

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23656583

研究課題名(和文) 3次元CT照準細胞照射システムの開発

研究課題名(英文) Development of Cell Irradiation System aimed by 3D-CT

研究代表者

松山 成男 (Shigeo, Matsuyama)

東北大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：70219525

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：マイクロビーム形成システムの分解能は1ミクロン以下を達成していたがものの、CTにおいてはビーム強度が十分でないため、ミクロンCTの分解能が5ミクロン程度にまで制限されていた。そこでビーム強度の増大するため、加速器電圧の安定度の向上を図った。その結果、電圧安定度は大幅に向上し、1マイクロメートルの分解能で250pA程度の大電流ビームを得ることが可能となった。試料の照準と照射するために、サンプルステージの改良を行い、ビーム軸に対して直角にサンプルを配置できるようにした。これにより、CT測定を行い、照射することが可能となった。

研究成果の概要(英文)：The spatial resolution the Tohoku microbeam formation system achieved 1 micron or less, but spatial resolution of the micron CT was confined to around 5 microns because beam intensity was not enough in the CT experiments. In order to improve beam intensity, energy resolution of the Dynamitron accelerator was improved. Beam currents of 250 pA was achieved with a spatial resolution of 1 micron meter. Sample stage was improved in order to irradiate cells aimed by 3D-CT measurement. This set-up enabled to irradiate cells after 3D-CT measurement.

研究分野：工学

科研費の分科・細目：総合工学・原子力学

キーワード：3D-CT 細胞照射 マイクロビーム

1. 研究開始当初の背景

イオンビームは、生体の分子に対して局所的なエネルギー付与を与えることにより細胞にダメージを与えるため、粒子線をマイクロンレベルまで集束させて、細胞の組織を照射すれば、細胞レベルでの治療が可能になると考えられ、技術の確立が必要不可欠である。これについては実際にマイクロン径まで集束させ細胞に照射するシングルヒット技術が開発されており、細胞の放射線応答についての研究が進められているが、これらはあくまでも細胞を2次元的に培養して、マイクロイオンビームで細胞単体を照射しているのみである。本研究のさらなる進展には、細胞だけでなく、組織細胞を3次元的に観察して照射することが必要不可欠である。

2. 研究の目的

本研究では、先行研究で開発した、生きたままの細胞をマイクロンの空間分解能にて、3次元的に観察出来る3D-マイクロンCTの空間分解能の向上し、細胞観察技術の向上とそのままの状態細胞を照射する技術の開発を目的とする。

3. 研究の方法

本研究では、細胞レベル/器官レベルでの3次元的にピンポイントで照射するシステムを開発することを目的とする。3次元的な照射のためには、形態画像の取得が必須であるが、これについては、先行研究で開発した、生きたままの細胞をマイクロンの空間分解能にて、3次元的に観察出来る3D-マイクロンCTを用いる。これまでに開発したシステムは、3次元的な細胞の形態を測定するためのシステムに特化してあるために、得た形態情報を照射に生かすことが不可能であった。またこれまでのマイクロビームシステムは、安定度の向上はなされていたものの、分解能が十分でなく、電圧安定度の高分解能化が必要であった。

そこで本研究では、加速器の加速電圧の安定化を図りビーム輝度の向上によるCTの高分解能化を図ると3DマイクロンCTのシステムの一部見直しを行い、得られた形態情報を元に照射位置を決定し、引き続いて、照射を行うシステムの構築を行った。そして凍結乾燥した細胞の3D-CT分析と照射を行った。

