

PINPOINT ATTACK ON CANCER CELL WITH IONS

Kazuo Arakawa

Department of Advanced Radiation Technology

Takasaki Advanced Radiation Research Institute, Japan Atomic Energy Agency

1233 Watanuki-machi, Takasaki, Gunma 370-1292

21st Century COE Program, Gunma University Graduate School of Medicine, Maebashi, 371-8511

Abstract

Microbeam technology is indispensable in bio-scientific research, for example the investigation of cell-to-cell communications such as bystander effects, the analysis of cellular spatial sensitivity, the interaction of damage caused by individual irradiation, cellular repair dynamics, and intra-cellular processes such as apoptosis. A single-ion hit technique using the heavy-ion microbeam is being developed at JAEA AVF cyclotron facility for elucidate of biofunctions. A heavy ion microbeam system was developed using a beam collimator with a 5 μm diameter hole. In the new system the microbeam spot was focused to 0.7 μm in diameter using focusing lenses. The PIXE analysis has been widely applied in the fields of biology and medicine. The use of micro-beams allows analyzing trace elements on the cellular level as well. In Air Micro-PIXE images the elemental distribution in the cell by scanning the micro-beams. Biological effects of heavy ion particle beams are markedly more potent, and the dose distribution of heavy ion particle beams is more concentrated than those of X-ray and gamma ray. Therefore, radiotherapy using heavy ion particle beams not only improves the prognosis of cancer patients, but significantly contributes to improvement of their quality of life by conserving the function and morphology of affected organs. A highly precise carbon ion microsurgery system will be developed to treat various small tumours based on the technique of microbeam formation.

がん細胞をピンポイントで狙う

1. はじめに

近年、数MeV以上の高いエネルギーに加速したイオンビームを極めて細く集束させる技術が開発され、がん細胞をピンポイントで正確に狙い撃ちすることができるようになった。その狙い撃ち精度は、1マイクロメートル(1 μm : 1000分の1mm)であり、生物細胞の大きさ(10~100 μm)に比べ十分小さい。マイクロメートルオーダーに集束されたイオンビームは、「イオンマイクロビーム」と呼ばれており、最新のイオン加速器技術がこれを可能にした。

安定なイオンマイクロビームの実現により、細胞を正確にピンポイントでイオン照射することが可能となった。これにより、数百keV/ μm 以上の高LET(Linear Energy Transfer:線エネルギー付与)を有する重イオンを用いて個別の細胞に対する放射線応答を調べることが可能となり、放射線の生物影響や生物機能を解明する新しい研究が始まった。また、1 μm の空間分解能で局所元素分析が可能となり、細胞レベルで元素の動態やがん細胞内への抗がん剤の取り込みの様子などを調べる研究が進められている。さらに、重イオン(重粒子)の線量分布の集中度が極めて高いという特徴を活かし、重イオンにより患部をピンポイントで狙い撃ちし、小さながんを切らずに治す「マイクロサージェリー治療」を目指した技術的な検討も始まった。

2. 細胞を狙い撃つ加速器技術

2.1 マイクロビーム形成技術

高エネルギーに加速されたイオンビームを μm オーダーに集束させる方法を「マイクロビーム形成法」という。マイクロビーム形成法には、(1)コリメーション法と(2)レンズ集束法がある(図1)。

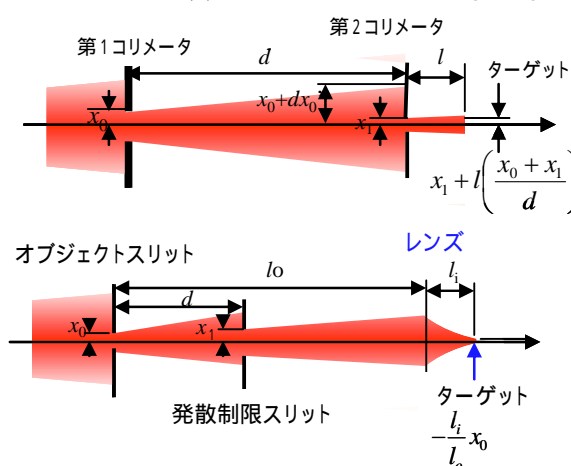


図1. マイクロビーム形成法(上; コリメーション法、下: レンズ集束法)

