

令和元年9月19日現在

機関番号：82626

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25287157

研究課題名(和文) 中性子線補足療法のための革新的ナノ粒子剤に関する研究

研究課題名(英文) Study on innovative nano particle drag for neutron capture therapy

研究代表者

榊田 創 (SAKAKITA, HAJIME)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・電子光技術研究部門・研究グループ長

研究者番号：90357088

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、難治性がんの治療を目指して中性子線捕捉療法で使用する安全な捕捉剤を生成することを目的とする。i) プラズマ技術等を駆使してボロンをフラーレン内に包含させて毒性を封じ込める方法として、窒化ボロンをレーザーアブレーションさせ溶発した粒子をフラーレンに内包化させる技術を新規に開発した。ii) フラーレンの糖鎖リポソームへの被覆効率の良い封入法を開発した。今後、ボロンのフラーレンへの内包効率を高める研究を進めると共に、中性子線を用いた当該捕捉剤の有効性を調べる事を検討している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

中性子線捕捉療法は、放射線に伴う正常細胞への障害を減らすことができる。しかし、現在の中性子線捕捉用ボロン製剤は、ボロン毒性、腫瘍部への蓄積性の制御の観点等において課題がある。そこで、プラズマ技術等を駆使してボロンをフラーレン内に包含させて毒性を封じ込め、更に当該粒子を糖鎖被覆リポソームに効率良く封入させることができれば、腹腔内に転移した胃がんなどの難治性がん治療に道を拓くことになり、その意義は大きいと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to develop boron-containing safe drags for boron neutron capture therapy for the treatment of intractable cancer. It is possible to reduce tissue damage by the radiation, when neutrons with permeability are used for the therapy. Current boron drags have problems such as chemical stability, the toxicity of the boron, and less accumulation efficiency of drag delivery to the tumor. Therefore, following techniques were developed. i) Plasma technologies to reduce boron toxicity by encapsulating the boron into the fullerene. ii) Coating technologies the fullerene by the liposome, to deliver the drag. Hereafter, following studies will be tried; increase of encapsulating rate the boron into the fullerene, and effectiveness of produced drags by the neutron treatment.

研究分野：プラズマ科学

キーワード：プラズマ応用 フラーレン 癌 放射線

1. 研究開始当初の背景

各種の画像診断の進歩は、がんの早期発見と外科手術による治療の可能性を広げ、抗がん剤開発や各種放射線治療の進歩は、がん患者の生存率の改善に寄与してきた。しかしながら日本では毎年胃がんと卵巣がんを合わせて約 5.5 万人が、膵臓がんでは約 3.6 万人が死亡している。患者の生存予後は、腸間膜や腹膜に存在する節外性リンパ組織を足がかりに進展するがんの腹腔内病変で決まる。しかし、消化管が複雑に入り組んだ環境においては、ガンマナイフや重粒子線を使用すると、正常組織をより強く障害してしまう。一方、透過性の良い中性子線とがん組織に集積した反応断面積の大きいボロンとの反応の結果生成される高エネルギーHe 粒子(平均自由行程 10 μm 以下)を利用した中性子線捕捉療法は、腹腔内にも適用可能であるため、予後を劇的に改善できる。しかし、1) 腹腔内に散在するがんへ捕捉剤を集積する効率と、2) 捕捉剤のボロン毒性を解決する必要があるため、上記腫瘍に使用された事はない。

腹腔内に広がる病変を有する卵巣がんや胃がんでは、抗がん剤を直接、腹腔内への投与した方が、血管へ投与するよりも効果的であることが知られている。しかし、腹腔内投与に関連する重篤な副作用が頻繁に発生するため、腹腔内に散在するがん、抗がん剤を効果的に送達するための様々なドラッグデリバリーシステム(DDS)が開発されて、その可能性が検討されてきた。池原らは、マンノトリアースで被覆したリポソーム(オリゴマンノース被覆; OML)の使用で、腹腔内でがんが転移増殖する場所である乳班に薬剤を特異的に集積できることを見だし、60%以上の集積効率が達成される DDS 技術として確立している。これらの事はつまり、1) 腹腔内に散在するがんへ捕捉剤を集積する効率の改善には技術シーズが見いだされていることから、2) 捕捉剤の毒性軽減を目的とした研究が必要な状況にある事を示唆している。

