

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：82502

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H05093

研究課題名（和文）標的アイソトープ治療に資する局所線量分布精密イメージング技術の開発

研究課題名（英文）Development of microdosimetric imaging technology for targeted radionuclide therapy

研究代表者

小平 聡 (Kodaira, Satoshi)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・高度被ばく医療センター 計測・線量評価部・研究統括（定常）

研究者番号：00434324

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 17,480,000円

研究成果の概要（和文）：放射性同位元素（RI）を用いてがん細胞を殺傷する標的アイソトープ治療は、現状では根治が難しい転移がんに対する画期的な治療手法として期待されている。特に、アルファ線やオージェ電子を放出するRIは高い生物学的効果による優れたがん殺傷能力を有する。一方で、このようなRIが標的細胞にどれだけの線量を付与したのか、また臓器レベルでの空間線量分布を定量評価する手法は確立されていない。本研究では、放射線をサブミクロンサイズのトラックとして可視化する固体飛跡検出器を用いて、RIの種類に応じた線量評価技術を開発し、細胞・組織レベルでの局所線量分布イメージング技術を確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で得られた成果は、標的アイソトープ治療において現状では評価できていない単一細胞レベルでの線量評価が可能な唯一の計測技術である。治療効果の検証や放射性薬剤の品質評価だけでなく、副作用の要因となる正常組織における被ばく影響の両面において、定量的な線量評価が可能となる。臨床に向けた治療計画や放射線防護の観点から、投与線量の不均一性を考慮した線量評価の必要性を初めて提示することができた。標的アイソトープ治療は計画的内部被ばくの側面があり、医療被ばく防護に資する研究も重要である。本研究成果を通じて、安心・安全で効果的な標的アイソトープ治療の進展に貢献できると考えている。

研究成果の概要（英文）：The targeted radionuclide therapy (TRT) with  $\alpha$ -particle and auger electron emitters is expected as the efficient treatments for metastatic cancer because the former provides a high linear energy transfer (LET) to induce enough damage to break double-stranded DNA and it has a short range in tissue to target only cancer cells without additional damage to surrounding normal cells. The physical aspects related to dosimetry should be addressed for characterizing the treatment effectiveness by  $\alpha$ -particles and auger electrons and for optimizing the treatment conditions such as injection amount and concentration. We have established microdosimetric imaging technology of local dose distribution in the targeted cells and tissues for the advances in TRT.

研究分野：放射線物理学

キーワード：標的アイソトープ治療 アルファ線 オージェ電子 固体飛跡検出器 線量評価 線量分布 イメージング マイクロドシメトリ

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

現在の放射線治療においては、エックス線による強度変調放射線治療や粒子線治療が普及しつつあり、固形がんに対して外科的手法と遜色ない治療成績があがっている。特に炭素線を用いた粒子線治療では、付与する電離密度の大きさを示す LET (Linear Energy Transfer: 線エネルギー付与) が他の放射線に比べて大きいため、生物学的効果が高く、がん細胞の殺傷能力に優れている。原発部位の局所的な治療として有望な方法である一方で、転移がんに対しては適用が難しいのが現状である。放射性同位元素 (RI: Radio Isotopes) を用いた標的アイソトープ治療 (TRT: Targeted Radionuclide Therapy) は、根治が難しい転移がんの治療法として期待されている。近年のがん表面抗原に関する研究の進展から、抗体等を利用した標的細胞へのデリバリー法の研究開発が進んでおり、これに RI を標識することで、がん細胞を狙った内用療法が実現しつつある。従来の RI 内用療法では、<sup>131</sup>I (ヨウ素) 等からのベータ線が用いられる。これに対して、<sup>211</sup>At (アスタチン) や <sup>223</sup>Ra (ラジウム) 等からのアルファ線や、<sup>64</sup>Cu (銅) や <sup>111</sup>In (インジウム) 等からのオージェ電子は、粒子線と同様に高い LET を持つため、従来の低 LET のベータ線に比べて優れたがん殺傷能力を有するうえ、細胞内での飛程が短く、周辺正常細胞への副作用が少ない利点があると考えられている。アルファ線やオージェ電子の放出核を用いた細胞・動物レベルでの基礎研究や臨床研究は、国内外で既にスタートしており、<sup>223</sup>Ra については我が国でも 2016 年に治療薬として初めて認可されるに至っている。