コリメーション法は、二つ以上のコリメータを組み合わせてビームを引き出す方法で、コリメータの役割を果たすマイクロアパチャーの製作精度は直径5 μm 程度が技術的な限界となっており、この口径でビームサイズが決まる。レンズ集束法は、電磁石等

を用いてイオンビームを集束させるもので、オブジェクトスリットと発散制限スリットにより集束前のイオンビームの物点を定め、四重極電磁石を用いてビームを集束させる方法である。

2.2 イオン加速器技術

加速器で単に加速したイオンビームを用い、電磁石で μm オーダーに集束させることは色収差の問題から困難である。日本原子力研究開発機構（以下、原子力機構）のマイクロビーム形成装置の場合、 $5\ \mu\text{m}$ の物点に対して $1\ \mu\text{m}$ の焦点を得るには、エネルギー幅（ E/E ）を 0.02% 以下に抑える必要がある。そこで、サイクロトロンにおいてエネルギー利得分布を平坦化したフラットトップ加速技術を開発した^[1]。通常、加速電圧波形は正弦波が用いられているため、サイクロトロンでは E/E が 0.1% 程度である。そこで、基本波共振器に第5高調発生用共振空洞を連結させ、基本波と第5高調波を同時に励振させて電圧波形を重畳し、フラットな加速電圧波形を得る技術を開発した（図2）。これにより、ビーム位相範囲 $\pm 8^\circ$ で、 0.02% のエネルギー幅が実現できる。

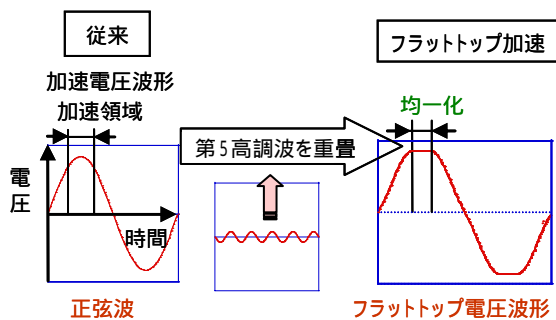


図2 フラットトップ電圧波形の形成法

マイクロビームを安定に形成するための重要な加速器技術として、ビーム強度の安定化技術がある。サイクロトロンはコンパクトで高エネルギーまでイオンを加速することが可能であるが、これまで世界のサイクロトロンではビームの安定度が問題となっていた。原子力機構では、サイクロトロンにおけるビーム変動を引き起こす原因が重量 200t の電磁石の温度変化であることをいち早く突き止め、電磁石温度制御システムを開発して温度安定化に成功した。図3は実測温度測定データに基づいて計算したサイクロトロン電磁石内部の温度分布で、初期温度 25 の鉄心部分が 10 程度上昇している。そこで、コイルの冷却水を一定に保つ方法と、発熱量が大きい主コイルには「定温板」を設置する方法により、温度変化を 1 まで抑制させた。また、サイクロトロンでは等時性磁場のための磁場勾配とRFノイズのために、NMRによる磁場測定が困難であった。そこで、磁場勾配補正コイルを装着したNMRプローブを開発し、ノイズ対策を施すことにより、ビーム加

速中でのサイクロトロン電磁石の高精度な磁場計測を実現した^[2]。これにより、電磁石の温度変化が引き起こす磁場の変化がビーム変動の直接の原因であることを明らかにした。磁場精密測定に基づいた電磁石温度の安定化対策の結果、磁場変動が 0.01% から 0.001% に改善され、世界で最も安定した磁場が実現でき、ビーム強度はほぼ一定となった（図4）^[3]。