4. 研究成果

(1)加速電圧の高分解能化による輝度の向上
本研究で用いるダイナミトロン加速器の高電圧発生システムは、大きく分けて制御回路、直流高圧発生部、発振回路、シェンケル回路から構成されている。電圧はHVD電流を校正して測定している。これまではこのHVD電流によりリップルの測定を行っており、電圧変動はHVD電流の変動から算定しており 10^{-5} 台であると推定していたが、周波数特性が数Hzであることから実際の電圧変動を反映していない可能性がある。そこでリップルについては、HVターミナルのドーム側に、CPOを取り付け測定するようにした。CPOを用いて新たに電圧変動を測定した結果、ターミナル電圧が2MVで、120kHz成分については $2\text{kV}_{\text{p-p}}$ 、50Hz成分については $1.5\text{kV}_{\text{p-p}}$ 程度であり、これまでのHVD電流による測定結果は、過小評価であることが分かった。120kHz成分は発振成分の、50Hz成分は商用周波数の影響によるものである。120kHz成分のリップルの原因を調べた結果、上下のRF電極と高圧ターミナルの交流結合によるもので、容量のアンバランスにより生じていることが分かった。そこで、バランスの調整を行った。それにより、電圧が1.5MVの時に $140\text{V}_{\text{p-p}}$ で今まで低減できた。50Hzの低周波成分については、フィードバックに使用しているHVD信号に50Hzのノイズが混入していることが原因であった。そこで50Hz成分の低減のためノッチフィルターを挿入した結果、50Hz成分のリップルは大幅に低減され100-, 150- and 300-Hz成分と同程度となった。実際の電圧変

動を測定した結果、電圧の分布は半値幅で 70 V 程度であり、 $\Delta E/E=3.5 \times 10^{-5}$ を達成することが出来た。

加速器の電圧安定度が向上を図った後にビーム輝度の測定を行った。その結果、ビーム輝度は図 2 に示すように最大で $2.31 \text{ pA}/\mu\text{m}^2/\text{mrad}^2/\text{MeV}$ であった。これは電圧安定度の向上前に比べて約 1.3 倍となった。

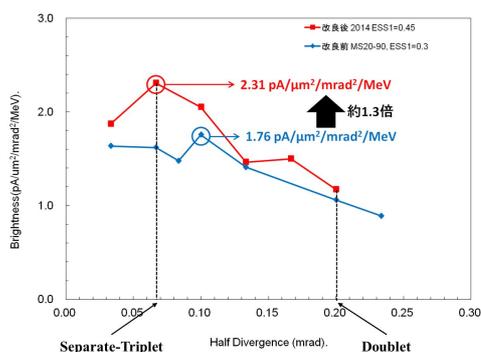


図 1 ビーム輝度

(2)3D-CT による細胞画像の取得

3D-CT を有害金属である酸化コバルトに暴露したヒト上皮細胞の分析に用いた。有害金属に暴露した細胞の 3 次元分析は、有害金属の吸収を明らかにすることにより、金属酸化粒子とヒト細胞の間の細胞内相互作用メカニズム解明のための重大な情報を得ることができると考えられる。試料はヒト肺上皮細胞を 24 時間、濃度 $10 \text{ } \mu\text{g}/\text{mL}$ の粒子径 400 nm の酸化コバルト溶液に露出後遠心分離し、内径 $80 \mu\text{m}$ 、肉厚 $10 \mu\text{m}$ のチューブに封入後、液体窒素で冷やしたイソペンタンに入れて -165 度で冷却し、 -90 度で凍結乾燥を行い製作した。

本試料を 3D-CT により測定した。図 2 に X 線発生ターゲットを Sc, Ni, Cu と変化させて取得した元素分布画像を示す。輝度の向上による大電流化により、X 線発生量の少ない Cu ターゲットを用いた場合においても鮮明な画像を得ることができた。ターゲットが Sc->Ni->Cu と変えるにつれて、チューブでの吸収が少なくなっている。これは X 線のエネ

ルギーが増大することにより透過率が高まっていくことに対応している。一方で細胞については Sc ターゲットの場合が一番大きく見え、次いで Cu ターゲット、Ni ターゲットとなっている。これは細胞内に Co が取り込まれているため、吸収端の効果で Ni ターゲットを用いた場合には透過力が高くなっているためであり、細胞内に Co が吸収されている事を示している。このように準単色の特性 X 線と 3D-CT を組み合わせることにより、細胞の重金属取り込みを知る上で重要な情報を得ることができると示すことができた。

