

放射線医学総合研究所



801998019



平成6年度

放射線医学総合研究所

重粒子線がん治療装置等

共同利用研究報告書

放射線医学総合研究所



平成6年度から開始された「重粒子プロジェクト研究」は、重粒子線を用いた臨床試行研究と、それを支える基礎研究によって構成されるプロジェクトである。このプロジェクトの特徴は、両研究が共に研究所外の多数の研究者との共同利用研究であることにある。

HIMACが世界で初めての医療専用の重粒子線治療装置として建設された経緯から、このプロジェクトを開始した平成6年度当初は、臨床試行の開始に全力を注ぐ体制が取られ、臨床試行の実施に必要な研究がなによりも優先された。その甲斐があつて、臨床試行は6月21日に開始され、その後も順調に続行されている。

このため、所内外の研究者による本格的な基礎共同研究プロジェクトが始められたのは昨年10月以降となり、以前からこのプロジェクトを心待ちにしておられた多数の研究者の方々に、装置の利用時間の不足など多くの負担をおかけして、申し訳なく思っている。

基礎研究を実施する上で数多くの困難があつたにもかかわらず、これら所内外の研究者の共同研究による初年度の基礎研究報告の内容は充分にご満足頂けるものであつて、これらの研究の今年度以降のさらなる発展に大きな期待を寄せるものである。

初年度であつたために、所外の研究者の受け入れに関する所内の体制が十分に整備されていなかったために、所外の研究者の方々に多大のご苦勞をおかけしたことをおわびすると共に、不完全な体制の中で、所外の研究者の受け入れと実験の補助のために、自分自身の研究の合間を縫って、多くの労力と時間をご提供頂いた所内の研究者の方々に厚く御礼申し上げるものである。

共同研究開始から2年目の平成7年度は、熱心な研究者達によって年度当初からすでに、深夜まであるいは徹夜の実験が行われており、臨床試行と同様に基礎研究も大きな成果が挙げられるものと期待を寄せている。

平成7年5月

重粒子治療センター長 森田 皓三

目次

2. HIMAC共同利用研究マシンタイム使用実績	1
3. 治療班	3
4. 診断班	19
5. 生物班	27
6. 物理・工学班	113

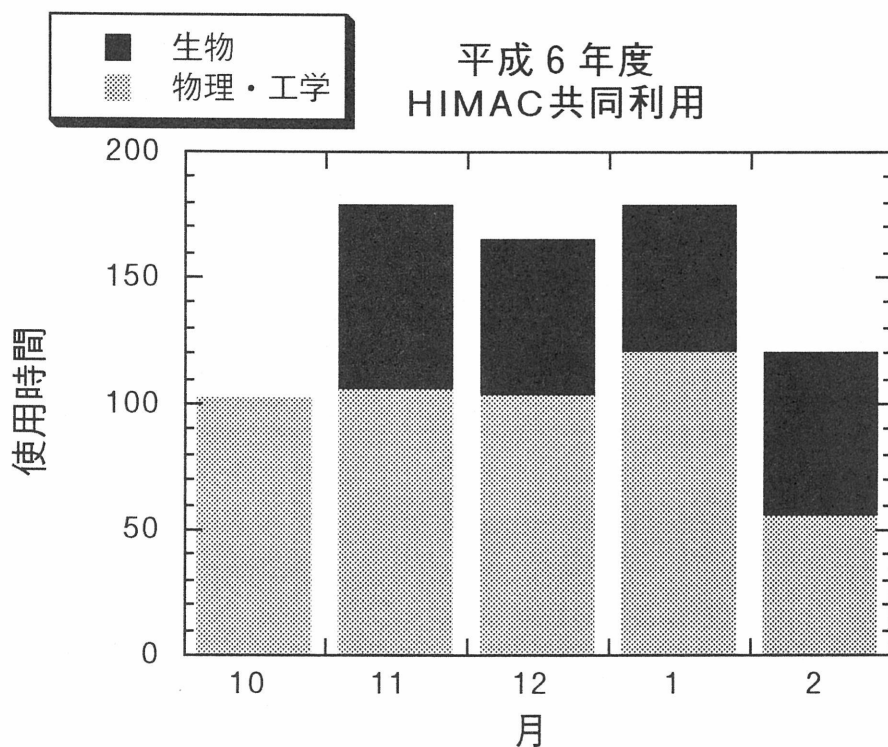
HIMAC共同利用研究マシンタイム使用実績

平成6年度のHIMAC共同利用研究におけるマシンタイムの利用は、物理・汎用室と中エネルギービーム照射室が10月から、また生物室が11月から開始された。平成7年2月までに利用された時間は3室合計で、延べ695時間にのぼった。共同利用の初年度であること、昼間は臨床試行が行なわれているため、夜間と週末の利用に限られていることを考えると、加速器等が極めて順調に稼働していることがわかる。月別の使用時間を下図に示す。

(注1) 共同利用実験のために加速器を運転した時間であり、実際にビームを照射室に導入している時間ではない。

(注2) 臨床試行及び臨床試行実施のために必要な実験は含まれていない。

(注3) ビームの切り替え、加速器の調整時間は原則として含まれていない。



治 療 班

重粒子線治療の患者固定法と照射技術法の研究

(6C-001)

松岡祥介^a、溝江純悦^a、遠藤真広^a、加藤博敏^a、古賀雅久^a、古川重夫^a、
宮本忠昭^a、辻井博彦^a、辻比呂志^b、稲田哲雄^b、森田浩三^a

^a放医研、重粒子線治療センター

^b筑波大学、陽子線医学利用センター

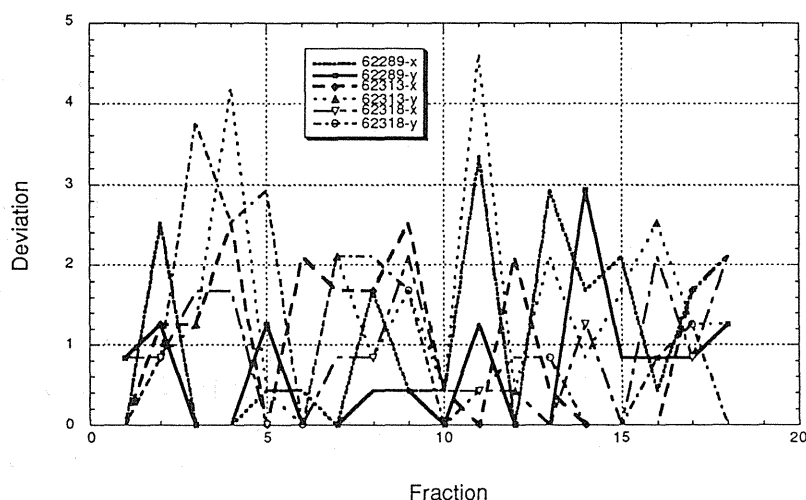
1. 研究の目的及び年次計画

より精密な重粒子線治療を行うために、疾患の部位及び種類に応じた固定法、治療計画法、照射法を研究する。その為に、

- 1) 日常の重粒子線治療の結果をみながら、患者体位再現性の向上に関する研究を行う。
- 2) 3次元的に腫瘍進展範囲を精密に確認する為に、MRI画像（特に矢状断、冠状断）を使った治療計画の研究を行う。
- 3) 重粒子線の Conformation Therapy を研究する。
- 4) 呼吸同期がなされた照射方法を研究する。

今年度の研究経過及び成果

- 1) 頭頸部腫瘍、脳腫瘍、肺腫瘍の重粒子線治療に於いて、各々固定具を作成し、実際の重粒子線治療での固定の精度を確認した。その結果、開始初期の水平ポートのみで行われた3例の頭頸部腫瘍において、照射の軸方向の確認X線写真に於いての2方向（左右又は前後、及び上下）のズレは4mm以上（5mm未満）が1.9%、3mm以上が1.9%、2mm以上が17.6%、2mm以下が78.7%であった。



治療計画時には、5mmを治療の安全域として設定しているが、今回の照射野の確認では5mm以上のズレは見られていない。2mm以上のズレがやや多い印象であるが、原因として、前方からの照射を水平ポートで行ったために躯幹を横臥位とした照射が19門（38方向）、前方及び後方斜方向照射の為に躯幹も斜めとした照

射が12門(24方向)あり、その為に発生した回転等により基準となる解剖点と照射の中心がずれたことが挙げられる。第2期マシンタイムでは水平及び垂直ポートが使用されているので躯幹を回転させる必要はなく、頭頸部腫瘍5例、脳腫瘍4例においてはその固定の精度は満足できるものである。しかし、肺腫瘍6例(9固定具)においては、初めの固定位置から実際の照射位置への修正を必要とする症例が多く、この原因として、固定時の基準部位を足底としたことを考えられている。これに代わる新しい基準部位として、現在、肺腫瘍に関しては肩部を使用し、比較的満足のゆく結果が得られつつある。

2) 頭頸部腫瘍、脳腫瘍の治療計画に於いて、正確に腫瘍の進展範囲を確認しながら Target Volume の輪郭入力を行うべく、矢状断、冠状断が可能な MRI 画像を使用した治療計画システムの研究を開始した。

① 名前を「CT, MRI 統合画像解析ツール」とした。

② 基本的な処理手順としては、

1. CT データ (治療計画用)、MRI データ (標的容積の輪郭入力済み) を解析用形式に変換し、

2. CT 画像、MRI 画像を3次元表示し、各々の表面のポイントをとる。

3. ポイントの計算、及び視覚的に両画像の半透明合成を行う。

4. MRI 画像上の輪郭データをCT画像のデータに変換し、表示する。

5. 変換後のデータを、直接、治療計画で使用する。

③ これにより、正確に腫瘍に限局した Target Volume の作成が可能となり、又、重要臓器への過線量照射が避けられるために、腫瘍に対してはより高線量で治療率の高い、周辺正常臓器に対してはより障害の少ない照射が可能となる。