2. 研究の目的

中性子線捕捉療法に用いられている薬剤には、中性子と反応断面積が大きいボロンやガドリニウムが有効であると考えられ、各種のボロン製剤等が開発されている。ボロン等を用いて合成されている現在の化合物は、毒性が高く使用制限があるため、低毒性のボロン化合物等の探索が進められている。しかしボロン原子等の特質に由来する毒性を、化学的に封じ込める事は難しい状況にある。

そこで、腫瘍部に集積可能な無毒なボロン製剤の開発を行うことを研究目的としている。

3. 研究の方法

腫瘍部に集積可能な無毒なボロン製剤の開発を行うために、1) プラズマ技術を駆使してボロンを無毒化する物質の生成実験を行

う。ここでは、生体親和性のある炭素からなるフラーレンにボロン粒子を内包化させることで無毒化を図る。この時、効率よく内包化を行うためには、低エネルギーイオンビームの集束性が重要となるため、高集束イオンビームの開発研究を並行して進める。低エネルギーの領域としては 50 - 200 eV 程度の領域で有り、窒素の内包化には、窒素分子を 100 eV 程度に加速してフラーレンに作用させるのが最も内包化効率を上げることが分担研究者らにより見出されている。また、2) 腫瘍部に高効率に集積させる薬剤に 1) の物質を封入する実験を行う。ここでは、腫瘍部に集積効果のある糖鎖リポソームによって、フラーレンを封入する実験を行う。

4. 研究成果

(1) 低エネルギーイオンビームの高集束化に関する研究として、次の実験を行った。

数百 eV 以下の低エネルギーイオンビームは、引き出し電極によってイオン源から引き出された直後にイオン自身の電荷によりビームが発散してしまう課題がある。そのため、イオン自身の電荷の影響により発散する低エネルギーイオンビームは、集束性を得るために、電荷中和装置を備える必要がある。しかし、電子ビームなどの電荷中和装置から生成される高エネルギー電子がターゲットに衝突すると、帯電や損耗を引き起こす。そのため、電荷中和装置を使用せずに集束性の良い低エネルギー高電流密度イオンビームを生成することが求められている。そこで、我々が新たに見出したイオンビームの自己集束現象を活用して解決を図る。図 1 にイオンビームシステムの概要図を示す。

自己集束状態への遷移前後のプラズマ密度、及びイオン電流密度を図 2 に示す特殊静電プローブとファラデーカップによって計測し、自己集束の物理現象の把握に必要な知見を得るために、イオンビームが伝播しているチャンバー内を計測可能な新たに開発した特殊静電プローブを使用し、自己集束現象後の電子密度の分布計測を行う。

自己集束が生じた後の電子密度分布計測、及びファラデーカップによるイオン電流密

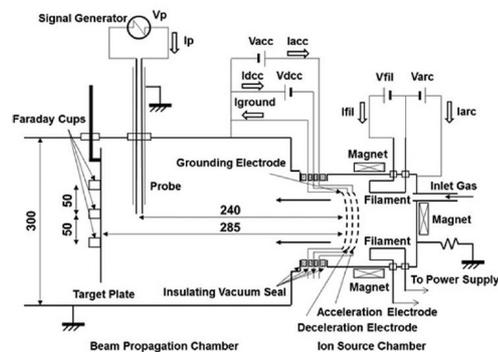


図 1. 低エネルギー高電流密度イオンビームの概要図。

度分布計測の結果を図2に示す。その結果、低エネルギーイオンビームの自己集束現象後には、イオンビームが伝播する空間内に多量の電子が生成されていることを示した。更に、図3に示すように、イオン電流密度と電子密度が類似した分布を示していることから、引き出されたイオンの電荷を中和するように電子が分布していることを見出した。つまり、自己集束現象へ遷移した後は、イオンビーム伝播チャンバー内において電子が多量に供給されるプロセスが存在することを明らかにした。

