

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年6月12日現在

機関番号：82110

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21611010

研究課題名（和文） 幹細胞起源の細胞系譜における位置の線量分布の評価

研究課題名（英文） Dose evaluation for stem cell lineages

研究代表者

木名瀬 栄 (KINASE SAKAE)

独立行政法人日本原子力研究開発機構・安全研究センター・研究主幹

研究者番号：70354701

研究成果の概要（和文）：本研究では、放射線影響研究を進展させるため、放射線感受性の高い幹細胞(基底細胞)を分けて識別できる3次元臓器詳細モデルを開発するとともに、電磁カスケードコードと飛跡構造計算コードを組み合わせたモンテカルロシミュレーションにより、幹細胞位置での吸収線量のみならず生成粒子種と生成粒子数を評価可能にした。また、マウスとヒトの腎臓に関する動物種差間の被ばく線量外挿法を検討した。

研究成果の概要（英文）：To develop stem cell dosimetry in the field of radiation effect, a three-dimensional organ voxel model that allowed for the dose calculation of stem cells (basal cells), was developed. In addition, a Monte Carlo simulation system that consists of two codes-an electromagnetic cascade code and a track-structure code, was developed to evaluate absorbed doses for stem cell lineages as well as radical yield by radiation. Furthermore, interspecies scaling factors of self-organ dose from the voxel mouse to the voxel human were studied.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
2011年度	100,000	30,000	130,000
年度			
年度			
総計	2,000,000	600,000	2,600,000

研究分野：時限

科研費の分科・細目：医学物理学・放射線技術学

キーワード：幹細胞、ドジメトリ、線量、ボクセル、階層化、モンテカルロ、マウス

## 1. 研究開始当初の背景

放射性核種で標識された放射性医薬品は、陽電子放射断層撮影法(PET)や体内投与による悪性腫瘍への内部照射療法などの核医学分野において盛んに用いられている。PETの国内利用はもちろんのこと、ドラッグデリバリーシステムを用いた内部照射療法はその有効性が確認されたことから、すでに欧米では臨床の場で利用され、国内でも研究が開始

されている。したがって、放射性医薬品による被ばくは、今後ますます増えることが予想される。こうした状況を踏まえると、放射性医薬品に対する被ばく線量評価手法を確立すること、特に、放射線感受性の高い細胞、幹細胞を考慮した線量評価手法(幹細胞ドジメトリ)の開発は極めて重要な課題である。

光子や電子に対する臓器線量評価手法は、主として米国核医学会内部被ばく線量委員

会(MIRD)や国際放射線防護委員会(ICRP)にて検討されてきた。胃腸管などの臓器については、近年 ICRP 等により、簡易幾何形状臓器モデルを用いて、放射線感受性の高い幹細胞位置の線量評価が行われている。しかし、現状の臓器線量評価手法は、回転楕円体のような簡易幾何形状の臓器評価モデルを用いていることに加え、光子と電子それぞれについて標的とする線量評価位置が異なっており、信頼性の高い幹細胞ドジメトリとは必ずしもいえない状況である。膀胱についても、内容物に均一に分布した放射性核種から放出された電子は、その放出エネルギーの二分の一が粘膜層に吸収されるという仮定に基づく簡易計算により線量評価を行っている。MIRD 委員会でも 1999 年に MIRD パンフレット 14 として、膀胱内容物が異なる場合の放射性医薬品に対する線量評価について示しているが、放射線感受性の高い細胞は考慮されていない。

報告者は、これまで幹細胞や基底細胞を考慮した胃や膀胱などの臓器簡易モデルを開発し、10keV から 4MeV のエネルギー範囲で光子および電子に対する幹細胞や基底細胞部分の線量評価をモンテカルロシミュレーションにより行ってきた。その結果、光子、電子ともに低エネルギー放射線放出核種の線量は、これまでの方法と比較して大きく変化することを明らかにした。放射線感受性の高い幹細胞や、その子孫細胞である未分化な細胞に突然変異が蓄積し悪性腫瘍が発生すると考えられていることから、放射線影響を直接反映した、より適切な線量評価には放射線感受性の高い細胞を考慮する必要があることを確認した。

