

機関番号：82110

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2009～2010

課題番号：21810038

研究課題名（和文） 重粒子線トラック内における酸素および活性酸素の生成収量

研究課題名（英文） Production Yield of Oxygen and ROS inside Heavy Ion Tracks

研究代表者

山下 真一 (YAMASHITA SHINICHI)

独立行政法人日本原子力研究開発機構・先端基礎研究センター・博士研究員

研究者番号：20511489

研究成果の概要（和文）：

重粒子線トラック内での酸素および活性酸素の生成収量（収率）を測定・評価するために、液体試料に種々の放射線を照射した際に発生する気体をそのまま分析できるオンライン気体分析装置を製作し、これと並行して、電子スピン共鳴（ESR）法により新規に開発されたスピントラップ剤を利用することでスーパーオキシドを検出する方法も確立した。

前者の取り組みでは、酸素よりも収量が高くて検出が容易な水素の生成を検出することによって装置の性能を検証・向上させた。結果、十分な感度（20ナノモル程度以下）で水素を検出・定量することに成功した。ガンマ線照射時に発生する水素の収率も決定し、報告値と良い対応が得られた。水素の前駆体の一つである水和電子を除去する捕捉剤の濃度を変えた場合も同様であった。また、後者のESR法の利用では、新規スピントラップ剤G-CYPMPPOを用いることによってスーパーオキシドだけでなく、OHラジカルや水素原子を検出できることが確認できた。さらに、他の手法では困難な、「スーパーオキシドの信号をOHラジカルの信号から分離すること」にも成功した。今後は、本研究で開発した装置や手法を重粒子線照射時の酸素や活性酸素の収率測定に拡張利用していく。

研究成果の概要（英文）：

An online gas analysis system, with which gaseous products produced in radiolysis of liquid samples can be analyzed, has been developed in parallel with a trial to develop a method to detect superoxide radical anion with electron spin resonance (ESR) spectroscopy for the purpose of measuring oxygen and reactive oxygen species (ROS) produced inside heavy ion tracks.

Performance of the system was checked and improved by observing dihydrogen molecule ( $H_2$ ), production yield of which is much higher than oxygen. Sufficient sensitivity, ca. 20 nano mol or lower, was attained. Production yield of  $H_2$  produced in water radiolysis with gamma-rays was determined, and the yield was compared with reported values, resulting in good agreement. Similar results were obtained at different concentrations of scavenger for hydrated electron, which is one of precursors of  $H_2$  in water radiolysis. ESR measurement was utilized in detection of superoxide radical anion. With a novel spin-trapping agent, G-CYPMPPO, superoxide radical anion as well as OH radical and H atom was successfully detected. The systems developed in this work would be extensively utilized for heavy ion beams irradiation to measure yields of  $O_2$  and ROS in future.

交付決定額

（金額単位：円）

|        | 直接経費      | 間接経費    | 合計        |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2009年度 | 1,080,000 | 324,000 | 1,404,000 |
| 2010年度 | 980,000   | 294,000 | 1,274,000 |
| 総計     | 2,060,000 | 618,000 | 2,678,000 |

研究分野：工学

科研費の分科・細目：放射線・化学物質影響科学

キーワード：放射線、重粒子線、水、酸素、スーパーオキシド、高 LET 放射線、トラック構造、気体分析

### 1. 研究開始当初の背景

重粒子線は飛程末端のブラッグピークの領域においてほとんどのエネルギーを周囲の物質に付与する。このため、ガンマ線や電子線、エックス線といった一般的に広く用いられている放射線比べ、局所領域に線量を集中させることができ、生体の奥深くにできたがんに対して効率良く照射を行うことができる。このような物理学的特徴に加え、生物学的にも効率よくがん細胞を殺すことができる。例えば他の放射線には耐性のあるがんに対しても有効であり、がん患部の特徴とも言える低酸素状態でも照射による細胞殺傷効率が下がりにくい。このような物理学的・生物学的特徴を活かし、重粒子線によるがん治療が近年では実用化し、さらに普及しつつある。重粒子線が引き起こす細胞死の特異性、特に生物学的特徴は現象論的には確立された知見であるものの、このような特異性が生じる詳細なメカニズムについては必ずしもよく分っていない。

