

令和 4 年度
共用施設(PASTA&SPICE、NASBEE、X/ γ 線照射装置)
成果報告書

**2022 Annual Report of the Research Project with
NIRS Electrostatic Accelerators**

国立研究開発法人 量子科学技術研究開発機構
量子医科学研究所

令和4年度共用施設(PASTA&SPICE、NASBEE、X/γ線照射装置)

成果報告書

目次

PIXE 関連課題

課題番号	課題代表者 (所内対応者)	課題名 (演題)	報告書ページ
22PJ02	武田 志乃	組織中ウランの分布動態解析 (リンパ組織および骨組織の元素分布解析)	3
20PJ03	下川 卓志	重粒子線生物影響研究への元素分布解析の有効性検討	7
20PJ06	沼子 千弥 (武田 志乃)	環境から生体硬組織に蓄積されるウランおよび重金属元素の動態解析 (肋骨内元素分布と組織構造)	9
20PJ09	田中 泉	ウラン細胞内動態に関する研究 (腎尿細管領域由来 S2 および S3 細胞における元素分布解析)	13
22PJ05	上原 章寛	液体中ウランの簡易・迅速定量法の開発 (マイクロ PIXE 測定における液滴試料の安定性に関する検討)	17
22PH01	及川 将一	静電加速器棟(PASTA&SPICE)の高度化技術開発	21
22PJ08	丸山 敦 (及川 将一)	古書籍由来の毛髪および古建築物由来稲藁の PIXE 分析で食と農の変遷を追う (江戸時代の古書籍に漉き込まれた毛髪の PIXE 分析)	25
20PJ10	藤代 瞳 (武田 志乃)	腎臓内元素動態に関する研究 (シスプラチンばく露マウス腎臓における生命金属分布)	29
21PJ12	鈴木 道生 (武田 志乃)	無脊椎動物内の鉄、亜鉛およびカドミウム濃集部位の解析	31
21PJ13	小川 寛之 (武田 志乃)	マイクロ PIXE による神経組織中生命金属分布解析	35
22PJ14	高橋 良哉 (武田 志乃)	学習・記憶障害マウスと正常老化マウス脳・肝臓における微量元素分布解析	39
22PJ15	遠藤 暁 (山田 裕)	組織切片中放射性微量粒子探索試験	43

SPICE 関連課題

課題番号	課題代表者 (所内対応者)	課題名	報告書ページ
20SJ02	小西 輝昭	細胞核内局所線量付与誘発クロモソリプシス生成の研究 (クロモソリプシスに対する防御細胞応答メカニズムの解明)	51
22SJ01	小西 輝昭	SPICE-QST マイクロビーム R&D	55
21SJ04	大澤 大輔	DNA 損傷複雑性に対する DNA 二本鎖切断損傷・修復タンパク質の応答に関する研究 (SPICE マイクロビームを用いた DNA 損傷複雑性の時空間制御による DNA 二本鎖切断修復タンパク質の応答解析)	59
22SH05	黒澤 俊介 (大澤 大輔)	方向感度を持つ暗黒物質探索用シンチレータの評価	61

PIXE 関連課題

組織中ウランの分布動態解析: リンパ組織および骨組織の元素分布解析

課題番号(22PJ02)

○武田 志乃^a、阿山 香子^a、加藤 由悟^{ab}、薬丸 晴子^a、田中 泉^a、田中 美香^a、横地 和子^a、上原 章寛^a、
及川 将一^c、石原 弘^a

a:量研機構 放射線医学研究所 b:東京大学 c:量研機構 量子医科学研究所

我々はマイクロ PIXE(荷電粒子励起 X 線分析:元素分布、局所定量)や SR-XRF(シンクロトロン放射光蛍光 X 線分析:元素分布、局所定量)、XAFS(X 線微細構造法:化学状態分析)などのプロトンや放射光のマイクロビームを用いた元素分析によりウランの体内動態研究を進めている[1-6]。これらの量子ビーム元素分析は、組織微細構造を保持したまま元素イメージングが得られることから、組織や細胞を破壊・溶解して元素分析を行う従来の金属動態解析手法に代わる研究戦術として生命金属科学分野で注目されている。我々のウラン標的臓器である腎臓における先行研究では、ウランばく露により内因性元素の元素分布様態に変化が生じ、ウラン濃集部形成では生体ミネラル化様の現象が生じていることが示された[6]。ウラン体内動態研究において、生命金属動態を把握することが重要となる。

本年度は、リンパ組織や骨組織のウラン動態解析のための基礎検討を中心に行った。リンパ節は、リンパ液に入った細菌や異物を濾過・貪食・除去するフィルター役目を果たしている。最新の内部被ばく体内動態モデルでは核種の沈着・滞留器官として位置づけられており(ICRP130)、線量評価における重要器官の一つである。まず、ラット唾液腺周辺および腸間膜リンパ節を用い、マイクロ PIXE 用測定試料作製手法や測定条件の検討を行った。10 μm 厚の凍結切片について 2000 μm \times 2000 μm ~ 500 μm \times 500 μm のイメージングでカリウム、リン、イオウ等の良好な元素イメージングを取得できることを確認した。

一方、骨組織についてはラット大腿骨等を対象としてウラン移行解析を進めているが、骨の薄切測定試料は特殊な粘着膜を支持体としていることから局所定量には従来の薄切分析標準[7]を改良する必要がある。骨主成分のリンおよびカルシウムについて骨薄切試料用粘着膜(川本フィルム)を支持体とした薄切分析標準を作製しマイクロ PIXE 測定により検量線を取得した。いずれも良好な直線性が得られた。このような薄切分析標準は骨試料と試料厚や形状が対応しており理想的な分析標準であるものの、混入元素量に限界があり、0 - 500 $\mu\text{g/g}$ の濃度範囲となる。生体微量元素であればおおむ

課題番号:22PJ02

ねこの範囲に入るが、硬骨部のリン、カルシウム濃度はこの範囲を大きく超えた。骨実質部のリン、カルシウム定量に資する濃度範囲の分析標準開発に向けて、現在滴下タイプの分析標準について検討を加えている。

謝辞

PIXE 測定では、磯浩之氏、松田拓也氏、樋口有一氏に技術的サポートをいただいた。本研究成果の一部は JSPS 科研費 22K21163、21H04947、19H05775 の補助を受けた。

参考文献

- [1] S. Homma-Takeda *et al.*, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 279: 627-631, 2009.
- [2] S. Homma-Takeda *et al.*, *J. Appl. Toxicol.* 33: 685-694, 2013.
- [3] S. Homma-Takeda *et al.*, *J. Appl. Toxicol.* 35: 1594-1600, 2015.
- [4] K. Kitahara *et al.*, *J. Synchrotron Rad.* 24: 456-462, 2017.
- [5] S. Homma-Takeda *et al.*, *Radiat. Phys. Chem.* 175: 108147, 2020.
- [6] S. Homma-Takeda *et al.*, *Int. J. Mol. Sci.* 20: 4677-4687, 2019.
- [7] S. Homma-Takeda *et al.*, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 279, 627-631, 2009.

令和4年度研究成果一覧

課題番号:22PJ02

課題名:組織中ウランの分布動態解析

課題代表者:武田 志乃

Proceedings

1. 加藤 由悟, 薬丸 晴子, 佐藤 遼太郎, 阿山 香子, 上原 章寛, 沼子 千弥, 関澤 央輝, 新田 清文, 武田 志乃. 量子ビーム解析による骨中ウランの移行と化学形の検出. *Fundamental of Toxicological Sciences*, 2022, Suppl 9, p101.
2. 武田 志乃, 薬丸 晴子, 田中 泉, 加藤 由悟, 藤代 瞳, 阿山 香子, 上原 章寛, 及川 将一, 関澤 央輝, 新田 清文, 石原 弘. 細胞内生命金属動態に向けたバイオイメーシングと元素局在の可視化. *Fundamental of Toxicological Sciences*, 2022, Suppl 9, p99.

学会発表(口頭発表、ポスター発表、講演等)

1. 武田 志乃
量子ビームケミカルイメーシングの高度化:シングルセルイメーシング
第1回生命金属科学シンポジウム, 2022/05/21
2. 武田 志乃, 薬丸 晴子, 田中 泉, 加藤 由悟, 藤代 瞳, 阿山 香子, 上原 章寛, 及川 将一, 関澤 央輝, 新田 清文, 石原 弘
細胞内生命金属動態解析に向けたバイオイメーシングと元素局在部の可視化
メタルバイオサイエンス研究会 2022, 2022/10/19
3. 加藤 由悟, 薬丸 晴子, 佐藤 遼太郎, 阿山 香子, 上原 章寛, 沼子 千弥, 関澤 央輝, 新田 清文, 武田 志乃
量子ビーム解析による骨中のウランの移行と化学形の検出
メタルバイオサイエンス研究会 2022, 2022/10/19

課題番号:22PJ02

4. 加藤 由悟, 薬丸 晴子, 阿山 香子, 及川 将一, 武田 志乃
micro-PIXE による骨中の元素濃度定量方法の検討
第 36 回 PIXE シンポジウム, 2022/11/26
5. 加藤 由悟, 薬丸 晴子, 佐藤 遼太郎, 阿山 香子, 上原 章寛, 関沢央輝, 新田清文, 及川 将一, 武田 志乃
バイオ・ケミカルイメージングによる胸骨中の元素局在解析
新学術領域「生命金属科学」夏の領域会議, 2022/09/04
6. 武田 志乃
やってみよう元素イメージング～放射光・プロトンビーム～
フォーラム 2022 衛生薬学プレシンポジウム, 2022/08/29
7. Kato Yugo, Ayama Kyoko, Yakumaru Haruko, Uehara Akihiro, Tanaka Izumi, Oikawa Masakazu, Takeda Shino
Elemental distribution of essential elements in the sternum by micro-PIXE analysis
8th International Symposium on Metallomics, International Symposium on Metallomics,
2022/07/12
8. Takeda Shino, Ayama Kyoko, Kato Yugo, Yakumaru Haruko, Ohsawa Daisuke, Sato Ryotaro, Chiya Numako, Uehara Akihiro, Tanaka Izumi, Oikawa Masakazu, Oki Sekizawa, Kiyofumi Nitta, Ishihara Hiroshi
Distribution of uranium in bone tissues by quantum beam-based elemental analyses with microbeam
8th International Symposium on Metallomics, International Symposium on Metallomics,
2022/07/12

重粒子線生物影響研究への元素分布解析の有効性検討

課題番号(20PJ03)

○下川 卓志^a、富永 晃好^b、坂本 裕一^c

a: 量研機構 量子医科学研究所 物理工学部

b: 静岡大学 農学部 地域フィールド科学教育研究センター

c: 岩手生物工学研究センター 生物資源研究部

本課題は、J501 課題として HIMAC 共同利用において実施中のイオンビームを利用した生物影響研究とリンクさせた課題であり、特に育種研究・変異誘導研究で樹立した新品種(株)に対する元素分布に着目した新しい評価内容の確立と、その元素分布の変化を標的とした変異株の取得課題の推進を目的としている。

現在、HIMAC 共同利用研究では、複数の課題において変異誘導研究が実施されており、そのうちのひとつである J501 課題では、すでに幾つかの変異体を植物ならびに微生物で樹立することに成功し、その表現型や遺伝子変異の解析が進行中である。品種改良で目的とする表現系や性状変化、例えば花の色や細胞の抗酸化能には、それぞれ特有の元素の関与が知られているが、その解析は一般的には非常に困難である。しかし、量研機構千葉地区の有する SPICE による PIXE 解析技術は、元素濃度を 2D マッピングで解析することが可能であり、さらに細胞レベルで解析できる分解能など、その解析能力はとても高い。HIMAC での重イオンビーム照射による変異誘導と PIXE による元素マッピング解析を組み合わせることにより、現在進められている変異誘導研究のより詳細な分析が可能になるだけでなく、新しい解析指標の追加による育種研究の多様化をすすめることが期待できる。

