

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 18 日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659556

研究課題名(和文) 極小量子ビームを用いた細胞内元素分布解析による疾患機序の解明

研究課題名(英文) Analysis for disease mechanism by intracellular elements using microparticle beam

研究代表者

櫻井 英幸 (SAKURAI, Hideyuki)

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：50235222

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)： 現代社会においては、微量金属が環境から摂取され、様々な疾患の原因となっている。また、微量金属がパーキンソン病など難病との関連が示されているとともに、癌治療では薬剤として用いられている。本研究は、これらの微量元素の細胞内分布を測定することで、疾患のメカニズムや治療効果発現メカニズムを解析した。異型性肺炎の肺組織の解析では、鉄、ニッケル、クロム、アルミニウムなどの多数の元素が同時に検出され、画像化された。培養細胞を用いた検討では、プラチナの動態を測定することにより、細胞内で核への取り込みが、定量的に観察することが可能であった。本研究は、現代における難病の科学的確定診断に有用であると考えられた。

研究成果の概要(英文)： In the present generation, the trace elements are taken in human body and these cause several disease. The trace elements have shown close correlation of treatment resistant disease, such as Parkinson disease. In cancer therapy, some trace elements are used as an anticancer agent. In this research, mechanisms of disease & treatment effect are analyzed by measuring trace element distribution in cell. In analysis for sample from atypical pneumonia, many elements, such as iron, nickel, chromium, aluminum, were seen simultaneously as one image. By using cultured cells in vitro, uptake of cis-platinum to cells were seen, and amount of platinum could be estimated. This study is useful for scientific diagnosis for treatment resistant disease in recent society.

研究分野：放射線腫瘍学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：量子ビーム

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 現代社会では、水銀、鉛、ヒ素、アルミニウム、カドミウムなどの有毒重金属が、環境または食物などから人体に摂取されており、さまざまな疾患の誘因となっている。また、亜鉛、アルミニウム等の微量金属がアルツハイマー病やパーキンソン病と関与している可能性や、がん化学療法ではプラチナを含む製剤が頻用されている。本研究は、マイクロビームを微細にスキャンする技術(大気マイクロピクシー)によって、細胞内の各種元素の分布を定量化し、がん、脳神経疾患、重金属病などの発生機序や治療効果発現メカニズムを明らかにするための診断法の開発を行う。

(2) 体内に取り込まれた微小元素をマイクロレベルで、明瞭に画像化することはこれまで困難であった。しかし、マイクロビームを微細にスキャンする技術(大気マイクロピクシー)によって、細胞内の各種元素の分布が、一度の測定できわめて明瞭に測定できる可能性がでてきた。

## 2. 研究の目的

ヒト肺組織(手術標本)内の金属粒子の種類を検出し、病態との関連性を明らかにすること。次に、培養がん細胞の元素分布とプラチナ系薬剤感受性、薬剤耐性との関連性を明らかにすることを目的とした。

がん化学療法における効果発現が予想できるようにするばかりでなく、肺組織の金属粒子の種類がわかるようになれば、吸入歴が証明され中皮腫などの将来の発がん性の予測が可能となる。脳疾患では、微量元素による病態のなりたちを迫れる可能性を秘めている。

## 3. 研究の方法

(1) マイクロピクシー技術は、物理工学系の分析に用いられている研究手法で、基本的には、真空のなかで、物質の組成を解析するための装置であった。マイクロピクシー測定を大気中に取り出し測定可能にすることによって、生体の観察が可能になったため、本研究では、微少プロトンビームにより検体を観察した。

肺組織の測定に先立って、粒度分布測定用標準粉末、岩石標準試料、を用いて正しく測定が可能かどうかを確認する。肺標本については、粉塵やアスベストの暴露肺、中皮腫などのヒト組織を用いて標本作製する。細胞や組織中の重金属の定性的、定量的解析を行う。

培養細胞と実験動物を用いてシスプラチンの細胞内の取り込みに再現性があることを確認する。薬剤の細胞内取り込みの初期段

階から、細胞内の拡散、核への集積、細胞形態の変化、細胞死のいろいろな段階で、プラチナとともにP, S, Cl, Kなどの常在する元素を画像化し、それぞれの元素の動きを定量化し、画像解析を行う。

## (2) 実験細胞、動物

培養型で増殖可能なヒト正常細胞、癌細胞を有している。すでに、遺伝的な背景が異なる変異細胞も培養系で樹立している。実験動物(マウス、ラット)飼育と実験を行う施設も学内に設置されている。