通常、放射線誘起細胞死は酸素の有無により大きく左右され、酸素による増感低酸素状態にあるがん患部への照射効果を見積もる上で避けたい効果である。ところが、重粒子線では低酸素状態の細胞に対しても細胞死を引き起こす効果がほとんど変わらない。この事実を説明する一つの仮説に「トラック内酸素仮説」なるものがある。これは、重粒子線では照射により酸素ができるため、細胞内にもともと酸素があろうがなかろうが照射に伴って一定の酸素濃度が得られる、という説明である。しかし、この仮説を直接検証した例はなかった。

### 2. 研究の目的

前述の通り、重粒子線の引き起こす細胞死はガンマ線などと比べて特異的になる。しかしながら、このような特異性は現象論的には確立されていてもその詳細なメカニズムは必ずしもよく分っていない。これらを説明する一つの有力な仮説に「重粒子線が水にあると酸素ができる」（トラック内酸素仮説）というものがある。しかし、実験的にトラック内での酸素の発生を証明した報告はない。そこで本研究では「重粒子線照射で本当に酸素ができるのか」を明らかにし、関連する活性酸素の定量技術開発も試みることで「重粒子線の生物学的特徴を酸素と活性酸素に着

目して明らかにしていくこと」を目的とする。活性酸素の生成にも着目するのは、水中では水の放射線分解により水和電子ができるため、酸素ができた際にこれと反応してスーパーオキシドとなるからである。

### 3. 研究の方法

研究開始当初は以下の三項目の実施を計画していた。

- (1) オンライン（照射場中での）気体分析
- (2) ESRによるスーパーオキシド定量手法の開発（ガンマ線照射での検証）
- (3) 測定結果を元にしたモンテカルロ計算コードの改良

(3)については、時間の制約が想定以上にシビアであったため、実施を断念し、(1)および(2)を実施した。また、「オンライン気体分析装置」および「ESR装置」を分析に使用し、特に前者は既製品ではないため組み上げから制御系などの整備を行う必要があった。そこでまずは比較的検出・定量が容易な水素の生成収量から測定を始め、装置の最適化を行った。

### 4. 研究成果

本研究で製作したオンライン気体分析装置（以下、本装置と呼ぶ）の模式図を図1に示す。

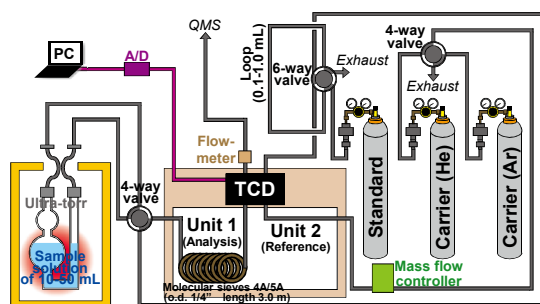


図1 オンラインガス分析装置の模式図

製作開始当初は流路構成にいくつか問題がありベースラインがふらついたり、ノイズが大きかったりし、なかなか感度および精度の高い測定ができなかった。これらの問題点は以下のような対処により改善することができた。

・ベースラインの安定化

本装置はガスクロマトグラフィ（以下、GCと呼ぶ）装置のサンプリング部分を照射用ガラスセルと直結し、オンラインで気体状の放射線分解生成物を測定するものである。通常のGCではキャリアガスがリファレンス側とサンプル側で共通のためベースラインが安定し易いのにに対し、本装置ではキャリアガスを共通にして分岐させてしまうと二つの流路内の配管抵抗の差が大きく、ベースラインのふらつく大きな要因となることが分かった。このため、マスフローコントローラにより流量変動を極力低減した。