そこで、本課題では、HIMAC 共同利用での育種課題である J501 課題で現在対象となっている植物・微生物、及び今後照射を検討している候補サンプルを中心に元素分布解析の検討を進めている。昨年度までは根菜類(ゴボウ、ナガイモ、ショウガ、ダイコン)や野菜類(ゴーヤ、ナス)、菌類(きのこ)など育種研究対象となる園芸作物を主に用いてきた。

22 年度は前期 3 回、後期 4 回の MT を配分していただき、菌類(きのこ)のカルシウムトランスポーター破壊株の解析を行った。培養液中のカリウム濃度やセシウム濃度などの条件を変えて培養した際の金属元素等の取り込みを検討した。21 年度は解析数が限られていたが、22 年度更に解析数を増やし培養条件による取り込み量の変化、及び株毎の違いを示唆する結果を得ることができた。今回の

課題番号:20PJ03

解析結果により、複数存在するカルシウムトランスポーターのそれぞれの特性が明らかになった。

これまでの成果は、J501 課題で進める育種研究の解析手段の一つとして PIXE の有効性を示すものであり、特に 22 年度の成果は微生物のトランスポーターの特異性の解明に PIXE による解析が効果的であることを明らかにした。

22 年度も、コロナ渦における活動と移動の制限の影響が大きく、広報活動もできなかったこともあり、HIMAC 共同利用における育種研究および PIXE での育種サンプルの解析が少なかった。特に、すでに複数の課題が継続して実施され明確な研究成果が出ている育種課題とは異なり、実施を検討する上で細かい説明が必要な PIXE 解析の方が影響が大きかった。

今後も引き続き育種対象植物などの解析を進め、イオンビームにより樹立した変異体を用いた、元素を起点とする機能解析の可能性を検討していく予定である。

環境から生体硬組織に蓄積されるウランおよび重金属元素の動態解析: 肋骨内元素分布と組織構造

課題番号(22PJ06)

○沼子 千弥^a、薬丸 晴子^b、武田 志乃^b、及川 将一^c

a: 千葉大学大学院理学研究院, b: 量研機構放射線医学研究所

c: 量研機構量子医科学研究所

生物は開かれた系の存在であり、常に外界から物質やエネルギーを取り込むため、ウランを含む物質が普遍的に存在する環境から、ウランを体内に取り込む可能性がある。武田はこれまで、ウラン投与ラットの腎臓組織におけるウランの2次元分布をマイクロ PIXE やマイクロ SR-XRF などの高い空間分解能を有する元素分析法により計測し、ウランにより発現される腎障害の機序について研究を進めている。その中で、投与されたウランははじめ腎臓に移行し、脱離した後に、硬組織である骨に蓄積されることがわかった。一方、沼子は、ヒザラガイの歯舌に希土類元素が、やmastドン象牙の化石にウランがそれぞれ高濃度に蓄積する現象をみだしており、武田のウラン投与ラットの骨の系は、この生体鉱物化現象におけるウランの蓄積機序の解明と関連していると考えた。そこで 2018 年度から、ウランの蓄積と他の重元素との相関を調べるため、ラットの大腿骨試料を対象にマイクロ PIXE による2次元元素マッピングを行いた開始した。2018~2019 年度は、マイクロ PIXE・マイクロ-SR XRF での微小部2次元元素マッピングに適した大腿骨の試料調製法について検討した。2020~2021 年度には、肋骨組織の縦断面および横断面の薄切試料を対象とし、マイクロ PIXE による元素分布解析を行った。硬骨微細構造と対応したリン、カルシウム分布を把握するとともに、軟骨領域内部においてリン、カルシウムの集積を見出した。これらの結果を受け、今年度(令和4年, 2022年度)は、この肋軟骨内のリンとカルシウム分布についてさらなる検討を行った。

測定には 10 週齢のラットの肋骨を用いた。肋骨は胸骨との接合部および椎骨接合部付近で切断し、凍結組織切片用包埋剤に包埋した。軟骨部分から硬骨部分までを含む長軸方向の凍結薄切試料(10 μm 厚)を作成し、粘着性フィルム(Cryofilm)[1]に付着させ測定試料とした。PIXE 分析は、1 μm \times 1 μm のビームを用い、1000 μm \times 1000 μm ~ 250 μm \times 250 μm の領域を積算電流 0.2 μC でスキヤニングし、肋軟骨内リン・カルシウム集積部、肋軟骨・硬骨接合部、硬骨部の 3 領域を抽出した。いずれも領域も骨髄と骨組織が入り組んだ構造を呈しているため、正確に骨組織に照射して元素情報を得るこ

課題番号:22PJ06

とを目的として、それぞれの領域の各3-4箇所について $1\ \mu\text{m} \times 1\ \mu\text{m}$ のPIXEスポット分析を行った。リン、カルシウムの検出はそれぞれ $\text{PK}\alpha$ 、 $\text{CaK}\alpha$ により行った。

肋軟骨内リン・カルシウム集積部のリン、カルシウムレベルは硬骨部相当であった。それぞれの分析点におけるカルシウムとリンのピークエリアの比率を算出したところ、肋軟骨内リン・カルシウム集積部のCa/P比は硬骨部と同等であった。肋軟骨内において石灰化様を呈する領域があることが考えられた。一方、肋軟骨・硬骨接合部では若干低値となった。

今回求めたCa/P比は単純な $\text{CaK}\alpha$ と $\text{PK}\alpha$ のピークエリア比であり、硬骨レベルのカルシウム濃度試料では $\text{PK}\alpha$ への $\text{CaK}\alpha$ のエスケープピークの寄与が予測される。精密なCa/P比算出のため、現在、適切な分析標準を用いたリン、カルシウムの定量化手法の検討を進めている。

参考文献

[1]川本忠史、病理技術 72 巻 2 号 p.76-83, 2009

令和4年度研究成果一覧

課題番号:22PJ06

課題名:環境から生体硬組織に蓄積されるウランおよび重金属元素の動態解析

課題代表者:沼子 千弥

Proceedings

1. 薬丸 晴子,加藤 由悟,上原 章寛,及川 将一,沼子 千弥,田中 泉,石原 弘,武田 志乃.
マイクロ PIXE を用いたラット肋骨の元素イメージング. *Fundamental of Toxicological Sciences*, 2022, Suppl 9, p98.

学会発表(口頭発表、ポスター発表、講演等)

1. 薬丸 晴子,加藤 由悟,上原 章寛,及川 将一,沼子 千弥,田中 泉,石原 弘,武田 志乃
マイクロ PIXE を用いたラット肋骨の元素イメージング
メタルバイオサイエンス研究会 2022, 2022/11/10

ウラン細胞内動態に関する研究: 腎尿細管領域由来 S2 および S3 細胞における元素分布解析

課題番号(20PJ09)

○田中 泉¹、藤代 瞳²、薬丸 晴子¹、田口 央基²、田中 美香¹、横地 和子¹、
阿山 香子¹、上原 章寛¹、石原 弘¹、及川 将一³、姫野 誠一郎^{2,4}、武田 志乃¹

¹量研機構放射線医学研究所 ²徳島文理大学 ³量研機構量子医科学研究所

⁴昭和大学薬学部

これまで我々はウランをばく露したラット腎臓についてウラン分布動態を解析し、腎臓の近位尿細管の特定部位において高濃度ウラン濃集部を形成し残存することを示してきた[1, 2]。またウラン濃集部の一部は、リン、カリウムと共存していることをマイクロ PIXE により明らかにした[3]。ウラン濃集部の残存による将来的な晩発影響が懸念されることから、ウラン生体濃集機序を明らかにし、内部被ばく低減化に向けた取り組みが重要となる。近年、マウスより樹立した近位尿細管領域由来培養細胞を用い、腎臓尿細管の領域特異的な物質輸送機序や有害重金属に対する毒性研究が行われている[4-6]。これらの細胞を用いてウラン腎臓内動態の尿細管領域特異性について検討を進めている。

これまでにウラン標的部位である下流領域の近位尿細管(S3 尿細管)に対応する近位尿細管領域由来培養細胞(S3 細胞)を用い、マイクロ PIXE による一細胞イメージングによる細胞内分布解析手法を確立した[7]。今年度は S2 領域由来の培養細胞(S2 細胞)を用い、ウランや内因性のリン、カリウム分布を調べ、S3 細胞と比較した。

直径 6 cm の培養ディッシュにポリプロピレン膜(3 cm × 3 cm, 6 μm 厚)を接着し、これに 3×10^5 の尿細管領域由来 S2、または S3 細胞を播種した。24 時間後に 10 倍等量の重炭酸ナトリウムを含む 100 μM 酢酸ウラニル入り培地に交換し、経時的なばく露群を設定した。PBS で洗浄後冷メタノールで固定し、付着細胞タイプの PIXE 測定試料とした。マイクロ PIXE 分析には 1 ミクロン四方のビームを用い、50 ミクロン四方～3000 ミクロン四方の領域に対し元素イメージングを取得した(積算電流:0.2 μC)。直径 6 cm の培養ディッシュに同様に各群 4 連で細胞を播種し、3 連の細胞試料について ICP-MS によりウラン細胞取り込みバルク量を求めた。残りの細胞試料から薄切タイプの測定試料(厚み 10 μm)を作製した。

ウラン細胞取り込みバルク量分析によると、S2 細胞と S3 細胞ではウラン細胞取り込み量について著しい差異は観察されなかった。付着細胞タイプの PIXE イメージングによると、ばく露後 4 時間では

課題番号:20PJ09

リン、カリウムは細胞内に大きな偏りは無く一様分布していたが、24 時間後においてはリン、カリウムの濃集部が観察され、ウランの共存が確認された。薄切タイプのイメージングによると、ウランばく露 24 時間の S2 細胞ではウランが細胞内の核周辺領域に局在していることが判明した。これは S3 細胞と類似した分布様態であった。本培養細胞系はウラン動物実験で観察されたウラン濃集の元素挙動と類似の現象が得られたことから、引き続き最上流領域(S1 尿細管)の培養細胞(S1 細胞)についても細胞内分布解析を進めていく予定である。

謝辞

PIXE 測定において技術的なサポートをいただきました、磯浩之氏、松田拓也氏、樋口有一氏に感謝いたします。本研究成果の一部は JSPS 科研費 19H05775 の補助を受けた。

参考文献

- [1] S. Homma-Takeda *et al.*, *J. Appl. Toxicol.* 33: 685-694, 2013.
- [2] S. Homma-Takeda *et al.*, *J. Appl. Toxicol.* 35: 1594-1600, 2015.
- [3] S. Homma-Takeda *et al.*, *Int. J. Mol. Sci.* 20: 4677-4687, 2019.
- [4] H. Fujishiro *et al.*, *Fund. Toxicol. Sci.* 6: 117-123, 2019.
- [5] H. Fujishiro *et al.*, *J. Toxicol. Sci.* 44, 611-619, 2019.
- [6] H. Fujishiro *et al.*, *Toxics.* 8, 24, 2020.
- [7] S. Homma-Takeda *et al.*, *Minerals* 11: 191, 2021.
- [8] S. Homma-Takeda *et al.*, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 279, 627-631, 2009.