## (3) 標準物質

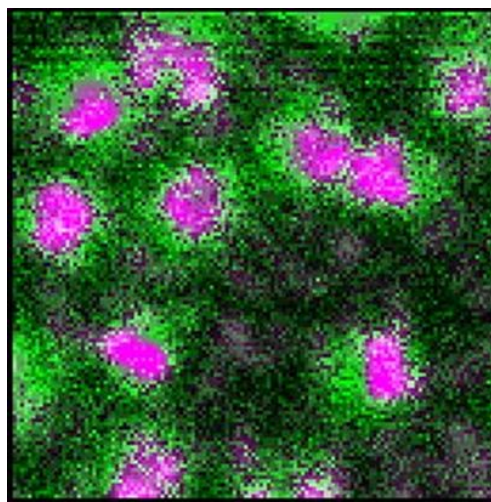
標準物質として、プラチナを含む凍結乾燥した寒天、粒度分布測定用標準粉末、岩石標準試料、または金属粉そのものを用いて標準測定を行う。

## (4) 標本の作製

マイラー膜上に細胞を培養し、洗浄の後、凍結乾燥を行う。特定の金属を接触させた動物組織では、薄切標本をマイラー膜に載せて、同様に標本作製する。

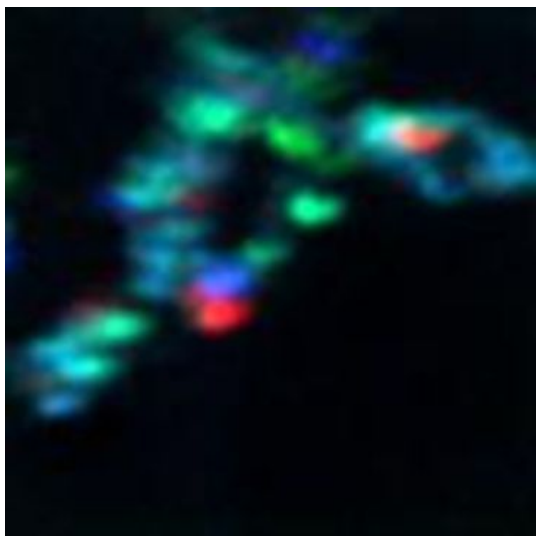
## 4. 研究成果

(1) 寒天内にシスプラチンを包埋し、濃度別の標準サンプルを作成し、測定を行ったところ、本測定法には直線的な定量性があることが明らかとなった。培養がん細胞にシスプラチンを接触させ画像化したものが下記の図であるが、細胞質(緑色)よりも核(ピンク色)に多くのプラチナが取り込まれていることが明らかであった。



また、同じ濃度のシスプラチンを投与し接触時間を変えてサンプルを作り測定したところ、時間依存性に細胞内濃度の上昇が認められ、その現象を定量的に評価することが可能であった。

(2) 岩石標準試料，または金属粉そのものを用いて標準測定を行ったところ，微量金属の検出が可能であった．異型性肺炎患者の肺組織を用いた検討では，吸入によると思われる多数の金属の粒子が組織内に観察され，それぞれが同時に画像化が可能であった，



上図では，ケイ素（緑色），鉄（赤），アルミニウム（青）で示される元素が描出されている．

#### 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 26 件）すべて査読有

Kanemoto A, Okumura T, 他 13 名(15 番目): Outcomes and prognostic factors for recurrence after high-dose proton beam therapy for centrally and peripherally located stage I non-small-cell lung cancer. Clin Lung Cancer. 2014;15(2):e7-12.

doi: 10.1016/j.clonc.2013.11.002.

Sakurai H, Kurishima K, 他 6 名: Isolated solitary brain metastasis as a relapse of small cell lung cancer. Oncol Lett. 2013;6(4):1108-1110.

Doi: 10.3892/ol.2013.1489

Abei M, Okumura T, 他 16 名 (12 番目): A phase I study on combined therapy with proton-beam radiotherapy and in situ tumor vaccination for locally advanced recurrent hepatocellular carcinoma. Radiat Oncol. 2013 ;8:239. doi: 10.1186/1748-717X-8-239.

Isobe T, Mori Y, 他 7 名(8 番目): Evaluation of vegetables in Tsukuba for contamination with radioactive

materials from the accident at Fukushima Daiichi nuclear power plant. Health Phys. 2013;105(4):311-7. doi: 10.1097/HP.0b013e3182895759.