以上のシステムのスペックに関しての数回の打ち合わせの後に、既設のワークステーション上で動作可能なソフトを発注した。

3) 重粒子線治療、特に頭頸部腫瘍、脳腫瘍において、より小さな Target Volume への正確な照射に対応すべく固定具支持装置を購入した。数種類の固定具支持装置から、現在の頭頸部・脳腫瘍での治療時の誤差は2mm以内を実現しているが、より精度の高い固定の再現性を得るために、さらなる工夫が必要である。特に、ローリングやピッチングを少なくした固定が必要で、その為に枕と顔面シェルの固定に、固定具支持装置を加え、固定の精度を上げる研究を行う。過去、光子線の固定(顔面シェルのみ)をCT画像で評価したときは、その動きは数mmであった。今回も、CT画像を使用した固定の確認法によって、固定具支持装置の精度を評価する。この固定具支持装置の使用により、1mm以内の固定精度が確保された場合、重粒子線による Conformation Therapy の研究を行う。特に、小さな Target Volume への Conformation Therapy を行うための固定法、照射法(ビームの数、コリメーターやボラスの大きさや形状など)の研究を開始する。

4) 6例の肺腫瘍の治療計画時に、呼吸移動を評価するために治療計画時のCTを、呼吸止め、吸気止め、自然呼吸の3種類で行い、又、連続透視画像による呼吸移動を確認し、治療計画を行った。その結果、Target Volume はやや大きくなったものの、腫瘍形状と呼吸移動を十分に含んだ治療計画が可能であった。これらのデータは、呼吸同期照射が可能となったときのコントロールとして貴重なデータとなる。

重粒子線治療の照射線量容積と腫瘍制御・正常組織障害との関係に関する臨床的研究

6 C - 0 0 2

中野隆史¹ 佐藤眞一郎¹ 石川敦子¹ 寺原敦朗¹ 中村謙¹ 佐方周防²
田伏勝義³ 金井達明¹ 早田勇¹ 南久松真子¹

1. 研究目的及び年次計画

X線による放射線治療では空間線量分布に分割照射効果を加味して障害発生を予測する方法はいくつか提案されているが、臨床応用の段階には至っていない。一方、X線治療ならびに中性子線治療患者の正常組織障害の線量効果関係の研究が進み、高LET放射線は臓器に対する生物効果が臓器の違いで大きく異なることが報告されている。たとえば中枢神経系ではRBEが4-5と考えられるに至っている。高LET放射線の生物効果を正確に把握することが重要と考えられている。

重粒子線治療においては高LET放射線の生物効果に加えて、空間線量分布が優秀なことから生物効果を評価するには照射容積の因子も考慮しなくてはならない。しかし、重粒子線治療では線量分布の評価は物理線量分布の他に生物効果を一部取り入れた有効線量分布で線量容積ヒストグラムなどで解析されているものの、依然、分割照射に伴う効果は無視されており、さらに実際の照射効果を忠実に反映するかどうかも検証されていない。つまり、重粒子線の照射効果は各組織の放射線感受性の相違、分割照射法や照射容積等に依存するが、これに対応した照射効果解析方法は未だ確立していない。

そこで本研究では空間線量分布と分割照射法から、腫瘍の局所制御と放射線障害の予測を行う方法を開発研究する。

平成6年度研究計画

1) 分割照射効果を加味した照射効果モデルの開発研究

a) 照射効果モデルの開発研究

b) 光子線治療患者の線量分布、分割法と再発・障害の治療データの解析研究

c) 照射効果モデル解析のための技術的研究

i) 光子線および重粒子線治療計画装置から線量計算データと輪郭データを転送し、色々な生物効果分布を計算するプログラムの開発研究。

ii) 線量分布や生物効果分布から照射効果(局所制御・障害)を定量化するプログラムの開発研究。

iii) 腔内照射線量分布とCT画像の輪郭対応入力プログラムの開発研究。

2) 重粒子線治療と慣用放射線治療の空間線量分布の比較研究

いろいろな癌患者の治療計画を重粒子線と光子線を用いた場合についてDVH解析により腫瘍と正常組織の照射線量容積を定量的に比較し、最適な治療プランの研究をおこなう。

3) 照射線量容積とリンパ球の染色体異常の研究

光子線治療と重粒子線治療患者のリンパ球の染色体異常の相違やこれと線量容積の関係の解析を行う。

平成7年度以降は

1) 分割照射効果を加味した照射効果モデルの開発研究を行う。

2) 重粒子線治療の分割照射効果を加味した生物効果分布計算法と腫瘍ならびに正常組織の照射効果モデルを開発する。

3) 重粒子線治療患者のデータをもとに線量分布や分割照射法から、腫瘍・正常組織の照射効果を解析し、腫瘍の局所制御と放射線障

害の予測を行う方法を開発研究する。

4) 重粒子線治療患者の線量分布と再発・障害の治療データの解析研究。

5) 重粒子線治療の正常組織の早期・晩期反応の定量化の研究とその予測システムの開発研究。

2. 今年度の研究経過及び成果

1) X線写真に保存したCT画像をイメージスキャナーでコンピューター画像としてMSDOSで利用可能にするシステムを作成した。

これは空間座標も合わせて取り込みこのCT画像から正確な腫瘍や臓器輪郭を抽出するためのシステムである。この画像に腔内照射の線量分布を重ね合わせ臓器の線量容積の解析を行う。

2) 腔内照射の線量計算装置に生物学的照射効果の一つであるTDF分布が計算できる線量分布計算システムを作成した。これにより、腔内照射の分割効果を加味した生物効果分布が表示できるようになった。また、これにより外部照射と腔内照射など異なる照射法の線量分布が生物効果分布として合成できるようになった。これにより、重粒子線治療の対照となる子宮癌の腔内照射治療の局所制御と障害の正確な解析が可能となった。

3) 子宮癌の腔内照射治療における局腫制御と線量分布の関連の研究

これまでに放医研で治療され2年以上経過観察された子宮頸癌の腔内治療患者をDVH解析により検討した。その結果、局所再発例は腫瘍の24Gy以下の線量容積が大きい症例に多く、局所制御された症例は24Gy以下の線量容積が著しく小さかった。この結果から腔内照射の局所再発には腔内照射の線量分布が不十分なことが一因と考えられた。また、DVHの評価は一般に相対線量容積で分

析される傾向が強いが、絶対線量容積の方が局所制御とより相関が強く、絶対線量容積での評価が重要と考えられた。さらに、腫瘍の大きさに対応した個別化治療が不十分であることが分かった。

4) 子宮頸部腺癌の放射線治療成績の解析

これまで放医研で治療された58名の子宮頸部腺癌の放射線治療成績を解析した。5年生存率はI期II期III期IV期それぞれ、85.7%, 66.7%, 32.3%, 9.1%で子宮頸部扁平上皮癌に比べて成績が低かった。腔内照射と外部照射で治療されたが、腔内照射を高線量率線源で治療した患者の局所制御率は低線量率線源の場合に比べて低下していることが特徴的であった。

5) 照射線量容積とリンパ球の染色体異常の研究

子宮癌の放射線治療における染色体異常解析を行い、照射線量と染色体異常の相関が得られた。

3. 参考文献

中野隆史、荒居龍雄、五味弘道、森田新六、恒元 博、池平博夫、福田信夫、館野之男. 子宮頸癌放射線治療におけるMRIの臨床評価. 日医放会誌47, 9, 1181-1188, 1987.

中野隆史. 粒子線治療. 重粒子線の空間線量分布の定量的評価-臨床. 日放腫会誌2, 123-126, 1990.

中野隆史、五味弘道、森田新六、荒居龍雄、恒元 博、池平博夫、館野之男. 子宮癌へのNMR-CTの臨床応用. NMR医学4, 2, 71-77, 1984.

中野隆史、森田新六、佐藤眞一郎、恒元 博、

杉田公、柴山晃一、石居隆義、他. 70MeV陽子線による眼のがんの治療成績について. 粒子線治療施設の有効利用に関する総合的研究. 日放腫会誌, 3, 189-192, 1991.

4. 成果発表

{論文発表}

Nakano T, Arai, T., Morita, S., Oka, K. Radiation therapy alone for adenocarcinoma of the uterine cervix. (in press) Int. J. Radiat. Oncol Biol Phys. 1995.

Atsuro Terahara, T. Nakano, A Ishikawa, S. Morita, H. Tsujii. Dose-volume histogram analysis of high dose rate intracavitary brachytherapy for uterine cervix cancer. Int. J. Radiat. Oncol Biol Phys. 1995. in submission

{学会発表}

中野隆史他 日医放学会シンポジウム1994年

Nakano T. Korean Soci. for Thera. Radiol. Spring Symposium Special Lecture 1994.

寺原敦朗 日放腫学会1994

¹放医研

²千葉がんセンター

³埼玉がんセンター

重粒子線治療における至適照射法の研究 (6c-003)

宮本忠昭^a、滝口恭男^a、青柳壽幸^a、高村大^a、富沢稔^a、横田朗^a、中野隆史^a、
寺原敦朗^a、安藤興一^a、村山重行^b、磯野可一^c、宮沢幸正^c

1 研究の目的及び年次計画

- ・ヒト組織（腫瘍、正常）に対する重粒子線のRBEを実験的に求め、これに基づき分割照射実験により至適照射法を研究する。
- ・(平成6年度) ヒト肺癌株に対するX線、速中性子線の1回照射実験によるRBEの測定、(平成7年度) 同株に対する炭素線の1回照射実験によるRBEの測定(平成8,9年度)ヌードマウス腫瘍に対する多分割照射実験による至適照射法の検討、(平成10年)ネオン、シリコン、アルゴンビームの使用及び肺癌以外の腫瘍、(大腸癌、乳癌など)の検討

2 今年度の研究経過と成果

(1) ヒト肺癌腫瘍を用いた研究

- ・ X線の線量-細胞生残率曲線(6種)、線量-成長遅延曲線(10株)のデータ整理を行った。
- ・ 4株の培養細胞株に対する速中性子線の線量-細胞生残率曲線を得、RBEを求めた。この内の1株をに対してリッジフィルターで6cmにBragg Peakを拡大した290MeV炭素線を用いて線量-細胞生残率曲線を求め、RBEを算出した。

(表-1)

(2) 正常及び肝硬変を有する肝組織に対する放射線耐容線量を評価するシステムの開発

- ・ 肝部分切除後の再生肝に対する放射線の照射実験モデル
- ・ TTA(Thioacetamide)投与による肝硬変マウスの作成

表-1 速中性子線(FN)および290 MeV炭素線(Carbon)に対するRBE (ヒト肺癌細胞株)

