

令和 2 年 6 月 19 日現在

機関番号：13401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19448

研究課題名（和文）アルツハイマー病に対する粒子線・オージェ電子コンビネーション療法の開発

研究課題名（英文）Development of new radiation therapy for Alzheimer's disease using a combination of particle beam and auger electron

研究代表者

清野 泰（Kiyono, Yasushi）

福井大学・高エネルギー医学研究センター・教授

研究者番号：50305603

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：急速な高齢化に伴い、アルツハイマー病をはじめとする痴呆性疾患が増加しているが、その治療法がないことが社会問題のひとつになっている。そこで、老人斑の主要な構成成分であるアミロイド（A β ）凝集体に放射線を照射して凝集体を分解可能であることを目的に検討を行った。粒子線の1つである陽子線をA β 凝集体に100 Gy照射して、チオフラビンT法と透過型電子顕微鏡にてA β 凝集体の変化を観察したが、陽子線を照射していないA β 凝集体との間に大きな変化は認められなかった。このことより陽子線100 Gyの照射ではA β 凝集体を分解することは困難であることが確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、A β 凝集体に放射線を照射して凝集体を分解することにより、これまでに試みられたことのない全く新しいADの治療法が開発できるのではと考え検討を行ったが、残念ながら100 Gyの陽子線でA β 凝集体を分解することは困難であることが明らかとなった。しかし、100 Gyよりも少ない10 Gyの陽子線でがん細胞が死滅することを我々をはじめ多くの研究者が報告しているため、A β 凝集体がなぜ放射線で分解しないのかを研究していくことにより、全く新しい治療法を開発できる可能性を秘めており、そういう観点から見ると意義のある結果であったと考える。

研究成果の概要（英文）：In aging society, Alzheimer's disease and other dementia diseases are on the rise, and the lack of effective treatments are the big problems. Therefore, we investigated whether it is possible to disassemble the amyloid- β (A β) aggregates, which are the major component of senile plaques, by the radiation. The A β aggregates were irradiated with 100 Gy of proton beams, one of the particle beams, and then, were observed by the thioflavin T method and transmission electron microscopy. However, there were no difference between 100 Gy irradiated group and 0 Gy irradiated group. This indicates that it is difficult to disassemble A β aggregates by 100 Gy proton irradiation.

研究分野：分子イメージング

キーワード：A β 凝集体 粒子線 オージェ電子 内照射治療

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 急速な高齢化に伴い、アルツハイマー病(AD)をはじめとする痴呆性疾患の増加が社会問題のひとつになっている。AD 発症までの最も初期段階の特徴的な脳病変として、老人斑の沈着が知られている。この老人斑の主要な構成成分であるアミロイド (A) 凝集体をイメージングする PET プローブが開発され、早期発見が可能な時代になってきている。しかし、治療に関しては未だ有効な治療法が確立していないのが現状である。そこで申請者は、A 凝集体に放射線を照射して凝集体を分解することにより、これまでに試みられたことのない全く新しいADの治療法が開発できるのではと考えた。

(2) 申請者は、PETによる粒子線治療(陽子線および炭素線)のがん治療効果を予測する基礎研究を行っており、通常のX線治療に比べて殺細胞効果が高いこと、低酸素環境下でも治療効果が高いことから細胞内分子に対する直接作用が大きいことを観察してきた。また、粒子線はBraggピークという性質を持ち、標的部位にのみエネルギーを集中させることが可能である。一方で、がん細胞内に非常に飛程の短い放射線であるオージェ電子を放出する放射性薬剤を集積させ、がん細胞を内部から破壊していく分子標的照射治療の開発研究も申請者は行っている。申請者の提案してきた分子標的照射治療は、飛程の短い放射線を使用することから、標的のみを破壊できる、副作用の少ない非常に有用な方法である。

(3) このような背景の元、物質との相互作用の大きな放射線である粒子線とオージェ電子を組み合わせることで照射することにより、ADの原因物質であるA凝集体を分解できるのではないかとこの着想に至った。

2. 研究の目的

本研究は、ADに対する粒子線・オージェ電子コンビネーション治療を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) A凝集体の調製

市販の490 μMに調製したA (1-40)溶液 25 μL、0.5 Mリン酸緩衝溶液(pH 7.5)と5 M塩化ナトリウム溶液の5:1 (v/v) 混合液 30 μL、超純水 192.5 μL、5%アジ化ナトリウム水溶液 2.5 μLを混ぜ合わせ、37 °Cにて静置した。7日後に生成した凝集体を15000 rpm(90分)で遠心沈降させた後、ペプチド濃度が100 μMとなるように0.05%アジ化ナトリウム入りPBSに懸濁させることでA (1-40)凝集体の核を形成した。

