

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 22 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461876

研究課題名(和文) 金ナノコロイド製剤を用いた難治性癌分子追跡陽子線治療法の開発

研究課題名(英文) Development of a real-time tumor-tracking proton beam therapy with molecular imaging for intractable cancers using gold nanoparticles preparation

研究代表者

橋本 孝之 (Hashimoto, Takayuki)

北海道大学・医学研究科・特任准教授

研究者番号：60400678

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)：難治性癌治療成績向上のための集学的治療の一つとして、金ナノ粒子(GNP)による放射線増感効果を利用した新たな陽子線治療法開発の基礎研究を行った。モンテカルロ法を用いたマイクロシメトリシミュレーションを様々な条件下で行い、GNPによる線量増加領域の空間的広がりや線量増加比を計算した。腫瘍細胞内でのGNPの局所的凝集・クラスター形成を考慮した計算は、GNPによる線量増加の過大評価を防ぐ点で、臨床応用した際の治療精度向上に役立つと考えられた。腫瘍造影剤や位置合わせマーカーとして人体にCT値の差が認識できるほどの高濃度のGNP製剤を投与するには、動物実験等により事前の十分な安全性評価が必要である。

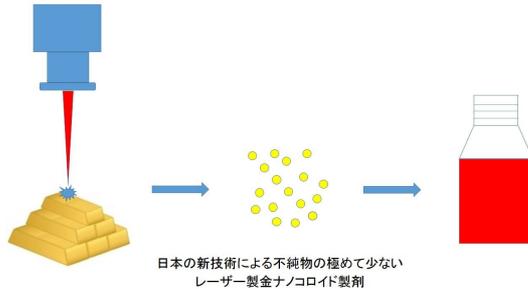
研究成果の概要(英文)：We conducted basic researches for developing a novel proton beam therapy as one of the multimodal therapies to improve treatment results of intractable cancers using gold nanoparticles (GNPs) as a radiosensitizer. The spatial dose distributions and dose enhancement ratio around the proton beam axis in the presence and absence of a GNPs were calculated using the Geant4 Monte Carlo simulation toolkit under various conditions. GNPs form clusters when taken up by tumor cells and shield a part of secondary electrons. Our results suggest the improvement of treatment accuracy in clinical use, because the dose enhancement is overestimated without considering energy absorption by the clustered GNPs. It is necessary to evaluate the sufficient safety including animal test before clinical application of GNPs preparation, which is highly concentrated enough to distinguish the difference of CT value as the tumor imaging agent or the fiducial marker.

研究分野：放射線腫瘍学

キーワード：金ナノ粒子 陽子線治療 難治性癌 モンテカルロ法 マイクロシメトリ 放射線増感効果

1. 研究開始当初の背景

体内金属は放射線により散乱線を発生し、周囲正常組織にネガティブな影響を及ぼすことは知られているが、散乱線の影響を腫瘍に限定できれば、難治性癌の治療成績向上に役立つ可能性がある。また、ナノテクノロジーの飛躍的な発展により、レーザー製法による極めて純度の高い金ナノコロイドが、日本の技術を国際展開する企業(アイシン精機の事実上100%子会社であるイムラアメリカ)のもとで精製できることがわかり、その技術を陽子線治療の増感作用として活用できないかということに思い至った。



先進的放射線治療の一分野として、線量分布が良好な粒子線治療は諸外国にくらべ日本が世界をリードする分野であり、これまでである一定の成果を挙げてきた。しかし肺癌など、難治性癌の治療成績向上には、集学的かつ革新的な治療法の開発が求められている。低LET放射線である陽子線のもつ生物学的な効果はX線とほぼ同程度で、照射線量に基づく治療効果や有害事象の予測についてはX線治療の経験が生かせるものの、中性子捕捉療法(BNCT)のように、腫瘍細胞に選択的に高LET放射線の照射を行うことは不可能である。しかし、金ナノコロイド製剤を陽子線治療に併用することで、放射線増感効果を持たせて放射線生物学的な照射効果を高LET放射線並に高め、かつ表面修飾分子に癌細胞表面抗原に対する特異的集積性を持たせることが可能となる。それにより、新たな集学的治療としての金ナノコロイド製剤を用いた難治性癌分子追跡陽子線治療法が実現可能となる。