	IA-5 (Large)	モリサダ (Adeno)	クボタ (Small)	KH (Small)
細胞増倍時間	32 h	66 h	98 h	75 h
D0/Dq (RBE)				
X (200kV)	1.05 / 0.2	1.7 / 0.35	0.95 / 0.25	0.85 / 0.5
FN (d-30MeV)	0.65 / 0.1 (1.6)	1.05 / 0.1 (1.6)	0.6 / 0.05 (1.6)	0.55 / 0.07 (1.5)
Carbon (13KeV)	* 0.9 (1.17)			
Carbon (40KeV)	* 0.7 (1.5)			
Carbon (80KeV)	* 0.75 (1.4)			
Carbon (120KeV)	* 0.6 (1.75)			

* 1回のみ、他は3回の平均

a 放医研・重粒子治療センター
b 大阪大学医学部放射線科、
c 千葉大学医学部第二外科

速中性子線および陽子線による治療研究 (6C-004)

宮本忠昭、溝江純悦、松岡祥介、中野隆史、森田新六、中村譲、古川重夫、寺原敦朗、加藤博敏、青柳壽幸、富沢稔、高村大、石川敦子、辻井博彦、森田皓三

研究の目的

放医研のサイクロトロンより射出される速中性子線および陽子線を用いて、肺癌、肉腫などの放射線抵抗性癌および眼の黒色腫の治療を継続しつつ、重粒子線治療の適応を明らかにするとともに照射技術の開発を行う

1 平成6年4月から12月まで速中性子線照射47名(肺癌:23、頭頸部癌:8、脳腫瘍:5、軟部肉腫:3、骨肉腫:2、耳下腺癌:1、腎癌:1、卵巣癌:1、肝癌:1、膀胱癌:1)および陽子線照射6名の治療を行った。

2 肺腺癌60名に対する速中性子線単独照射の成績を表-1と図-1に示す。生存率および局所制御率ともにブースト照射を主体とした64名に対する報告例の成績(1)を再確認する事ができた。致死的肺傷害は5%(3/60)でⅢ/Ⅳ期のみに見られた。

表-1

速中性子線単独治療による肺腺癌
(1990-1994, NIRS)

	全病期 (60)	I+II (21)	ⅢA+ⅢB+Ⅳ (39)
平均年齢	65.11 ± 10.39	72.81 ± 6.30	60.90 ± 9.70
男/女	47/13	16/5	31/8
病期 I	16 (26.7%)	16	
II	5 (8.3%)	5	
ⅢA	11 (18.3%)		11
ⅢB	11 (18.3%)		11
Ⅳ	17 (28.3%)		17
線量(cGy)	19.90 ± 1.28	19.91 ± 1.33	20.0 ± 1.25
レスポンス			
CR	3	2	1
PR	45	14	31
NC	7	3	4
判定不能	5	3	2
致死的肺障害		0	3 (7.7%)

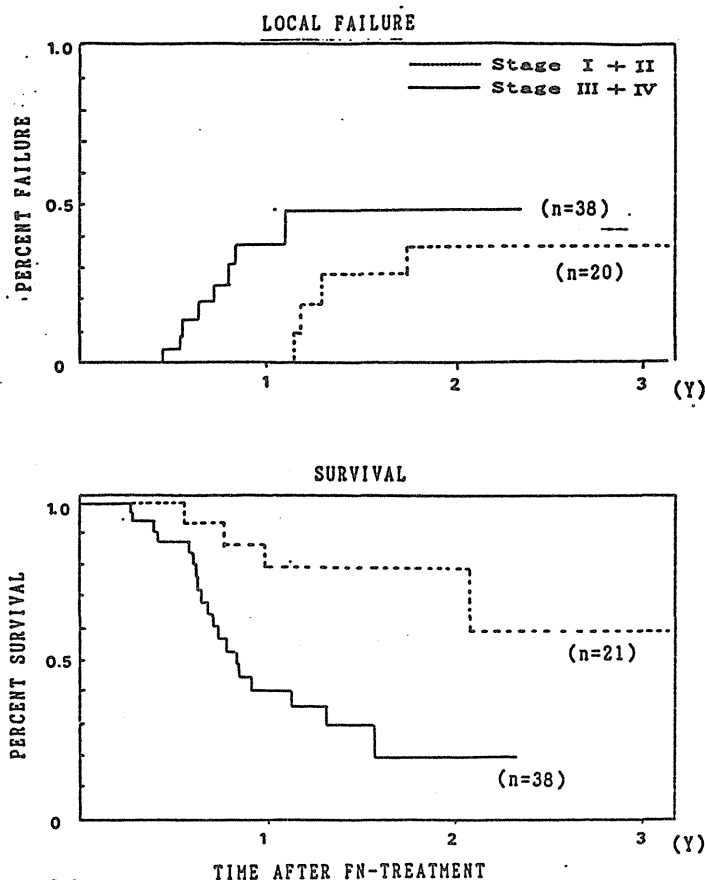


図-1

3 小細胞性肺癌・限局型10名に対してライナックで40Gy相当照射した後、局所に絞って6Gyの速中性子線をブースト照射した。図-2に示すように、光子線のみを対象症例16名に対して局所再発率は著しく低下した。

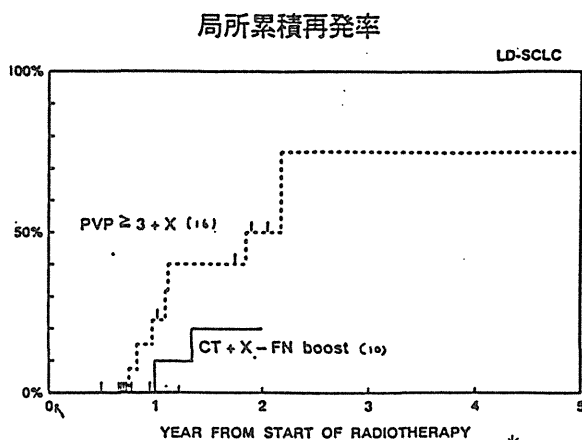


図-2

4 19 症例 24 部位の原発性と転移性脳腫瘍に対して速中性子線の多平面多方向照射法 (Neutron Knife)の開発を行った (図-3)。現在まで当照射法による傷害は見られず線量分布の改善による安全性が確認された (2)。

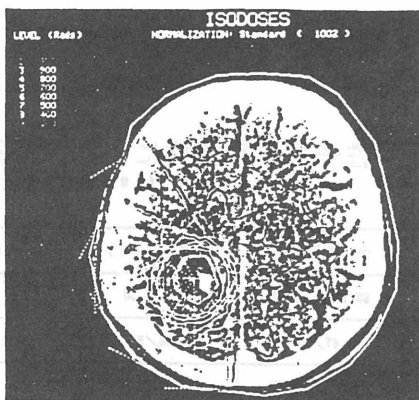


図 - 3 速中性子線による 6 門照射の線量分布図

文献

- (1) Miyamoto T. et al: Fast neutron radiotherapy of non-small cell lung cancer Int J Oncol 4:193- 199, 1994
- (2) 溝江純悦 : 脳の悪性グリオーマに対する速中性子線の多方面多方向照射法の開発(Neutron Knife) INNTERVISION 51-52 1994

重粒子治療センター

重粒子線治療における診療情報処理の最適化に関する研究

(6C-005)

佐藤眞一郎^a、福久健二郎^a、遠藤真広^a、辻井博彦^a、森田皓三^a

1. 研究の目的および年次計画

放医研における重粒子線がん治療の成果が、長い将来にわたって適切かつ正確な評価を受けるためには、実行治療の内容とその結果が客観的・詳細に記録され、その記録を随時多角的に参照できることが必要不可欠である。さらに、本プロジェクトでは重粒子線を用いた治療は放医研で実行するが、適応決定までの診断作業と治療後の追跡作業は外部の医療機関との協力体制の下でおこなうという、変則的多施設共同診療研究体制を敷いている。このような状況下での診療記録管理の最適化について研究をおこなう。

1994年6月から実際の治療照射が開始されており、本年度はこれに対応して治療照射録の設計・試用、ならびにその改良に重点を置いた。あわせて治療照射記録の電算化の第1段階として、コンピュータネットワーク上での診療記録の基本的取り扱い技法についても検討をおこなった。

1995年度以降は新設が予定されている「医療情報室」の重要な課題の1つとして、診断に関する情報、放射線以外の治療に関する情報、治療効果（追跡調査を含む）に関する情報等に範囲を広げて検討を加え、放医研で現在運用されている病歴システムをベースとして「重粒子線を含めた放射線治療を中心としたがん集学的治療専門病院の持つべき理想の病歴情報システム」の構築をめざすこととする。

2. 今年度の研究経過および成果

(1). 重粒子線治療照射記録（照射録）

照射録は放射線治療の具体的処方および実際に照射された内容を記録するための重要な書類である。主治医はここに自らの立案した治療計画を記述し、治療実行者（診療放射線技師等）に対する具体的指示を記す。したがって、電算化を前提として照射録を設計することが本研究の今年度の最重要課題と考えた。

電算化を前提とする場合、照射録の構成および記入要領は厳密な定義に基づかなければならない。そこで ICRU-Report50を参考に、放射線外部照射治療を「PLAN」と「FIELD」という2つの概念で定義した。「PLAN」とは一口でいえば線量分布であり、人体の各組織にどの程度の線量を付与するかを表現し、この線量分布を実現するために構成する各門のパラメータを「FIELD」で規定する。したがって、根治的放射線治療でしばしば用いられるPTV (Planning Target Volume) の段階的縮小は複数の「PLAN」の積み重ねとして記録される。

「PLAN」では最小限CTV (Clinical Target Volume) の線量（各「FIELD」から受ける線量）が記載されるが、必要に応じてその他の関心点の線量も記載が可能であり、照射治療の実行記録をもとにしてそれらの点の実際の線量を日毎（回毎）の総和として（必要ならばTDF等の生物等価線量も）、容易に計算できる。

一方、重粒子線治療においては「線量」の単位として何を用いるかが問題である。基本に立てば重粒子線の「線量分布」は物理線量（吸収線量）とLETの分布と考えられるが、治療の現場で用いられる照射録にこれらの値

を記録するには無理がある。そこで臨床試行プロトコルにしたがう意味も含めて、今回試用した照射録ではG y Eを採用した。ただしG y Eの定義を別に明確に記載し、必要なおりに可能な限り原点に立ち還れるよう配慮した。