A (1-40)の核溶液 50 μLに490 μM A (1-40)溶液 50 μL、超純水 346 μL、0.5 Mリン酸緩衝溶液(pH 7.5)と5 M塩化ナトリウム溶液の5:1 (v/v) 混合液 54 μLを加え、37 °Cで3時間静置することによってA (1-40)の凝集体を形成した。溶液を100 μL毎に分注し、以下の実験に供した。

(2) 陽子線照射実験

凝集体サンプルへの陽子線照射は若狭湾エネルギー研究センターに設置された多目的シンクロトロン・タンデム加速器システムを使用し、6 Gy/minで100 Gy照射した。

(3) 凝集体の評価

サンプル溶液中のタンパク濃度の定量はBradford法にておこなった。

凝集体形成の確認はチオフラビンT法(ThT法)を用いた。測定用のチオフラビンT溶液として、100 μMチオフラビンT溶液 5 mL、0.5 M Glycine-NaOH (pH 8.5)、超純水 85 mLを混合して調製した5 μMチオフラビンT溶液 1 mLにサンプル溶液を5 μL加え、よく混合したものを用いた。蛍光スペクトルは励起波長を440 nmとして測定した。また、蛍光強度の評価は490 nmの蛍光強度の6回測定の平均値を用いた。

凝集体の形態変化は透過型電子顕微鏡(日立H-7650, Accelerating Voltage: 80 keV)にて観察した。撮像は親水化処理したCuグリッド上にサンプルを乗せたのちに、1%リンタングステン酸溶液でネガティブ染色したものをを用いた。

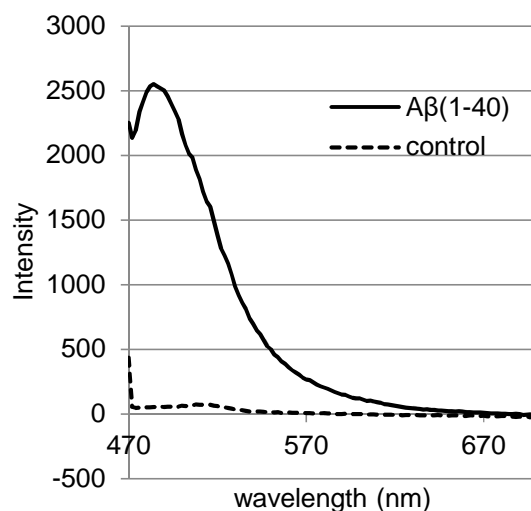


Figure 1. Thioflavin emission spectrometry of A (1-40) aggregate and control solution

(4) A 凝集体用内照射薬剤の合成

A 凝集体に結合するヨウ素を持つ化合物を設計合成した。このヨウ素化合物を前駆体として、放射性臭素-77をサイクロトロンで合成し、ヨウ素-放射性臭素交換反応によりA 凝集体用内照射薬剤の合成を行った。

4. 研究成果

(1) A 凝集体の調製

A (1-40)溶液にA (1-40)凝集体の核溶液を加えることで、速やかに凝集体が形成した。凝集体の形成をチオフラビンT法 (Figure 1) ならびにTEM観察によって確認した。

(2) 陽子線照射と陽子線がA (1-40)凝集体に及ぼす効果

サンプルに対して、6 Gy/minの線量率で100 Gyの陽子線を照射した。

照射後、チオフラビンT法による蛍光測定を行った。チオフラビンT由来の490 nm 蛍光強度はA (1-40)の繊維形成に従い増大することが知られているが、今回、陽子線を照射しないControl群と100 Gy照射群の群間に蛍光強度の有意な差は認められなかった。

Figure 2にそれぞれの溶液を透過型電子顕微鏡 (TEM) にて観察した結果を示す。いずれの群からも大きな凝集体の塊が観察された (Figure 2a, 2c)。任意の繊維を拡大し、個々の繊維についても観察を行ったが、繊維の断片化、形状の変化などの見た目の変化は観察されなかった (Figure 2b, 2d)。