人や動物への RI 標識薬剤の投与量に対して、腫瘍 (もっと言えば、がん細胞あたり) にどれくらいの線量が実際に投与されたのか、また腫瘍や周辺組織における RI の集積分布がどうなっているのか、に関する実験的研究例はほとんど無く、またその測定手法についても確立されていないのが現状である。RI を内用する本治療においては、実際に腫瘍へ投与された線量とともに、周辺正常組織へ与えられた余剰な線量の両方を数値として理解しておくことは、治療計画の定量性や治療効果の確認だけでなく、患者の医療被ばくに対する放射線防護の観点からも重要である。一方で、RI から放出される異なる放射線を活用し、診断と治療の一体化 (いわゆるセラノスティクス) が期待できる点も TRT の特徴である。<sup>64</sup>Cu を用いた場合、放出された陽電子と細胞周囲の電子との対生成で放出されるガンマ線を PET (陽電子放出断層撮影法) イメージングすると共に、同時に放出されるオージェ電子により治療することが考えられる。線量評価の観点では、オージェ電子の飛程は数 100 nm 程度と短いことや、同時にベータ粒子 (電子と陽電子の両方) が放出されることから、吸収線量の定量評価は難しいとされる。

## 2. 研究の目的

細胞レベル (マイクロメートルサイズ) から腫瘍全体 (センチメートルサイズ) にわたる線量分布をイメージングするためには、アルファ線やオージェ電子の飛跡 (トラック) をサブミクロンの位置精度で計測する必要がある。荷電粒子のトラックを一つ一つ検出する「固体飛跡検出器」は、ミクロな局所線量分布に加えて、その集合体であるマクロなオートラジオグラフィの計測に最適であると考えられる。そこで本研究では、単一細胞レベルでアルファ線の局所線量や集積率を定量評価するために、固体飛跡検出器を用いてサブミクロンの位置精度で細胞や組織内の線量分布をイメージングする計測技術やオージェ電子の線量評価技術の開発を目的とした。

## 3. 研究の方法

固体飛跡検出器は、放射線が通過したトラックを観測するものであり、本研究では 2 種類の検出器を用いた。一つは CR-39 と呼ばれるプラスチックで、アルファ線等の通過によって生じた局所損傷を、エッチングによりトラック (エッチピット) として観測する。もう一つは、蛍光飛跡検出器 (FNTD: Fluorescent Nuclear Track Detectors) と呼ばれる酸化アルミニウム ( $\text{Al}_2\text{O}_3:\text{C,Mg}$ ) や銀活性リン酸塩ガラスで、電離電子の捕捉による蛍光中心を、レーザーで励起・スキャンし、蛍光トラックとして観測する。それぞれの検出器の特徴は以下の通りである。CR-39 は主にアルファ線より重い高 LET 粒子のトラックを精度良く計測でき、センチメートルオーダーの広範囲を高速にイメージングできる顕微鏡システムが確立されているが、エネルギーの高い陽子や電子には感度を持たないことや、エッチングと呼ばれる化学処理工程が必要になるために細胞実験でのその場観測ができない。FNTD は低 LET の電子トラックから計測することができ、蛍光顕微鏡系で測定が全て完了するのでその場観測が可能であり、深さ方向のスキャンによる三次元計測も可能であるが、蛍光検出感度の問題によりスキャン速度が制限され広範囲イメージングに向かない。そこで本研究では、CR-39 を用いたアルファ線放出核種である <sup>211</sup>At を利用した動物実験における腫瘍組織内の線量分布イメージング技術の開発、FNTD を用いた TRT 線量評価に必要な校正実験ならびに <sup>64</sup>Cu から放出されるオージェ電子の線量評価技術の開発を行った。