今後試用症例を重ね、さらに明らかになった問題を解決した上で正式な照射録とする予定である。

(2). コンピュータネットワーク上での診療

情報記録の基本的取り扱い技法

診療記録（レコード）には非常に多くの種類があり、「診断情報」ひとつをとってみても原発腫瘍に関するもの、転移巣に関するもの、合併症に関するもの等きわめて多様である。一方、本研究の目的にあるように、まず患者単位で後日の多角的参照に耐えられるように情報を管理するためには何らかの形で多種類のレコードを統一して扱う必要がある。本研究ではデータ利用の永続性の確保を重要

視し、レコード内容はできる限り普遍的なものに限定するとともにレコード種類をなるべく階層化し、診療内容そのものの変化に追従できるように考慮した。現在の1つの案を〔表1〕に示す。この結果、データベース構造は簡単になるが、これを利用するためのソフトウェアでデータの解釈をおこなうことになり、その分複雑となる。しかし、診療記録は登録時と利用時とでその意味や価値が異なるのはむしろ自然であると考えた。

現在、レコードのトランザクション処理のための基本ソフトウェアの整備をおこなっている。

3. 参考文献

ICRU Report 50 : Prescribing, Recording, and Reporting Photon Beam Therapy
Sep., 1993

a : 放医研・重粒子治療センター

●レコードの共通部分

- ・レコードID データベース中での物理的なレコード識別番号
- ・患者ID そのレコードが属する患者の識別番号
- ・登録日時 そのレコードが登録された日時
- ・登録者名 そのレコードを登録した職員の名前
- ・記録日時 そのレコードの内容が決定した日時
- ・更新情報 あるレコードを更新したときの、更新前のレコードID
- ・レコード種別 「レコード内容」の部分に記述されている内容を規定する分類
たとえば「血液一般検査結果」、「腫瘍進展度」など

●レコードの可変部分

- ・「レコード種別」に対応した書式でデータを記録する。記録はできる限り生に近い形でおこない、分類やスコア化は利用時のアプリケーションでおこなう。

表1 : レコード構成の1案

重粒子線治療の臨床研究計画法ならびに評価法の研究

(6C-006)

赤沼篤夫*、寺原敦朗、森田新六、岡 邦行、向井 稔、中野隆史、
佐藤真一郎、中村譲、古川重夫

放射線医学総合研究所 * 障害・臨床研究部、治療・診断部

1. 研究の目的および年次計画

生物研究では、ある仮説をたて、これを実証する実験計画を立て実験結果により証明する。臨床研究では任意に仮説を立てる事は許されない。科学的根拠のある期待に基づいて臨床研究計画は立てられる。この臨床研究計画は研究者が任意に作成する事は反社会的で許されない。現在の社会が認める方法を用いる必要がある。その方法が phase study である。科学的に臨床応用の可能性のある要素が発生した場合に、その要素を臨床に適用して人間性および社会性を満足する価値判断に基づいて、より有利であるかの実証である。フェーズ1は尺度を定めるのである。その尺度を用いて科学的に証明された人体に应用可能な新要素を人体で調査するのがフェーズ2である。この調査により、新要素にかなう集団が選択される。任意の人間集団ではなく、この選択された人間集団に於いて新要素が価値判断上有利であるかを実証するのがフェーズ3である。多くの場合この価値判断は患者の生存率を基準として考えて居るが、それだけではなく価値の評価法はプロトコールに規定される。この評価は相対的な変数であり、臨床試行の目的関数と呼ぶべきでもあろう。この目的関数の変数の一つが生存率であり、Performance Status であり、痛み等である。これらの変数は統計量としての数値化される故に信頼性と言う parameter を必ず備えもつ。故に目的関数は目的の値と信頼度の双方を算出する関数であるべきである。変数も所定の評価法に基づいて算出され、より信頼性のある変数にするので各々作業関数と呼ぶべきである。作業関数の最も重要な物は診断と治療である。この作業をどの様にして変数とするかが問題である。

この変数すなわち作業関数を統計量として用いる場合には、その信頼性が問題であり、これをどの様にして高めるかの問題だけでなく、どの様に作るか、ある

いは表現するかの問題も発生する。この作業関数を作る作業の精度すなわち作業パラメータ選択の問題や事例数の大きさ等の統計的問題を検討する必要がある。どの問題から検討するかを選択があるが今年度は学習型のデータベースの概念の確立を前提として治療や診断の作業関数や結果の評価の関数在り方をけんとうした。

2. 今年度の研究経過及び成果

放射線治療データベースは、患者の生存意義と存在価値を高める為に、放射線治療をより効果的に行い、患者の生存率と生活の質の向上を図ることを目的としている。そのためには、治療方法の最適化をおこない、また生存期間等の予測が行える方法を備えていることが望まれる。まずは人体パラメータや病状パラメータのを得る為に診断結果の情報化を確立する必要があると同時に治療内容の情報化の確立を図る必要がある。これは分類法の問題だけでなく個人差の表現法や曖昧な表現への対応も考慮されなければならない。治療結果は生存率または特異的なスカラー量で表現できる方法を考え、所定の機能 (Function) により自動的に最適な治療プロトコールへの解をもたらす能力を持たす。

A. プロトコールの最適化

治療結果は患者の病状と治療法に依存する。即ち、患者の病状を表現するパラメータをベクトル X 、治療を表現するベクトル U とし、治療結果をベクトル Y とする。(Y をスカラー量、生存率だけで考えるとシステム全体の適応範囲が狭まるので初めからベクトルとして考える。) いずれのベクトル量も構成エレメントの作成に各 data の classification と weighting の問題があるが、下記の様に表現できる。

$$Y = F(X, U)$$

Yには価値判断を入れる必要がありこれをQOL (q) と一応呼ぶ事とする。

$$q = f(Y)$$

Yの要素としてはQOL (quality of life、performance statusを含む) や、生存率、局所制御率、障害発生率、その重症度、局所再発率、転移発生率、転移site、その重複度等が考えられる。

蓄積された治療データに基づき、qを最大とする方向に治療パラメータUが変更されることが望まれる。この問題は治療パラメータUでqを最大化する最適化の問題として捕えることができる。この際最適なUはXに依存する。

$$U = G(X)$$

このGが治療プロトコルであり、最適なGに修練させることが目的である。実質的には病状パラメータを離散化(分類)し、各病状の分類に対して最適な治療パラメータを検索することになる。これが最適化への初期値となる。

シンプレックス法

Powellの共役傾斜法

B. 分類

Xについてはanatomicalなデータ、physiologicalなデータ、psychologicalなデータ等があるがこれらのpathologicalな変化が主なデータとなる。前者を生理的データ、後者を病理的データと呼ぶ。生理的データを大分類に、病理的データを比較的小分類に用いるのが望ましい。

Xの要素であるが、基本的には原発部位、浸潤度、局所進展度、機能障害度、転移部位、その重複度、その重症度、病理組織、その悪性度、生体反応、免疫反応等考えられる。また、現在考慮されていない患者心理、家族の条件等も要素として加えるべきであろう。

これらの項目についてもclassificationとweightingが必要である。観察点(診察結果)を直接要素として用いるのは適当でない。なるべく現状で用いられているICDコード等にして要素とするべきであろうが、それでは細かいプ

ロトコルの最適化等の機能は持たないだけでなく、国際分類とは違う日本の胃がん規約や食道がん規約に対応できない。また、TNM分類のように変動していく物に対して安定な要素である必要がある。

何を要素に選定するかを検討とその要素を形成する為のfunctionを考える必要がある。このfunctionは診察、診断様式の変動に対応できる物である必要がある。

Uの要素を如何に形成するかは更に困難である。治療は幾つかの治療法を用いて実行される。治療法に関しては放射線療法、手術療法、化学療法及びそれらの組み合わせが主に考えられるが、その他の治療法も無視できないであろう。特に治療結果に関してQOLを重視するとしたら、リハビリや運動療法、精神療法等も無視できない。それぞれの治療法に関してclassifyし、そのweightの表し方を研究する必要がある。ここでは放射線治療に重きを置くのであろうが、如何なる項目がUの要素に成り得るかが問題であろう。多変量解析で必要度は決められると思うが、その場合はモデルが問題である。例えば線量であるが、照射効果のみを目的としたら、その単位はNSDやTDFでよい。しかし、システム全体で障害の検討を行うのであれば、線量は物理線量に分割法や照射期間を要素に加える必要がある。ただし、線量としてサブシステムを考える事ができるかもしれない。照射モードであるが、例えば外照射、内照射を別々の要素として用いるが、それらの組み合わせの方が治療結果を大きく左右する可能性もたかい。

放射線医学総合研究所における共同利用研究の報告書 (6C-010)

寺原敦朗^a、赤沼篤夫^b、中村譲^a、古川重夫^a、中川恵一^c、青木幸昌^c、
蓑原伸一^d、遠藤真広^d

1. 研究の目的および年次計画

最近の放射線治療の一つの進歩として、ターゲットに対して線量を集中させ、周囲の正常組織の障害発生率を低下させるための照射技法の開発が進んでいる。その際には高精度な患者の位置設定が必要となるが、それが実際の治療の際に実現されているか否かを評価する技法の開発は立ち後れているのが現状である。重粒子線がん治療装置は、日本のみならず世界中から注目を集めている装置であり、臨床においてもその治療方法が一般のX線治療と同程度の精度では問題がある。より高精度な臨床治療を実施する必要があるため、患者の固定法としてシェル作成や患者個別の固定具の使用など、種々の方法が考えられているが、実際に治療を行う際には、患者設定の精度を画像を用いて厳密に評価する必要がある。そのため患者設定の際の画像照合法についての研究を行うことを目的とする。現在は実際に臨床試行においては、患者設定のうちにX線透視画像を用いてsimulation写真との比較照合を行っているが、CTを用いて3次元的な治療計画を行っているにも関わらず、照合の際は2次元画像を使用しているのでは、情報として満足すべきものではない。治療計画に用いたCT画像と治療時の患者設定後のCT画像を比較照合する3次元照合法の開発が必要である。CT画像の照合法としてよく用いられている方法は、画像のエッジ抽出を行い、2枚の画像をもっともよく重なるように調整を行うものであるが、今後、自動化あるいは半自動化が望まれる。