Mizumoto M, Okumura T, 他 8 名(9 番目): Reirradiation for recurrent malignant brain tumor with radiotherapy or proton beam therapy. Technical considerations based on experience at a single institution. Strahlenther Onkol. 2013;189(8):656-63.

doi: 10.1007/s00066-013-0390-6.

Oshiro Y, Sakurai H: The use of proton-beam therapy in the treatment of non-small-cell lung cancer. Expert Rev Med Devices. 2013;10(2):239-45. doi: 10.1586/erd.12.81.

Mizumoto M, Hashii H, 他 6 名(8 番目): Proton beam therapy for malignancy in Bloom syndrome. Strahlenther Onkol. 2013;189(4):335-8.

doi: 10.1007/s00066-012-0274-1.

Isobe T, Mori Y, 他 4 名(5 番目): Robust technique using an imaging plate to detect environmental radioactivity. Health Phys. 2013;104(4):362-5.

doi: 10.1097/HP.0b013e31827d41a9.

Satoh T, Matsumoto K, 他 9 名(10 番目): Incidence of venous thromboembolism before treatment in cervical cancer and the impact of management on venous thromboembolism after commencement of treatment. Thromb Res. 2013;131(4):e127-32.

doi: 10.1016/j.thromres.2013.01.027.

Kanemoto A, Mizumoto M, 他 9 名(11 番目): Dose-volume histogram analysis for risk factors of radiation-induced rib fracture after hypofractionated proton beam therapy for hepatocellular carcinoma. Acta Oncol. 2013;52(3):538-44.

doi: 10.3109/0284186X.2012.718094.

Hong Z, Kase Y, 他 11 名(11 番目): Lineal energy-based evaluation of oxidative DNA damage induced by proton beams and X-rays. Int J Radiat Biol. 2013;89(1):36-43.

doi: 10.3109/09553002.2012.715791.

Hashii H, Hashimoto T, 他 8 名(10 番目): Comparison of the effects of high-energy photon beam irradiation (10 and 18 MV) on 2 types of

implantable cardioverter-defibrillators. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2013;85(3):840-5. doi: 10.1016/j.ijrobp.2012.05.043.  
Hashii H, Hashimoto T,他 8 名(10 番目): Comparison of the effects of high-energy photon beam irradiation (10 and 18 MV) on 2 types of implantable cardioverter-defibrillators. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2013;85(3):840-5. doi: 10.1016/j.ijrobp.2012.05.043.  
Hong Z, Kase Y, 他 11 名(11 番目): Lineal energy-based evaluation of oxidative DNA damage induced by proton beams and X-rays. *Int J Radiat Biol.* 2013;89(1):36-43. doi: 10.3109/09553002.2012.715791.  
Kanemoto A, Mizumoto M,他 9 名(11 番目): Dose-volume histogram analysis for risk factors of radiation-induced rib fracture after hypofractionated proton beam therapy for hepatocellular carcinoma. *Acta Oncol.* 2013;52(3):538-44. doi: 10.3109/0284186X.2012.718094.  
Fukumitsu N, Hashimoto T,他 7 名(9 番目): Investigation of the geometric accuracy of proton beam irradiation in the liver. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012;82(2):826-33. doi: 10.1016/j.ijrobp.2010.10.028.  
Fukumitsu N, Ishida M,他 8 名(10 番目): Reproducibility of image quality for moving objects using respiratory-gated computed tomography: a study using a phantom model. *J Radiat Res.* 2012;53(6):945-53. doi: 10.1093/jrr/rrs039.  
Fukumitsu N, Okumura T,他 12 名(14 番目): Outcome of T4 (International Union Against Cancer Staging System, 7th edition) or recurrent nasal cavity and paranasal sinus carcinoma treated with proton beam. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012;83(2):704-11. doi: 10.1016/j.ijrobp.2011.07.032.  
Fukumitsu N, Oshiro Y,他 7 名(9 番目): Verification of beam delivery using fibrosis after proton beam irradiation to the lung tumor. *Lung Cancer.* 2012;77(1):83-8.

doi: 10.1016/j.lungcan.2012.01.007.  
Hashimoto T, Isobe T, 他 8 名(10 番目): Influence of secondary neutrons induced by proton radiotherapy for cancer patients with implantable cardioverter defibrillators. *Radiat Oncol.* 2012;7:10. doi:10.1186/1748-717X-7-10.