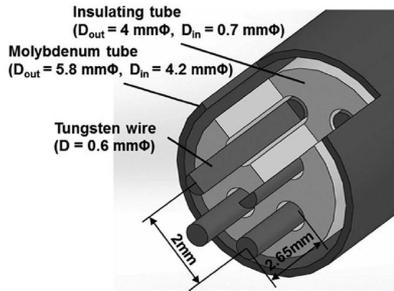


図2. 特殊静電プローブの概要図。

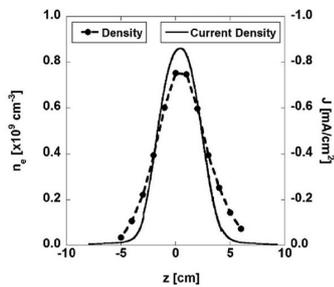


図3. 自己集束現象後の電子密度及びイオン電流密度の分布。

前述のように、イオンビームが自己集束現象へ遷移する際にイオンビーム伝播領域において電子密度が急激に増加していることが示されたが、ビームが引き出される前段のイオン源内において、自己集束への遷移前後で変化がないかを調べた。特に、複雑な構造であるイオン源内部を三次元で計測するために、特殊なL字型静電プローブの開発を行い、イオン源内部のプラズマパラメーター（電子密度、電子温度）の変化を計測した。その結果、図4に示すように、自己集束現象が起こる前後でもイオン源内部の電子温度・電子密度に変化がないことを明らかにした。従って、自己集束現象は、イオンビーム伝播チャンバー内において生じていることが確かめられた。

次に、イオン源内におけるボロンプラズマの生成に関して、定常的に高電流密度のイオンビームを引き出すためには、イオン化される物質のイオン源内への供給量を適切に制御し、プラズマ生成を定常的に維持する必要がある。そこで、固体物質に集光したレーザー光を照射し、固体表面をアブレーションさせ、ガス化及びプラズマ化させることにより

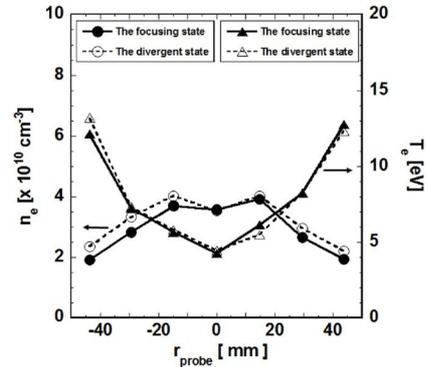


図4. 自己集束現象が起こる前後のイオン源内部の電子温度および電子密度の半径方向分布。

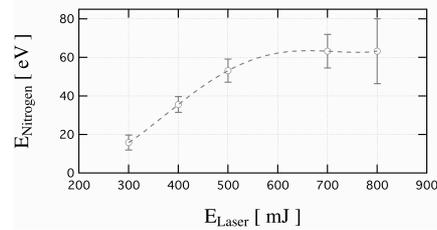


図5. 分光して得られたスペクトルのドップラーシフトから計算したレーザーエネルギーに対するアブレーションした後の窒素イオンの kinetic energy。

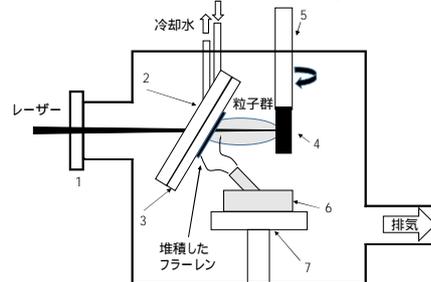


図6. レーザーアブレーションによるフラウレンへの粒子内包化システム。ここで、1 入射窓、2 冷却部、3 プレート、4 内包物質、5 回転支柱、6 フラウレン昇華用増埧、及び7 ヒーターである。