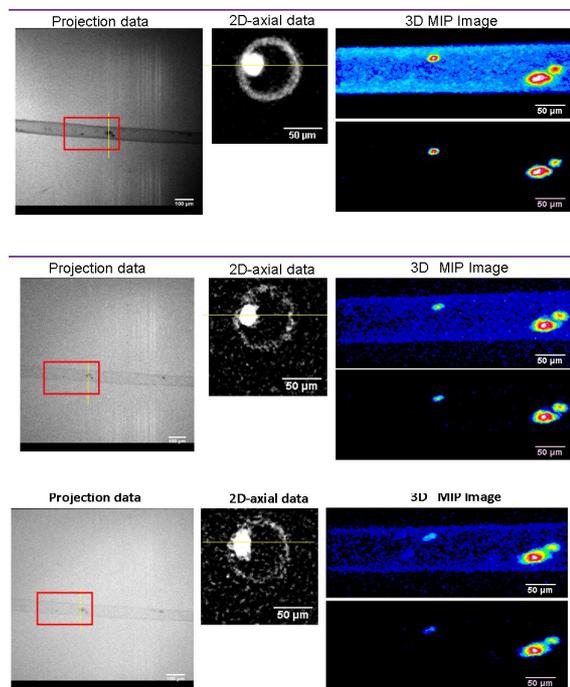


図 2 X線吸収画像(上:Sc ターゲット、中:Ni ターゲット、下:Cu ターゲット)

細胞を照射システムの検証のために、3D-CT 測定時と同じく、チューブに入った細胞をマイクロイオンビームで照射し、発生する特性 X 線を測定した。照射システムを図 3 に示す。チューブ入りの細胞を 36 度ずつ回転させ全部で 10 角度でのデータを取得した。取得したマップを図 4 に示す。回転に伴い、元素分布も移動し、試料が移動していることが確認できる。図 5 に 36 度で取得したデータと、細胞を拡大照射し

た場合のデータを示す。細胞が拡大され、構造が明瞭に確認できることが分かる。

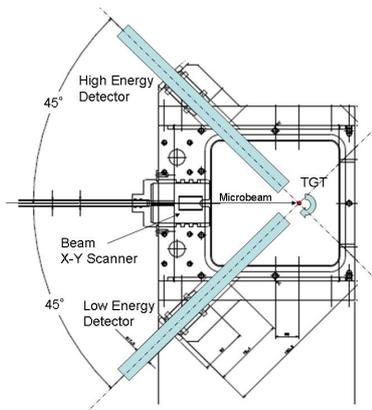


図3 照射チャンバー

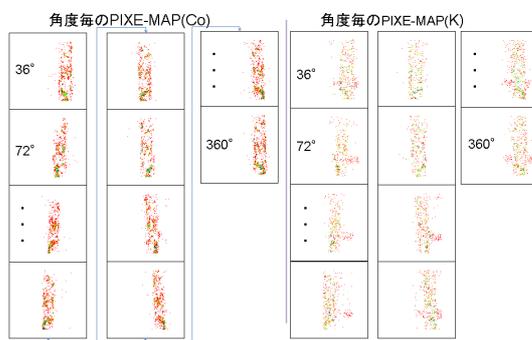


図4 角度毎のPIXEマップ(右:Co,左:K)

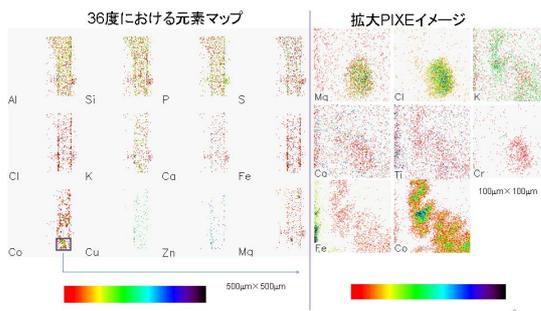


図5 36度におけるPIXEマップ(左:全体図、右:細胞拡大図)