- ⑳ Ishikawa H, Hashimoto T,他 4 名(6 番目): [Advances in highly conformal radiotherapy for prostate cancer: past, current, and future.] *Igaku Butsuri.* 2012;32(3):138-47. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24592684>
- ㉑ Kanemoto A, Oshiro Y,他 6 名(8 番目): Proton beam therapy for inoperable recurrence of bronchial high-grade mucoepidermoid carcinoma. *Jpn J Clin Oncol.* 2012;42(6):552-5. doi: 10.1093/jjco/hys047.
- ㉒ Mizumoto M, Okumura T,他 15 名(17 番目): Evaluation of liver function after proton beam therapy for hepatocellular carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012;82(3):e529-35. doi: 10.1016/j.ijrobp.2011.05.056.
- ㉓ Okonogi N, Hashimoto T,他 6 名(8 番目): Designed-seamless irradiation technique for extended whole mediastinal proton-beam irradiation for esophageal cancer. *Radiat Oncol.* 2012;7:173. doi: 10.1186/1748-717X-7-173.
- ㉔ Onozawa M, Miyanaga N,他 10 名(10 番目): Analysis of Intravesical Recurrence After Bladder-preserving Therapy for Muscle-invasive Bladder Cancer. *Jpn J Clin Oncol.* 2012;42(9):825-30. doi: 10.1093/jjco/hys105.
- ㉕ Oshiro Y, Mizumoto M,他 10 名(12 番目): Results of proton beam therapy without concurrent chemotherapy for patients with unresectable stage III non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2012;7(2):370-5. doi: 10.1097/JT0.0b013e31823c485f.

[学会発表](計 25 件)

Fukushima H, et al: Suprasellar GCT and endocrinopathy; duration of symptoms

and outcome. 第 55 回日本小児血液・がん学会学術集会/第 11 回日本小児がん看護学会/第 18 回公益財団法人がんの子どもを守る会公開シンポジウム. 福岡. 2013.11.29-12.1

Suzuki R, et al: Multidisciplinary therapy including proton beam therapy for Ewing's sarcoma family of tumors. 第 55 回日本小児血液・がん学会学術集会/第 11 回日本小児がん看護学会/第 18 回公益財団法人がんの子どもを守る会公開シンポジウム. 福岡. 2013.11.29-12.1

Makishima H, et al: Comparison of adverse effects proton and X-ray chemoradiotherapy for oesophageal cancer using an adaptive dose-volume histogram. The European Cancer Congress 2013. Amsterdam, Holland. 2013.9.27-10.1

Takizawa D, et al: Proton beam therapy for a patient with large rhabdomyosarcoma of the body trunk. 45th Congress of the International Society of Paediatric Oncology. Hong Kong, China. 2013.9.25-28

Mizumoto M, et al: Proton beam therapy for pediatric patients with pediatric ependymoma. 45th Congress of the International Society of Paediatric Oncology. Hong Kong, China. 2013.9.25-28

Yamanashi K, et al: Verification of the new BNCT treatment planning system in Tokyo. 7th Young Researchers' Boron Neutron Capture Therapy Meeting. Granada, Spain. 2013.9.22-26

Aihara T, et al: Boron-neutron capture therapy for newly diagnosed head and neck cancer in initial treatment. 7th Young Researchers BNCT Meeting. Granada, Spain. 2013.9.22-26

Okumura T, et al: Long-term survival in patients with hepatocellular carcinoma initially treated with definitive proton beam therapy. 55th Annual Meeting of the American Society for Radiation Oncology (ASTRO2013). Atlanta, Georgia, USA. 2013.9.22-24

Ishikawa H, et al: Preliminary results of concurrent chemoradiation therapy using proton beam therapy for esophageal cancer. 55th Annual Meeting of the American Society for Radiation

Oncology (ASTRO 2013). Atlanta, Georgia, USA. 2013.9.22-24

Aihara T, et al: Boron-neutron capture therapy for advanced maxillary sinus cancer: two case reports. 16th Asian Research Symposium in Rhinology. Tokyo, Japan. 2013.8.29-31

Takada K, et al: Simulation of the Secondary Radiation Dose in Boron Neutron Capture Therapy. RSNA 98th Scientific Assembly and Annual Meeting of North America, Chicago, USA. 2012.11.25-30

Takada K, et al: The proposal of radiotherapy planning system for BNCT in consideration of an exposed dose to whole body. 15th International Congress on Neutron Capture Therapy, Tsukuba, Japan. 2012.9.10-14

Sakurai H: Proton beam therapy at University of Tsukuba -present & future-. 15th International Congress on Neutron Capture Therapy (ICNCT-15), Tsukuba, Japan. 2012.9.10