イオン源用の高密度固体元素由来のプラズマを生成する手法を採用した。この研究過程において、内包化に適していると考えられる100 eV程度の高密度粒子がレーザーアブレーションによって生成されることを確認した(図5)。そこで、図6に示すようなレーザーアブレーションによるボロン内包実験システムを着想し、実験を行った。図6のシステムの概要としては、次の様である。レーザーを含ボロン固体へ照射する。アブレーションした粒子群はプレートに向かい、別途昇華されたフラウレンと相互作用し、プレート上に堆積する。

本研究においては、当該システムの原理実証を行うために、含ボロン固体としてボロンナイトライドを用い、窒素内包フラウレン(N@C₆₀)の生成を試みた。プレート上に堆積した物質を精製し電子スピン共鳴法により

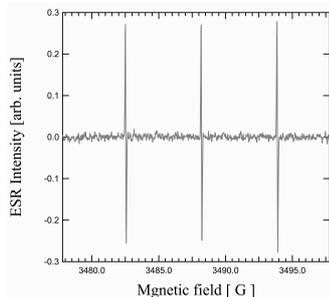


図7.トルエン溶液試料の ESR スペクトル。横軸は磁場強度、縦軸は共鳴マイクロ波の吸収スペクトルの一次微分値。

分析した結果、図7に示す通り、 ^{14}N 原子の電子スピン遷移に起因する核スピンの磁気量子数 M_I (+1, 0, -1) が確認された。先行研究との対比により、窒素内包フラーレンであることが証明された。解析の結果、今回の生成率は $4.52 \times 10^{-3} \%$ であった。従って、本研究で提案・構築した原子内包フラーレン生成プロセスは、内包用固体物質としてボロンナイトライドを使用した場合に、 $\text{N}@C_{60}$ の生成が可能であることを実証したことになる。一方、ボロン内包フラーレンの確認については、X線と数値計算を用いた検証が必要であることを見出したため、今後大型放射光施設を用いて調べる予定である。

(2) のフラーレンをリポソームへ封入する実験として、フラーレンを薬剤法、及び物理的分散法により水溶液中へ分散させ、更に、Distearoyl-phosphatidylethanolamine (DSPE) とコレステロールで作成するリポソームへのフラーレン封入実験を行った。更に、三次元培養系による *in vitro* モデルと、遺伝子組み換えにより、膵管がんを発症するマウスモデルを用い、リポソームに封入したフラーレンのがんへの集積評価を行い、効果を確認した。

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 16 件)

H. Itagaki, Y. Fujiwara, Y. Minowa, Y. Ikehara, T. Kaneko, T. Okazaki, Y. Iizumi, J. Kim, and H. Sakakita, "Synthesis of endohedral-fullerenes using laser ablation plasma from solid material and vaporized fullerenes", *American Institute of Physics Advances* 9, 075324-1-075324-9 (2019). 査読有
 Y. Fujiwara, H. Sakakita, A. Nakamiya, Y. Hirano, and S. Kiyama, "Effects of a dielectric material in an ion source on the ion beam current density and ion beam energy", *Rev. Sci. Instrum.* 87, 02B930, 1-3 (2015). 査読有
 K. Tominami, H. Kanetaka, T. Kudo, S. Sasaki, and T. Kaneko, "Apoptotic Effects on Cultured Cells of