### (1) アルファ線放出核種による腫瘍組織内の線量分布イメージング技術の開発

CR-39 に生成するトラックの大きさは入射粒子の LET の関数となるため LET 分布が得られるとともに、顕微鏡分解能でトラックの位置分布が得られる。 $^{211}\text{At}$  を標識した HER2 抗体（トラスツマブ）をヒト胃がん細胞（NCI-N87）に結合させる系において、図 1 に示すような手順で、腫瘍組織内の線量分布の取得を試みた。肝転移モデルマウスの肝臓組織切片（組織内に転移がんが含まれている）を CR-39 上にのせて照射を行った。最大 24 時間照射後、細胞や組織切片を除去・洗浄し、CR-39 をエッチング処理した後、生成したアルファ線トラックの顕微鏡画像を広領域多層撮像顕微鏡（セイコータイムシステム: FlexSCOPE）を用いて取得した。最終的に細胞や組織切片の顕微鏡像と放出されたアルファ線トラック位置情報を対応付けた。

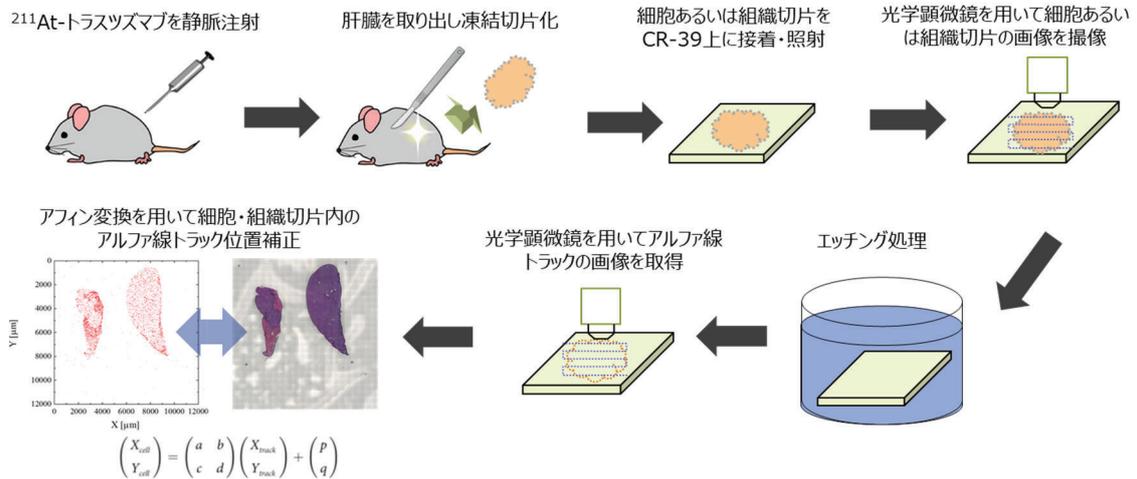


図 1. マウスあるいは細胞実験の手順

### (2) FNTD 性能評価実験

LET に対する FNTD（酸化アルミニウムならびに銀活性リン酸塩ガラス）の蛍光トラック強度の関係や LET 分解能の評価を重粒子線がん治療装置 HIMAC からのイオンビーム（陽子から鉄）を用いて実施した。また  $^{241}\text{Am}$  線源から放出されたアルファ線や  $^{14}\text{C}$  線源からのベータ線、 $^{60}\text{Co}$  線源からのガンマ線を照射した。照射後、FNTD は共焦点顕微鏡（オリンパス: FV-3000 ならびに FV-1000）を用いて、FNTD 素子に応じて最適なスキャン条件の選定を行い、蛍光トラック画像を撮像した。酸化アルミニウムは 635 nm 励起光による 750 nm 蛍光を対物レンズ x60 (N.A. 1.35) により、また銀活性リン酸塩ガラスは 405 nm 励起光による 600 nm 蛍光を対物レンズ x40 (N.A. 0.95) により測定した。スキャン速度は 100  $\mu\text{s}/\text{pixel}$  とした。光電子増倍管の印過電圧は測定対象である蛍光トラックの最大強度が飽和しないように調整した。蛍光トラック内の最大輝度を信号として取り出し、FNTD の応答感度とした。