金ナノコロイドの通常のX線による放射線治療の増感効果の研究は各地でなされているものの、陽子線治療にも応用可能かどうかについては未だ不明である。米国のMDアンダーソンがんセンターから生物学的な放射線増感作用が報告されているが、国内外の陽子線施設から臨床応用の報告はまだなく、今後の実験的研究を含めた十分な検討が必要である。また従来の金ナノコロイド製剤の製造過程では界面活性剤の使用や、反応副産物としての不純物の混在が避けられないため、ヒトに対して使用する場合は安全性に不安が残るが、本研究で用いるレーザー製金ナノコロイド製剤は製造可能でほとんど不純物を含まないため、ヒトに対しても安全に用いることが期待できることから、創薬研究への早期の応用に繋がるものと考えられた。

2. 研究の目的

(1) 放射線増感効果

培養した腫瘍細胞に金ナノコロイド製剤を取り込ませて陽子線照射を行い、生存率を対照と比較し、またPHITSによるモンテカルロ法を用いたマイクロシミュレーションの結果を参照することで金ナノコロイドの放射線増感効果を明らかにする。

(2) 分子標的性

表面修飾分子により、癌細胞表面抗原に対する特異的集積性を持たせた金ナノコロイド製剤を作成し、コロイド粒子径や濃度による癌細胞への集積性の変化等について明らかにする。

(3) 造影効果

画像診断における腫瘍造影剤としての機能を評価するため、コロイド粒子径や濃度を変化させた金ナノコロイド製剤を用いて腫瘍造影効果の違いを明らかにする。

(4) 位置合わせマーカー機能

照射時の位置合わせマーカーとしての有用性を評価するため、コロイド粒子径や濃度を変化させた金ナノコロイド製剤を用いてX線透視実験を行い、視認性の違いを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 放射線増感効果

培養腫瘍細胞に金ナノコロイドを取り込ませて、本学陽子線治療センターにて陽子線照射実験を行い、生存率を対照と比較する。またPHITSコードによるモンテカルロ法を用いたマイクロシミュレーションを行い、結果を培養腫瘍細胞に対する照射実験のものと比較することで金ナノコロイドの放射線増感効果とそのメカニズムを明らかにする。

(2) 分子標的性

表面修飾分子により癌細胞表面抗原に対する特異的集積性を持たせた金ナノコロイド製剤を作成し、培養腫瘍細胞に取り込ませ、電子顕微鏡で観察し、コロイド粒子径や濃度による集積性の変化等について評価する。多種類の表面修飾分子により、癌細胞表面抗原だけでなく、細胞内の核や他の細胞小器官に対する特異的集積性を持たせた金ナノコロイド製剤を作成し、コロイド粒子径や濃度による動物(マウス)モデル腫瘍細胞への集積性の変化等について電子顕微鏡で観察・評価する。

(3) 造影効果

画像診断における腫瘍造影剤としての機能を評価するため、コロイド粒子径や濃度を変化させた金ナノコロイド製剤をファントム内に設置してCT画像を撮影し、吸収値を測定することで、造影効果の違いを明らかにする。

(4) 位置合わせマーカー機能

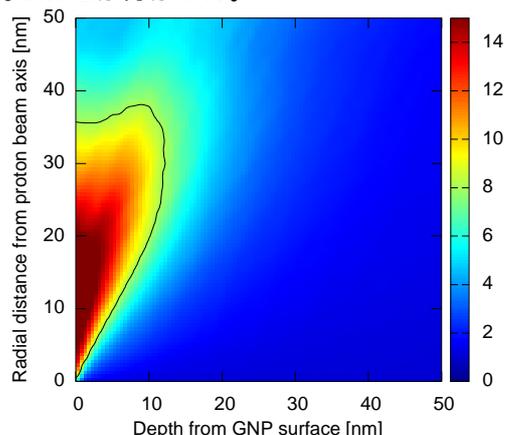
照射時の位置合わせマーカーとしての機能を評価するため、コロイド粒子径や濃度を変化させた金ナノコロイド製剤をファントム中に設置してX線透視実験を行い、視認性を確認

