘発効果は、閾値の有無にかかわらず線量依存的であるが、放射線が均一に照射されるか不均一に照射されるかによって、組織レベルの反応には顕著な違いがあり、一定のストライプ条件が存在する。
4. この精子生存条件と精細胞の状態を2ビーム放射光システムを用いて in vivo で観察することが研究の目的となる。
5. 放射線障害に対する細胞のストレス応答反応が関与するのではないかと推測される。

2. 用いられる技術

1. 培養腫瘍細胞 (Seminoma) に対するヨード蓄積法 (gene transfer)
2. ヨード含有たんぱく質のDDS (腫瘍細胞へ)
3. 2ビーム放射光照射システム

Fukunaga H, et al. High-precision microbeam radiotherapy reveals testicular tissue-sparing effects for male fertility preservation Sci Rep. 2019;9(1): 12618.

Pump(照射、励起) + Imaging

- X線イメージングによる放射線治療関連についてその場観察 (高線量)
- がんに対するオージェ電子治療の効果観察(細胞の「運命」)

・オージェ電子治療の様子をその場観察

ナノ粒子をがん細胞のかたまりに取り込ませ、放射光を照射しオージェ電子を発生させることでがん細胞を攻撃 (SP8, BL14B1)

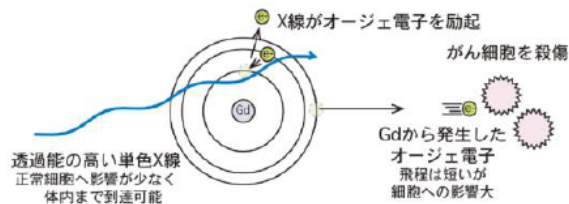


図2 オージェ電子によるがん殺傷効果の模式図
単色X線をGdナノ粒子に照射し、細胞への影響が大きいオージェ電子によりがん細胞を殺傷する。正常細胞中は透過力が高い単色X線が透過し、飛程が短いオージェ電子はがん細胞以外の細胞には届かないと期待できる

様々な量子ビームとナノ材料の組み合わせが可能[4]

[4].玉ノ井他, Isotope News 2020 8月号 No. 770.

1. 内容

1. Gdと放射光で発生させるオージェ電子を用いて、がん治療を行った(in vitro)。
2. Gd...多孔性シリカナノ粒子にGdを含有させ、DDSの手法を用いて腫瘍細胞の核膜近傍に置いた。
3. オージェ電子...50.25 KeVのエネルギーをもつ放射光由来の単色X線を照射して、発生させた。
4. 結果...照射60分でがん細胞を消失させた。

2. Proposed research

1. この手法を個体(マウス、ラット)のがん微小環境において検討する。
2. がん細胞のみならず、他のがん支援細胞の動態も検証する。

3. 付記

1. 続報では、Gdの代わりにI(ヨード)を用いた研究も行われている。
2. Higashi Y, et al. Iodine containing porous organosilica nanoparticles trigger tumor spheroids destruction upon monochromatic X-ray irradiation: DNA breaks and K-edge energy X-ray. Sci Rep. 2021; 11: 14192.

Matsumoto K, et al. Destruction of tumor mass by gadolinium-loaded nanoparticles irradiated with monochromatic X-rays: Implications for the Auger therapy. Sci Rep. 2019;9: 13275.

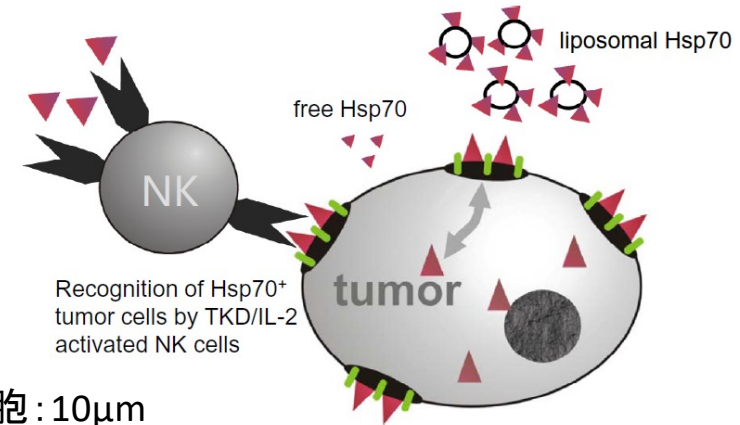
低線量照射によるストレス応答性タンパク質 (HP)

低線量照射

- 低線量細胞障害惹起

ヒートショックタンパク質 (HSP70) の誘導産生

Multhoff G et al. The role of heat shock protein 70 (Hsp70) in radiation-induced immunomodulation. *Cancer Lett.* 2015;368(2):179-84



細胞: 10 μ m

Pump

Imaging

放射線誘発免疫調節における熱ショックタンパク質70 (HSP70) の役割

- 低線量照射は、熱ショックタンパク質 (HSP) の合成を誘導する。
- 低線量照射は、腫瘍細胞の膜上の HSP の細胞表面発現を増加し、腫瘍細胞からの HSP の放出を誘導する。
- 細胞膜結合型および細胞外 HSP は、T 細胞および NK 細胞を介した抗腫瘍免疫応答を誘発することができる。

- これらの現象を、1 免疫担当細胞を対象に in vivo で検討する。

HSP70 の遊離と免疫調節

免疫細胞の追跡 (← 免疫細胞への選択的ヨード含有 NP の負荷)

高感度受像体

- HARP Disk
- 1 光子受像体

1 細胞を認識するための新規受像体

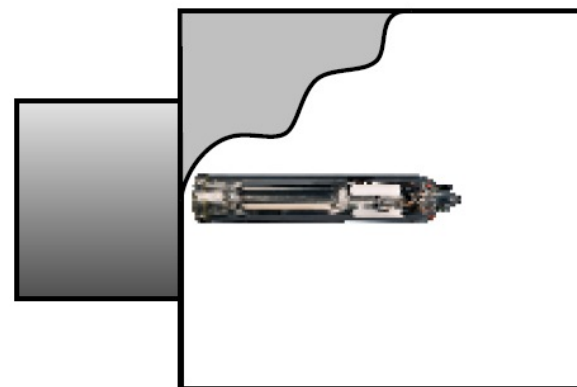
1. 新規受像体

1. ダイナミックレンジの増大

1. HARP Disc

1. アバランシェ増幅機構

HARP撮像管カメラ



2. Single Photon Detector

1. PILATUS

2. Dynamic range・・・20 bit (1:1,048,576)



<https://japan.rigaku.com/ja/products/detectors/pilatus>

まとめ

1. 2ビーム放射光の医学利用では、次の2方式が考えられる
 1. Imaging + Imaging
 2. Pump + Imaging
2. Imaging + Imagingの場合は次の方式が考えられる
 1. 2ビーム2エネルギー（例：33.2 keV(I), 34.6 keV(Xe)）
 2. 2ビーム1エネルギー（例：33.2 keV(I), 33.2 keV(I)）
3. Pump + Imagingの場合は、放射光の線量の規模により対象となる病態が異なる
 1. 大線量放射光照射・・・（例：がん治療）
 2. 中線量放射光照射・・・（例：DDSにおける物質の構造変化）
 3. 小線量放射光照射・・・（例：ストレス応答性タンパク質研究）
4. 放射光照射後のその場観察には、1細胞レベルでの追跡が必要であり、そのためには1細胞に対する有効なヨードの集積技術の確立が求められる。