

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：82302

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461866

研究課題名(和文) 線を利用したがん低侵襲治療法の基礎研究

研究課題名(英文) Basic Study to evaluate DNA Damage and Cell Survival with Alpha-Particles from Astatine-211

研究代表者

渡邊 直行 (WATANABE, Naoyuki)

群馬県衛生環境研究所・研究企画係・研究員

研究者番号：90311381

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：RI内用療法に適すると考えられる 線放出核種のAt-211をBi-209 ( , 2n) At-211反応を介してサイクロトロンより製造・分離し、得られたAt-211から放出される 線によるヒトがん細胞SKOV3のDNA損傷や細胞生存率をそれぞれコメットアッセイ法とコロニー形成法で評価した。培養がん細胞のDNA二重鎖損傷はAt-211の放射能濃度依存的に増加した。がん細胞生存率は放射能濃度依存的に減少した。サイクロトロンより産生・分離されたAt-211は低放射能濃度でその細胞外照射により培養がん細胞に対して強力で、また、放射能濃度依存的な放射線障害効果が認められた。

研究成果の概要(英文)：The Purpose was to produce Astatine (At)-211 from a cyclotron and to investigate DNA damage and cell survival of cultured cancer cells with alpha-particles from At-211 for one of potential radionuclide treatments. At-211 was produced by a cyclotron via the Bi-209 ( , 2n) At-211 reaction. SKOV3 ovarian carcinoma cells were extracellularly irradiated with various radioactivity of At-211. Induction of Double-Strand Breaks (DSB) was then determined using single cell gel electrophoresis assay (Comet assay) and cell survivals were obtained by means of colony formation assay. In the cells, DSB were significantly observed, and a dose dependent of At-211 was shown. The cell survival rates steeply decreased with increasing radioactivity of At-211. In conclusion, At-211 was successfully produced by a cyclotron and separated. The cellular damage with -particles from extracellular At-211 was observed with a dose dependent of the radionuclide.

研究分野：がん治療

キーワード：がん治療 RI内用療法 放出核種 At-211 核医学治療

## 1. 研究開始当初の背景

近年、がん治療は、がんの原因と考えられる遺伝子やがん細胞を増殖させる因子などを標的として、その発現や機能を抑制し、がん細胞の増殖をコントロールし細胞死へ導くという分子標的治療の登場で大きく変わってきている。放射性ヨウ素-131 ( $^{131}\text{I}$ ) を利用した甲状腺分化がん遠隔転移やパセドウ病の治療に代表されるラジオアイソトープ (RI) 内用療法も、分子生物学の発展とともに拡がりが見られるようになってきている。具体的には、副腎髄質や交感神経終末に取り込まれるノルアドレナリン類似物質である Metaiodobenzylguanidine (MIBG) に  $^{131}\text{I}$  を標識した、 $^{131}\text{I}$ -MIBG による褐色細胞腫の治療、B リンパ球表面に発現している CD20 に特異的に結合する抗 CD20 抗体に放射性イットリウム-90 ( $^{90}\text{Y}$ ) を標識した、 $^{90}\text{Y}$ -抗 CD20 モノクローナル抗体による化学療法抵抗性悪性リンパ腫の治療、放射性塩化ストロンチウム-89 ( $^{89}\text{SrCl}_2$ ) を投与する転移性骨腫瘍の疼痛緩和療法が副作用の少ない患者にやさしい治療としてベータ ( $\beta$ ) 線を放出する RI を利用するがん内用療法に加えられるようになった。

放射線の発見とともに早くから、放射性ラジウムなどアルファ ( $\alpha$ ) 線を放出する RI はがん治療などに用いられた。しかし不適切な利用などにより、放射線障害による好ましくない副作用が数多くみられ、 $\alpha$  線を放出する RI は次第に利用されなくなった。近年、数時間程度の短い物理学的半減期を持った  $\alpha$  線を放出する RI がサイクロトロンやジェネレータから比較的容易に得られるようになった。 $\alpha$  粒子は  $\beta$  粒子に比べ衝突した原子へ付与するエネルギーが大きい ( $3 \sim 8 \text{ MeV}$ )<sup>1)</sup>。しかし、その透過力は非常に小さい ( $20 \sim 90 \mu\text{m}$ )<sup>1)</sup>。このため  $\alpha$  線を放出する、短寿命の RI の利用に

より正常細胞への放射線障害がなく、がん細胞のみに放射線殺傷効果を与えるという新しいがんの低侵襲治療の可能性が考えられる。これを受けて、現在、国際的に  $\alpha$  線を放出する RI を用いるがん治療の研究がはじまりつつある<sup>2)</sup>。

我が国でも患者への身体的および精神的負担を可能な限り少なくし、最大の治療効果を得ようとするがんの低侵襲治療法の一つとして、 $\alpha$  線を放出する RI を利用したがんの RI 内用療法は、がん患者へより高い Quality of Life をもたらすことが期待される。

### [参考文献]

- 1) 渡邊直行.  $\alpha$  線放出核種を用いたがんの低侵襲治療法の可能性と課題. Innervision、2009;24:60-2.
- 2) Report on the Technical Meeting on Therapeutic Radiopharmaceuticals. IAEA Headquarters、16-20th Nov 2009、Vienna (Austria) .