令和4年度研究成果一覧

課題番号:20PJ09

課題名:ウラン細胞内動態に関する研究

課題代表者:田中 泉

Proceedings

1. Takeda Shino, Fujisjiro Hitomi, Tanaka Izumi, Yakumaru Haruko, Ayama Kyoko, Uehara Akihiro, Oikawa Masakazu, Sekizawa Oki, Nitta Kiyofumi, Himeno Seiichiro, Ishihara Hiroshi. Intracellular distribution of uranium in cultured renal tubular cells derived from the S3 region. The Journal of Toxicological Sciences, 2022, 47, S115-S116.

学会発表(口頭発表、ポスター発表、講演等)

1. Takeda Shino
Single cell imaging by quantum beam elemental analyses for dynamics of cellular distribution of bio-metals
第60回日本生物物理学会, 2022/09/28
2. 武田 志乃
量子ビームケミカルイメージングの高度化:シングルセルイメージング
第1回生命金属科学シンポジウム, 2022/05/21
3. Takeda Shino, Fujisjiro Hitomi, Tanaka Izumi, Yakumaru Haruko, Ayama Kyoko, Uehara Akihiro, Oikawa Masakazu, Sekizawa Oki, Nitta Kiyofumi, Himeno Seiichiro, Ishihara Hiroshi
Intracellular distribution of uranium in cultured renal tubular cells derived from the S3 region
第49回日本毒性学会学術年会, 2022/07/01

マイクロPIXE測定における液滴試料の安定性に関する検討

課題番号(22PJ05)

○上原 章寛^a、及川 将一^b、田中 泉^a、石原 弘^a、武田 志乃^a

a: 量子科学技術研究開発機構 放射線医学研究所

b: 量子科学技術研究開発機構 量子医科学研究所

【はじめに】

原子力災害における内部被ばくスクリーニングでは、体内の放射性核種を簡便、迅速に測定するとともに、キレート剤などの薬剤を用いた治療による内部被ばくの低減化が求められている。我々は、プロトンビームや放射光を用いて尿や血清中のウランの簡便・迅速定量法に向けた基礎検討を行ってきた [1-3]。液滴内の元素の均一性や定量性について検討し 1 μ L の検体でも定量が可能であることを示した[1,2]。また、放射光を用いた X 線吸収分光法により血清内における元素の化学形判別による除染割合評価法に向けた基礎検討を開始した[3]。一方、体液の粘性や支持体の撥水性の関係上、液滴試料の支持体への接着性に関する課題も挙げられた。本研究では、体液として血清を用いて、ポリプロピレンフィルムおよびカプトンテープへの滴下試料を作製し、ウラン元素分布の均一性についてマイクロPIXEを用いて調査するとともに、支持体の種類や前処理による検体の安定性について検討した。

【結果と考察】

まずポリプロピレン(PP)フィルムを用いた検討を行った。実験に用いた PP フィルムは厚さ 6 μ m で不純物元素の含まない材質であるため、PIXE などの元素分析の支持体として広く用いられている。未処理の PP フィルム上にウランを含む血清 1 μ L を滴下し自然乾燥したところ、約 6 時間で液滴が乾燥し、滴の直径はおおよそ 1.6 mm であった。ウランのイメージング結果からウランは液滴内ではほぼ均一に分布していることを確認した。照射後の検体の約半数は円形を保持するものの、液滴に亀裂が入る試料も観測された。液滴試料の亀裂は、試料の運搬中における脱落の原因となりうる。そこで、PP フィルムの表面に疎水あるいは親水処理を行うことによる液滴試料の安定化について調査した。PFA(ペルフルオロアルコキシアルカン)を表面処理した時、乾燥した液滴は容易に脱落した。一方、PP フィルムをエタノールに浸漬することによって表面を親水化した。本試験では PP フィルムを約 2 週間冷蔵にてエタノール浸漬後、フィルムを自然乾燥し、滴下試料を作製したところ、PFA の場合と同様、乾燥した液滴は容易に脱落した。つぎに、未処理の PP フィルムに滴下乾燥後、コロジオン膜を作製し

課題番号:22PJ05

液滴の固定を試みた。PP フィルムを疎水あるいは親水化することによる血清試料の接着性は改善されなかった。20%エタノールを含むコロジオンを、あらかじめ乾燥した液滴試料に 2.5 μL 滴下してコロジオン膜を作成した。膜は照射前後においても安定に保持されており、液滴試料が照射検体の半分程度ひび割れているものの、脱落する様子は観察されなかった。また、コロジオン膜によって元素の特性 X 線強度に及ぼす影響は観察されなかった。

次に、カプトンテープを用いた検討を行った。カプトンテープは粘着剤にシリコンが含まれるため、シリコンの特性 X 線エネルギーに近い軽元素の測定には不向きであるが、ウランの測定を妨害することはない。液滴試料を 1 μL 滴下し、自然乾燥した。滴の直径は平均 1.1 mm であった。乾燥後はすべての検体において円形を維持していたが、PIXE 測定後、照射検体の約 2 割に亀裂が入っていることを確認した。照射前後で液滴に亀裂が入る原因については、測定チャンバー内が高真空であるためと考えられる。すなわち、大気中で乾燥した液滴が高真空状態により水分が揮発することによって滴サイズが小さくなり、粘着剤とのひずみが大きくなり亀裂が入るものと考えられる。今後、カプトンテープの貼り付け方法や、高真空状態の保持時間の検討を行い、亀裂が入らない検体試料の作成方法について検討していく。

謝辞

本研究成果の一部は JSPS 科研費 19H05775 の補助を受けた。PIXE 測定では、磯浩之氏、松田拓也氏、樋口有一氏に技術的支援を受けた。

参考文献

- [1] A. Uehara, M. Oikawa, I. Tanaka, H. Ishihara, S. Homma-Takeda, Quantitative Analyses of Urinary Uranium by μ -PIXE, *Minerals*, 11 (2021) 147.
- [2] 上原章寛、及川将一、田中泉、石原弘、武田(本間)志乃、マイクロ PIXE を用いた生体液中の元素定量のための迅速・簡便な試料作製法の検討、*X線分析の進歩*, 51 (2020) 81-90.
- [3] 佐藤遼太郎、上原章寛、大澤大輔、石井賢司、松村大樹、沼子千弥、及川将一、武田(本間)志乃、ルビジウム化合物に対する高エネルギー分解能蛍光検出 X 線吸収微細構造 (HERFD-XAFS) 測定—生体内ウランの化学形の評価法の前検討として、*X線分析の進歩*, 54 (2023) 193-201.

令和4年度研究成果一覧

課題番号:22PJ05

課題名:マイクロPIXE測定における液滴試料の安定性に関する検討

課題代表者:上原 章寛

原著論文

1. 佐藤 遼太郎, 上原 章寛, 大澤 大輔, 石井 賢司, 松村 大樹, 沼子 千弥, 及川 将一, 武田 (本間) 志乃. ルビジウム化合物に対する高エネルギー分解能蛍光検出 X 線吸収微細構造(HERFD-XAFS)測定—生体内ウランの化学形の評価法の前検討として. X線分析の進歩. 2023/02/07, 54, p193-201.

Proceedings

1. Uehara Akihiro, Sato Ryotaro, Terauchi Miyu, Oikawa Masakazu, Yakumaru Haruko, Tanaka Izumi, Ishihara Hiroshi, Takeda Shino. Fundamental study on the detection of uranium in bio-fluids: preparation of droplet samples of serum, The Journal of Toxicological Sciences, Jun-22, 47, S155.

学会発表(口頭発表、ポスター発表、講演等)

1. Uehara Akihiro, Sato Ryotaro, Terauchi Miyu, Oikawa Masakazu, Yakumaru Haruko, Tanaka Izumi, Ishihara Hiroshi, Takeda Shino
Fundamental study on the detection of uranium in bio-fluids: preparation of droplet samples of serum
日本毒性学会学術年会, 2022/07/01

静電加速器棟(PASTA & SPICE)の高度化技術開発

課題番号(22PH01)

○及川 将一^a,石川 剛弘^a,磯 浩之^b,樋口 有一^b,松田 拓也^b

a:量子科学技術研究開発機構 量子生命・医学部門 量子医科学研究所

理工学部 静電加速器運転室

b:(株)巧

<はじめに>

量子科学技術研究開発機構量子生命・医学部門量子医科学研究所(QST 量医研)の静電加速器棟には、最大ターミナル電圧 1.7 MV の High Voltage Engineering Europe B. V. (HVEE)製の Model4117MC+タンデロン加速器が設置されており、3 MeV 程度の陽子線を利用した PIXE(Particle Induced X-ray Emission)分析やマイクロビーム細胞照射などの実験に広く利用されている¹⁾。

本研究課題では、マイクロビーム細胞照射装置 SPICE(Single Particle Irradiation system for Cells)において、5.1 MeV の ${}^4\text{He}^{2+}$ イオン(α 粒子)の照射を実現する「SPICE- α 」に関する技術開発を進めており、前年度にはその進捗状況について報告した。その一方で、本研究課題では「マイクロ PIXE 分析装置の品質管理」にも取り組むこととしており、集束Qレンズのアライメントやスキャンエリアのサイズ校正等を実施しようとしていた。しかし、2022年11月にビームスキャナ用電源(Oxford Microbeams Ltd. 社製 OM-40e)が故障し、その後はマイクロ PIXE 分析のほとんどのマシンタイム提供を停止した上で修理対応に追われることとなった。本報告では、「マイクロ PIXE 分析装置の品質管理」の一端として、ビームスキャナ用電源の修理状況について報告する。

<ビームスキャナ用電源の修理状況>

2022年11月24日(木)のマイクロ PIXE 分析マシンタイム終了後、各種機器の停止作業を行っていたところ、ビームスキャナ用電源から破裂音が発生した。電源内部を確認してみると、図1の様にシャシーマウント型抵抗(25W 470 m Ω)が破損していた。1週間程度マシンタイムを停止した上で、同仕様の抵抗を速やかに入手して交換修理し、12月6日(火)にマシンタイム提供を再開したところ、同日の停止作業中に同じ症状にて抵抗が破損した。この抵抗破損には、他の根本的要因があると考え、メーカーに修理可能性について打診したところ、旧式製品のため対応不可との回答が得られ、配線図の提供のみを受けて自力修理することとなった。入手した回路図から故障の根本的要因を検討したとこ

課題番号:22PH01

ろ、破損した抵抗は 230VAC 入力を DC 変換してアンプ回路に出力する部分に接続されており、DC 出力を整形するために抵抗直後に接続されている電解コンデンサ(10,000 μ F、図 2 参照)が破損(容量抜け)して、過大電流が発生しているのではないかと推測した。昨今の情勢により、部品調達の遅れなども生じて 12 月上旬から同年度内のマイクロ PIXE 分析マシンタイムを停止することになったが、当該電解コンデンサの同型品を入手して交換修理を行ったところ、正常に動作することが確認できた。電解コンデンサの交換修理後に、スキャンエリアのサイズ校正や動作の安定性を確認した上で、2023 年 4 月(2023 年度)から PIXE 分析マシンタイムを再開することとなった。

次年度以降は、「マイクロ PIXE 分析装置の品質管理」の一環として、継続的にスキャンエリアのサイズ校正を行うと共に、集束 Q レンズのアライメント等に着手する予定である。

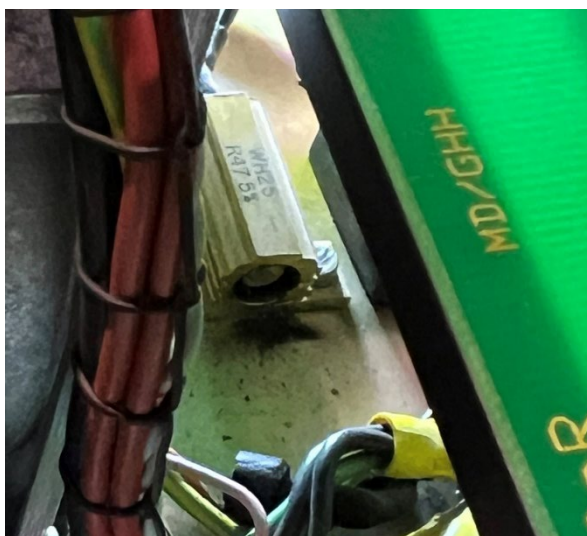


図 1. 破損したシャシーマウント型抵抗(25W 470 m Ω)



図 2. Oxford Microbeams Ltd. 社製 OM-40e ビームスキャナ用電源の内部画像
赤枠で囲んだ部分が交換修理した 10,000 μ F 電解コンデンサ

【参考文献】

- 1) M. Oikawa, N. Suya, T. Konishi, T. Ishikawa, T. Hamano, S. Takeda, *Int. J. PIXE* **25** (2015) 215-223.