### (3) オージェ電子の線量評価技術の開発

塩化銅 ( $^{64}\text{Cu}$ ) 水溶液を FNTD（酸化アルミニウム）上に滴下し、放出されるオージェ電子やベータ粒子を照射した。照射後、水溶液を除去・洗浄し、共焦点顕微鏡により蛍光トラック画像を取得した。特にオージェ電子の飛程は最長でも数 100 ナノメートルに過ぎないため、オージェ電子の蛍光トラックは FNTD 表面だけに分布し、それらは「点」とでしか捉えることができない。そこで、共焦点顕微鏡の特長の一つである試料深さ方向へのスキャンを行うことによって、検出器深さに対する蛍光強度の分布により検出器表面のオージェ電子による蛍光強度信号と他に放出される飛程の長いベータ線の区別を試みた。

## 4. 研究成果

### (1) アルファ線放出核種による腫瘍組織内の線量分布イメージング結果

1 MBq の  $^{211}\text{At}$  トラスツマブをマウスへ静脈導入し動態 12 時間後の肝臓組織切片画像に対応したアルファ線トラック分布が図 2 のように得られた。壊死したがん組織部（ピンク色）にアルファ線トラックが集中していることが分かる。正常組織に対するがん組織のアルファ線トラックのフルエンス比は  $6.0 \pm 0.2$  であり、 $^{211}\text{At}$  トラスツマブの優れたアルファ線の集中度を示している。この技術を胃がんの肝転移モデルマウスの治療効果の実証実験に適用した。従来はマクロな臓器レベルでの放射能平均値では評価しきれないが、本技術により腫瘍部を含む組織切片には細胞致死に必要なアルファ線が局所集中しており、細胞レベルでの線量分布は非常に不均

一であることが分かった。マイクロレベルでの不均一性を考慮した線量評価を行った結果、図3のように、がん細胞組織には正常組織に比べて約12倍の線量が付与されていることが分かり、マウスを用いた治療効果が説明可能になった。