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)

[雑誌論文](計24件)

¹ S. Matsuyama, K. Ishii, K. Watanabe, A. Terakawa, Y. Kikuchi, M. Fujiwara, H. Sugai, M. Karahashi, Y. Nozawa, S. Yamauchi, M. Fujisawa, M. Ishiya, T. Nagaya, R. Ortega, A. Carmona, S. Roudeau, Improvement and recent applications of the Tohoku microbeam system, Nuclear In-

struments and Methods in Physics Research B 318, 32-36, 2014, 査読有り

<http://www.sciencedirect.com/science/journal/01675087>

² A. Ishizaki, K. Ishii, S. Matsuyama, F. Fujishiro, H. Arai, N. Osada, H. Sugai, S. Koshio, S. Yamauchi, K. Kusano, Y. Nozawa, M. Karahashi, S. Oshikawa, K. Kikuchi, K. Watanabe, S. Itoh, K. Kasahara, S. Toyama, Y. Suzuki, Concentration of Cs in plants and water resulting from radioactive pollution, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 318 105-108, 2014, 査読有り

<http://www.sciencedirect.com/science/journal/01675087>

³ F. Fujishiro, K. Ishii, S. Matsuyama, H. Arai, A. Ishizaki, N. Osada, H. Sugai, K. Kusano, Y. Nozawa, S. Yamauchi, M. Karahashi, S. Oshikawa, K. Kikuchi, S. Koshio, K. Watanabe, Y. Suzuki, Micro-PIXE evaluation of radioactive cesium transfer in contaminated soil samples, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 318, 99-101, 2014, 査読有り

<http://www.sciencedirect.com/science/journal/01675087>

⁴ Hiroyuki Sugai, Keizo Ishii, Shigeo Matsuyama, Atsuki Terakawa, Yohei Kikuchi, Hiroaki Takahashi, Azusa Ishizaki, Fumito Fujishiro, Hirotsugu Arai, Naoyuki Osada, Masahiro Karahashi, Yuichiro Nozawa, Shosei Yamauchi, Kosuke Kikuchi, Shigeki Koshio, Koji Watanabe, PIXE analyses of cesium in rice grains, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 318, 191-193, 2014, 査読有り

<http://www.sciencedirect.com/science/journal/01675087>

⁵ N. Osada, K. Ishii, S. Matsuyama, H. Sugai, K. Kusano, Y. Nozawa, S. Yamauchi, M. Karahashi, S. Oshikawa, K. Kikuchi, S. Koshio, K. Watanabe, S. Itoh, Y. Suzuki, A. Terakawa, Y.

Kikuchi, F. Fujishiro, A. Ishizaki, H. Arai, Remediation of plants contaminated with cesium by aqueous cleaning, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 318, 102-104, 2014, 査読有り

<http://www.sciencedirect.com/science/journal/01675087>

⁶ K. Ishii, A. Terakawa, S. Matsuyama, Y. Kikuchi, F. Fujishiro, A. Ishizaki, N. Osada, H. Arai, H. Sugai, H. Takahashi, K. Nagakubo, T. Sakurada, H. Yamazaki, S. Kim, Reducing logistical barriers to radioactive soil remediation after the Fukushima No. 1 nuclear power plant accident Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 318, 70-75, 2014, 査読有り

<http://www.sciencedirect.com/science/journal/01675087>

⁷ S. Matsuyama, M. Fujisawa, T. Nagaya, K. Ishii, A. Terakawa, Y. Kikuchi, M. Fujiwara, K. Watanabe, M. Karahashi, Y. Nozawa, S. Yamauchi and M. Ishiya, Improvement of the energy stability of the Tohoku Dynamitron accelerator for microbeam and nanobeam applications, International Journal of PIXE, Vol. 23, Nos. 1 & 2, 69-75, 2013, 査読有り