## 2. 研究の目的

本研究では、創薬の研究や放射線影響解析を進展させるため、これまでの知見を応用し、細胞レベルまで考慮した生体などの 3 次元臓器詳細モデルを開発し、モンテカルロシミュレーションを用いた幹細胞ドジメトリを開発するとともに幹細胞や基底細胞を起源とした細胞系譜における位置での線量分布を評価する。

## 3. 研究の方法

### (1) 3 次元臓器詳細モデル

膀胱の放射線感受性の高い基底細胞(厚さ 5-10 マイクロメートル)は、その壁内側の移行上皮において、その伸縮性により内側表面から 70-140 マイクロメートルの深さに存在することが知られている。本研究では、光学顕微鏡画像データに基づき、マウスの 3 次元膀胱詳細モデルを開発した。

まず、マウスの膀胱細胞のパラフィンブロックを取得し、切片間隔 3 マイクロメートル

の連続組織薄片を 30 枚作成した。作成した膀胱の連続組織薄片については、基底細胞およびその周辺の形状を明確にするため、組織学で一般的に用いられるヘマトキシリン・エオシン(HE)染色を行い、光学顕微鏡により、1280×960 ピクセル(1 ピクセルあたり 0.617 マイクロメートル相当)の高分解能膀胱細胞連続切片画像データを取得した。次に、高分解能膀胱細胞連続切片画像データにおいて、膀胱の表面付近に位置する基底細胞に着目し、連続組織薄片のスケールを再評価し、画像中の筋層などを基準にして画像データ相間の位置合わせ最適化を行うとともに、連続切片間の画像不足を補うため、連続切片間の画像を用いて内・外挿などにより、画像を作成した。取得した高分解能細胞連続切片画像データにおいて、膀胱を構成する細胞の形状相違を明らかにする、画像処理(セグメンテーション等)を行い、画像毎に 2 次元配列テキスト形式データ(デジタル化)及び 3 次元可視化データ(細胞ラベルデジタル画像)を取得した。

本モデルでは、組織内の構造を直方体要素(ボクセル)の組み合わせで表現するボクセルモデル手法を利用した。同じ細胞識別番号を与えられたボクセルの集合として一つの細胞を表現し、異なる識別番号を与えることにより、すべての細胞を分けて扱うことを可能にした。

### (2) 臓器線量評価コード開発と線量評価

#### ①臓器線量評価コード開発

モンテカルロ法を用いた 3 次元臓器詳細モデル用線量評価コードを開発した。開発したコードは、電磁カスケードコード EGS4 と放射線による電離・励起イベントを追跡する放射線飛跡構造シミュレーションコード TRACEL を組み合わせた、階層化ボクセルデータ用モンテカルロ線量計算システム(コード)とした。これにより、ボクセルファントム(ボクセルの集合体として個体を表現している)および細胞モデル内での光子・電子の輸送計算を行い、指定した領域での反応毎の沈着エネルギー等を評価可能にした。本研究では、0.617×0.617×0.75 マイクロメートルのボクセルの組み合わせで表現した、放射線感受性の高い基底細胞を特定した 3 次元マウス膀胱詳細モデルを、米国南カリフォルニア大学開発のマウスボクセルファントム(Digimouse, 図 1)に組み込み、開発したシステム(コード)の動作確認を行った。

#### ②線量評価

開発したシステム(コード)の検証と幹細胞での沈着エネルギー評価をおこなうため、3 次元幹細胞モデルを含む Digimouse および階層化ボクセルデータ用モンテカルロ線量

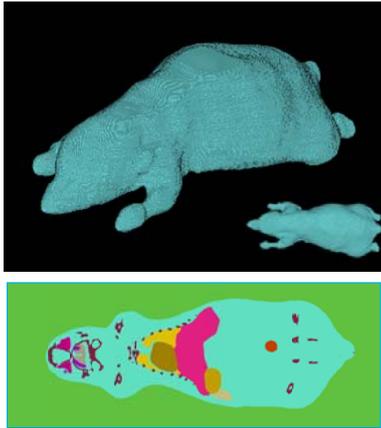


図1 Digimouse.