令和4年度研究成果一覧

課題番号:22PH01

課題名:静電加速器棟(PASTA&SPICE)の高度化技術開発

課題代表者:及川 将一

Proceedings

1. 及川将一, 石川剛弘, 磯浩之, 樋口有一, 松田拓也
QST 量医研静電加速器施設(PASTA&SPICE)の現状 2022
第34回タンデム加速器及びその周辺技術の研究会報告集, 2023-03, p77-80.

学会発表(口頭発表、ポスター発表、講演等)

1. 及川 将一, 石川 剛弘, 磯 浩之, 樋口 有一, 松田 拓也
QST 量医研静電加速器施設(PASTA&SPICE)の現状 2022
第34回タンデム加速器及びその周辺技術の研究会, 日本原子力研究開発機構 原子力科学研究部門 原子力科学研究所, 2022-07-22.
2. 及川 将一, 須田 充, 石川 剛弘
QST 量医研静電加速器施設におけるマイクロPIXE/PIGE分析の動向
第70回応用物理学会春季学術講演会 シンポジウム「イオンビーム分析の最新動向」, 上智大学 四谷キャンパス, 2023-03-17.

江戸時代の古書籍に漉き込まれた毛髪のパIXEL分析

課題番号(22PJ08)

○丸山 敦^a、及川 将一^b、二ツ川 章二^c、神松 幸弘^d、入口 敦志^e

a: 龍谷大学、b: 量子医科学研究所、c: アルファ・タウ・メディカル、

d: 立命館大学(現:環境省)、e: 国文学研究資料館

和食は西洋化とともに成立したとされ、西洋化前(江戸時代以前)の実体は、特に庶民のものとなる
と不明な点が多い。古文書や伝承に残された記述を読み解く従来の歴史研究では、近世の庶民がコ
メ、野菜、魚介類を主な食物としていた一方で、多彩な献立や珍味が開発されていったことが示され
たが^[1]、量的評価には自然科学的な検証が望ましい。そこで私たちは、古書籍から抜き出した毛髪
の科学分析から食生活を復元する手法を提案した^[2]。毛髪が表紙に使われた再生厚紙に漉き込まれて
いることから、古書籍が刊行された都市・年代に生活していた庶民のものとして推定され^[3]、年代と場所の
記録されたヒトの生物試料として扱いうるからである。毛髪のアナライズから、当時の食生活がコ
メと海産物にほぼ完全に依存していたこと、江戸時代中期から後期にかけて海産物への依存が高ま
ったこと、江戸と上方で炭素源が違ったことなどが示された。

本課題では、2019 年度後期以降、PIXE 分析を用いて書籍に漉き込まれた毛髪に含まれる複数の
元素の量を推定し、近世庶民の生活をより詳細に推定することを試みている。古本市で買い求めた
古書籍と、龍谷大学が大宮図書館西翼地下 1 階に所蔵する約 7 万冊の古書籍から、刊行都市、刊行
年号が明記され、かつ漉き込まれた毛髪が目視できるものを選出した。選出された書籍 405 部の再
生厚紙から、最長で 20 cm 相当分の毛髪を、書籍を傷つけないように抜き取った。書籍の刊行年と印
刷年のズレや、刊行都市の信憑性は、書誌学的な鑑定によって推定し、試料を厳選した(印刷が刊行
年から 10 年以内と推定される書籍に限定)。一方、近世の出版が盛んだった三都市において現代人
の毛髪も収集した(倫理審査通過済)。毛髪を量子医科学研究所での PIXE 分析に供し、先行研究^{[4][5]}
の手法に倣って 15 元素の含有量を測定した。執筆時点(2023 年 6 月)で、京都刊行 48 部、大阪刊行
26 部、江戸刊行 23 部、田舎版 10 部の近世毛髪と、京都在住 15 名、大阪在住 13 名、東京在住の 12
名、多地域在住 8 名の現代毛髪のアナライズを完了している。

定量分析上の不確かさを懸念し、Pb と Br に加えて Na と Mg も暫定解析からは除外し、11 元素に
ついて近世毛髪と現代毛髪を比較した。暫定解析(Welch の t 検定)によると、Cl、K、Ca、Mn、Fe、Cu、
Pb は近世の毛髪に多く含まれ、S、Zn は現代の毛髪に多く含まれていた。その他の元素は有意差が見

られなかった。

書籍由来の毛髪に含有される 11 微量元素量を応答変数に、推定年代、推定都市を説明変数にした線形モデル解析で暫定的に検討したところ(AIC 最小のモデルのみを暫定採用)、近世 200 年間の庶民の食環境にはさまざまな要因で変異があったことが見えてきた。例えば Cu は、京都と大坂で高い傾向が見られた。Cl では、都市部に微減が、田舎では微増が見られた。K では、すべての地域で減少傾向が見られた。Hg は京都で高い傾向が見られたが、分析上の懸念が払拭できていない。Pb は、初期の大坂において低い値を示した。

このような解析から、PIXE 分析を用いて近世庶民の毛髪を分析することで、近世庶民の食生活をする推定することが可能であることは十分に示唆された。分析後の定量計算が未完了の試料が少ないことから最終的な統計解析は行っていないため断定的な考察は敢えて慎みつつ、いくつかの傾向とその解釈を挙げるができる。例えば、水の硬度の指標であるマグネシウムとカルシウムは、現代人の含有量の平均値に対して、近世庶民の平均値の方が有意に高い値を示した。このことは、井戸から汲み上げた湧き水が飲料水として摂取される割合は、近世の京都、大坂においては現代よりも高かったことと関係するかもしれない。また、体内になくってはならない常量・微量必須元素のほとんどは現代人の方が減少傾向にあった。これは、近年、食品の精製が進んだ結果として、調理過程における損耗による食品中微量元素含有量が低下し、摂取不足に至っていると見る知見と一致している。あるいは、施肥を繰り返してきた日本の圃場において、近代以降、微量元素が減少した可能性も考え得る。今後は、分析数を増やすなかで都市間の変異や経年変化の検証が可能となり、歴史的イベント(飢饉、開国など)の影響を検証できるようになると期待される。

参考文献

- ^[1]原田信男(2014)江戸の食文化 和食の発展とその背景.小学館
- ^[2]Maruyama A, Takemura J, Sawada H, Kaneko T, Kohmatsu Y, Iriguchi A (2018) Hairs in old books isotopically reconstruct the eating habits of early modern Japan. Scientific reports 8:12152
- ^[3]橋口候之助(2005)和本入門.誠心堂書店
- ^[4]世良耕一郎, 寺崎一典, 佐々木敏秋 (2006-2007) 微小ヒゲ試料・長い毛髪試料分析による体内元素濃度変化の測定. NMCC 共同利用研究成果報告文集 14 242-255
- ^[5]伊藤じゅん, ニツ川章二, 齊藤義弘, 世良耕一郎, 石井慶造 (2006-2007) PIXE 研究支援のためのデータベースの構築. NMCC 共同利用研究成果報告文集 14 122-135

令和4年度研究成果一覧

課題番号:19PJ08

課題名:古書籍由来の毛髪および古建築物由来稲藁の PIXE 分析で食と農の変遷を追う

課題代表者:丸山 敦

学会発表(口頭発表、ポスター発表、講演等)

1. 出野 雅治, 及川 将一, 神松 幸弘, 入口 敦志, ニツ川 章二, 丸山 敦
近世の和装本に漉き込まれた毛髪 of PIXE 分析で明らかになる食環境の変化
第36回 PIXE シンポジウム研究会, 2022/11
2. 丸山 敦, 出野 雅治, 眞田 裕生, 木村 俊太郎, 桑木 捷汰, 神松 幸弘, 及川 将一, ニツ川 章二, 入口 敦志
和装本や寺社からの生物試料採集:生態学者の歴史学
親鸞聖人ご生誕法要講演, 2022/10
3. 丸山 敦, 及川 将一, 神松 幸弘, 入口 敦志, ニツ川 章二
古書籍に漉き込まれた毛髪 of PIXE 分析による近世・近代日本の食環境の復元
放射線医学総合研究所サイクロトロン・静電加速器共用施設利用成果報告会, 2022/06

学位論文

1. 出野 雅治
"近世・近代庶民における食生活の推定 ～和装本に漉き込まれた毛髪 of 同位体比・微量元素含有量の解析～"
龍谷大学(卒業論文)

腎臓内元素動態に関する研究: シスプラチンばく露マウス腎臓における生命金属分布

課題番号(20PJ10)

○藤代 瞳^a、田中 泉^b、阿山 香子^b、田口 央基^a、葉丸 晴^b、上原 章寛^b、
石原 弘^b、及川 将一^c、姫野 誠一郎^{ad}、武田 志乃^b

a:徳島文理大学薬学部 b:量研機構放射線医学研究所 c:量研機構量子医科学研究所

d:昭和大学薬学部

シスプラチン(CDDP)は、有効な抗がん剤であるが、重篤な腎障害を引き起こすことが知られており、その機構はよくわかっていない。私たちは、マウス近位尿細管 S1, S2, S3 領域由来不死化細胞(S1, S2, S3 細胞)を用いた検討により、S3 細胞が S1, S2 細胞と比較して、CDDP 曝露に対して高い感受性を示すことを見出した。そこで、S3 細胞の CDDP 高感受性の原因を解明し、CDDP による腎毒性の責任分子を明らかにすることを目指している。CDDP の S3 領域への高い感受性には、CDDP の近位尿細管の領域特異的な輸送や分布が関わっているのではないかと仮説を立てて検討を行ってきた[1]。しかし、CDDP やウランについては、近位尿細管のうち皮質と髄質の境界領域である S3 領域への部位特異的な侵襲が報告されているが[2, 3]。実験動物におけるその尿細管元素分布は十分に理解されていない。

そこで本研究では、マイクロ PIXE により腎臓内の生命金属分布動態を調べることを計画した。尿細管 S1, S2 領域侵襲性のカドミウムおよびウランと同じ S3 領域侵襲性のシスプラチン等をばく露した動物モデルを対象とし、カドミウム及びプラチナの腎臓内分布および近位尿細管局在性、内因性生命金属分布の変動を解析し、腎臓内動態とその毒性発現との関係について解析を行った。