さらに、キャリアガスを分岐させて使用するのではなく、一度リファレンス側で使用したキャリアガスを再利用してサンプル側のキャリアガスとするようにした。これにより多少の流量変動であれば同期させることができ、ベースラインのふらつきを大きく低減できることが分かった。

また、配管からのリークもベースラインのふらつきを生む要因となるため、リーク検出が容易なヘリウムガスをまずはキャリアとして流し、リークをチェックするという段取りも有効であった。

・ノイズの低減

本装置は液体試料の放射線分解で発生する気体状生成物をオンラインで分析するため、対象となる生成物の収量は少ない。このため、通常のGCでは問題とならない程度のノイズであっても極力取り除くことが必要である。ノイズの大きな要因は、測定部周辺の空気の揺れと信号ケーブルの接続であり、これらに留意して装置を設置することでノイズは大きく減少させることができた。

また、バルブ切り替え時のキャリアガスの流れの乱れが大きく、カラムとの相互作用がほとんどない気体（水素など）を測定する際にピークとバルブ切り替えのノイズが重なってしまった。そこで、流路切り替え用のバルブからカラムまでの間に約50メートルのステンレス管を挿入し、照射セル内で発生した気体がカラムに到達する時間を稼ぎ、ノイズをピークと分離することに成功した。

・液相中に残存する気体の追い出し

本装置の開発当初は、照射セル内の気相部分をオンラインでサンプリングして分析していた。しかし、従来の報告値に対して20-30%ほど低い収量しか得られず、気液平衡が想定よりも遅いことが分かった。そこで、

キャリアガスが液体試料をバブリングして分析部に戻ってくるような形に改善した。

これらの工夫により、測定に必要とされる感度・精度を達成することができた。

水の放射線分解で生成する水素は酸素よりも数桁収率が高く、検出・定量が容易なため、まずはこれを検出した。測定で得られたクロマトグラムを図2に示す。

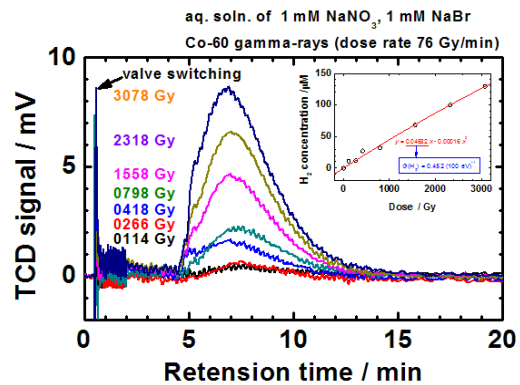


図2 水素のクロマトグラムの例

照射に伴い、水素の発生量が増えていることが分かる。水素の収率は報告値との比較（後述）からも分かるようによく一致しているため、装置の流路からのリークも十分防げていることが分かった。

さらに、水素の生成収率をG値（放射線からの吸収エネルギー100 eVあたりの生成粒子数）として決定した。この結果を報告値とともに図3に示す。

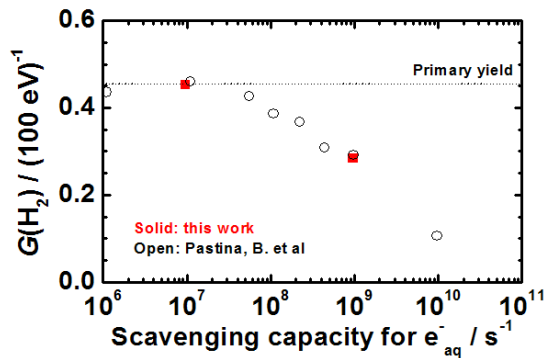


図3 ガンマ線照射時の水素収率

図の横軸は捕捉能と呼ばれるもので、捕捉剤の濃度と対象となるラジカルと捕捉剤の反応速度定数の積として定義される。この捕捉能の逆数は放射線照射からの時間スケールに対応するものであり、図の左から右に行くに従って遅い時間から早い時間にシフトしている。報告値ともよく対応する結果、すなわちほ