そこで今年度は、その2枚のCT画像の比較照合を自動化あるいは半自動化するのに適した画像照合手法を検討および評価することとした。

2. 今年度の研究経過及び成果

2枚の画像の相対的な位置のずれを求めするためにそれらを照合したり、入力された画像の対象物体を同定する目的で、入力画像と複数のモデル画像とを照合する処理は、パターンマッチングと呼ばれ、多方面で応用されている。このようなパターンマッチングには、(1)2枚の画像から抽出した特徴量を比較する方法と、(2)2枚の画像を画素データレベルで直接比較する方法、に大別される。いずれの方法でも、与えられた評価関数を最小化する原理に基づいている。まず、これらについて検討を行った。

(1)の手法は、物体のコーナ、エッジ、あるいは輪郭線等の画像の特徴量を前処理により検出し、最小2乗法、弛緩法等により変換パラメータを決定するものである。本手法には、処理時間が短いという利点があるが、一方、問題点としては、特徴量の抽出が可能であるという保証が無い点にある。(2)の、特徴抽出を行わず、画素データレベルで直接比較する方法は、ノイズに強く高精度の照合が期待される。このような方法には、大別して相関法を用いた系統と最適化法を用いた系統がある。前者は2枚の画像の間の残差や相関係数等を計算して最も良く一致する画像変換パラメータを求めるものである。こうした方法には、確実性が高くまたアルゴリズムが簡単でハード化が容易である等の利点がある反面、処理時間に問題点がある。これに対し、後者の方法は、評価関数を最小化するパラメータの決定を最適化問題として捕らえて計算を効率化するもので、ダイナミック・プログラミングや正則化法等の手法がある。

このように、特徴量による比較にも画素レベルでの直接比較にも一長一短があるが、他の方法による処理の評価基準となり得ることも考慮し、今年度は、画素レベルで直接比較する相関法系の手法を検討評価することとした。

段階的に画像照合の要求機能を高めて行くこととし、今年度は拡大・縮小および画像の輝度補正については考慮せず、線形移動および回転のみによるずれといった、簡単な場合の画像照合の実証を行うこととした。

具体的な手法としては、2つの画像間の相互相関関数を求め、この相互相関関数の値が最大となる点、あるいはしきい値を越えた領域の中心点を2つの画像のずれと判断するものである。

図1に2枚のCT画像を照合した例を示す。左側の画像は通常のCT装置で取得したものであり、右側の画像はライナックCT装置で取得したものである。両画像間のずれは下記のように表示された。

偏差量 X: -69 Y: 15
X: -69.0 Y: 14.9

上の段は相互相関関数が最大となる点からもとめた解であり、下の段は、相互相関関数の値がピーク値の95%を越える領域の中心点から求めた解である。本ケースでは両者の解はほぼ一致している。これらの数値は、右側の画像は左側の画像に比べて、左に(x軸のマイナス方向)69ピクセル分、下に(y軸プラス方向)15ピクセル分、それぞれ移動していることを示している。

図2は、図1の結果を踏まえ、逆にライナックCT画像を左側に、通常のCT画像(図1の左側の画像)を左に69ピクセル、下に15ピクセルずらして右側に表示し、両画像のずれを計算したものである。計算が正しければ、偏差量はx軸およびy軸とも0となるはずであるが、計算結果は

偏差量 X: 0 Y: 0
X: 0.8 Y: 0.2

と、ほぼそうだった。また、両画像には対角線が描かれているが、画像の中心を示す対角線の交点の位置は両画像でほぼ同じ場所を示しており、図1の照合結果が妥当なものであることが理解される。

以上、異なるモダリティにより得られた医用画像同士の照合を画素情報を基に両画像の相互相関関数を用いて行う手法について検討し、相互相関関数を利用する方法の

有効性が確認できた。この方法には、(1)信頼性が高く、アルゴリズムが簡単である、(2)DSPボード等のハードの利用が期待できる、等のメリットもある。今後はハードの高速化によってこのプログラムの高速化をはかり、さらに大型画像の照合の検討評価を行う予定である。

4. 成果発表

A. Akanuma et al., CT applications in patient set-up in heavy ion therapy at NIRS, 11th international conference on the use of computers in radiation therapy, 1994 Manchester

^a 放医研治療診断

^b 放医研障害臨床

^c 東大放射線科

^d 放医研重粒子物理工学

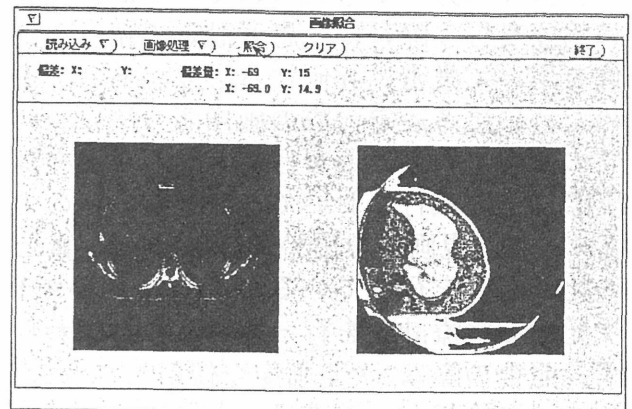


図1 異なるモダリティの画像間の照合例

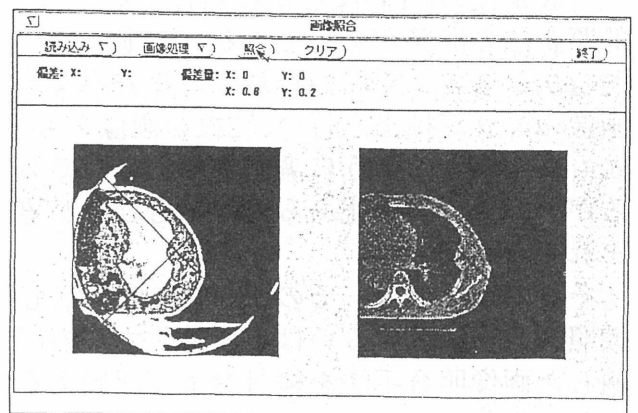


図2 照合結果のチェック

消化器癌切除不能例および切除後再発例に対する 重粒子線治療と fluorodeoxyglucose positron emission tomography (FDG-PET), Methionine PETによる 治療効果判定

(6C-011)

浅野武秀^a, 岡住慎一^a, 植松武史^a, 大月和宣^a

1. “消化器癌切除不能例に対する重粒子線治療”法の検討が本研究の目的である。研究項目として、
 - (1) 動物実験(具体的には肝腫瘍mouse)にて、照射効果を解析。
 - (2) 臨床応用の検討。
 - (3) ¹⁸F-FDG、および¹¹C-MetをトレーサーとしたPETによる効果判定。を計画している。
2. 今年度は、現時点では具体的実験は準備段階である。予定として、本年2月に動物用PETを用いた、¹¹C-Metによる肝機能評価(rat病態肝における)を計画している。
3. 特になし。
4. なし。

^a 千葉大学第二外科

診 断 班

画像によるがんの機能診断と治療効果判定法に関する研究 および画像診断法の総合的システム化の研究 (6D-101)

吉川京燦、井上修、吉田勝哉、鈴木和年、古賀雅久、加藤博敏、須原哲也、村山秀雄、野原功全、松本徹、溝江純悦、遠藤真広、宮本忠昭、佐藤眞一郎、宍戸文男*、福田寛**

1. 研究の目的及び年次計画

重粒子線治療の成果を明かにする為、がんの性状、浸潤範囲、転移の有無等の診断法、及び治療開始早期での効果判定法の研究が重要である。この目的の為にポジトロンCT診断法・磁気共鳴診断法の開発研究と、がん診断への応用が不可欠である。これまで、重粒子特研等で、PETによるがんの画像診断法の開発研究が進行し、がん組織の糖代謝やアミノ酸代謝を測定し、この情報ががん細胞膜の物質輸送系と細胞内の代謝を表現していることが明かとなっている。特にアミノ酸トレーサを利用するとがん組織の病巣の位置や浸潤範囲の同定に優れていることを明かにしている。一方MRSはまだ研究が始まったばかりで、腫瘍組織内乳酸量の変動測定が質的診断や治療効果判定に有用であると考えられ研究されている。これらの方法を重粒子線治療に応用し、病理学的診断法・免疫学的診断法などのその他の診断法との比較検討を行い、PETおよびMRSを用いたがんの質的診断法と病理学的診断法との相違を明らかにするとともに、その臨床的有用性について、がんの一連の診断の流れの中での位置づけを行うこと、および放射線治療の効果を早期に予測できるような新しい診断法の実現を行うことを目的とする。

平成6年度は放医研に新規に導入されたPET・MR装置の性能評価および安定稼働のための調整整備、撮像条件の決定、画像処理方法の検討、評価法の検討など、本研究の基本となる項目の検討を行った。また、実際に開始された重粒子線治療の患者やその他の腫瘍患者のPET検査を平行して開始し臨床的検討の準備を行った。

2. 今年度の研究経過及び成果

PET装置およびPET検査

平成6年4月より新規に導入され使用可能となったPET装置の性能評価、調整、撮像条件、画像処理方法などの基本的検討を行った。PET装置の性能(計数特性、空間分解能、時間分解能、定量性等)に関しては導入前に予想された性能がほぼ確認された。画像再構成やデータ処理等のPETシステムソフト関係は現在のバージョンでは必ずしも満足できるものではなく新バージョンのシステムソフトの導入が不可欠であると思われ、現在バージョンアップが準備されている。また、画像再構成時のフィルターの評価を行い決定した。

腫瘍の局在や転移病巣の検出評価の目的にPET全身像が有用と思われ、その基礎的検討を行った。すなわち全身データの収集方法、収集時間、画像表示の方法等の検討を行った。しかし、ある程度の全身検査が可能であるが、より十分な検査のためには現在のところシステムソフトの限界があり新規バージョンの導入を待たなくてはならないことが判明した。

再現性のあるPET検査を行うため、特に頭部の検査においては患者の固定法の検討を行い、現在のところ満足のいく結果を得ているが、順次頭頸部領域にも拡張する予定である。

腫瘍の浸潤範囲、転移病巣の評価にはPET全身像の他に、MRIやCT像との比較が不可欠であるが、特にPETイメージと他の画像との重ね合わせ表示(Correlation image)が有用である。そこで、本年度はcorrelation image作成のためのハードやソフトの検討を行った。また、マニュアルによるcorrelation imageの試験作成を行い有用性や問題点の検討を行った。