本年度は、シスプラチンの急性腎毒性モデルのマウス腎臓について検討を行った。10 μm 厚の凍結切片をポリプロピレン膜に付着させ、PIXE 測定試料とした。隣接切片を PAS 染色し、尿細管 S1・S2、S3 を判別した。腎臓の外側から中心部にかけての皮質・髄質外辺部に対応する領域についてビーム径 1 μm \times 1 μm 、積算電流 200 μC の条件で、まず 500 μm \times 500 μm の広領域でのスキャンを行った。さらに同領域に対し 250 μm \times 250 μm の詳細なスキャンを行った。

ばく露後初期のモデルについて PIXE イメージングにより生命金属の分布様態を検討した。内因性リン、カリウムは一様に分布しており、ウラン急性腎毒性モデルで観察された近位尿細管におけるリン、カリウムの濃集部の形成[4]は観察されなかった。本測定試料の隣接切片について放射光蛍光 X 線分析によるプラチナの精細分布解析を行ったところ、プラチナは髄質外辺部から皮質外辺部まで散在

課題番号:20PJ10

しており、S1-S3 いずれの近位尿細管にも取り込まれていることを確認した。近位尿細管内においては、ウランの場合の様な数ミクロン領域の局所濃集のような分布様態は呈していなかった。両者は共にS3 尿細管侵襲重金属ではあるが、ばく露後初期の腎臓内分布様態には違いがあることがわかった。引き続き経時変化について検討を進める予定である。

謝辞

磯浩之氏、松田拓也氏、樋口有一氏には PIXE 測定での技術的なサポートに感謝いたします。本研究成果の一部は JSPS 科研費 19H05770 の補助を受けた。

参考文献

- [1] Fujishiro *et al.*, *Toxicol. In Vitro* 75: 105179, 2021.
- [2] Zhang *et al.*, *Toxicol. Pathol.* 37: 629-643, 2009.
- [3] Homma-Takeda *et al.*, *J. Appl. Toxicol.* 33: 685-694, 2013.
- [4] Homma-Takeda *et al.*, *Int. J. Mol. Sci.* 20: 4677, 2019.

無脊椎動物の内の鉄、亜鉛およびカドミウム濃集部位の解析

課題番号(21PJ12)

○加藤 由悟^{a,b}、鄭 澤華^a、浪川 勇人^a、柏原 亘^a、磯 浩之^c、樋口 有一^c、
松田 拓也^c、及川 将一^c、武田 志乃^b、鈴木 道生^a

a: 東京大学大学院

b: 放射線医学研究所、c: 量子医科学研究所

無脊椎動物は生体の内外に様々な金属を濃集している。例えば貝類は亜鉛やカドミウム、鉄を生体の内外に蓄積することが知られているが、どのようなメカニズムで生体内に高濃度に蓄積できるのか、そのメカニズムは明らかになっていない。また、貝類は炭酸カルシウムの貝殻を作ることで、生体防御に利用しているが、様々な微量金属も蓄積することが知られている。さらに、亜鉛は無脊椎動物の顎に濃集することで強度を増す働きがあることが知られているが、これについても濃集メカニズムが不明のままである。このような未知の金属濃集メカニズムを明らかにすることで、新たな金属回収技術やバイオレメディエーション技術の発展に貢献が可能になる可能性が考えられる。

本課題ではアオイソメの下顎の分析を行った。下顎は捕食や移動の際に非常に強い力がかかることがあるため、金属元素を濃集させることで強靱化している。中でも、環状動物であるアオイソメは亜鉛を用いている。節足動物や環形動物の中には鉄、銅、亜鉛やマンガンなどを濃集しているものが知られているが、遷移金属を硬組織に使用している例は少ない。そこで、亜鉛の分布と化学形態の解明を行うことで下顎硬化のメカニズムを明らかにすることを目的に研究を行っている。2021年の課題ではアオイソメ下顎の断面の micro-PIXE 分析を行うことで、おおよその亜鉛の局在を明らかにすることができた。一方で、亜鉛だけではなく、鉄などのこれまでに知られていない元素が分布している箇所が存在することを明らかにした。下顎の強靱化のメカニズムを明らかにするためにはこれらの金属について詳細な解析を行う必要が生じた。

アオイソメの頭部を切断し、ピンセットで取り出した下顎の先端を切り取り、カーボンテープに貼り付けて測定試料とした。micro-PIXE によるイメージングの結果、亜鉛が根元から先端に向けて濃度が高くなるように存在している一方で、ハロゲンは亜鉛の分布と相補的に存在している様子が観察された。中でも、塩素やヨウ素は下顎外側に存在し、臭素は根元に存在していた。これらの元素については2021年に行った断面の分析に比べて、濃度分布を明らかにすることができた。また、鉄が下顎内側の非常に狭い領域に線上に存在していることを明らかにすることができた。このことから、アオイソメの

課題番号:21PJ12

下顎の硬化に対して、部分的には鉄を用いている可能性が示唆された。

令和4年度研究成果一覧

課題番号:21PJ12

課題名:無脊椎動物の内の鉄、亜鉛およびカドミウム濃集部位の解析

課題代表者:鈴木 道生

学会発表(口頭発表、ポスター発表、講演等)

1. 加藤 由悟、柏原 亘、飯島 まゆみ、清水 啓介、根岸 瑠美、胡桃坂 仁志、保倉 明子、
及川 将一、武田 志乃、鈴木 道生
μ-PIXEによる無脊椎動物下顎における亜鉛濃集部位の分析と亜鉛結合物質の探索
日本分析化学会第71年会, 2022/09/22-24

マイクロPIXEによる神経組織中生命金属分布解析

課題番号(21PJ13)

○小川 覚之^a、及川 将一^b、上原 章寛^c、武田 志乃^c

a: 獨協医科大学 先端医科学研究センター b: 量研機構 量子医科学研究所

c: 量研機構 放射線医学研究所

アルツハイマー型認知症やレビー小体型認知症、筋萎縮性側索硬化症(ALS)などの神経変性疾患では、アミロイドβやタウ、α-シヌクレインなどのタンパク質の凝集・蓄積という現象が病理の中心にあるとされている。しかしこの凝集・蓄積を惹起する環境因子には不明な点が多く、患者脳組織内のタンパク質分子をとりまく環境の質的变化の鍵となる要素として特に金属元素の関与があると考えられている。また、統合失調症をはじめとする精神疾患については、従来の病理組織学的手法では未だ疾患の発症・進行のメカニズムを理解する手掛かりが無い状況である。

そこで本研究は神経変性疾患および精神疾患の脳組織に特有の脳組織環境を明らかにすることを目的とし、神経変性疾患としてアルツハイマー型認知症・レビー小体型認知症・ALS について、精神疾患として統合失調症および双極性障害について、それぞれの比較健常群とともに患者死後脳の検体組織を解析している。本研究代表者はこれまで、死後脳組織の連続切片を用いて古典的組織染色解析、MALDI-TOF 質量分析による低分子局在イメージング、LA-ICP-MS による金属元素イメージングを実施しており、本施設の PIXE 共用課題においてマイクロ PIXE による元素イメージングを実施している。

測定手順は当初 2000 μm x 2000 μm、1000 μm x 1000 μm、500 μm x 500 μm、50 μm x 50 μm と段階的にフォーカスして測定したが、イメージングデータの S/N や画質、測定時間・スループットとのバランスを考慮すると、ヒト脳検体の場合は測定領域を絞り 500 μm x 500 μm、100 μm x 100 μm の2段階で測定する方法が良好なイメージング画像の取得に適していると判断した。そこで 2022 年度は本測定法によりアルツハイマー型認知症・レビー小体型認知症・ALS・比較健常群の患者死後脳検体切片に対しマイクロ PIXE による元素イメージング解析を実施した。4疾患群・各群2検体(n=2)の大脳皮質切片についてスループット良く μPIXE 測定を行うことができた。2023 年度は上記の他手法による多様な分子種・元素のイメージングデータと統合し、ハイブリッド・イメージング解析を実施し、神経変性疾患死後脳に関し論文化を進める予定である。

<多施設間共同研究倫理承認> 主任機関 獨協医科大学 倫理 2021-004 研究代表者小川覚之、放

課題番号:21PJ13

放射線医学研究所倫理 21-013 武田志乃

<謝辞> PIXE 測定では磯浩之氏、松田拓也氏、樋口有一氏に技術的サポートをいただいた。

<研究費> JSPS 科研費 20K07222(小川)、20H05499(小川)の補助を受けた。

令和4年度研究成果一覧

課題番号:21PJ13

課題名:マイクロPIXEによる神経組織中生命金属分布解析

課題代表者:小川 覚之

学会発表(口頭発表、ポスター発表、講演等)

1. ○小川 覚之・梅村 知也・武田 志乃・平田 岳史
生体分子の統合的オミクス解析:生体組織から分子、原子へ
第70回質量分析総合討論会(2022), 2022/06/24
2. ○Tadayuki Ogawa, Eisei Tanaka, Tomonari Umemura, Shino Takeda-Homma, Takafumi Hirata
Hybrid Imaging Analyses of Biomolecules: From Biological Tissues to Molecules and Metals
The 8th International Symposium on Metallomics (ISM-8), 2022/07/12
3. ○小川 覚之
生体分子のハイブリッドイメージング:生体組織から分子、金属元素へ
プラズマ分光分析研究会 第116回講演会 - ISM-8 Post-Conference in Tokyo -,
2022/07/15
4. ○小川 覚之
脳神経の多階層ハイブリッド分析:脳、組織、細胞、分子そして原子の狭間から、生命機能
と病態の手がかりを探る
筑波大学大学院 神経科学先端セミナー, 2022/11/21
5. ○小川 覚之
ヒト疾患のハイブリッド分析:脳疾患イメージングから結合組織疾患まで
第2回生体分子ナノ解析・イメージング研究会, 2022/12/16

6. ○ Tadayuki Ogawa

Hybrid Imaging Analyses of Biomolecules: From Biological Tissues to Molecules and Metals

International symposium on mass spectrometry imaging 2023 KYOTO, 2023/01/30

学習・記憶障害マウス脳における微量元素分布解析:条件検討

課題番号(22PJ14)

○大寺 恵子^a、高橋 良哉^a、及川 将一^b、磯 浩之^b、樋口 有一^b、松田 拓也^b、
上原 章寛^c、武田 志乃^c

a: 東邦大学薬学部生化学教室、b: 量子医科学研究所物理工学部、

c: 放射線医学研究所放射線規制科学研究部

加齢に伴う鉄蓄積は、ヒトをはじめ様々な実験動物で認められており、生理機能低下やがんなどの老化関連疾患の発症に直接あるいは間接的に関わっていると考えられている。これまでに私達は、老化促進モデルマウス(SAM)の早期学習・記憶障害を特性とする促進老化型の P8 系マウスの脳、肝臓には、正常老化型 R1 系マウスと比べ鉄を脳と肝臓に蓄積しやすいこと、また、脳における鉄蓄積は、特定の脳領域に限られることを明らかにした。

本共同研究では、「学習・記憶障害脳」と「正常老化脳」の病理的变化と「微量元素の分布・局在」との関連を明らかにするために、老若の P8 系と R1 系のマウスの脳についてマイクロ PIXE 分析および隣接する組織切片の組織病理解析、分子・細胞傷害マーカー染色および一般金属染色を実施する。また、P8 系マウス肝臓における鉄異常蓄積と R1 系の加齢性鉄蓄積と肝病理的变化の関係について鉄以外の微量元素の関与を明らかにするために、脳と同様にマイクロ PIXE 分析を実施する。更に、組織への金属沈着機構解明の手掛かりを得るためにリンやカリウム、カルシウム等の軽元素の局在についても解析を行う。