計算システム(コード)を用いて、単色光子の外部被ばく照射(前方照射)の場合の、幹細胞位置での生成粒子種と生成粒子数を評価した。3次元幹細胞モデルには、既に開発済みの3次元胃腺管詳細モデル(0.67×0.67×0.67マイクロメートルのボクセル)を用いた(図2)。Digimouseの胃部は胃壁と内容物が区別されていないため、胃壁の厚さを0.4ミリメートルとして画像処理(セグメンテーション)した。

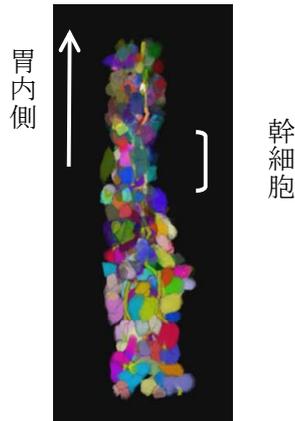


図2 3次元胃腺管詳細モデル.

(3) 臓器線量に関する動物種差間外挿法研究  
創薬研究に役立つ、臓器線量に関する動物種差間の外挿法研究に着手した。モンテカルロ計算を用いた信頼性の高い臓器線量評価法の応用研究として、マウスなどの実験動物とヒト間の吸収線量の相違について定量的に調べ、線量に関する動物種差間の外挿法について検討した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 3次元臓器詳細モデル

放射線感受性の高い基底細胞を特定した3次元膀胱詳細モデルを開発した。図3に基底細胞側からみた3次元膀胱詳細モデルを示す。

高分解能膀胱細胞連続切片画像データの切片間は、0.75マイクロメートルとし、3次元構成時の単位となるボクセルの、縦：横：高さ比を1：1：1程度、すなわち、ボクセルの大きさを0.617×0.617×0.75マイクロメートルとした。

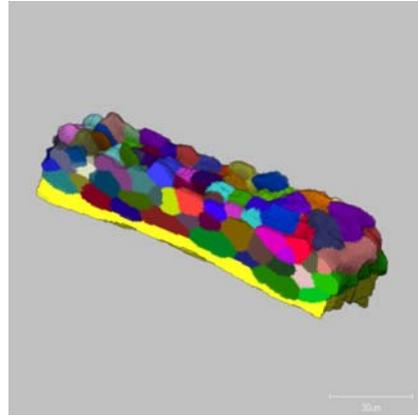


図3 3次元膀胱詳細モデル.

##### (2) 臓器線量評価コード開発と線量評価

###### ①臓器線量評価コード開発

3次元臓器詳細モデル用線量評価コードとして、EGS4とTRACELを組み合わせた階層化ボクセルデータ用モンテカルロ線量計算システム(コード)を開発した。図4に計算コードの流れ図を示す。