## 2. 研究の目的

ヘリウム原子核の流れである  $\alpha$  線は紙や数ミリメートル (mm) の空気では阻止される物質透過力しか持たないが、 $\alpha$  粒子の衝突により物質の原子軌道電子を弾き飛ばし、イオン化する強力な電離作用を持つ。細胞内を飛程する  $\alpha$  粒子は DNA などの生体高分子に直接的、間接的に障害を与え、RI 内用療法で利用される  $^{131}\text{I}$  などから放出される  $\beta$  粒子に比べて細胞を効率良く殺傷することができる。本研究では副作用の少ない、 $\alpha$  線を利用したがんの新しい低侵襲治療法開発の可能性を探るために、 $\alpha$  線を放出する、短寿命核種である放射性アスタチン-211 ( $^{211}\text{At}$ ) をサイクロトロンにより製造し、 $^{211}\text{At}$  からの  $\alpha$  線によるヒトがん細胞への放射線障害効果をインビトロレベルで評価する。

## 3. 研究の方法

- (1)  $^{211}\text{At}$  の産生と分離

国立研究開発法人 量子科学技術研究開発機構 量子ビーム応用研究部門 高崎量子応用研究所イオン照射研究施設 (TIARA) にて AVF サイクロトロンにより  $^{209}\text{Bi}$  ( $\alpha, 2n$ )  $^{211}\text{At}$  反応により  $^{211}\text{At}$  を産生し、化学分離する。この際、照射ターゲットの調整方法、照射後のターゲットからの RI の回収方法について HPLC を用いて至適条件の検討を行うとともに、ターゲットから高純度 (99 %以上) の RI を効率的に回収し、放射化学的に安定した方法を確認する。

(2) コメットアッセイを用いた線による培養がん細胞の DNA 損傷とコロニ形成法による細胞生存率の評価

サイクロトロンから製造された  $^{211}\text{At}$  単体を幾つかの放射能濃度で SKOV3 培養ヒトがん細胞に添加、インキュベーションする。 $\alpha$  線の外照射により生じる細胞の DNA をコメットアッセイにて分離、蛍光標識した。そして、断片化 DNA をデジタル蛍光顕微鏡にて検出し、解析プログラムを用いて培養ヒトがん細胞の DNA 損傷を分析する。また、培養細胞照射後、20 時間培養し、コロニ形成法で細胞生存率を評価する。

#### 4. 研究成果

##### (1) $^{211}\text{At}$ の産生と分離

図 1. に示される条件下、サイクロトロンにより  $^{211}\text{At}$  を  $15.2 \pm 3.6 \text{ MBq} / \mu\text{A} \cdot \text{h}$  で得ることができた。

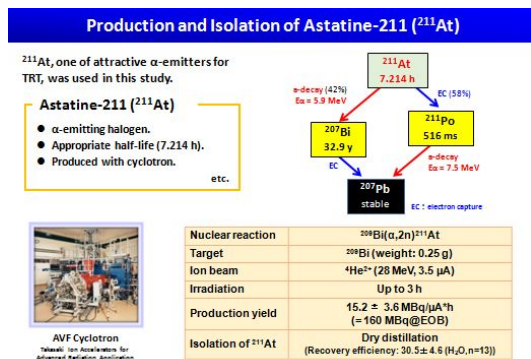


図 1.  $^{211}\text{At}$  のサイクロトロンによる産生と分離条件

##### (2) 培養細胞の放射線損傷評価

(2-1) コメットアッセイを用いた  $\alpha$  線によるがん細胞の DNA 損傷評価: 図 2. のように、アルカリコメットアッセイ法で  $^{211}\text{At}$  の細胞外照射で放射能濃度依存的に DNA 傷害が有意 ( $p < 0.01$ ) に増加することが示された。また、中性コメットアッセイ法で、DNA 二重鎖損傷の割合が放射能濃度依存的に有意 ( $p < 0.01$ ) に増加することが認められた。