上記の基礎的準備と平行して臨床検査を開

始した。アイソトープ投与量、データ収集プロトコルの検討の後、現在のところ11C-メチオニン検査は32症例(41検査)、18F-FDG検査は7症例(8検査)を施行した。このうち重粒子線治療に際し治療前後で検査を行い得たものは9症例であった。他の症例は重粒子線治療前、あるいはX-線治療等その他の治療に関係して、腫瘍の局在、良性悪性の鑑別、転移病巣の検出、治療効果の判定・残存腫瘍の評価等の目的で施行された。疾患の内訳は脳腫瘍(疑いも含む、以下同じ)13症例、頭頸部腫瘍11症例、胸部腫瘍13症例、腹部腫瘍1症例であった。現在これらのデータの検討中であるが、PETによる腫瘍の局在、良性悪性の鑑別、転移病巣の検出に関しては有効性が確認されつつあると現在のところ印象される。また、治療効果の判定に関しては今後の検討に待たなくてはならないと思われる。これを元に今後の検査法や評価法の再検討を行う予定である。

MRS装置およびMRS検査

PET装置同様に平成6年4月より新規にMR装置が使用可能となりMR装置の性能評価、調整、撮像条件、画像処理方法などの基本的検討を行った。また、細かなアプリケーションにおいて不十分あるいは改良の余地が指摘されているが、概ね良好な機能が確認された。本研究はMRSによる質的診断や治療効果判定の有用性を検討するとともにPET情報との相違および両者を合わせることによる新たな有用性を検討するものであるが、この目的のためにはMRイメージとPETイメージの重ね合わせ表示(Correlation image)が有用である。この点に関しては前述した。また、正確なcorrelationを行う為にMRとPETに共通の頭部固定を検討し準備した。

臨床例は現在のところ3症例施行され基礎的検討が行われているが今後の症例の蓄積が待たれる。

画像診断法の総合的システム化

平成6年度は放医研内の診療系ネットワークと研究系ネットワークおよび画像取得ステーション等の機器整備が行われた。本研究

ではこれらのネットワークを有機的に統合し利用するための基礎として、平成6年度はPETおよびMR装置の画像データの診療系ネットワークへの画像情報提供のためのハードおよびソフトの整備を行った。現在両装置から診療系ネットワークへの画像提供の基礎はでき可能となったが、それらを研究系ネットワークで使用するには若干の問題が判明しその対策・改良を検討中である。

3. 参考文献

Moskine, M., et al., Positron emission tomography with 11C-methionine of intracranial tumours compared with histology of multiple biopsies. Acta Radiologica Supplementum, 1986. 369 (157): 157-60.

4. 成果発表

1. 吉川京燦、古賀雅久、須原哲也、吉田勝哉、井上修、鈴木和年、松本徹：18FDGによるPET全身スキャン画像の腫瘍診断における有用性の検討。第34回日本核医学会総会、札幌市、1994.9.
2. 村山秀雄、野原功全、松本徹、山田実、和田安弘、海老原弘一：放医研におけるECAT EXACT 47の性能評価のための物理測定(1)。第34回日本核医学会総会、札幌市、1994.9.
3. 村山秀雄、野原功全、松本徹、山田実、和田康弘、海老原弘一：放医研におけるECAT EXACT 47の性能評価のための物理測定(2)。第34回日本核医学会総会、札幌市、1994.9.
4. 山田実、和田康弘、海老原弘一、村山秀雄、野原功全、松本徹：放医研におけるECAT EXACT 47の性能評価のための物理測定(3)。第34回日本核医学会総会、札幌市、1994.9.
5. 古賀雅久、吉川京燦、加藤博敏、小島隆行、須原哲也、吉田勝哉、井上修、鈴木和年、池平博夫、宍戸文男：脳腫瘍のMRS (Chemical Shift Imaging) と11C-methionine PETとの比較。第22回日本磁気共鳴医学大会、豊中市、1994.9.

所属

無印：放医研

*：福島県立医科大学

**：東北大学

重粒子線治療による中枢神経障害の画像診断
(神経伝達物質受容体の画像化)に関する研究
(6D-102)

西村恒彦^a、井上修^b、藤田昌宏^a、小林薫^b、高井伸彦^b、中野貴之^b

1. 研究の目的及び年次計画

中枢神経疾患に対して放射線治療を行うと多彩な神経症状を呈するが、このときいかなる神経伝達機構の異常が生じているかはほとんど明らかにされておらず、重粒子線以外の粒子線を小動物に照射した場合に関してin vitro実験でわずかに検討されているだけである。したがって、霊長類の中枢神経系に重粒子線を照射するといかなる異常が生じるかは全く明らかにされておらず、本研究はこれをin vivoでPETを用いて明らかにすることを最終目標としている。

照射部位としては照射範囲を限定しやすい線条体を選択し、ドーパミンD₁(D₁-R)及びD₂受容体(D₂-R)、ドーパミン・トランスポーター(DAT)及びムスカリン性アセチルコリン受容体(mACh-R)の変化をin vivoで検討する計画である。トレーサーとしてD₁-R、D₂-R、DAT及びmACh-Rに対してそれぞれ³H]SCH23390、³H]ラクロプライド、^{123/125}I] RTI-55及び³H]QNBを用い、PETではそれぞれの¹¹C標識体を用いる。上記のトレーサーのin vivo動態に関してはSCH23390、ラクロプライド及びQNBに関しては我々が以前に検討していたが、新しいトレーサーであるRTI-55に関してはin vivoでの検討が不十分であったので、平成6年度はこのトレーサーのin vivo動態に関して検討した。平成7年度はラットの線条体に重粒子線を照射した場合の上記のトレーサーのin vivo動態の変化を検討し(すでに採択決定)、平成8年度は霊長類(サル)の線条体に重粒子線を照射した後の各トレーサーの動態の変化をPETで検討する計画である。なお、平成6年度はRTI-55に関する検討が終了したので、平成7年度に予定し

ていた放射線照射の予備実験を行った。ただし、マシン・タイムの都合もあり、陽子線を照射した。

2. 今年度の研究経過及び成果

2-1. RTI-55のin vivo動態の検討(Wistar rat)

別紙のFig. 1のようにRTI-55は線条体のDATに対する結合は静注の4時間後にピークに達するのに対して、視床下部のセロトニン・トランスポーターに対する結合は静注の45分から4時間後がピークであることが明らかとなった。さらに、コンパートメント解析により、線条体でのk₃及びk₄はそれぞれ0.040±0.003, 0.0034±0.0005であるのに対して、視床下部でのk₃及びk₄はそれぞれ0.019±0.002, 0.0071±0.0009であることが明らかになった。

2-2. 陽子線照射実験

雄性Wistar ratの右側の線条体に陽子線を30Gy (30 Gy/min)照射し、24時間後、2週後に³H]SCH23390、¹²⁵I] RTI-55及び³H]QNBを静注し、SCH23390とQNBに関しては静注の1時間後、RTI-55については3時間後に断頭し、オートラジオグラフィで線条体におけるそれぞれのトレーサーの集積を定量した(別紙Fig. 2, 3, 4)。照射24時間後ですでに照射側の線条体におけるQNBの集積の増加が認められ、QNBのmACh-Rに対する結合の速度定数が変化したことが推定され、今後さらに詳細な検討が必要であることが示唆された。

4. 成果発表

a) Fujita M et al. *J Chem Neuroanat* 1994; 7:13-23.

^a阪大医トレーサ、^b放医研障害臨床

Fig. 1 [^{123}I]RTI-55のtime-activity curve

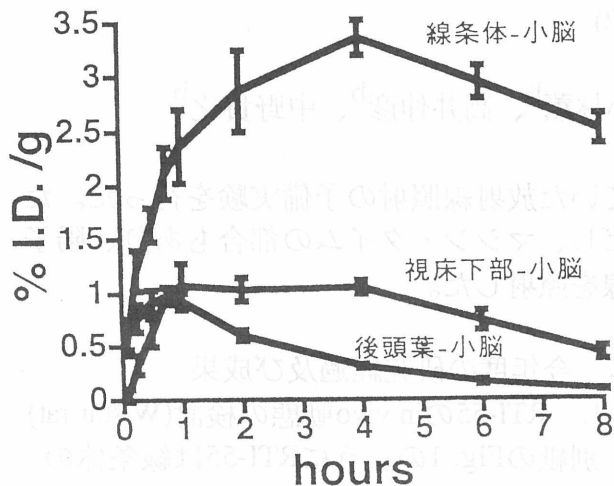


Fig. 3 ^{125}I -RTI-55 binding in vivo

3 hr

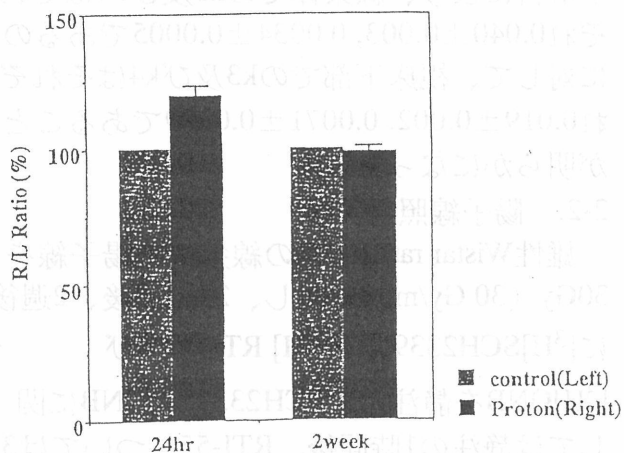


Fig. 2 ^3H -SCH23390 binding in vivo

60 min

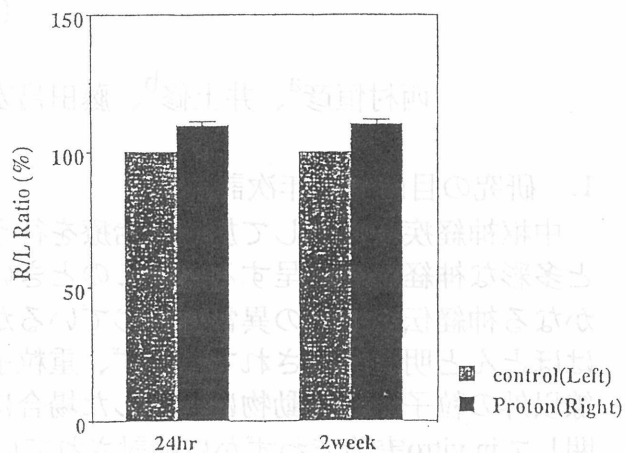
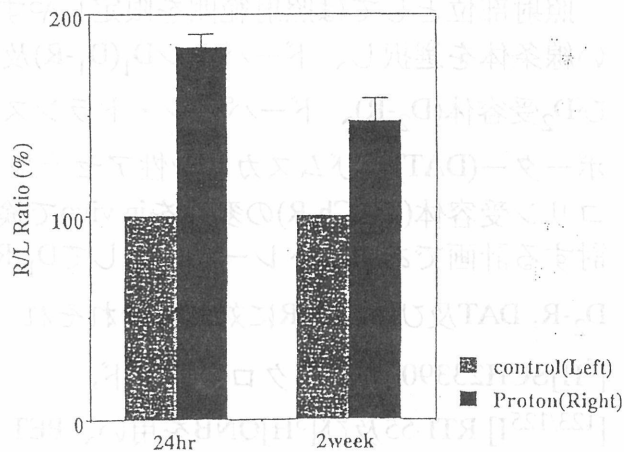