<http://www.worldscientific.com/loi/ijpaxe>

⁸ H. SUGAI, K. FUJIKI, K. ISHII, S. MATSUYAMA, A. TERAOKAWA, Y. KIKUCHI, M. FUJIWARA, Y. HATORI, N. HAMADA, Y. ITOH, S. HIRAISHI, Y. MIURA and A. FUKAYA, H. YAMAZAKI and T. TADA, E. SAKURAI, IMPROVEMENT OF THE DETECTION EFFICIENCY OF THE IN-AIR SUB-MILLI-PIXE CAMERA FOR BIOLOGICAL APPLICATIONS, International Journal of PIXE, Vol. 22, Nos. 1 & 2, 191-193, 2012, 査読有り

<http://www.worldscientific.com/loi/ijpaxe>

⁹ K. IGARI, A. TAKAHASHI, N. GOTOH and K. SASAKI, K. ISHII, S. MATSUYAMA, H. SUGAI, K. FUJIKI, Y. HATORI, Y. ITOU,

S. HIRAISHI and Y. MIURA, H. YAMAZAKI, ANALYSIS OF TRACE ELEMENTS IN PRE- AND POST-NATAL TOOTH ENAMEL USING MICRO-PIXE, International Journal of PIXE, Vol. 22, Nos. 1 & 2, 101-106, 2012, 査読有り

<http://www.worldscientific.com/loi/ijpaxe>

¹⁰ S. MATSUYAMA, K. ISHII, M. FUJIWARA, Y. KIKUCHI, H. SUGAI, K. FUJIKI, Y. HATORI, N. HAMADA, Y. ITO, S. HIRAISHI, Y. MIURA, A. FUKAYA, S. TANNO, H. ABE, Y. WATANABE and H. YAMAZAKI, DEVELOPMENT OF μ -PIXE/RBS/SEM SYSTEM FOR CORROSION LAYER ANALYSIS OF STEEL, International Journal of PIXE, vol.21 Nos3&4, 87-93, 2011, 査読有り

<http://www.worldscientific.com/loi/ijpaxe>

¹¹ S. Matsuyama, G. Catella, K. Ishii, A. Terakawa, Y. Kikuchi, Y. Kawamura, S. Ohkura, M. Fujikawa, N. Hamada, K. Fujiki, Y. Hatori, Y. Ito, H. Yamazaki, Y. Hashimoto, M. Zitnik, P. Pelicon and N. Grlj, Microbeam analysis of individual particles in indoor working environment, X-Ray Spectrom., 40, 172-175, 2011, 査読有り

[http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1002/\(ISSN\)1097-4539](http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1002/(ISSN)1097-4539)

¹² S. Ohkura, K. Ishii, S. Matsuyama, A. Terakawa, Y. Kikuchi, Y. Kawamura, G. Catella, Y. Hashimoto, M. Fujikawa, N. Hamada, K. Fujiki, E. Hatori and H. Yamazaki, *In vivo* 3D imaging of *Drosophila melanogaster* using PIXE-micron-CT, X-Ray Spectrom, 40, 191-193, 2011, 査読有り

[http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1002/\(ISSN\)1097-4539](http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1002/(ISSN)1097-4539)

¹³ A. Terakawa, K. Ishii, H. Yamazaki, S. Matsuyama, Y. Kikuchi, Y. Ito, A. Tagawa, S. Yasunaga, T. Kawamura, Y. Takahashi, Y. Hatori, N. Hamada, K. Fujiki, N. Ito, S. Wada, Y. Funaki and K. Sera, PIXE analysis of amurine solid tumor treated with proton therapy combined

with cisplatin, *X-Ray Spectrom*, 40, 198–201, 2011, 査読有り

[http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1002/\(ISSN\)1097-4539](http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1002/(ISSN)1097-4539)

〔学会発表〕(計 14 件)