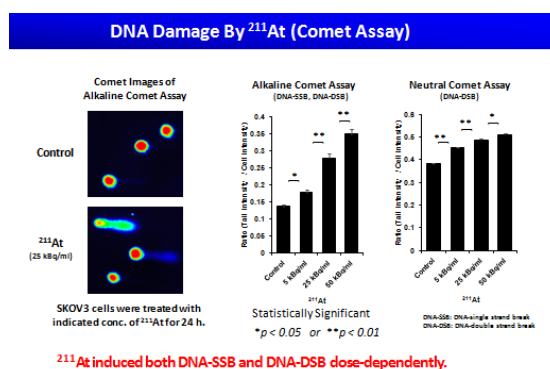


図 2.  $^{211}\text{At}$  による DNA 損傷

(2-1) コロニ形成法を用いた線によるがん細胞生存率評価:  $^{131}\text{I}$ -Herceptin は MBq / mL 単位レベルの放射能濃度で SKOV3 培養細胞の生存率を減少させることができるが、 $^{211}\text{At}$  は kBq / mL 単位レベルの低放射能濃度で細胞生存率を減少させることができる (Data not shown)。また、 $^{211}\text{At}$  では図 3. のように放射能濃度依存的にがん細胞の生存率が有意 ( $p < 0.01$ ) に減少する。

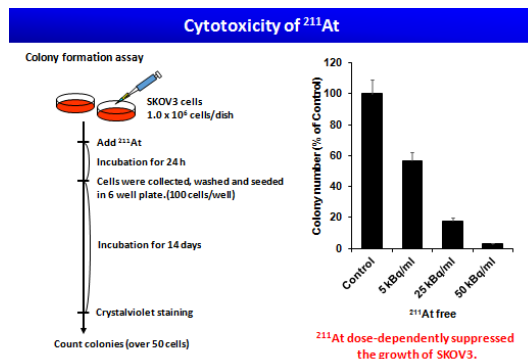


図 3.  $^{211}\text{At}$  による細胞生存率

このように、 $^{211}\text{At}$  はサイクロトロンを用いて製造することが可能であり、 $\beta$  線放出核種と比べ低放射能濃度で、また、放射能濃度依存的にがん細胞の生存率を、DNA 損傷に基づき、減少させることができる。

$^{211}\text{At}$  は周期表第 17 族に属するハロゲンに属するので、放射性ハロゲン標識医薬品の放射性同位元素を  $^{211}\text{At}$  で置換することにより、 $\alpha$  線放出核種を用いる RI 内用療法の臨床的アプローチが今後可能であるかもしれない。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

Watanabe.N., Fettich.J., Kucuk.N.O., Kraft.O., Mut.F., Choudhury.P., Sharma.S.K., Endo.K., Dondi.M. Modified PISAPED Criteria in Combination with Ventilation Scintigraphic Finding for Predicting Acute Pulmonary Embolism. World Journal of Nuclear Medicine、査読有、14 巻、2015、178-83.

渡邊直行、国際保健医療における国際原子力機関(IAEA)の取り組みについて。保健医療科学、査読有、65 巻、2016、424-41.

〔学会発表〕(計 4 件)

Watanabe.N. Thyroid Remnant Ablation using 1,110 MBq of I-131 for Outpatients with Thyroid Cancer in Japan. Final Coordination Meeting on Strengthening the Application in Nuclear Cardiology. 2014 年 11 月 3 ~ 7 日、Chiang Mai (Thailand) .

渡邊直行、Ra-223 を用いた  $\alpha$  線内用療法。第 53 回日本核医学会学術総会、2014 年 11 月 6 ~ 8 日、大阪国際会議場。

鈴木博元、大島康宏、花岡宏史、渡辺茂樹、渡辺智、佐々木一郎、坂下哲哉、荒野泰、石岡典子。Synthesis and evaluation of At-211 labeled  $\alpha$ -methyl-L-phenylalanine. 日本薬学会第 136 年会、2016 年 3 月 26 ~ 29 日、横浜。

渡邊直行、大島康宏、石岡典子。 $\alpha$  線を利用したがん低侵襲治療法の基礎研究。第 76 回日本医学放射線学会総会、2017 年 4 月 13 ~ 16 日、パシフィコ横浜。

〔図書〕(計 2 件)

渡邊直行。 $^{18}\text{F}$ -FDG PET 基礎読本。(株)医療科学社(印刷中)。

渡邊直行。SPECT 基礎読本。(株)医療科学社(印刷中)。

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

渡邊 直行 (WATANABE Naoyuki)  
群馬県衛生環境研究所 研究企画係・研究員  
研究者番号：90311381

### (2) 研究分担者

大島 康宏 (OSHIMA Yasuhiro)  
国立研究開発法人 量子科学技術研究開発機構 量子ビーム応用研究部門 高崎量子応用研究所・研究員  
研究者番号：00588676