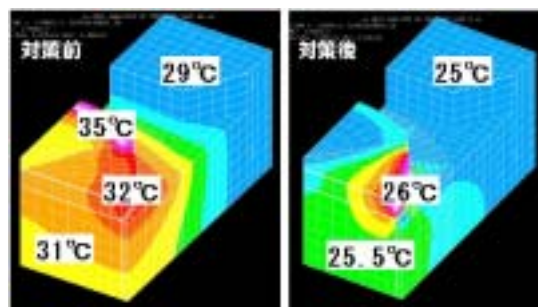


図3 電磁石温度のシミュレーション

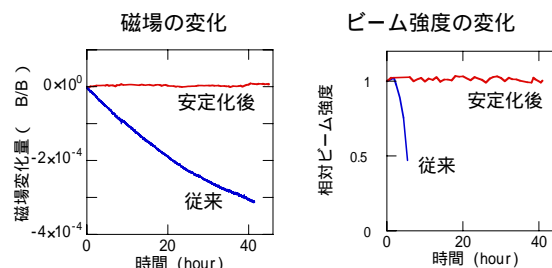


図4 磁場の変化とビーム強度の変化

3. がん細胞をピンポイントで狙い撃つ

原子力機構では、三つの細胞をピンポイントで狙う高精度のマイクロビーム形成装置を開発してきた。一つは、局所分析を目的として、 3MV シングルエンド加速器で加速した軽イオンをレンズ集束方式でマイクロビームを形成する装置である。他の二つは、生物細胞の照射を目的として、サイクロトロンで加速した数百 MeV の重イオンをコリメーション方式とレンズ集束方式でマイクロビームを形成する装置である。

3.1 がん細胞内の元素分布を見る

3MV シングルエンド加速器は、マイクロビームを形成することを目的として導入され、通常の静電加速器に比べ 1 桁以上高い電圧安定度（ $\pm 1 \times 10^{-5}$ ）を有しており、2連四重極電磁石により世界最高レベルのビーム径 $0.25\ \mu\text{m}$ を達成した^[4]。

軽イオンビームを物質に照射すると、X線が放出され、このX線は物質内に含まれる微量元素を分析することができる。この分析方法はPIXE (Particle Induced X-ray Emission: 粒子線励起X線放出) と呼ば

れ、医学、生物学、農学など広い分野で利用されている。そこで、このPIXE分析に3MeV水素イオンでビーム径1 μm のマイクロビームを用い、大気中で細胞試料の元素分布を測定できる「大気マイクロPIXE分析」システムを開発した(図6)^[5]。本装置により、大気中で1 μm の空間分解能で生物細胞の元素分布測定に世界で初めて成功した^[6]。この技術を用いて、細胞中に取り込まれた薬剤の細胞内分布や元素動態を調べることが可能になった。図7は肺腺癌細胞に抗癌剤(シスプラチン; Pt含有)が集積した様子を示したもので、Pは細胞の形状を、Ptは抗がん剤の分布を示している。Brは核に取り込まれることが良く知られている試薬(BrdU)を添加して測定した結果で、細胞核の位置を調べるためのものである^[7]。このように、細胞に含まれる元素分布測定から細胞レベルで代謝機能解明や疾病発症メカニズムを調べる研究が本格的に始められている。

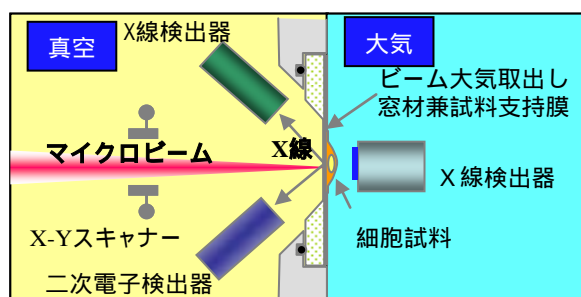


図6 大気マイクロPIXE分析システム

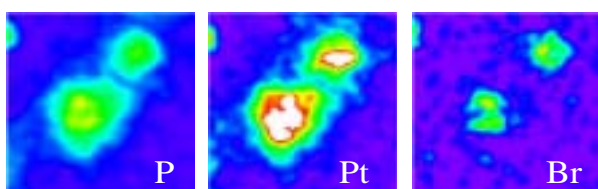


図7 肺腺癌細胞に取り込まれた抗癌剤の分布 (抗癌剤に含有しているPt)