Fig. 4 ^3H -QNB binding in vivo

60 min



癌遺伝子産物、接着因子、増殖因子の発現の重粒子線治療による変化及び予後との関連の研究

12

(6D-002)

中野隆史¹、岡邦行¹、石川敦子¹、樋口啓子²、大津祐司¹、新部英男²、

1. 研究の目的及び年次計画

重粒子線治療臨床試行の対象患者の病理学的診断ならびに腫瘍の重粒子線による組織学的照射効果の解析を行うための基盤的研究を行う。具体的には

1. X線治療された子宮癌組織と重粒子線治療された腫瘍を病理組織学的に比較研究し、腫瘍別の照射効果の相違を研究し、重粒子線照射効果の先行指標を見いだす。
2. 重粒子線治療の組織学的な照射効果判定基準を確立するための研究を行う。
3. 局所制御率や遠隔生存率の比較研究により重粒子線治療に好適な対象疾患を病理組織学的に研究する。

本年は重粒子線治療の組織学的照射効果の比較対照となる、X線照射効果の病理学的指標ならびに局所制御や予後の病理学的指標を研究し、重粒子線治療に備えた。

2. 今年度の研究経過及び成果

(1) X線治療を行った子宮頸癌患者の照射前の生検組織材料を用いて癌遺伝子C-erbB-2蛋白やP53蛋白の腫瘍発現と細胞増殖関連因子Growth Fraction、pMIとの関連や照射効果ならびに予後の相関について研究した。

この結果、癌遺伝子C-erbB-2蛋白を発現する子宮頸癌はGrowth Fractionが低く、pMIが高いことが明らかとなった。これによりこの遺伝子が発現する腫瘍は細胞回転が早く、細胞増殖が旺盛な一方で、休止期の細胞集団を多く含んでいることが示唆された。さらに予後解析によると、c-erbB-2癌遺伝子産物の発現陽性例の5年生存率は48.5%で、陰性例の68.7%に対し有意に予後不良であった。この遺伝子の発現する腫瘍患者は局所制御率と生

存率ともに対照患者に比べ有意に低いことが明らかとなった。

(2) 子宮頸癌の血液型関連糖蛋白抗原の発現と予後との関連について研究した。

子宮頸癌についてLeX、シリアルLeA抗原の腫瘍発現と予後との関連を研究した。

子宮頸癌の両抗原は腫瘍細胞膜に陽性であった。LeX抗原の発現は放射線照射効果ならびに予後に関連がなかったが、シリアルLeA抗原の発現した腫瘍は予後が良好であった。

(3) アポトーシス関連蛋白のLeY抗原の子宮頸癌発現と照射中の変化や予後との解析をおこなった。

Le^Y抗原の陽性率は70.5%で、強陽性が36.3%であった。5年ならびに10年累積生存率はLe^Y強陽性例がそれぞれ52.5%、52.5%で、陰性-弱陽性例は70.5%、65.8%であり、強陽性例は有意に予後不良であった。転帰解析からみると、強陽性例は局所制御と遠隔転移の両方において不良であった。照射初期のLe^Y抗原の発現の変化については、照射によりLe^Y抗原の発現が高まり、27Gy時点では60%以上の腫瘍でほとんどの癌細胞が陽性となった。Le^Y抗原の発現とアポトーシスの関連は明らかでなかった。

(4) 子宮頸癌の照射中の細胞周期の変化に関する研究を行った。

照射前から照射1週目までの子宮頸癌の組織を採取し、70-サイトメトリでDNA解析、免疫組織学的にGrowth Fractionの変動を研究した。DNA解析ではS期分画が照射により増加した。G0G1期の細胞が多い腫瘍は照射によりS期の増加が高頻度であった。Ki-67Growth Fractionは照射により上昇した。照射前のKi-67Growth Fractionが小さい程S期の

増加が大きく、DNA解析による変動と相関した。これらの変動には休止期の細胞集団から細胞回転に移行するrecruitment現象の関与が示唆された。

3. 参考文献

Nakano T, Oka K. Cancer 1993;72:2401-8.
Nakano T, Oka K. Cancer 1991;68:517-523.
Oka K, Nakano T, Arai T. Cancer 1993;72:160-4.
Nakano T, Oka K, Arai T. Int J Radiat Oncol Biol Phys 19:1011-1019;1990.
Nakano T, Oka K, et al, Arch Pathol Lab Med 1989;113:507-11.
Oka K, Nakano T, Arai T. Gynecol Oncol 1992;79:347-50.
Oka K, Hoshi T, Nakano T, Arai T. Arch Pathol Lab Med 1992;116:955-9.
Arai T, Nakano T, Oka K. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1993;27,811-816.
Arai T, Nakano T, et al. Cancer 1992;69:175-80.
Arai T, Nakano T, Fukuhisa K, et al. Cancer 1991;67:398-405.
Nakano T, Oka K, et al. In Vivo 1993;7:257-64.
Nakano T, Oka K, et al. Cancer 1992;70:2839-44.

4. 成果発表

{論文発表}

[C-erbB-2]

Oka K, Nakano T, Arai T. Cancer 1994;73, 668-71.

Nakano T. et al. Cancer Detect. Prev. 1995 in press.

Nakano, T. et al. Cancer 1994 in submission.

[Adenocarcinoma of the cervix]

Nakano T. et al. Int. J. Radiat. Oncol.

Biol. Phys. 1995 in press.

[Apoptosis]

Nakano, T. et al. Cancer 1995 in submission.

[糖鎖抗原]

Ishikawa A, Nakano, T. et al. Cancer Detect. Prev. 1995 in press.

[DNA analysis]

Higuchi H-K, Nakano T, et al. Int J Radiat. Oncol. Biol. Phys in submission.

{学会発表}

中野隆史 他：日医放94、日放腫94、日癌治94、Int. Soc. Prdic. Oncol 1994、他2学会

石川敦子 他：日放腫94、日癌治94、Int. Soc. Prdic. Oncol 1994

岡邦行 他：日病理94

¹放医研

²群馬大学

スパイラルCTによる小型肺癌集検の試み

(6D-3)

志村昭光^a、宮本忠昭^b、角南祐子^a、長尾啓一^c

1. 研究の目的ならびに年次計画

治療の可能な小型肺癌を効率よく発見するための新しいモダリティとして、スパイラルCTが注目されている。われわれはこれを小型化・軽量化して車両に搭載し集団検診を行う際の諸問題について検討することとした。一方このようにして発見された小型肺癌を効率良く重粒子線治療と連携させることもあわせて研究課題とした。

研究計画としては、車載型ラセンCT装置と検診車の製作、要精検者に対する精密検査、経年受診者に対する一次検診への導入、老健法による肺癌検診の試行、検診の多目的利用などを段階的に行うべく準備を行ってきた。

本年度の課題とされていた車載型ラセンCT装置と検診車の製作は、宮本（放医研）の分担となっていたが共同研究者として^(株)日立メディコを加え同社より試作車の提供を受けて研究を行うこととなった。これに伴い同社の装置ならびに性能の試験を本年度の課題とすることとした。更に、このような計画に基づき試験を開始した矢先に発生した阪神大震災に際して緊急支援の要請があり、研究計画の最終段階として予定されていた本装置の多目的利用に災害医療ならびに救急医療への応用を課題として急遽追加することとした。

2. 今年度の研究経過及び成果

(1) 試作車の性能

共同利用を課題として申請するに際して、製作する検診車は低公害車として①電気とディーゼル・エンジンを組み合わせたハイブリッド自動車もしくは②メタノールと軽油を配合した燃料によるものを要望したが、提供された検診車は通常のディーゼル・エンジン車でありかつ搭載した機器の電源として自家発電装置を搭載したものであった。この車両の走行時の排ガス対策は国の基準を満たしたものではあったが開発中の低公害車ではない。

また、検診のために駐車時に発生する騒音振動、排気ガス、放射線などが周辺の作業者に与える影響についての検討も必要となったため環境測定を行った。

ア 騒音：平成 7年 1月19日、積分形普通騒音計 (RION NL-05A)により測定した。発電機の運転時の当支部敷地内の騒音レベルは55-71 dBで、遠去かるに従って2-4 dBの平面距離減衰がみられたが、隣地境界では環境基準による上限値であった。検診車内では65 dBでこれも基準の上限であった。

イ 振動：平成 7年 1月19日、振動レベル計 (RION VM-51)により測定し、記録計 (RION LEVEL RECORDER LR-04)により記録した。発電機の運転時の当支部敷地内の振動レベルは停止時と大差はなく、検診車内では65-67 dBと振動レベルの変動は少なく安定して