Atmospheric-Pressure Plasma Produced Using Various Gases", *Japanese Journal of Applied Physics* 55, No. 1S, 01AF03-1-6 (2015). 査読有
 Y. Hirano, S. Kiyama, Y. Fujiwara, H. Koguchi, H. Sakakita, "High current density ion beam obtained by a transition to a highly focused state in extremely low-energy region", *Rev. Sci. Instrum.* 86, 113303, 1-9 (2015). 査読有
 Y. Iizumi, T. Okazaki, M. Zhang, R. Yuge, T. Ichihashi, M. Nakamura, Y. Ikehara, S. Iijima, M. Yudasaka, "Preparation and functionalization of boron nitride containing carbon nanohorns for boron neutron capture therapy", *Carbon* 93, 595-603 (2015). 査読有
 S. C. Cho, T. Kaneko, H. Ishida, and R. Hatakeyama, "Nitrogen-Atom Endohedral Fullerene Synthesis with High Efficiency by Controlling Plasma-Ion Irradiation Energy and C60 Internal Energy", *Journal of Applied Physics*, 117, 123301-1-5 (2015). 査読有
 S. Takahashi and T. Kaneko, "Effects of the Electron Irradiation Energy on Synthesis of Gold Nanoparticles Using Gas-Liquid Interfacial Plasma", *Journal of Physics: Conference Series* 518, 012022-1-5 (2014). 査読有
 Y. Fujiwara, Y. Hirano, S. Kiyama, A. Nakamiya, H. Koguchi and H. Sakakita, "Electron density profile measurements at a self-focusing ion beam with high current density and low energy extracted through concave electrodes", *Rev. Sci. Instrum.* 85, 02A726 1-3 (2014). 査読有
T. Kaneko, S. Takahashi, and T. Kato: Structure Controlled Nanoparticle Conjugates Synthesized by Gas-Liquid Interfacial Plasmas, *Materials Science Forum*, Vol. 783-786, 1996-2001 (2014). 査読有
 Y. Hirano, S. Kiyama, H. Koguchi, H. Sakakita, "Self-focusing of a high current density ion beam extracted with concave electrodes in a low energy region around 150 eV", *Rev. Sci. Instrum.* 85, 02A728 (2014) 1-3. 査読有
 K. Tomita, K. Nagai, T. Shimizu, N. Bolouki, Y. Yamagata, K. Uchino, and T. Kaneko, "Thomson scattering diagnostics of atmospheric plasmas in contact with ionic liquids", *Applied Physics Express* 7, 066101-1-4 (2014). 査読有
 Yamaguchi T, Ikehara S, Nakanishi H, Ikehara Y, "A genetically engineered

mouse model developing rapid progressive pancreatic ductal adenocarcinoma”, The Journal of Pathology, 234(2), 228-238 (2014). 査読有

Y. Hirano, S. Kiyama, H. Sakakita, H. Koguchi, T. Shimada, Y. Sato, “Suppression of Radial Divergence of Extremely Low Energy Ion Beam by an Electron Beam Injection to a Grounded Electrode”, Jpn. J. Appl. Phys. 52, 066001-1-066001-6 (2013). 査読有

Nishikawa Y, Ogiso A, Kameyama K, Nishimura M, Xuan X, Ikehara Y,” 2-3 sialic acid glycoconjugate loss and its effect on infection with Toxoplasma parasites”, Exp. Parasitol. 135 (2013) 479-485. 査読有

Murakami H, Nakanishi H, Tanaka H, Ito S, Misawa K, Ito Y, Ikehara Y, Kondo E, Kodera Y, “Establishment and characterization of novel gastric signet-ring cell and non signet-ring cell poorly differentiated adenocarcinoma cell lines with low and high malignant potential”, Gastric Cancer 16 (2013) 74-83. 査読有

Y. Iizumi, T. Okazaki, Y. Ikehara, M. Ogura, S. Fukata and M. Yudasaka, “Immunoassay with Single-Walled Carbon Nanotubes as Near-Infrared Fluorescent Labels”, ACS Appl. Mater. Interfaces 5, 7665-7670 (2013). 査読有

[学会発表](計 23 件)

