

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K07628

研究課題名(和文)薬剤増感による粒子線がん治療法の物理生物学的研究

研究課題名(英文)Physics and biological study of particle beam cancer treatment by drug sensitization

研究代表者

島田 博文 (SHIMADA, Hirofumi)

群馬大学・重粒子線医学推進機構・助教

研究者番号：10414575

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,900,000円

研究成果の概要(和文)：粒子線及び光線力学的療法(Photodynamic Therapy: PDT)用薬剤の粒子線照射で発生する活性酸素種との相乗効果を利用することによって選択的かつ集中的に腫瘍組織を攻撃することを特徴とした低侵襲な治療システムを構築することを目的とした。

本研究課題の具体的な目的は、PDT用薬剤の水溶液系において粒子線照射による活性酸素種の同定や発生効率、放射線分解物分析等の放射線化学的な知見を得るとともに、主な分解性生物についての毒性を明らかにした。さらに、腫瘍培養細胞を用いて粒子線とPDT用薬剤の粒子線照射により発生する活性酸素種に対する致死効果を調べ、PBDT法の有効性を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

粒子線のみでも従来の治療法と比較して低侵襲で十分な治療効果が認められているが、本研究成果により薬剤による相乗効果によって粒子線の線量を低減させることが期待される。それによって、悪性腫瘍への治療効果の増大のみだけでなく、正常組織の線量を低減させることが可能なため、有害事象を低減させることも併せて期待される。

本治療法が確立されると、さらなる低侵襲な治療を提供することが可能になる。

研究成果の概要(英文)：It was characterized by selectively and intensively attacking tumor tissue by utilizing the synergistic effect of particle beam and photodynamic therapy (PDT) drugs with active oxygen species generated by particle beam irradiation. The purpose was to build a minimally invasive treatment system.

The specific purpose of this research project is to obtain radiochemical findings such as identification and generation efficiency of active oxygen species by particle beam irradiation and analysis of radioactive decomposition products in an aqueous solution system of PDT chemicals, as well as major degradable organisms. Revealed toxicity. Furthermore, we investigated the lethal effect of particle beam and PDT drug on active oxygen species generated by particle beam irradiation using cultured tumor cells, and clarified the effectiveness of the Particle Beam Dynamic Therapy method.

研究分野：医学物理学

キーワード：医学物理 粒子線治療 放射線治療

1. 研究開始当初の背景

現在、QOL(生活の質)の向上の観点から、低侵襲性の治療に非常に高い関心が寄せられている。放射線治療の分野においても、粒子線治療、ガンマナイフ、IMRT(強度変調放射線治療)など、可能な限り正常細胞へのダメージを軽減させる治療が行われている。特に粒子線治療は粒子線の物理的特徴であるブラッグカーブを利用し、腫瘍組織への集中性及び正常組織へのダメージの少なさという点で非常に優れた治療法であるが、治療費が約300万円であり、早期に保険適用になることを切望されている。

一方、PDTにおいては、生体侵襲性が低いため、薬剤、照射光源の開発などに関する数多くの研究・臨床試験が行われている。しかしながら、PDTに利用されている光源は可視領域であるため、生体到達深度は浅く、表在性の腫瘍や眼底疾患等に適応が限られている[1]。PDTの治療原理を図1に示す。

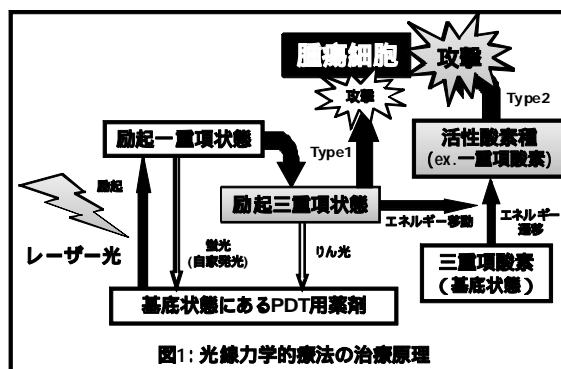


図1: 光線力学的療法の治療原理

2. 研究の目的

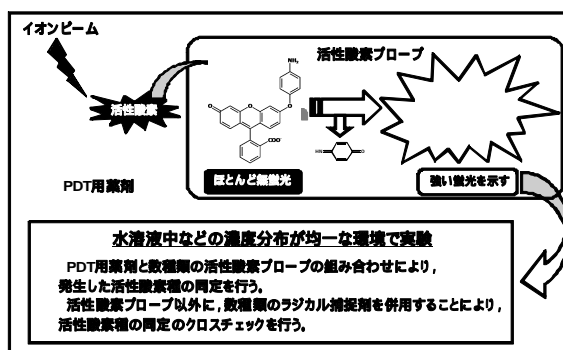
本研究は、低侵襲性治療法である粒子線治療に光線力学的療法(Photodynamic Therapy: PDT)の要素を組み合わせた複合治療システム「粒子線力学的療法(Particle Beam Dynamic Therapy: PBDT)」の開発を行うものである。粒子線及びPDT用薬剤の粒子線照射で発生する活性酸素種との相乗効果を利用することによって選択的かつ集中的に腫瘍組織を攻撃することを特徴とした低侵襲な治療システムを構築する。