ほぼ同じ水素収率が得られていることが分かる。今後はこのような水素の収率測定を重粒子線照射に対して行うとともに、酸素の検出に本装置を改良していく。

E S R法によるスーパーオキシド検出手法については、広く用いられているスピントラップ剤のDMPOではOHラジカルとスーパーオキシドの信号を分離することが難しく、この点を改良した新規スピントラップ剤G-CYPMPPOを利用した。これにより、スーパーオキシドをトラップし、検出することに成功した。E S R信号の例を図4に示す。

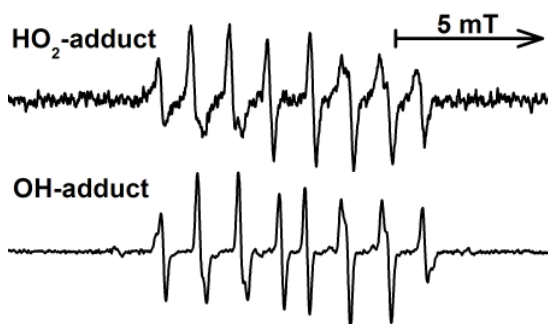


図4 ESR法で得られた信号例  
(G-CYPMPPOのラジカル付加体)

E S R法ではHO<sub>2</sub>アダクト、OHアダクトのいずれから8本線の信号が得られており、一見両者の区別は困難に思われる。しかし、中央の二本のピークに注目すると、その位置が異なり、重なりもほとんどなく、両者の区別が可能であると言える。

この他、水素原子、OHラジカルについてもこのスピントラップ剤を利用して検出可能なことが分かった。特に、酸性条件では全ての水分解ラジカルの検出が行えることが分かった。

これらの成果は、重粒子線照射時の水分解生成物（特に酸素および活性酸素）の定量に今後活かしていく。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計8件)

- ① 山下真一ら、Water Radiolysis with High-energy Heavy Ions: Conversion of Transient Water Radicals into Stable Product inside Heavy-ion Tracks, Symposium on Bridging the Gap between Track Structure and Stable End Products, 56th Annual Meeting of

the Radiation Research Society, Maui, HI, USA, September 25-29, 2010.

- ② 山下真一ら、Water Radiolysis with Heavy Ions of Energies up to 28 GeV, 3rd Asia-Pacific Symposium on Radiation Chemistry (APSRC-2010) / DAE-BRNS 10th Biennial Trombay Symposium on Radiation & Photochemistry (TSRP-2010), Lonavala, India, September 14-17, 2010.
- ③ 山下真一ら、Water Radiolysis with Steady-state Heavy-ion Beams from HIMAC, 15èmes Journées d'Etudes de la Chimie sous Rayonnement (JECR-2010), Bordeaux, France, May 26-28, 2010.

[図書] (計2件)

- ① 山下真一ら、Chapter 13: Radiation Chemistry of Liquid Water with Heavy Ions: Steady-State and Pulse Radiolysis Studies. in "Charged Particle and Photon Interactions with Matter - Recent Advances, Applications, and Interfaces -", ed. by Yoshihiko HATANO, Yosuke KATSUMURA, Asokendu MOZUMDER, pp. 325-354 (2010).
- ② 山下真一, 日本放射線化学会奨励賞受賞記事: 治療用重粒子イオンビームの放射線化学反応、放射線化学 90, 11-17, 2010.

[その他]

- ① 山下真一, 日本放射線化学会奨励賞受賞, 2011年9月22日.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

山下 真一 (YAMASHITA SHINICHI)  
独立行政法人日本原子力研究開発機構・先端基礎研究センター・博士研究員  
研究者番号: 20511489

### (2) 研究分担者

該当なし

### (3) 連携研究者

該当なし