1 日本原子力学会「2014年春の年会」、2014年3月26日(水)~28日(金)、東京都市大学世田谷キャンパス、ナノビーム分析システムの開発、松山成男, 石井慶造, 寺川貴樹, 渡部浩司, 小塩成基, 菊池航介, 押川峻, 藤澤政則, 石屋大志, 永谷隆男

2 第 29 回 PIXE シンポジウム プログラム
2013年11月13日(水)~15日(金) 福井県若狭湾エネルギー研究センター、ナノビーム形成のための東北大学ダイナミトロン加速器の高圧発生回路の安定化、松山成男, 石井慶造, 寺川貴樹, 藤原充啓, 渡部浩司, 菊池浩介, 小塩成基, 押川峻, 遠山翔, 藤澤政則, 石屋大志, 永谷隆男

3 第 29 回 PIXE シンポジウム プログラム、
2013年11月13日(水)~15日(金) 福井県若狭湾エネルギー研究センター、ナノビーム分析の実現に向けたマイクロビームシステムの改良、渡部浩司, 松山成男, 石井慶造, 寺川貴樹, 藤原充啓, 小塩成基, 押川峻, 藤澤政則, 石屋大志, 永谷隆男

4 第 29 回 PIXE シンポジウム プログラム
2013年11月13日(水)~15日(金) 福井県若狭湾エネルギー研究センター、有害金属元素に曝露されたヒト肺上皮細胞の3D-PIXE- μ -CT分析、鈴木優生, 石井慶造, 松山成男, Richard Ortega, A.Carmona, R.Roudeau, 押川峻, 小塩成基, 菊池航介, 藤田明希穂, 渡部浩司

5 第 29 回 PIXE シンポジウム プログラム
2013年11月13日(水)~15日(金) 福井県若狭湾エネルギー研究センター、PIXE分析を用いた生体試料中の3次元元素分布画像取得法の開発、松山哲生, 石井慶造, 寺川貴樹, 松山成男, 押川峻, 菊池航介, 小塩成

基, 藤田明希穂, 鈴木優生, 渡邊浩司, 遠山翔, 伊藤駿, 平方遥子

6 第 29 回 PIXE シンポジウム プログラム
2013年11月13日(水)~15日(金) 福井県若狭湾エネルギー研究センター、稲穂内部のCsおよびRbのマイクロPIXE分析、小塩成基, 菅井裕之, 石井慶造, 松山成男, 寺川貴樹, 伊藤駿, 鈴木優生, 松山哲男, 渡部浩司
7 日本原子力学会「2013年秋の大会」、2013年9月3日-5日、八戸工業大学、PIXE分析用レーザーへの量子ドットの応用に関する研究、石井慶造, 寺川貴樹, 松山成男, 菊池洋平, 松山哲生

8 日本原子力学会「2013年秋の大会」、2013年9月3日-5日、八戸工業大学、造影剤を用いたショウジョウバエのX線動画撮影法の開発、小塩成基, 石井慶造, 松山成男, 寺川貴樹, 菊池洋平, 能澤雄一郎, 遠山翔

9 日本原子力学会「2013年秋の大会」、2013年9月3日-5日、八戸工業大学、酸化コバルトに曝露されたヒト肺上皮細胞の3D-PIXE- μ -CT分析、石井慶造, 松山成男, 鈴木優生

10 日本原子力学会「2013年秋の大会」、2013年9月3日-5日、八戸工業大学、東北大学ダイナミトロン加速器の電圧安定性向上、松山成男, 石井慶造, 寺川貴樹, 菊池洋平, 渡部浩司, 菊池航介, 小塩成基, 押川峻, 遠山翔, 唐橋昌宏, 能澤雄一郎, 山内祥聖, 藤澤政則, 石屋大志, 永谷隆男

6. 研究組織

(1)研究代表者

松山 成男 (Matsuyama, Shigeo)
東北大学・大学院工学研究科・准教授
研究者番号：70219525

(2)研究分担者

石井 慶造 (Ishii, Keizo)
東北大学・大学院工学研究科・リサーチプロフェッサー
研究者番号：00134065