藤原大、平野洋一、木山學、中宮明久、小口治久、榊田創、「集束性を有した低エネルギー・高電流密度イオンビームに関する研究」, 負イオン研究会 2015/11、土岐 T. Kaneko, S. Sasaki, Y. Hokari, and M. Kanzaki: Plasma Stimuli for Enhancement of Cell Membrane Permeability, The 12th International Conference on Flow Dynamics (ICFD2015), 2015.10.29. Sendai International Center (Sendai, Japan), (Keynote Lecture)

池原謙、病理総論に基づくグライコプロテオミクス研究、第 35 回日本分子腫瘍マーカー研究会、2015/10/7 名古屋(招待講演) 山口 高志、池原早苗、中西速夫、池原謙、遺伝子改変マウスおよび培養化技術を用いた膵臓がんマーカー探索手法の確立、第 35 回日本分子腫瘍マーカー研究会。2015/10/7 名古屋(招待講演)

金子俊郎、生体に対するプラズマの安全学、第 10 回日本安全学教育研究会、2015.8.23. 東北大学(宮城県, 仙台市), (招待講演)

藤原大、榊田創、中宮明久、平野洋一、木山學、” Effects of a dielectric material in an ion source on the ion beam current

density and ion beam energy”, the 16th International Conference on Ion Sources, 2015/8, New York (USA)

藤原大、平野洋一、木山學、中宮明久、小口治久、榊田創、” Scanning effects of applied voltage to a deceleration electrode on the ion current density profile of low-energy and high-current-density ion beam extracted through concave electrodes”, the 16th International Conference on Ion Sources, 2015/8, New York (USA)

池原謙、膵臓がんを発症する遺伝子改変マウスモデルの作成とこれを利用したバイオマーカーへの展開、第 34 回日本糖質学会年会、2015 年 07 月 31 日、東京大学安田講堂(招待講演)

藤原大、平野洋一、木山學、中宮明久、小口治久、榊田創、「凹型電極によって引き出された低エネルギー高電流密度イオンビームの自己集束時における静電ダブルプローブによるイオンビーム電流計測」、Plasma Conference 2014、2014/11、新潟中宮明久、藤原大、榊田創、平野洋一、木山學、小口治久、「低エネルギーイオンビーム源の電子温度及び密度分布計測」、Plasma Conference 2014、2014/11、新潟

Y. Fujiwara, H. Sakakita, Y. Hirano, S. Kiyama, A. Nakamiya, H. Koguchi, ”Electron Temperature Profile Measurements on a Spontaneous-Focusing State in High-Current-Density and Low-Energy Ion Beam Using the Concave shape of Electrodes”, the 4th International Symposium on Negative Ions, Beams and Sources, 2014/10, Garching (Germany)

平野洋一、木山學、榊田創、小口治久、藤原大、中宮明久、「自発的集束状態にある低エネルギー・高電流密度イオンビームにおける電流密度のエネルギー分布」、Plasma Conference 2014、2014/11、新潟

池原謙、成松久、グライコプロテオーム解析によるがんマーカーの開発、第 74 回日本癌学会総会、2014/9/25 横浜 藤原大、平野洋一、木山學、中宮明久、小口治久、榊田創、「凹型引き出し電極を用いた低エネルギー高電流密度イオンビームの自発的集束への静電プローブ計測の影響」、応用物理学学会秋季学術講演会、2014/9、札幌

Y. Fujiwara, A. Nakamiya, H. Sakakita, Y. Hirano, S. Kiyama, H. Koguchi, J. Kim, ”Profile measurements Using Electrostatic Probe at a Spontaneous-Focusing State in High-Current-Density and Low-Energy Ion Beam”, the 15th

International Union of Materials Research Societies International Conference in Asia, 2014/8, Fukuoka.