2022(令和4)年前期(9月上旬)の3日間のマイクロ PIXE 解析では、P8 系マウスの脳凍結切片について予め非ヘム鉄染色(Prussian Blue-DAB 染色)を実施し、大まかに非ヘム鉄の分布を把握した切片を用いた。P8 系マウスの脳凍結切片について非ヘム鉄沈着領域周辺組織について、500 μm \times 500 μm の広領域でのスキャンを行い、主な元素(Fe, Cu, Zn, S など)の局在部の把握を行った。その結果、Fe との局在については明確なデータは得られなかったが、Cu, Zn, S の3元素の局在が似通っていることがわかった。しかし、得られたデータは、それらの元素が共局在していることを示すには不十分であった。そこで、次の解析では、共存元素組成をより高精度に解析するために 30 μm \times 30 μm ~ 100 μm \times 100 μm の詳細なスキャンを行い、各元素の共局在を詳細に把握するために PIXE スペクトル解析を実施する。これらの解析は、同年度後期(2023年1月下旬、2月中旬)に予定していたが、マシントラブル期間と重なったため、残念ではあるが解析を次年度へ持ち越すことになった。

令和4年度研究成果一覧

課題番号:22PJ14

課題名:学習・記憶障害マウス脳における微量元素分布解析

課題代表者:高橋 良哉

学会発表(口頭発表、ポスター発表、講演等)

1. Keiko Odera
Accumulation of abnormally modified proteins in rat kidney: Effect of age and dietary restriction
第45回日本基礎老化学会大会, 2022/07/27-28
2. 大寺恵子
脳のカルボニル化酸化タンパク質の組織化学的および生化学的解析:老化促進モデルマウス SAMP8 と SAMR1 の比較
第37回 老化促進モデルマウス(SAM)学会学術大会, 2022/07/28-29
3. Ryoya Takahashi
Protein homeostasis (Proteostasis): Effect of age on protein repair and degradation systems.
International Symposium on "Recent Advances in Research on Healthy Aging and Future Challenges" and 20th Biennial Meeting of Association of Gerontology, Varanasi, India, 2022/11/05-07
4. 高橋良哉
"老化・老化関連疾患発症メカニズムとその制御:基礎研究からの情報発信
老化の多面性:介入研究の有効性と問題点"
日本薬学会第143年会, 2023/03/25-28

組織切片中放射性微粒子探索試験

課題番号(22PJ15)

○遠藤 暁^a、畑 和鷹^a、山田 裕^b、鈴木 正俊^c

a:広島大学、b:量研機構、c:東北大学

緒言

福島原発事故で放出された放射性微粒子は、不溶性であり、粒径の小さな微粒子は呼吸により呼吸器系に取り込まれ、長時間肺臓器内にとどまる可能性がある。放射性微粒子による被ばくは、微粒子近傍で高線量率となり、肺臓器内で線量分布を持つ。したがって、ICRP の被曝線量率換算係数を用いた肺臓器線量を局所的に大きく上回ることとなる。これらは通常の被曝線量計算を行うと局主的に生物効果比が高く見える可能性を意味する。

これらを実験的に観察するには、放射性微粒子の臓器内の位置と生物の放射線応答のプロファイルの相関を見る必要がある。本研究では、組織切片内に存在する微粒子の同定する条件を調べるとともに、放射性微粒子投与実験のマウス肺臓器中の微粒子が探索できるかを試験する。

方法

放射性微粒子と組織の元素マッピングができることを確認するため、肺組織切片と放射性微粒子のマイクロ PIXE 分析を行い、比較することで組織切片上の微粒子のマッピングが可能であることを確かめる。また、放射性微粒子を模擬したシリカ粒子を肺に摂取させたマウスの肺組織切片を準備し、実際の動物組織試料において元素マッピングが可能かを試験する。

放射性微粒子は、福島県小丸で収集した土壌から抽出した直径 110 μm 、 ^{137}Cs 放射能が 80 Bq を用いて 250 μm 四方領域で 0.2005 $\mu\text{C-p}$ で測定した。放射性微粒子を 6 μm のポリプロピレンの薄膜上へのせ測定試料とし、10 μm 四方領域で 0.2003 $\mu\text{C-p}$ で測定した。肺組織は、共同研究者山田により実験用マウスの肺組織を凍結し、厚さ約 20 μm に切り出した組織切片を用いた。更に、山田が安定 Cs をシリカ粒子に吸着させた試料および、シリカ粒子を気管投与したマウスの肺組織切片を用いて 250 μm 四方領域で 0.2002 $\mu\text{C-p}$ で測定した。陽子エネルギーはいずれも 3MeV とした。

結果

放射性微粒子(直径 110 μm 、 ^{137}Cs 放射能 80 Bq)、安定 Cs シリカ粒子(直径数 μm 、3 Bq 相当の安定

課題番号:22PJ15

Cs)および肺組織のみの測定結果を図1に示す。(a)は放射性微粒子の測定結果を示し Si, Ca, Fe を主成分として、Cl, K, Ti, V, Mn, Cu, Zn, As, Ba が検出された。Cs は同定に至らなかった。(b)はシリカ粒子の測定結果を示し、シリカ粒子の Si の他 Cs のL α が同定された Cs 像にボケがあるものの1個の Cs シリカ粒子が同定できていると考えられる。(c)は組織のみの測定結果であり Si, P, S, Cl, K, Fe が検出された。Si を除き組織の構成元素が確認された。

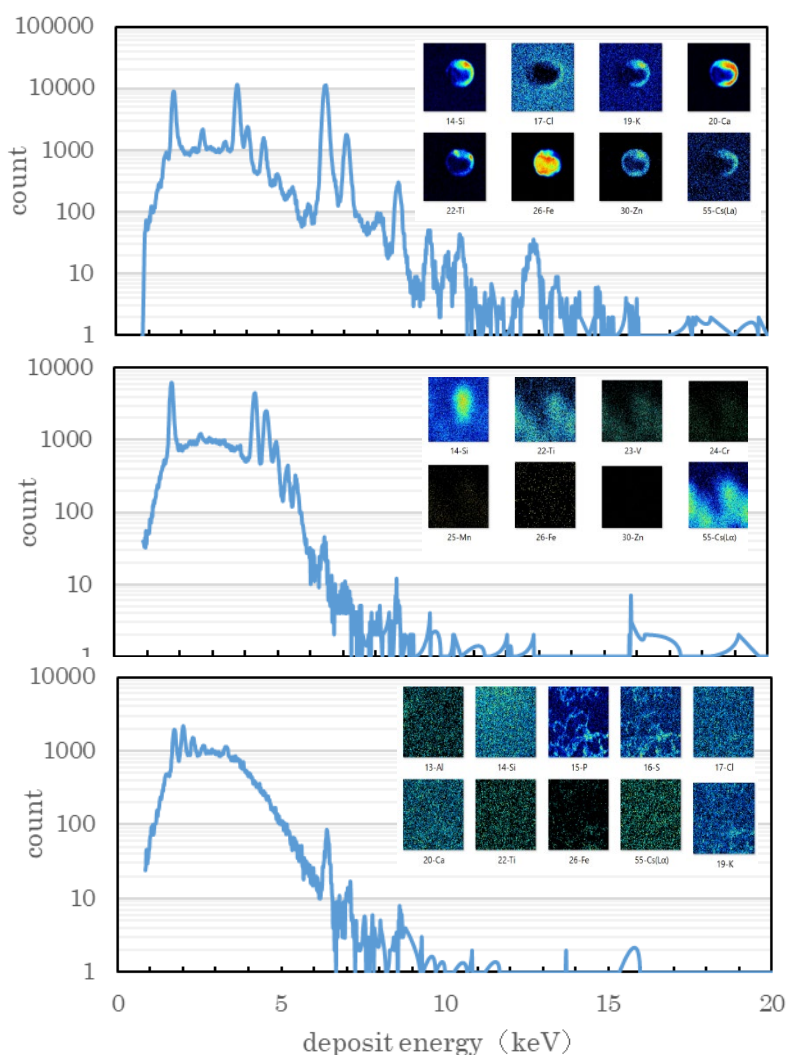
シリカ粒子では Cs—L α が検出されたのに対し 80 Bq ^{137}Cs では Cs が検出されなかった。この原因は粒子に含まれる Cs 量によるもので、シリカ粒子の含有 Cs 濃度は 3 %に対して 80 Bq 放射性微粒子では 18 ppmと桁で小さいことによるものである。

シリカ粒子を気管投与したマウスの肺組織切片では、シリカ粒子は検出されなかった。この原因として、シリカ粒子を気管投与したマウスの肺組織切片中にシリカ粒子が存在しなかったことによると考えられる。

結言

肺組織切片上の放射性微粒子探索の試験として、110 μm 、80Bqの放射性微粒子、模擬粒子として安定 Cs 吸着シリカ粒子(～3Bq、数 μm)を用いた測定を実施した。その結果、組織切片上の～3Bq、数 μm のシリカ粒子の検出が可能であることが確認された。110 μm 、80Bqの放射性微粒子は、Si は検出できるが Cs の検出は困難である。

シリカ粒子を気管投与したマウスの肺組織切片の探索では、切片上に粒子が存在する試料の作成に工夫が必要であると考えられる。



謝辞

実験実施に当たり、量研機構及川将一先生はじめ静電加速器施設の皆さんに大変お世話になりました。また、安定 Cs 吸着シリカ粒子は大阪大学の二宮和彦先生に提供いただきました。この場を借りて、御礼申し上げます。

令和4年度研究成果一覧

課題番号:22PJ15

課題名:組織切片中放射性微粒子探索試験

課題代表者:遠藤 暁

学会発表(口頭発表、ポスター発表、講演等)

1. 畑 和鷹、鈴木 正敏、山田 裕、梶本 剛、遠藤 暁
肺組織切片上の放射性微粒子の PIXE 分析法の検討
原子力学会第16回中国・四国支部研究発表会, 2022/12/17

学位論文

1. 畑 和鷹
肺組織切片上の放射性微粒子の PIXE 分析法の検討
広島大学先進理工系科学研究科(修士論文)

SPICE 関連課題

クロモスリプシスに対する防御細胞応答メカニズムの解明 (22SJ02)

○小西輝昭^a、間宮大晴^{a,b}、劉翠華^{a,c}、及川将一^{a,c}

a: 量子生命科学研究所 b: 立教大学大学院 物理学専攻 c: 量子医科学研究所

概要: 細胞がん化プロセスの一つであるクロモスリプシスは、一つもしくは極少数の染色体において、数十から数千箇所もの崩壊と再編成がおこる現象である。この現象の発生機序は染色体における同時多発的な破砕および、その後の異常な DNA 修復経路機構によると考えられている【1】。本課題は、陽子線マイクロビーム SPICE【2】を活用し、クロモスリプシスに対する細胞質損傷を起因とする防御的な細胞応答の寄与の解明を目的とした。R4 年度は、昨年度に引き続き細胞核 (N) のみ、細胞質 (C) のみ、細胞核+細胞質 (N+C) 照射を行い、微小核形成 (MN) 率の取得、生存細胞のクローンの取得、m-FISH 法による染色体構造解析を実施した。

研究手法と結果:

1. 細胞質 (C) 照射によって誘導される DNA 二本鎖切断 (DSB) 修復経路の解析:
C 照射し、Keap 1-Nrf2 酸化ストレス応答経路の誘導を確認した。非照射細胞において細胞質に存在していた転写因子 NRF2 が照射 24 時間後において細胞核に移行し、標的遺伝子である HO-1、NQO1 の発現誘導することを確認した【3, 4】。また、DSB 修復タンパク質 RAD51 と XRCC4 についても、有意な増加を確認した【3, 4】。N 照射ではリン酸化 ATM が局在するが、KU55933 を培養液に添加し、ATM を阻害すると NRF2 の核移行が完全に抑制した。つまり NRF2 は ATM の活性化に強く依存する。一方で、C 照射において、ATM の増加は確認できなかった。このことから、細胞質損傷を起因とした防御細胞応答では ATM を介さずに NRF2 の活性化および DSB 修復タンパク質の発現を誘導すると考えられた【5, 6】。

2. 微小核 (MN) 形成率の取得

細胞核のみへの (N) 照射実験を継続するとともに、細胞質のみへの (C) 照射、細胞核と細胞質の両方への (N+C) 照射を開始した。細胞核と細胞質の両方に照射した (N+C) 照射条件では、細胞質には粒子数 1000 個を照射した。微小核形成には、Cyto-B による Cyto-Block 法を用いた。その後、細胞質と細胞核をそれぞれ Cell tracker orange (10 μ g/ml) と hoechst33342 (1 μ g/ml) で染色し、細胞蛍光画像を取得した (図 2)。二核化 (Bi-Nuclei: Bi-N) 細胞当たりの MN 形成率については、N 照射と N+C 照射 (陽子線 1000 個) の照射効果を比較した。その結果、N 照射では照射粒子数 100 個程度で最大を示したのに対して、N+C 照射では、照射粒子数 300 個程度で最大を示した。さらに、照射粒子数 1000 以上では

N 照射にくらべて N+C 照射の方が、おおよそ 2 倍の MN 形成率を示した。MN 形成率の測定において、明らかな細胞質照射の影響をあらわれた。

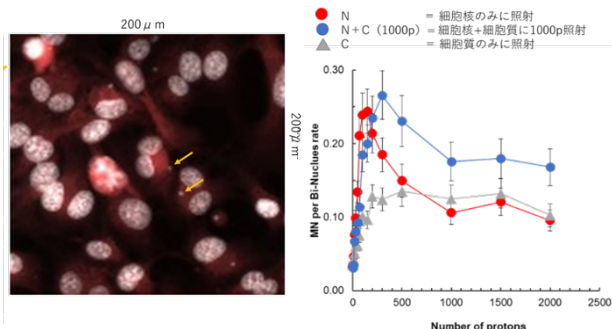


図 1. N、C、N+C 照射による MN 形成率の測定。左図に Bi-N 細胞とその MN の蛍光画像を示した。右図には、N、C、N+C 照射による細胞核への照射粒子数に対する MN 形成率の増減を示した。

3. multi-colorFISH 法による染色体構造解析

クロモスリプシス形成は、MN 形成を介する過程が最も一般的と言われる。そこで、細胞核への照射粒子数に対する微小核 (MN) 形成率の関係を詳細に解析し、その最大となる照射粒子数での生存クローンの取得を優先的に行った。N 照射での MN 形成率が最大は照射粒子数 100 であり、この照射粒子数での生存細胞のクローンを multi-color FISH 法による染色体構造解析を行った。N 照射のクローン 11 個について、m-FISH 画像を取得した。はっきりとした染色体 12 と染色体 5 の Translocation を確認した。しかし、これは、HT1080 細胞株特有の異常であり、マイクロビーム照射によって誘発された染色体異常ではない。よって、クロモスリプシス形成を有するクローンは確認できていない。その他にも N(50)、N(50)+C、N(100)+C の条件で照射したクローンについてもそれぞれ、4 個、4 個、11 個を解析したが、同様にクロモスリプシス形成はなかった。

3. まとめ・今後の展開

本課題では、細胞核のみの照射において、MN 形成率の最大を示した N(100)での生存クローンにクロモスリプシス形成を確認できていない。統計量不足は否めない。また、MN を介さないクロモスリプシス形成経路も検討する必要がある。今後は、これまでの N 照射 (粒子数 100 個) の m-FISH 解析結果を追加する一方で、照射粒子数 500 個以上にも着目して研究を進める必要がある。

4. 参考文献

1. Morishita M, et al. 2016. Oncotarget. 7(9):10182-10192.
2. Konishi T, et al. 2013. J Radiat Res. 54(4):736-747.
3. Konishi T, et al. J Radiat Cancer Res. 9(4).
4. Wang J, Konishi T. 2019. Cancer Sci. 110(2):686-696.
5. Wang J, et al. Radiat Res. 194(3):288-297.
6. Wang J, Oikawa M, Konishi T. 2023. Biology (Basel). 12(3):419.

令和4年度研究成果一覧

課題番号:22SJ02

課題名:細胞核内局所線量付与誘発クロモソリプシス生成の研究

課題代表者:小西 輝昭

原著論文

1. Jun Wang, Masakazu Oikawa, Teruaki Konishi. Stimulation of Nuclear Factor (Erythroid-Derived 2)-Like 2 Signaling by Nucleus Targeted Irradiation with Proton Microbeam. *Biology*. 2023/03, 12(3), p419.

Proceedings

1. 小西 輝昭, 小林 亜利紗, 大澤 大輔, 廣山 陽太, 及川 将一. 陽子線マイクロビーム細胞照射装置 SPICE で実現する放射線誘発単一細胞応答解析. 第33回タンデム加速器及びその周辺技術の研究会報告集, 2023/04, p86-91.

学会発表(口頭発表、ポスター発表、講演等)

1. Teruaki Konishi, Narongchai Autsavapromporn, Tengku Abrizal Tengku Ahamad, Jun Wang
Cytoplasm damage induced defensive cellular response in microbeam targeted mammalian cells
5th Asian Congress of Radiation Research, Asian Association of Radiation Research, 2022/11

マイクロビーム細胞照射装置 SPICE の リサーチ&デベロップメント(R&D)

課題番号(22SJ01)

○大澤大輔^a, 小西輝昭^b, 及川将一^a

a: 量研機構 量子医科学研究所 物理工学部 静電加速器運転室

b: 量研機構 量子生命科学研究所 シングルセル応答解析研究チーム

1. 目的

マイクロビームは特に放射線医科学分野や低線量放射線影響研究において重要なツールであり、マイクロビームなくして得られない科学的知見は少なくない。特に、放医研 SPICE は国内唯一の陽子線マイクロビーム細胞照射装置である。また、ビームサイズ $2\mu\text{m}$ を安定的に提供できることから、細胞核のみならず細胞質への照射も可能である。このような性能を有する、または、共用施設として運営しているマイクロビーム施設は、世界的に見ても稀である。過去数年を見ても所内、国内のみならず海外研究機関の利用が多数みられることから、その重要性は顕著である。そのため、本装置の高度化と保守・維持管理(メンテナンス)は必須である。

2. メンテナンス概要

SPICE は 2003 年度にビーム導入を開始しすでに 19 年が経過しており老朽化に伴う故障が頻発している。今年度も SPICE 基幹部分に故障が生じ研究遂行に支障をきたしたため修理を実施した。以下に詳細を述べる。

2.1. オフライン顕微鏡システムのレンズ駆動部の修理

オンライン顕微鏡システムにてマイクロビームを照射された細胞は細胞処理後にオフライン顕微鏡システムで画像解析される。本システムでは、照射開始位置の決定、撮像領域の設定、焦点合わせ、蛍光画像の撮像、画像処理、画像保存まで一連の動作を高速で処理可能だが、本システムのレンズ駆動部(Z 軸)の故障により処理不能となったため、早急に修理し本来の性能を確認した。

2.2. オンライン顕微鏡システムのレンズスライダ駆動部の修理

オンライン顕微鏡システムにて個々の細胞は照準されマイクロビームを照射される。本システムでは、細胞蛍光画像の撮像、細胞位置座標の計算、細胞照準、規定粒子数照射の一連の動作を高速で処理可能だが、本システムのレンズスライダ駆動部(S 軸)の故障により処理不能となったため、早急に修理し本来の性能を確認した。

2.3. オフライン顕微鏡システムの制御ソフトウェアの更新

修理に加え、懸案だった OS 更新に伴う制御ソフトウェアの更新にも着手した。本システムの制御 PC はサポートが終了した Windows7 を OS としており、故障時に制御ボード等が入れ替え不能となる懸念から最新 OS への更新が望まれていた。そのため、新たに最新 Windows11 を OS とする制御 PC を用意し、制御ソフトウェアのインストール、加えて、制御ソフトウェアの画像処理プログラムや機器制御用ドライバを更新し、動作に不具合ないことを確認した。この更新により制御ソフトウェアの新たな高度化が可能となった。オンライン顕微鏡システムについても来年度に OS 更新と制御ソフトウェアの更新を予定している。

2.4. オンライン顕微鏡システムの制御ソフトウェアの改修(機能付加)

制御ソフトウェアに任意の座標位置へ任意の粒子数のマイクロビーム照射が可能とする新たな照射モード(ショットファイルモード)を機能付加した。この改修でより複雑で高精度な照射が可能となった。

2.5. 再アライメントの実施等

ビーム出口、ステージ、顕微鏡、高感度カメラのすべての再アライメントを実施した。静電加速器本体、真空ポンプ等については、定期メンテナンス時に点検等を行った。

3. 見学対応・共用利用

SPICE の持つ先端的放射線照射技術を公に周知、普及するため、あるいは、その利用を検討している所内外の研究者等に事前説明するため、見学に対応した。

SPICE マイクロビーム照射は一般的なブロードビーム照射とは試料作成や照射後処理手順が大きく異なるため、その利用は未経験な研究者にとって大きなハードルとなりえる。そこで、新規課題申請予定の研究者に対して本課題に配分された R&D マシンタイム(1 日)にて実試料を用いたデモ照射実験を実施した。

3.1. 見学

千葉大 11 名, 名古屋大 1 名, 東京電機大 2 名

3.2. デモ照射実験

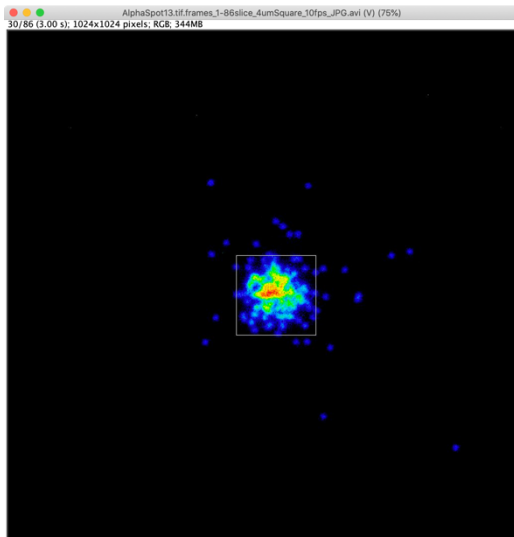
余語克紀 博士 (名古屋大)