3.2 細胞の放射線応答を調べる

細胞等に対する重粒子線照射実験を行なう場合、従来は、細胞に対しランダムに照射する方法しかなかった。このため、試料中に照射細胞と非照射細胞が混在し、照射効果が実験誤差の中に埋もれてしまうという問題があった。そこで、コリメーション方式により、マイクロビームを大気中に取り出し、顕微鏡観察下で個別の細胞試料を狙って局部照射する重イオンマイクロビーム形成装置を開発した^[8](図8)。マイクロアパチャーを交換することで、直径5~250 μm にビームサイズを任意に変更できる。また、サイクロトロンの入射系に設置したビーム減衰器とビームチョッパー(PB)を組み合わせ、細胞ヒット後の粒子検出器の信号によりPBの電場で高速にビームをオン・オフして、1個ず

つ任意のイオンの個数を細胞にヒットすることが可能な「シングルイオンヒット技術」を開発した^[9]。

これらの技術開発により、個別の細胞の放射線に対する応答を調べる研究が可能となり、細胞核に1個でも重イオンがヒットした細胞は、増殖がほぼ完全に抑制されることが分かった。さらに、核ではなく細胞質だけがヒットされた細胞や、照射細胞から離れている非照射細胞(バイスタンダー細胞)も、培地だけを照射した非照射コントロール細胞と比べて有意に増殖が阻害されるということが明らかにされた^[10]。

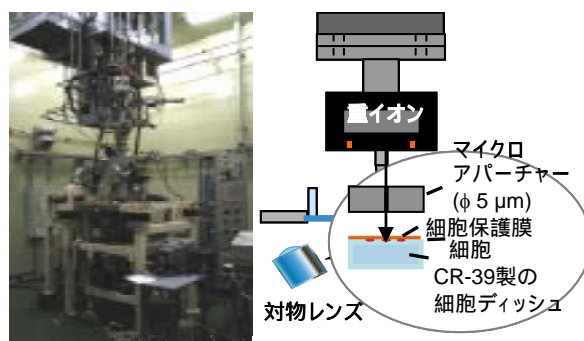


図8 重イオンマイクロビーム形成装置

コリメーション方式の場合、コリメータの製作精度の限界やコリメータ端部で生じる散乱イオンの影響などの問題から、さらに照準精度を高めることが難しい。また、試料ステージの移動により標的位置への試料の入れ替えが必要であるため、ヒット位置の高速変更・照準が難しい。そこで、2.2で述べた加速器技術の開発を行い、4連四重極電磁石を用いた重イオンマイクロビーム形成装置を開発し、ビーム径0.7 μm を達成した(図5)。

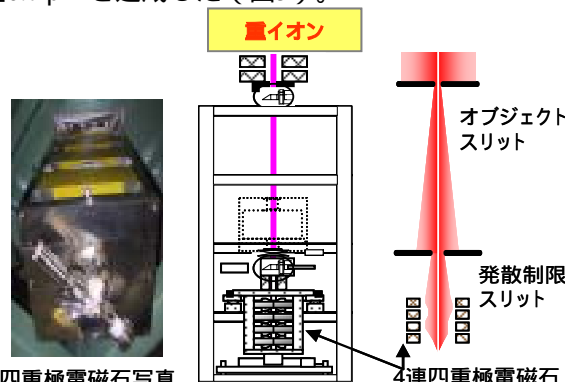


図5 レンズ集束方式の重イオンマイクロビーム形成装置

3.3 小さながんをピンポイントで治療する

重粒子線はX線や γ 線など通常の放射線より生物作用が2~3倍強力であり、さらに、線量分布の集中性が良いことから、通常の放射線治療で治癒困難な

いわゆる放射線抵抗性の悪性腫瘍に威力を発揮している。現在は比較的大きながんに対し、数cm～十数cmに広げたブロードビームによる治療照射が行なわれている。これに対し、より健全な組織や患部近傍の重要な臓器への余分な照射を極力避け、また、より小さな早期がんの治療を行なうために、「マイクロサージェリー治療技術」が提案されている^[1]。マイクロサージェリー治療技術とは、炭素イオンなどの重イオンのビームを細く絞り込み、高精度で人体の微小な病巣をピンポイント照射し、病気を治療する技術である。がんや血管性病変などの局所性疾患に応用することにより、体内の微小病変を手術することなく治癒させる治療法として期待されている。