Takada K, et al: Evaluation of the radiation dose for whole body in boron neutron capture therapy. 12th International Conference on Radiation Shielding & 17th Topical Meeting of the Radiation Protection and Shielding Division of ANS, Nara, Japan. 2012.9.2-7

Kobayashi D, et al: Reduction of heat sensation of a patient using the silicone gel. The 11th International Congress of Hyperthermic Oncology/The 29th Japanese Congress of Thermal Medicine (ICHO & JCTM 2012), Kyoto, Japan. 2012.8.28-31

Takada K, et al: The optimal heating method for superficial tumors. The 11th International Congress of Hyperthermic Oncology/The 29th Japanese Congress of Thermal Medicine (ICHO & JCTM 2012), Kyoto, Japan. 2012.8.28-31

Sakurai H: Proton beam therapy for cancer treatment at Tsukuba.

International Seminar for Funding Program for World-Leading Innovative R&D on Science and Technology, Sapporo, Japan. 2012.7.24

Terunuma T, et al: Simulation of dose

decrease effect for gated fluoroscopic imaging of tumor tracking system. The 31st Sapporo International Cancer Symposium 2012, Sapporo, Japan. 2012.7.23-24

Yasuoka K, et al: A supporting system for determination of patient calibration constants at PMRC in proton beam therapy. The 31st Sapporo International Cancer Symposium 2012, Sapporo, Japan. 2012.7.23-24

Tsuboi K, et al: Cell inactivation ability and mechanism of clinical high-energy proton beams. The 31st Sapporo International Cancer Symposium 2012, Sapporo, Japan. 2012.7.23-24

- ⑳ Sakae T, et al: Conformal proton irradiation by multi-layer energy filter. The 31st Sapporo International Cancer Symposium Advanced Radiation Therapy and Cancer Research, Sapporo, Japan. 2012.7.23-24
- ㉑ Sauerwein W.A.G, et al: A Japanese-German project: Research and Development in BNCT and charged particle Therapy. PTCOG51, Coex, Seoul, Korea. 2012.5.17-19
- ㉒ Mizumoto M, et al: Association between life prognosis and pretreatment liver function of proton beam therapy for the patients with HCC. ESTRO31, Barcelona, Spain. 2012.5.9-13
- ㉓ Oshiro Y, et al: Preliminary clinical results of proton beam therapy for advanced neuroblastoma. ESTRO 31, Barcelona, Spain. 2012.5.9-13
- ㉔ Tsuboi K, et al: Reirradiation for recurrent malignant brain tumor with X-ray radiotherapy or proton beam therapy. ESTRO31, Barcelona, Spain. 2012.5.9-13

[ 図書 ] ( 計 4 件 )

Sakurai H, Okumura T, Sugahara S, Nakayama H, Tokuyue K: Chapter13 Proton therapy for thoracoabdominal tumors. U.Linz, ed, Ion Beam Therapy, Heidelberg, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2012, Total number of pages 729, pp207-222, 2012  
doi: 10.1007/978-3-642-21414-1.

磯辺智範, 柴武二, 櫻井英幸: 総論第4章 E陽子線, 総論第5章 E陽子線, 井上

洋編, Textbook of Radiosurgery 放射線外科治療の進歩(第1版) 大阪, 日本放射線外科学会/MCメディカ出版(総ページ数250p), pp44-50, pp81-87, 2012

橋本孝之, 櫻井英幸: 各論7章 腹部(26) 肝臓, 井上洋編, Textbook of Radiosurgery 放射線外科治療の進歩(第1版) 大阪, 日本放射線外科学会/MCメディカ出版(総ページ数250p) pp238-242, 2012

櫻井英幸, 井上洋: 総論6章 放射線外科治療の注意事項, 組織の耐用線量, 合併症とその管理, 井上洋編, Textbook of Radiosurgery 放射線外科治療の進歩(第1版) 大阪, 日本放射線外科学会/MCメディカ出版(総ページ数250p) pp93-100, 2012

[ 産業財産権 ]  
出願状況 ( 計 件 )

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
国内外の別 :

取得状況 ( 計 件 )

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
取得年月日 :  
国内外の別 :

[ その他 ]

ホームページ等  
<http://www.pmrc.tsukuba.ac.jp/>  
<http://www3.pmrc.tsukuba.ac.jp/>

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

櫻井 英幸 ( SAKURAI, HIDEYUKI )  
筑波大学・医学医療系・教授  
研究者番号 : 50235222

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

( )

研究者番号 :