マイクロ陽子ビーム測定のためのマイクロシンチレータ開発

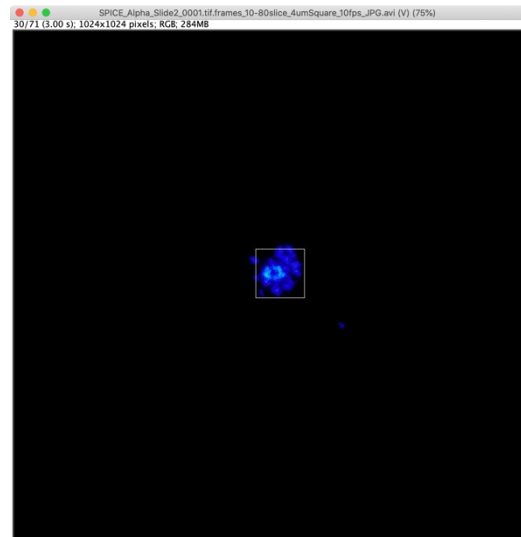
4. SPICE- α 開発

これまでの 3.4 MeV 陽子線に加えて、新たに 5.1 MeV アルファ線のマイクロビーム導入を進めている。それぞれの水中での線エネルギー付与は 11.0 keV/ μm (3.4 MeV H^+)に対して、90.2 keV/ μm (5.1 MeV He^{2+})と約 8 倍になり、その生物効果も大きくなると予想される。ビーム大気取り出し後の細胞照射位置にて蛍光飛跡検出器(FNTD)にマイクロビームを照射し共焦点レーザ顕微鏡で撮像した蛍光画像を示す(左:去年度, 右:今年度)。今年度は去年度に比べビームサイズ、散乱線とも減少を確認した。蛍光スポットの 2 次元ガウスフィットにより今年度の

ビームサイズは $2.8 \times 1.8 \mu\text{m}$ と求められ、これまでの陽子線とほぼ同等の値が得られた。ビーム品質の改善の理由として、加速器調整とビーム輸送パラメタの最適化、特に、イオン源のビーム電流の増強によりオブジェクト(物点)スリットの有効化が可能となり、それにより物点でのビームサイズが制限され、焦点でのビームサイズも小さくなったためと考えられる。引き続き細胞照射に向けて最適化を進める予定である。



5.1 MeV He²⁺ビームスポット(2021 年度)
(目安として 4 μm 枠を示す)



5.1 MeV He²⁺ビームスポット(2022 年度)
(目安として 4 μm 枠を示す)

5. 今後の課題

SPICE は 2003 年にビーム導入を開始しその後も着実に装置性能を向上・高度化させ、照射速度や照準精度に加えて、装置安定性も世界トップレベルの性能を実現している。その一方で、老朽化に伴う故障が頻発しており今後も適切に維持管理するとともに、放射線計測技術、量子センサー等の先端量子科学技術を活用することで SPICE-αをはじめとする SPICE 高度化に関わる技術開発を推進していく必要がある。また、SPICE は量子医科学研究所の共用施設として運営されており、SPICE の先端量子科学技術を活用する課題については共同研究へ発展させるなど、積極的に外部研究機関との連携に努めていきたいと考えている。

SPICE マイクロビームを用いた DNA 損傷複雑性の時空間制御による DNA 二本鎖切断修復タンパク質の応答解析

課題番号(21SJ04)

○大澤大輔^a, 及川将一^a, 小西輝昭^b

a: 量研機構 量子医科学研究所 物理工学部 静電加速器運転室

b: 量研機構 量子生命科学研究所 シングルセル応答解析研究チーム

粒子線がん治療はブラッグピークの線量集中性を活かし、有効ながん治療法としての地位を確立している。しかしながら、粒子線飛跡に沿った微視的線量分布(トラック構造)と細胞致死の主因である DNA 二本鎖切断や複雑な DNA 損傷、細胞応答との相関には未だ不明な点が多い。マイクロビーム細胞照射装置 SPICE は、1.7 MV タンデトロン加速器(HVEE 社製)より加速した 3.4 MeV 陽子線を直径約 2 μm の極小領域に集束させることで、単一細胞レベルで細胞核内局所線量分布を自在に変えて高速照射が可能である。この優位性を生かし、本研究では、細胞核内への陽子線の(複数)照射箇所と照射粒子数を時空間的に制御することで、DNA 損傷の複雑性を多様に生起させ、その際の DNA 二本鎖切断修復タンパク質(γ -H2AX, 53BP1, p-ATM, Rad51, Mdc1 等)の動態を免疫蛍光染色法により経時的に追跡することで、損傷認識・修復応答機構の解明を目指す。

これまでに、細胞蛍光画像内の蛍光スポット強度・面積を高速自動定量する細胞蛍光画像解析 ImageJ マクロを開発し、優れた空間分解能と検出感度について大きなダイナミックレンジを有する蛍光飛跡検出器(FNTD)を用いたビームサイズの高精度評価法、並びに、アモルファストラック構造モデルを用いた細胞核内局所線量分布の計算手法を確立した。得られた局所線量分布は、ビーム中心部でのコア由来のシャープな高線量ピーク群とビーム周辺部でのペナンプラ由来の低線量ブロード凸型分布の 2 成分から成っており、また、照射粒子数の増加に伴い(特にビーム中心部で)増大し、照射粒子数を制御することで、異なる線質を模擬しうることを示した。さらに、照射細胞核内の γ -H2AX 蛍光スポット強度・面積の 1 箇所当たりの照射粒子数依存性を調べたところ、強度については、低粒子数では粒子数の増加に伴いほぼ線形に増大するものの、高粒子数(≥ 300 個/1 箇所)では飽和し始め、細胞核内の残存リン酸化部位の消失を示唆した。一方、面積については、高粒子数(≥ 100 個/1 箇所)になるにつれてビームサイズを超え

て広がり、細胞核内局所線量分布との比較から、コアのみならずペナンプラ線量が DNA 二本鎖切断損傷誘発に有意に寄与することが分かった。

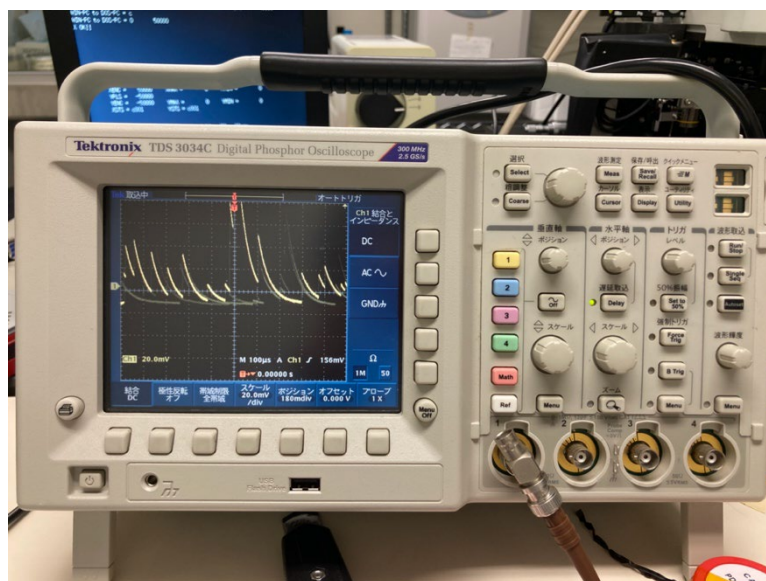
今年度は SPICE 基幹部分に故障が生じたことから細胞照射は行わず、一方で、これまでの細胞実験では統計がばらつくことから、細胞照射位置で焦点を結ぶ収束陽子線の他に射出口等での散乱陽子線がエネルギーを変えて入射している可能性を考慮し、ビーム大気取り出し後の細胞照射位置にて照射粒子線のエネルギースペクトルを測定できないかを検討した。

荷電粒子検出器(PIPS)を用いて、先ず、動作保証された標準線源 Am-241 からの 5.486 keV α 線を PIPS に照射しプリアンプ出力パルスをオシロスコープで観測した。続いて、PIPS をビーム射出口近傍に固定し SPICE- α の 5.1 MeV アルファ線をビーム強度をできるだけ弱めて照射しプリアンプ出力パルスをオシロスコープで観測した。

今後の課題として

1. PIPS への局所的な粒子線照射による損傷の防止
2. 主に XY ステージからのノイズの抑制
3. マルチチャンネルアナライザ(MCA)によるエネルギースペクトルの測定
4. 5.1 MeV α 線に加えて 3.4 MeV 陽子線の散乱線寄与の評価

が挙げられる。1,2については、PIPS を専用細胞皿に固定でき、かつ、静電遮蔽を考慮した治具を製作し、細胞照射と同様に XY ステージを移動させながら測定できないかを検討している。また、3については、現在、プリアンプ出力パルスが小さいために MCA にて信号処理できない状態で、今後、プリアンプゲインの増強や MCA 設定の最適化で対処できないかを検討している。



5.1 MeV He^{2+} ビームのプリアンプ出力パルス

方向感度を持つ暗黒物質探査用シンチレータの評価

課題番号(22SH05)

○黒澤俊介^{a,b,c}、山路晃広^{a,b}、大澤大輔^d、及川将一^d

a: 東北大学 金属材料研究所

b: 東北大学 未来科学技術共同研究センター

c: 大阪大学 レーザー科学研究所

d: 量研機構 量子医科学研究所 物理工学部 静電加速器運転室

暗黒物質の探索は、現代物理学の大きな課題の1つであり、その候補となっている仮説上の粒子が Weakly interacting massive particles (WIMPs)である。この WIMPs は銀河系内における太陽系の公転運動から地球上では見かけ上、はくちょう座の方向から到来するとされている。現在提案されている多くの暗黒物質検出器は方向感度を持たないか、方向感度を持つもののガス検出器のため、検出効率が低いとされている。固体検出器で、かつ方向感度を持つ検出器が開発できれば、当該探査において大きな優位性を持つ。

われわれはこれまで ZnWO_4 シンチレータがその方向感度を持つ固体検出器の候補となりうることを見出しており[1]、さらなる理解を深めるために、アルファ線粒子入射時の応答について調べることにした。そこで、マイクロビーム細胞照射装置 (SPICE) の 3.4 MeV のアルファ線 1 個 1 個を ZnWO_4 結晶の結晶方位に合わせてカットした一方体の結晶の各面に照射させて、その時の発光量について光電子増倍管を用いて計測した (シングル・アルファ・カウンティング)。

その結果、同一結晶であるにもかかわらず、各面で発光量が異なることが示唆された。一般的なシンチレータであれば、同一結晶において結晶面の違いによる発光量に差は出ない。そのため、この差が本当に差としてみなしてよいのか、現在総合的に検討を進めている。また、他の粒子での発光量差などについても検討を加えている。

参考文献

[1] Koichi Ichimura, Hiroyuki Sekiya, Juan W. Pedersen, Akihiro Yamaji, Shunsuke Kurosawa, Measurement of the anisotropic response of the ZnWO_4 crystal for developing the direction sensitive dark matter detector, *IEEE Transactions on Nuclear Science*. 67(6) (2020) 894 – 897.

《令和4年度 共用施設(PASTA&SPICE、NASBEE、X/γ線照射装置)成果報告書 編集事務局》

国立研究開発法人 量子科学技術研究開発機構 量子生命・医学部門 量子医科学研究所

物理工学部 静電加速器運転室

須田 充、三浦 厚

事務局連絡先 e-mail: infopixe@qst.go.jp

ホームページ <http://www.nirs.qst.go.jp>

《編集発行》

国立研究開発法人 量子科学技術研究開発機構 量子生命・医学部門 量子医科学研究所

物理工学部 静電加速器運転室

〒263-8555 千葉県千葉市稲毛区穴川4-9-1

TEL: 043-206-3031 FAX: 043-255-3192

令和4年度 共用施設(PASTA&SPICE、NASBEE、X/γ線照射装置)

成果報告書

2024年 2月発行

印刷 (株) エイ・エフ・エイ

©2024 国立研究開発法人 量子科学技術研究開発機構

Printed in Japan

QST-M-46