マイクロサージェリー治療の想定症例として加齢黄斑変性症（以下黄斑変性症）と脳下垂体腫瘍（以下脳下垂体）について述べる。黄斑は目の網膜の中で視力に最も関わりが深く、色を識別する部分であり、この部分に新生血管が発生するのが黄斑変性症である。約40万人が罹患しており、高齢者の失明の原因の一つとなっている。脳下垂体は脳の下側の中心部に位置し、体のホルモン調節の中樞器官であり、腫瘍の発生によりホルモンのバランスが崩れ、様々な疾患が発症する。表1に医学的考察から要請される仕様を示す。

表1．医学的考察からの要請

	加齢黄斑変性症	脳下垂体腫瘍
目標照射領域	1mm X 1mm	30mm X 30mm
ビーム径	0.1～1.0mm	0.1～1.0mm
照射位置（深さ）	24mm	115mm
照射位置深さ調整	0.05mm	0.25mm
全照射線量	20 GyE	21 GyE
想定照射回数	10回	3回

体内深部の患部に対し、精密な照射を実現するために、100μm～1mmの細く平行なビーム（ペンシルビーム）を形成可能なシステムを計算コードを用いて設計した。設計したペンシルビーム形成システムの構成と機器の配置を図8に示す^[12]。

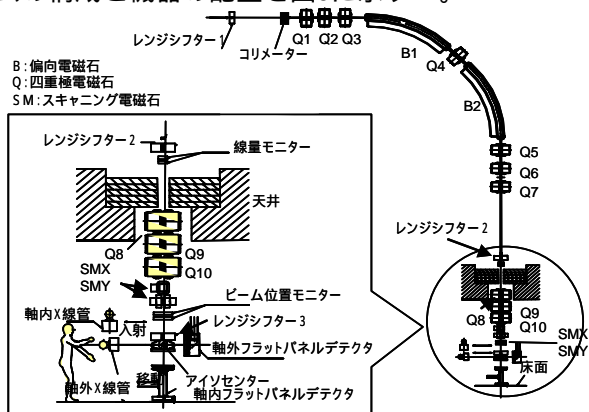


図8 ペンシルビーム形成システムの構成と機器配置

このペンシルビーム形成システムを用いて、照射深さ位置を調整するためのレンジシフターと縦・横方向にビームを走査するための電磁石を組み合わせ、重イオンが到達する位置をある間隔で制御しながら、点状に照射して線量を積み重ねてゆくディスクリート・スポットスキニング照射法を検討し、3次元照射した場合の線量分布の均一度をシミュレーションにより確認した。

4. まとめ

原子力機構のサイクロトロンでは、磁場の安定度 $B/B=1 \times 10^{-5}$ が達成され、また加速エネルギー幅 $E/E=0.02\%$ を実現した。これにより容易にかつ安定にマイクロビームを形成することが可能となり、細胞1個を精密に狙い撃ちできることが可能となった。現在、マイクロビームを更に長時間安定に形成・保持するための最大の課題は、加速器施設の室温の制御である。今後、サブマイクロオーダーのビームを安定に形成するためには、室温・冷却水温の精密制御、防振・電磁ノイズ対策が重要である。さらに、より高輝度のイオン源の開発と高感度の検出器の開発が必要不可欠である。

近い将来、マイクロサージェリー治療技術の開発が期待されているが、その実現のためには体内深部の患部の正確な位置検出方法と照準方法、深部3次元線量分布のリアルタイムモニター法などの様々な課題が残されている。これらの課題については、群馬大学21世紀COEプログラム「加速器テクノロジーによる医学・生物学研究」において、研究開発が進められている。18年度より建設整備が始められた群馬大学重粒子線治療施設では、平成21年度に臨床試験、治療照射の開始を目指している。本施設の第2期計画として、イオンマイクロサージェリー治療システムを搭載する予定である。