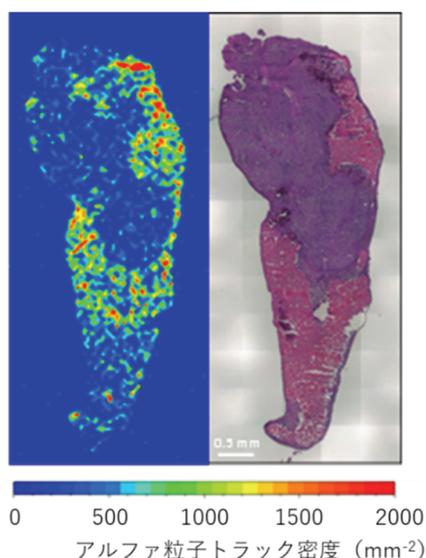


図2. 肝臓組織切片像と  $^{211}\text{At}$  から放出され検出されたアルファ線トラック分布

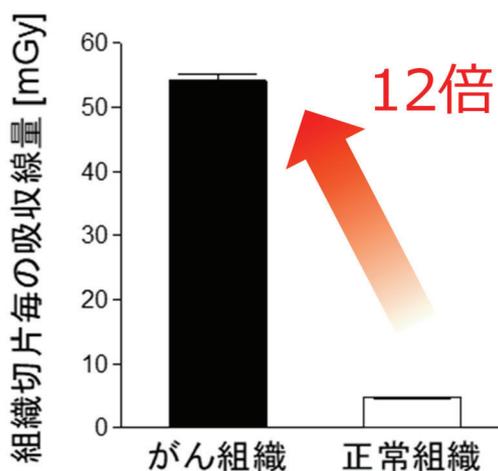


図3. ミクロレベルで評価した同一組織内のがん・正常組織別の切片毎の線量評価結果

図4はFNTD（酸化アルミニウム）に照射したアルファ線、ベータ線、ガンマ線、炭素線の蛍光トラック画像を示している。検出器内でベータ線やガンマ線の相互作用で発生した電子は、クーロン散乱されやすいため煙状に観測される。一方、アルファ線や炭素線などの重い粒子線は、ほぼまっすぐ進むので、それぞれの飛跡を明瞭に区別することができる。アルファ線は  $^{241}\text{Am}$  線源から等方的に放射されるので、角度を持った線状の蛍光飛跡として観測されている。炭素線は3.5 GeVの高いエネルギーに加速されたもので、検出器に対して垂直方向のみに入射しているので、丸い蛍光トラックとして観測されている。図5はFNTD（銀活性リン酸塩ガラス）に照射した炭素線、ネオン線、シリコン線、鉄線の蛍光トラックとその蛍光強度分布を示している。線量評価の方法としては、ベータ線やガンマ線の場合は、校正線源により照射した吸収線量に対する素子全体からの蛍光量の応答関数を求めておき、蛍光量から線量評価する。粒子線の場合は、LETに応じて人に対する影響をあらわす線質係数が異なるので、各粒子のLETを考慮した線量評価として、蛍光強度からLETスペクトルを積分することにより線量評価する。TRT線量評価に必要な種々の放射線に対する応答関数ならびにLET分解能や検出閾値等に関する基礎特性データを取得した。

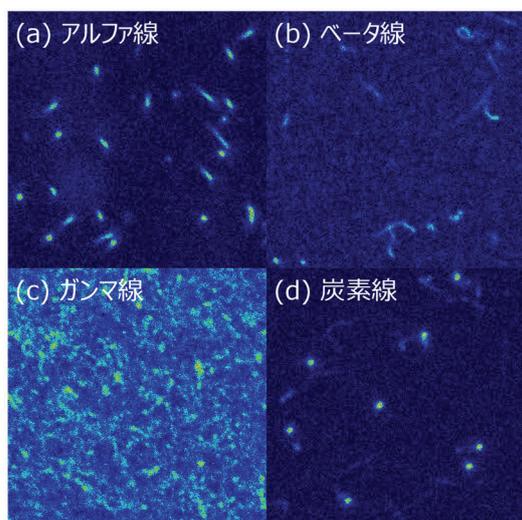


図4. FNTD（酸化アルミニウム）で観察した各種放射線の蛍光トラック画像（画像サイズは1辺が  $21.3\ \mu\text{m}$ ）トラック分布

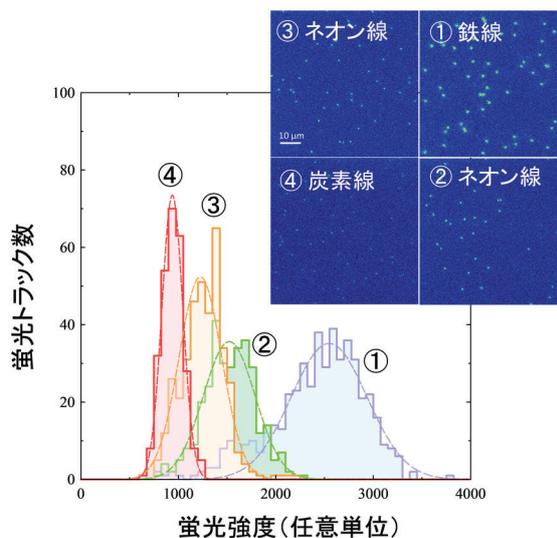


図5. FNTD（銀活性リン酸塩ガラス）で観察した各種粒子線の蛍光トラック画像と蛍光強度分布

### (3) オージェ電子の線量評価結果

図6のように酸化アルミニウムの上に載せた<sup>64</sup>Cu 溶媒試料からの放射線の検出器中の減衰変化を深さ方向の蛍光強度変化を観測した。オージェ電子の飛程は最長で数 100 nm 程度であるため、検出器表面付近にのみオージェ電子の寄与が含まれる一方で、概ね 1 μm より深い位置での蛍光は全てベータ粒子によるものである。このような飛程の違いを考慮すれば、オージェ電子とベータ粒子が区別可能であることが分かった。細胞一個分（直径 10 μm）における吸収線量の寄与率はそれぞれ同程度であると考えられる。