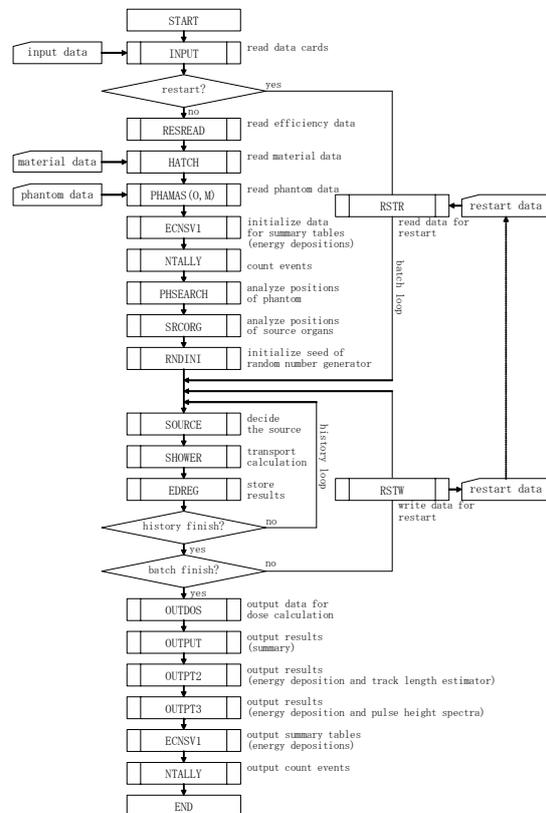


図4 計算の流れ図.

3次元膀胱詳細モデルを Digimouse に組み込み後、開発したシステム(コード)を用いて膀胱基底細胞(幹細胞)での沈着エネルギー評価を行った。その結果、システム(コード)は動作不良を起こし、結果が得られなかった。システム(コード)の動作不良の原因として、幹細胞を特定した3次元膀胱詳細モデルを Digimouse に組み込む際、細胞の配置に矛盾があることが推定された。

②線量評価

3次元胃腺管詳細モデルを含む Digimouse および階層化ボクセルデータ用モンテカルロ線量計算システム(コード)を用いて、単色光子の外部被ばく照射(前方照射)の場合の、幹細胞位置での生成粒子種と生成粒子数を評価した。表1に Digimouse の全身および胃壁の吸収線量を、表2に幹細胞位置での生成粒子数の計算結果を示す。それぞれの表に示すように、光子入射エネルギーが 50keV の時、Digimouse 全身の吸収線量は  $4.1 \times 10^2$  nGy/src(胃壁の吸収線量は 1.6 nGy/src)となり、O、H、OH、Haq、eaq ラジカルが幹細胞位置でそれぞれ 0、49、232、183、165 生成されることを明らかにした。また、光子入射エネルギーが 100keV の時、Digimouse 全身の吸収線量は  $8.2 \times 10^2$  nGy/src(胃壁の吸収線量は 1.5 nGy/src)となり、O、H、OH、Haq、eaq ラジカルがそれぞれ 9、302、1473、1171、1071 生成されることが判った。以上により、指定した領域での反応毎の沈着エネルギー評価等が行えることを確認し、3次元臓器詳細モデルおよびモンテカルロ計算を用いた臓器線量評価法を開発した。

表1 光子前方照射に対する Digimouse の吸収線量

粒子	エネルギー (keV)	吸収線量(nGy/src) (fsd)	
		全身	胃壁
光子	50	$4.1 \times 10^2$ (4.2%)	1.6 (19.1%)
	75	$6.0 \times 10^2$ (3.8%)	1.1 (20.8%)
	100	$8.2 \times 10^2$ (2.9%)	1.5 (19.5%)

表2 光子前方照射に対する Digimouse 胃壁での生成粒子数

生成粒子種	エネルギー (keV)		
	50	75	100
O	0	4	9
H	49	175	302
OH	232	852	1473
Haq	183	677	1171
eaq	165	618	1071
合計	629	2326	4026

(3) 臓器線量に関する動物種差間外挿法研究  
臓器線量に関する動物種差間の外挿法研究に着手した。マウスとヒトの腎臓について、単色光子に対する吸収割合についてモンテカルロシミュレーション等により検討した結果、臓器質量の-2/3 乗で吸収割合を補正した場合、50-500keV ではほぼ同じになることを確認した。単色電子に対する吸収割合については、10-200keV でほぼ同じになることを確認した。得られた知見は、被ばく評価等の研究や放射性医薬品の開発に貢献できると考える。

5. 主な発表論文等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木名瀬 栄 (KINASE SAKAE)

独立行政法人日本原子力研究開発機構・安全研究センター・研究主幹

研究者番号：70354701