する。

4. 研究成果

(1) 放射線増感効果

陽子線が金ナノ粒子(GNP)と衝突した際に、金原子から電子を放出させ、GNP周囲にどの程度の放射線増感効果をもたらすのか(マイクロシメトリ)をモンテカルロシミュレーションにより検証した。水で満たされた直方体(3 μm ×1 μm ×1 μm)中の深さ0.5 μm の位置に直径20nmのGNPを置き、水平方向から0.7MeVの陽子線を照射した。GNPがある場合の付与エネルギーとGNPがない場合の付与エネルギーの差分線量 D_{sub} によって、二次電子による吸収線量の分布を得て放射線増感効果を評価した。GNP表面から100nmまでは比較的高いエネルギー付与(増感効果)が得られ、また、2500nm程度まで増感効果がみられた。さらに、表面から90nm以降では差分線量がマイナスになる(すなわちGNPがある場合よりない場合のほうが高線量となる)領域が生じる。増感効果に必要なGNPの密度は 4×10 [g/cm³]以上であると推定された。さらに陽子線のブラッグピーク付近でのGNPによる線量増加について検討し、臨床的に用いられている高エネルギー陽子線の線量分布がGNPの存在によって増加することを空間的に把握することを試みた結果、線量増加領域は陽子線照射方向のみならず、径方向に対しても数十nmの広がりを持つことが分かった。



また平均線量増加比(線量増加領域全体の線量増加比の平均)はブラッグピーク近傍内であり深い位置ほど、すなわち入射陽子線エネルギーが平均的に低くなるほど、平均線量増加比が高くなることが明らかとなった。腫瘍内に分布させることができる最大のGNP濃度は腫瘍1gあたり30mgであると考えられているが、その際に、腫瘍に対して従来よりも100MeV陽子線では45%、195MeV陽子線では36%、線量をより多く付与することができるが、解析により推定された。また従来のシミュレーションでは考慮されてこなかったGNPクラスター形成時の線量増加は、一様分布と比較してGNPs間距離が非常に近くなるため、放射線と金との相互作用で

発生した電子が近傍のGNPsに吸収されやすくなる。100keVのX線を照射し、細胞へのエネルギー付与、GNPsのエネルギー吸収を一様分布と比較し、またGNPsの半径を10、30、50nmと変化させ、GNPsサイズが線量増加に及ぼす影響を評価した。二次X線の吸収はクラスター形成の有無、GNPsサイズの変化に対して有意差は見られなかったものの、二次電子の吸収はクラスター形成時に、またGNPsサイズが大きくなるほど増加した。クラスター形成の有無におけるGNPsによるエネルギー吸収の比は二次電子のGNPsサイズが小さくなるほど増加した。細胞全体に付与されたエネルギーのうち、GNPs内に吸収されたエネルギーの割合はクラスター形成時ほど、またGNPsサイズが大きいほど高い値を示した。クラスター形成を考慮していない従来のシミュレーションでは、GNPsによる線量増加を過大評価しており、クラスター形成の影響は小さいGNPsほど顕著であることは、GNPsを臨床応用した際の治療精度向上に役立つと考えられた。放射線増感効果の検討は実験の準備体制の構築が容易であった放射線物理学的な研究を、腫瘍細胞を用いた放射線生物学的な研究に優先して実施した。

(2) 分子標的性

表面修飾分子により、癌細胞表面抗原に対する特異的集積性を持たせた金ナノコロイド製剤の作成や腫瘍細胞・動物を用いた放射線生物学的な実験の準備体制の構築に時間を要することが判明したため、研究期間内で成果を出すことが困難と判断し、他の放射線物理学的な研究を優先した。

(3) 造影効果

コロイド粒子径や濃度を変化させたGNP製剤を用いて、X線CTでのCT値を測定し、視認性の違いを確認した。CT値の測定誤差を考慮する必要があるが、概ね100ppmあたりCT値3程度の線形性が認められた。しかしながら人体にCT値の差が認識できるほどの高濃度のGNP溶液を投与するには、あらかじめ動物実験等により十分な安全性の評価が必要である。