本研究課題の具体的な目的は、PDT用薬剤の水溶液系において粒子線照射による活性酸素種の同定や発生効率、放射線分解物分析等の放射線化学的な知見を得るとともに、主な分解性生物についての毒性を明らかにすること。さらに、腫瘍培養細胞を用いて粒子線とPDT用薬剤の粒子線照射により発生する活性酸素種に対する致死効果を調べ、PBDT法の有効性を明らかにすることである。

3. 研究の方法

本研究計画において、粒子線治療に用いられている炭素線とPDT用薬剤等の相互作用により発生する活性酸素種の発生を活性酸素プローブ及び活性酸素捕捉剤を用いて定性的・定量的に評価し、活性酸素種が最も効率良く発生する条件を探索する。また、PDT用薬剤の粒子線照射による分解生成物を高速液体クロマトグラフを用いて定性・定量分析する。腫瘍培養細胞を用いて粒子線とPDT用薬剤の粒子線照射により発生する活性酸素種に対する致死効果をコロニーアッセイ法を用いて調べる。さらに、炭素イオン、水素イオン、X線及びガンマ線を用いて、活性酸素種の発生に対する線質効果を明らかにする。

まず、PDT用薬剤の粒子線励起による放射線化学的及び放射線力学的性質の基礎的なデータを取得し、本治療システムで腫瘍組織を死滅させる役割を果たす活性酸素種の発生を定量的に評価する。右図に実験原理および実験方法を示す。基礎的なデータの取得のため、サンプルは濃度分布が均一な水溶液中において粒子線を照射する。使用するPDT用薬剤は、実際にPDTに用いられているフォトリンやビスダインなどのポルフィリン系の光感受性薬剤及び臨床応用が予定されている光感受性薬剤を数種類使用する。イオンビームとPDT用薬剤との相互作用によって発生する活性酸素種を同定するため、活性酸素種を効率よく検出するための市販の蛍光試薬(活性酸素プローブ)を使用する。サンプルはPDT用薬剤に活性酸素プローブを添加したものを使用し、粒子線照射後、水溶液サンプル中の活性酸素プローブの発光スペクトル及び発光強度を測定することにより活性酸素種を同定する。



水溶液中などの濃度分布が均一な環境で実験

PDT用薬剤と数種類の活性酸素プローブの組み合わせにより、発生した活性酸素種の同定を行う。
活性酸素プローブ以外に、数種類のラジカル捕捉剤を併用することにより、活性酸素種の同定のクロスチェックを行う。

また、アジ化ナトリウムやマンニトールなどの活性酸素捕捉剤を活性酸素プローブと併用することにより、効果的に活性酸素種の同定を行う。

さらに、粒子線の線量およびPDT用薬剤濃度を変化させ、薬剤濃度および照射線量と活性酸素種の発生量の相関関係を明らかにし、腫瘍組織に有効である活性酸素種が最も効率良く発生

する条件を探索する。照射線量および薬剤濃度は実際の治療時よりも低線量・低濃度で実験を行い、活性酸素種の発生量を系統的に評価する。

PDT用薬剤の放射線分解生成物の分析実験は、治療線量相当の各種放射線をそれぞれ照射後、高速液体クロマトグラフィーを用いて行い、分解生成物の同定及び毒性試験を行う。

また、腫瘍細胞への粒子線照射実験は、PDTが有効とされている扁平上皮がんを用いて行う。肺の扁平上皮がん細胞を培養し、細胞数、PDT用薬剤濃度、照射線量、線質を変化させ、粒子線照射後にコロニーアッセイ法などの致死効果判定を行い、より致死効果の大きい条件の探索を行う。肺の扁平上皮がんの細胞実験の結果に基づき、他の腫瘍細胞による同様な実験を行い、本方法が適した腫瘍の探索を行う。粒子線治療及び光線力学的療法よりもさらに低侵襲的な治療システムが構築可能であるかどうか検討を行う。

最後に、粒子線照射線量とPDT用薬剤濃度に対する活性酸素種の発生量、また、腫瘍培養細胞の致死効果判定の結果に基づき、実際の治療にどれだけ有効であるかを検討し、動物実験及び臨床試験の指針とする。

4．研究成果

PDT 用薬剤には加齢黄斑変性症に使用されているビスダイン（ベルテポルフィン）を採用し、蛍光プローブは一重項酸素用として Singlet-Oxygen Sensor Green、活性酸素（主に OH ラジカル）用として Hydroxyphenyl Fluorescein 及び Aminophenyl Fluorescein、ラジカル捕捉剤として、アジ化ナトリウム、ジメチルスルホキシド、マンニトール、一重項酸素の長寿命化用として重水をそれぞれ採用した。PDT 用薬剤の濃度は薬剤の標準投与量 15 mg、循環血漿量基準値 48 mL/kg、仮想体重 60 kg とした時の最高血中濃度 5.2×10^{-3} mg/mL（ビスダイン: 7.2×10^{-6} M）を用いて照射実験を行った。水平に置いたサンプルを攪拌させながら上方から照射した。その後、照射サンプルの光励起による蛍光測定を行い、PDT 用薬剤の有無によって活性酸素種の発生が促進されていることが確認できた。

続いて、これらの知見をもとに、肺がん上皮細胞（A-549）とビスダインを用いて、X 線照射（5 Gy）を行ったところ、ビスダインを添加していないコントロール群に比べ、細胞の生存率が低下し、放射線照射と光増感剤との併用により、殺細胞効果が向上することが見出せた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------