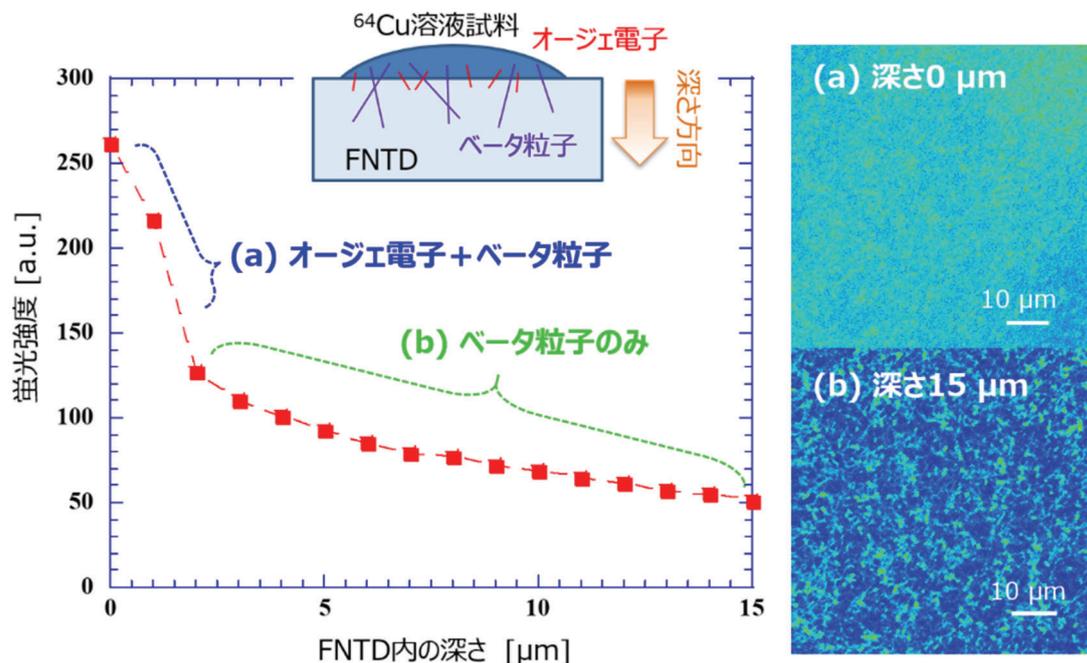


図 6. FNTD（酸化アルミニウム）上の<sup>64</sup>Cu 溶媒試料から放出された放射線（オージェ電子とベータ粒子）による、FNTD 中の深さ方向に対する蛍光強度の変化（カラスケールは明るい色ほど蛍光強度が高い）