今回の実験結果は陽子線100 Gy照射がA (1-40)凝集体に及ぼす影響は殆どない又は軽微であることを示していると考えられる。

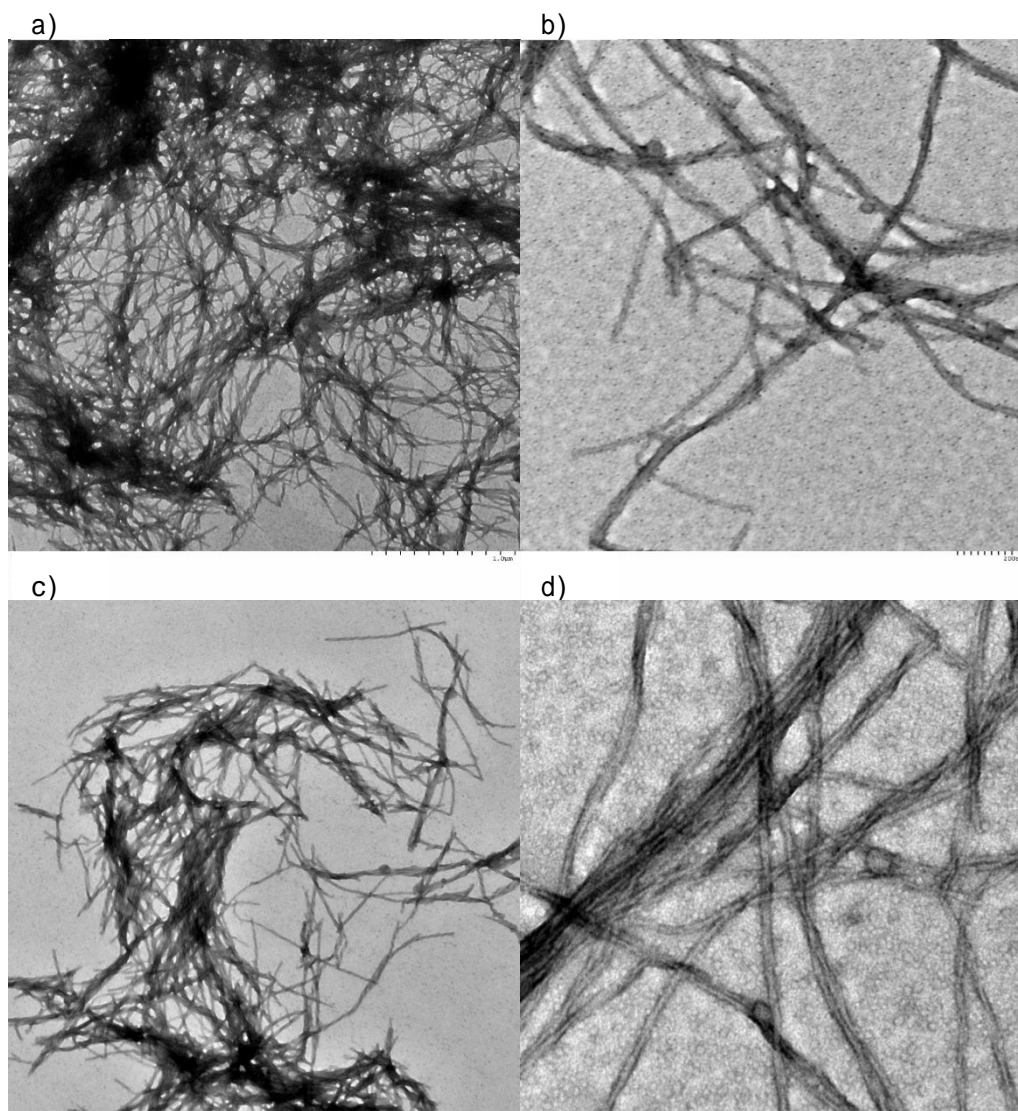


Figure 2. TEM images of A (1-40) aggregate solution of (a,b) control: 0 Gy and (c,d) 100 Gy radiation exposure. Scale bar; (a,c) 2.0 μm , (b,d) 200 nm

(3) A 凝集体用内照射薬剤の合成

ヨウ素-放射性臭素交換により Br-77 標識 A 凝集体用内照射薬剤の合成を試みたが、反応が進行せず、その合成は達成できなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	久米 恭 (Kume Kyo) (50359238)	公益財団法人若狭湾エネルギー研究センター・研究開発部・室長 (83401)	
研究分担者	小野 正博 (Ono Masahiro) (80336180)	京都大学・薬学研究科・教授 (14301)	