参考文献

[1] M. Fukuda, S. Kurashima, S. Okumura, N. Miyawaki, T. Agematsu, Y. Nakamura, T. Nara, I. Ishibori, K. Yoshida, W. Yokota, K. Arakawa, A Flat-top Acceleration System for the Variable-Energy and Multi-Particle AVF Cyclotron, Rev. Sci. Instrum., 74, 2293(2003).
 [2] S. Okumura, K. Arakawa, M. Fukuda, Y. Nakamura, W. Yokota, T. Ishimoto, S. Kurashima, I. Ishibori, T. Nara, T. Agematsu, T. Nakajima, Development of a magnetic field monitoring system for the JAERI AVF cyclotron, Nukleonica, Suppl. 48, S35(2003).
 [3] S. Okumura, K. Arakawa, M. Fukuda, Y. Nakamura, W. Yokota, T. Ishimoto, S. Kurashima, I. Ishibori, T. Nara, T. Agematsu, M. Sano, T. Tachikawa, Magnetic field stabilization by temperature control of an azimuthally varying field cyclotron magnet. Rev. Sci. Instrum., 76, 033301 (2005).
 [4] T. Kamiya, T. Suda, R. Tanaka, Sub-micron Microbeam Apparatus Using a Single-ended Accelerator with Very High Voltage Stability, Nucl. Instrum. Methods, B104, 43(1995).
 [5] S. Matsuyama, K. Ishii, A. Sugimoto, T. Satoh, K. Gotoh, H.

Yamasaki, S. Iwasaki, K. Murozono, J. Inoue, T. Hamano, S. Yokota, T. Sakai, T. Kamiya and R. Tanaka, Development of a micro-PIXE camera, *Int. J. PIXE*, 8,203(1998).

[6] A. Sugimoto, K. Ishii, S. Matsuyama, T. Satoh, K. Gotoh, H. Yamasaki, C. Akama, M. Satoh, T. Sakai, T. Kamiya, M. Oikawa, M. Saidoh, and R. Tanaka, Application of micro-PIXE camera to elemental analysis of single cell, *Int. J. PIXE*, 9, 151(1999).

[7] T. Nakano, K. Arakawa, H. Sakurai, M. Hasegawa, T. Tamamoto, K. Yuasa, E. Saito, H. Takagi, T. Kamiya, T. Satoh, M. Oikawa and T. Sakai, Research Disease Onset Mechanism by Determining the Distribution of Intercellular Trace Elements by Using an In-air Micro-PIXE analyzer system, *Int. J. PIXE* inpress.

[8] Y. Kobayashi, T. Funayama, S. Wada, Y. Furusawa, M. Aoki, C. Shao, Y. Yokota, T. Sakashita, Y. Matsumoto, T. Kakizaki, N. Hamada, Microbeam of heavy charged particles, *Biol. Sci. Space*, 18(4), 235(2004).

[9] T. Kamiya, W. Yokota, Y. Kobayashi, M. Cholewa, M. S. Krochmal, G. Lalen, I. D. Larsen, L. Fiddes, G. Parkhill, K. Dowsey, Development of an automated single cell irradiation system combined with a high-energy heavy ion microbeam system, *Nucl. Instrm. Methods*, B181, 27(2001).

[10] Y. Kobayashi, T. Funayama, S. Wada, M. Taguchi, H. Watanabe, Irradiation of single mammalian cells with a precise number of energetic heavy ions – Applications of microbeams for studying cellular radiation response, *Nucl. Instrm. Methods.*, B210, 308(2003).

[11] T. Nakano, Development and medical application of high-precision of high-precision carbon-ion micro-radio-surgery system, 1st Int. Symp, on Biomedical Research Using Accelerator Technology, 44(2005).

[12] 荒川和夫、福田光宏、島田博文、酒井卓郎、佐藤隆博、及川将一、上松敬、柏木啓次、奥村進、倉島俊、斉藤勇一、石井保行、宮脇信正、百合庸介、横田涉、神谷富裕、中野隆史、遊佐顕、加藤弘之、岸章治、佐藤拓、堀内康史、第1回高崎量子応用研究シンポジウム要旨集、35 (2006) .