以上のように、CR-39 トラック計測技術と生物試料を融合した実験的研究によって、アルファ線局在集積によるがん殺傷効果の直接的なエビデンスを提示できるようになった。FNTD の LET 校正と性能評価によって、CR-39 では取り扱えないその場ライブセルイメージングとの組み合わせが実現可能になる。FNTD 中の飛程の違いを利用した核種弁別法は実験的にオージェ電子の線量を定量評できるツールとして期待される。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kodaira Satoshi, Kusumoto Tamon, Kitamura Hisashi, Yanagida Yuka, Koguchi Yasuhiro	4. 巻 132
2. 論文標題 Characteristics of fluorescent nuclear track detection with Ag <sup>+</sup> -activated phosphate glass	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Radiation Measurements	6. 最初と最後の頁 106252 ~ 106252
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.radmeas.2020.106252	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kusumoto Tamon, Matsuya Yusuke, Baba Kentaro, Ogawara Ryo, Akselrod Mark S., Harrison Jonathan, Fomenko Vasiliy, Kai Takeshi, Ishikawa Masayori, Hasegawa Sumitaka, Kodaira Satoshi	4. 巻 132
2. 論文標題 Verification of dose estimation of Auger electrons emitted from Cu-64 using a combination of FNTD measurements and Monte Carlo simulations	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Radiation Measurements	6. 最初と最後の頁 106256 ~ 106256
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.radmeas.2020.106256	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Kodaira Satoshi, Morokoshi Yukie, Li Huizi Keiko, Konishi Teruaki, Kurano Mieko, Hasegawa Sumitaka	4. 巻 60
2. 論文標題 Evidence of Local Concentration of <sup>211</sup> At-Particles from <sup>211</sup> At-Labeled Antibodies in Liver Metastasis Tissue	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Nuclear Medicine	6. 最初と最後の頁 497 ~ 501
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2967/jnumed.118.216853	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Li Huizi Keiko, Morokoshi Yukie, Kodaira Satoshi, Kusumoto Tamon, Minegishi Katsuyuki, Kanda Hiroaki, Nagatsu Kotaro, HASEGAWA SUMITAKA	4. 巻 -
2. 論文標題 Utility of <sup>211</sup> At-trastuzumab for the Treatment of Metastatic Gastric Cancer in the Liver: Evaluation of a Preclinical <sup>211</sup> At-Radioimmunotherapy Approach in a Clinically-relevant Mouse Model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Nuclear Medicine	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2967/jnumed.120.249300	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 小平聡、楠本多聞	4. 巻 84
2. 論文標題 放射線の蛍光飛跡検出技術と応用研究	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本写真学会誌	6. 最初と最後の頁 22-27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計6件(うち招待講演 1件/うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Satoshi Kodaira, Tamon Kusumoto, Hisashi Kitamura, Yuka Yanagida, Yasuhiro Koguchi
2. 発表標題 Characteristics of fluorescence nuclear track detection with Ag <sup>+</sup> -activated phosphate glass
3. 学会等名 19th International Conference on Solid State Dosimetry (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小平 聡, 楠本 多聞, 蔵野 美恵子, 北村 尚, 小西 輝昭, 諸越 幸恵, 李 恵子, 長谷川 純崇
2. 発表標題 固体飛跡検出器を用いた標的アイソトープ治療に資する局所線量分布イメージング
3. 学会等名 第33回固体飛跡検出器研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 楠本 多聞, 長谷川 純崇, 小西 輝昭, 小川原 亮, 蔵野 美恵子, 北村 尚, 小平 聡
2. 発表標題 64Cu-ATSMを用いた内用療法に資するFNTDを用いた線量評価法の確立
3. 学会等名 第33回固体飛跡検出器研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小平 聡
2. 発表標題 イオントラックを用いた線量計測技術とその応用
3. 学会等名 第60回放射線化学討論会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Satoshi Kodaira, Huizi Keiko Li, Teruaki Konishi, Hisashi Kitamura, Mieko Kurano, Sumitaka Hasegawa
2. 発表標題 Radiation dosimetry of $\alpha$ -particle emission from $^{211}\text{At}$ -labeled antibodies in single cells for cancer radioimmunotherapy using CR-39 plastic nuclear track detectors
3. 学会等名 27th International Conference on Nuclear Tracks and Radiation Measurements (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Satoshi Kodaira, Tamon Kusumoto, Teruaki Konishi
2. 発表標題 Single cellular dosimetry with ion track detection technology
3. 学会等名 IAEA Technical Meeting on Imaging Using Ionizing Radiation to Address Biological Challenges, Nov. 30-Dec. 3, 2020 (Online meeting) (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	楠本 多聞  (Kusumoto Tamon)  (90825499)	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・高度被ばく医療センター 計測・線量評価部・博士研究員    (82502)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------