H. Sakakita, "Industrial Applications using Innovative Plasma Technologies (Developments of the low energy ion beam, and studies on medical applications)", the 7th International Conference on Advanced Materials Development and Performance (AMDP2014), 2014/7/17-20 Pusan, Korea, (Plenary Talk)

Y. Fujiwara, H. Sakakita, Y. Hirano, S. Kiyama, A. Nakamiya, H. Koguchi, "Profile Measurements of Electron Temperature and Space Potential at a Self-Focusing State in High-Current-Density and Low-Energy Ion Beam", the 8th International Conference on Reactive Plasmas and 31st Symposium on Plasma Processing, 2014/2, Fukuoka. A. Nakamiya, Y. Fujiwara, H. Sakakita, Y. Hirano, S. Kiyama, H. Koguchi, "Measurements of the Electron Density and Temperature in an Ion Source of the Low Energy Ion Beam System", the 8th International Conference on Reactive Plasmas and 31st Symposium on Plasma Processing, 2014/2, Fukuoka.

藤原大、平野洋一、中宮明久、小口治久、木山學、榊田創, 「凹型電極を用いた低エネルギー高電流密度イオンビーム開発」, 負イオン研究会, 20013/12、土岐平野洋一、木山學、榊田創、小口治久、藤原大、中宮明久, 「凹面電極で引き出された低エネルギー高電流密度イオンビームの自発的集束」, プラズマ・核融合学会第30回年会, 2013/12、東京

⑳ 中宮明久、藤原大、平野洋一、小口治久、木山學、榊田創, 「低エネルギーイオンビーム源の電子密度および温度計測」, プラズマ・核融合学会第30回年会, 2013/12、東京

㉑ 平野洋一、木山學、榊田創、小口治久、藤原大、中宮明久, 「低エネルギー高電流密度イオンビームの自発的集束現象のメカニズム」, 負イオン研究会, 2013/12、土岐

㉒ Y. Fujiwara, Y. Hirano, S. Kiyama, A. Nakamiya, H. Koguchi, H. Sakakita, "Electron density profile measurements at a self-focusing ion beam with high current density and low energy extracted through concave electrode", the 15th International Conference on Ion Sources, 2013/9, Chiba (JAPAN)

〔図書〕(計 2件)

池原讓, "糖鎖情報から読み解く生命活動と病理", 病理と臨床 32 (6) (2014) 677-6. (解説)

藤原大, "原子内包フラーレンの高効率生成を目指した固体物質レーザーアブレーションプラズマを用いたイオン源に関する研究", 筑波大学博士論文, 12102 号 第 8098 号, 2017/3/24.

〔産業財産権〕

出願状況(計 2件)

名称: イオンビーム電流密度増加装置

発明者: 榊田創、藤原大、中宮明久、平野洋一、木山學

権利者: 産業技術総合研究所

種類: 特許

番号: 特願 2015-163237

出願年月日: 2015.8.20

国内外の別: 国内

名称: 内包フラーレン生成装置及び生成方法

発明者: 藤原大、板垣宏知、榊田創、箕輪祐貴、池原讓、岡崎俊也、飯泉陽子、金子俊郎

権利者: 産業技術総合研究所、東北大学

種類: 特許

番号: 特願 2016-161077

出願年月日: 2016.8.19

国内外の別: 国内

取得状況(計 0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

榊田 創 (SAKAKITA, Hajime)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・電子光技術研究部門・研究グループ長

研究者番号: 90357088

(2) 研究分担者

池原 讓 (IKEHARA, Yuzuru)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・創薬基盤研究部門・上級主任研究員

研究者番号: 10311440

金子 敏郎 (KANEKO, Toshiro)

東北大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号: 30312599

小口 治久 (KOGUCHI, Haruhisa)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・電子光技術研究部門・主任研究員

研究者番号: 20356976

キム ジェホー (KIM, Jaeho)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・電子光技術研究部門・主任研究員

研究者番号: 30376595

(3) 連携研究者

(4) 研究協力者

板垣 宏知 (ITAGAKI, Hiroto)

藤原 大 (FUJIWARA, Yutaka)

箕輪 裕貴 (MINOWA, Yuki)