(4) 位置合わせマーカー機能

上述のように人体にCT値の差が認識できるほどの高濃度のGNP溶液を投与するにあたっては、事前の十分な安全性評価が必要である。現在照射時の位置合わせマーカーとしては1.5-2mmの金マーカーを臨床では使用している。RI標識製剤を腫瘍に取り込ませて画像化するなど、他にも有用と思われる手段があるため、照射時の位置合わせマーカーとしてGNP溶液を用いることは現実的ではないと考えられた。

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2件)

J Kwon, K Sutherland, T Hashimoto, H Shirato, H Date. Spatial distributions of dose enhancement around a gold nanoparticle at several depths of proton Bragg peak. Nucl. Instruments Methods Phys. Res. Sect. B Beam Interact. with Mater. Atoms, 査読あり, vol. 384, 2016, pp. 113–120, <http://dx.doi.org/10.1016/j.nimb.2016.08.013>

J Kwon, K Sutherland, T Hashimoto, H Date. Dose distribution of electrons from gold nanoparticles by proton beam irradiation. International Journal of Medical Physics, Clinical Engineering and Radiation Oncology, 査読あり, vol. 4, 2015, pp. 49–53, DOI: 10.4236/ijmpcero.2015.41007

〔学会発表〕(計10件)

J Kwon, K L Sutherland, T Hashimoto, H Peng, L Xing, H Shirato, H Date. Dose enhancement by gold nanoparticles around the Bragg peak of proton beam. The American Association of Physicists in Medicine (AAPM), 2016年7月31日-8月4日, Washington, D.C. (USA)

権池勲, ケネス サザランド, 橋本孝之, 伊達広行. Bragg peak 近傍において金ナノ粒子が及ぼす線量増加の検討, Geant4 医学応用研究会, 2015年12月19日、富山

J Kwon, K L Sutherland, T Hashimoto, H Date. Dose enhancement effect of gold nanoparticles in proton therapy at different depth before Bragg peak, 第110回日本医学物理学会学術大会, 2015年9月20日、札幌

J Kwon, K L Sutherland, T Hashimoto, H Date. Application of gold nanoparticles as a radio sensitizer: comparison between protons and X-rays. 2nd FHS International Conference, 2015年7月3日、札幌

J Kwon, K L Sutherland, T Hashimoto, H Date. Monte Carlo simulation of the radio sensitizing effect by gold nanoparticles: comparison between proton and X-ray irradiation. World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering 2015, 2015年6月7日-17日、Toronto (Canada)

J Kwon, K L Sutherland, T Hashimoto, H Date. Dose distribution around gold nanoparticles in proton beam irradiation. 15th International Congress of Radiation Research (ICRR), 2015年5月25日-29日、京都

J Kwon, K L Sutherland, T Hashimoto, H Date. Radiosensitizing effects of gold nanoparticles in proton and X-ray irradiations. 2nd meeting of educational symposium of radiation and health (ESRAH), 2015年5月23日-24日、弘前

J Kwon, K L Sutherland, T Hashimoto, H Date. A Monte Carlo investigation of radial dose distribution of electrons by proton beam, 第109回日本医学物理学会学術大会, 2015年4月14日、横浜

J Kwon, K L Sutherland, T Hashimoto, H Date. Monte Carlo simulation of the electron production by proton beam irradiation to gold particles. The 7th Korea-Japan Meeting on Medical Physics (KJMP2014), 2014年9月25日-27日、釜山(韓国)

J Kwon, K L Sutherland, T Hashimoto, H Date. Monte Carlo simulations of proton beam irradiation of gold particles. 1st Educational Symposium on RADIATION and HEALTH by Young Scientists (ESRAH2014), 2014年9月21日-22日、弘前

6. 研究組織

(1) 研究代表者

橋本 孝之 (HASHIMOTO, Takayuki)
北海道大学・医学研究科・特任准教授
研究者番号：60400678

(2) 研究分担者

伊達 広行 (DATE, Hiroyuki)
北海道大学・保健科学研究所・教授
研究者番号：10197600

(3) 連携研究者

橋本 慎太郎 (HASHIMOTO, Shintaro)
独立行政法人日本原子力研究開発機構・
原子力基礎工学研究部門・研究員
研究者番号：60465995

(4) 研究協力者

権池勲 (Jihun Kwon)
Kenneth L Sutherland