おり作業環境としては振動の影響は少ないものとされた。

ウ 排気ガス：災害支援のため未測定

エ 放射線：災害支援のため未測定

(2) ラセンCT装置の性能

ア 車両に搭載されたCT装置：3名のボランティアを含む13名の胸部検査を実施した。撮影条件として、管電圧120kV、管電流25mA/sec、ベッドの移動は毎秒10mmとし撮影に要する時間は一人当たりおよそ27秒で済んだが更衣室がないこと、撮影室と検査結果の説明が同一の部屋（検診車の入り口）に設定されているため被検者が検診車に入ってから出るまでの時間は平均して12分を要した。従って肺癌検診として実用化する前に検診車のレイアウトについても再検討が必要である。

イ 読影用コンソール：検診車ならびに施設内の画像処理室に設置された読影用コンソールでは、CRT上の画像を観察するにとどまる。従って、被検者に対する検査結果の説明に際しては診療区域外の研究部門へ招き入れることとなる。写真フィルムもしくはこれに代わるハード・コピーが必要である。

現時点では症例数も少なく一定の読影方式もしくは診断基準の設定については至っていない。

(3) ラセンCT装置の多目的利用

平成7年1月17日に兵庫県南部を震源とする阪神大震災に際して、日本赤十字社の要請によりすべての研究計画に優先して支援活動に参加することとなった。共同研究の最終段

階の課題として用意されていた「多目的利用」では循環器検診への応用と骨粗鬆症検診の可能性について検討を行うべく準備を重ねていたが、ここで災害医療と救急医療に際して、「移動CT検査車」としての有用性を検討をすることとなった。

この際、現地の要請に応えるためには頭部・腹部・脊椎・四肢などの検査が可能となるよう撮影ソフトを読み取ることと、頭部の撮影に必要なガントリーのチルトの角度調整のための改造が必要であった。また、上記のハード・コピーとして感熱式のビデオ・プリンターも必要とした。共同研究者である(株)日立メディコがこれらを分担して必要な準備を行った。現地での撮影実績は現時点では未集計であるが所期の目的は達成された。

3. 研究発表

(1) 第909回千葉医学会例会・第29回肺癌研究施設例会において、「ラセンCT搭載車」による肺癌検診システムの共同研究についてと題して、宮本忠昭・青柳壽幸・高村大（放医研）、志村昭光（結核予防会千葉県支部）、長尾啓一（千葉大保健管理センター）が発表した（平成7月1月21日）。

- a 結核予防会千葉県支部
- b 放医研
- c 千葉大学保険管理センター

(以上)

生 物 班

マウス神経芽腫骨・骨髄転移に対する重粒子線治療の基礎的検討

(6B-101)

岩川真由美^a、安藤興一^b、小池幸子^b、陳玉昭^b

a 筑波大臨医、b 放医研重粒子

1. 研究の目的及び年次計画

小児悪性固型腫瘍で最も頻度の高いものの1つである神経芽腫は高い放射線感受性を持つ事が基礎的に確認されているにもかかわらず、現在、その治療は化学療法中心でその生存率は、今だ低い生存率に滞まっている。本研究の目的は、我々が作成したマウス神経芽腫骨髄転移モデルを用い、この難治性の神経芽腫骨髄転移に対する重粒子線照射効果を明らかにする事にある。更にすでに検討した γ 線、陽子線照射とのRBEを求め、臨床応用への段階的評価を行う事にある。

2. 今年1月～2月に実験予定で結果はまだでていない。

平成7年度研究計画

方法と材料

動物：放医研SPF飼育中の8週齢雌性A/Jマウス

腫瘍：マウス神経芽腫C-1300 murine neuroblastoma (C-1300 NB)

方法：①C-1300 NB 10^5 個をマウス尾静脈より静注移植し、骨髄転移作製

②7日後、重粒子線、一回照射2.5、5、7.5、10、12.5 Gyを行う。

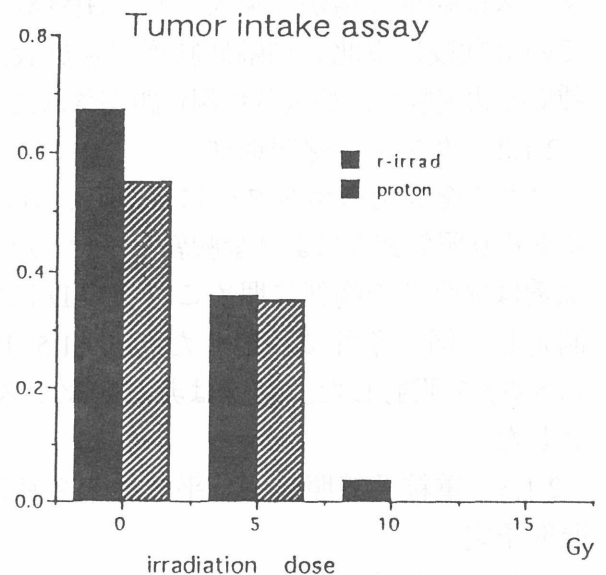
③照射12h後、照射した骨髄内容を摘出しレシピエントマウスに皮下注入する。
生残腫瘍細胞が骨髄内に存在すれば腫瘍形成がおこる(tumor intake assay)。

④既に検討した放医研SPF棟内Cs γ 線及び筑波大学陽子センター

における陽子線照射効果と比較検討する。

<準備段階>

既に行った γ 線、陽子線照射効果の結果を参考のために報告する。tumor intake assayを用い、無照射対照群における腫瘍出現率を1.0としてsurvival fractionを求めた。グラフの縦軸はそのsurvival fractionを示す。



重粒子線照射による正常組織の障害と耐容性に関する生物学的研究

(6B-102)

阿部由直^a、立崎英夫^b、古澤佳也^c、松下 悟^c、小池幸子^c、安藤興一^c

a)東北大・加齢研・機能画像 b)筑波大・臨床医学 c)放医研

1. 研究の目的及び年次計画

正常組織の重粒子線に対する障害についてガンマー線とのRBEならびに組織学的特徴について比較検討する。今年度は、炭素線のSOBP (70KeV/um)を用い、主として放射線肺障害について検討する。

2. 今年度の研究経過及び成果

2.1 実験および実験計画

2.1.1 材料

雌マウス(C3H/He)8-10週齢を用いた。マウスは船橋農場から購入され、HIMACでの実験後に東北大加齢研腫瘍保存施設内腫瘍動物実験棟に移送され飼育観察された。

2.1.2 ガンマー線照射法

マウスを専用のホルダーに固定し、コバルト60照射装置により全胸郭を照射した。線量はマウスの胸郭に埋めこんだTLDにて測定し、同一条件で照射した。5, 11.5, 13, 14.5 Gyを照射した。対照は非照射マウスとした。

2.1.3 重粒子線照射法 (平成7年2月に照射予定)

マウスを専用のホルダーに固定し、炭素線の6cm幅のSOBP (70KeV/um)ビームをHIMACにて水平方向で照射する。線量はHIMACにて測定される。照射線量は8, 7, 6, 5, 4, 1 Gyが予定されている。

2.1.4 観察

照射後経時的に動物の観察を行い、容態の変化を見る。全身の状態が悪化し、死にそうになったら安楽死させる。その後、肺を摘出し、パラフィン切片と凍結切片を作

成する。鏡検で肺臓炎と肺線維症の病像を確認する。

観察期間としては12から14ヶ月を予定している。

2.1.5 呼吸数の測定

照射後経時的に動物の呼吸数を測定し、容態の変化について客観的に判断する。障害が起きると呼吸数の増加が起きることが知られている。呼吸数測定を行うことにより、初めて肺障害の経時的变化である肺臓炎と肺線維症の鑑別が可能となる。

2.1.6 エンドポイント

呼吸数と死亡率を用いる。これらを用いて、50%或る呼吸数あるいは、50%死亡率を求め、等効果線量isoeffect doseとする。

ガンマー線と重粒子線による等効果線量を比較することによりRBEを求める。

2.2 研究経過のまとめ (本年度分)

2.2.1 実験進行中

以下の項目については照射が終了し、観察を含めた実験中である。

2.1.2, 2.1.4, 2.1.5

2.2.2 実験予定

以下の項目は本年度中に照射等を行う予定である。

2.1.3 - 2.1.6

重粒子線照射による腫瘍再増殖動態の解析

(6B-103)

阿部由直^a、立崎英夫^b、古澤佳也^c、松下 悟^c、小池幸子^c、安藤興一^c

a)東北大・加齢研・機能画像 b)筑波大・臨床医学 c)放医研

1. 研究の目的及び年次計画

実験腫瘍に対する重粒子線の効果についてガンマー線とのRBEならびに増殖動態の差について比較検討する。今年度は、炭素線のSOBP (70KeV/um) を用い検討する。

2. 今年度の研究経過及び成果

2.1 実験および実験計画

2.1.1 材料

雌マウス(C3H/He) 8-10週齢を用いた。マウスは船橋農場から購入され、HIMACでの実験後に東北大加齢研腫瘍保存施設内腫瘍動物実験棟に移送され飼育観察された。

実験腫瘍はマウスの自然発生線維肉腫(fsa-II)を用いた。比較的初期継代の線維肉腫の単細胞浮遊液を作成し、 10^3 個をマウス右大腿皮下に移植した。

2.1.2 ガンマー線照射法

マウスを専用のホルダーに固定し、コバルト60照射装置により右下肢を無麻酔下で照射した。照射は垂直に腹側方向から行われた。線量はTLDにて測定し、同一条件で照射した。10, 20, 30 Gyを照射した。対照は非照射マウスとした。

2.1.3 重粒子線照射法

マウスを専用のホルダーに固定し、炭素線の6cm幅のSOBP (70KeV/um) ビームをHIMACにて水平方向で照射した。照射は無麻酔下で行われた。線量はHIMACにて測定された。照射線量は4, 8, 12 Gyであった。

2.1.4 観察とエンドポイント

照射後週に5回動物の観察を行い、容態と腫瘍の三直径を測定した。容態が極端に

悪化した場合または腫瘍径の一边が2 cm以上に達したときに安楽死させた。

線質による腫瘍の照射線量毎の成長曲線を求めた。成長曲線は縦横二方向の積(面積)と縦横高さの三方向の積(体積)の両者を用い、照射前の腫瘍の大きさと比較し作成した。これらを用いて、増殖遅延時間に対する等効果線量isoeffect doseを線源毎に算出した。

ガンマー線と重粒子線による等効果線量を比較することによりRBEを求めた。

2.2 結果

2.2.1 腫瘍成長曲線

コバルト60と炭素線における腫瘍成長曲線(面積)を図1と図2に示す。

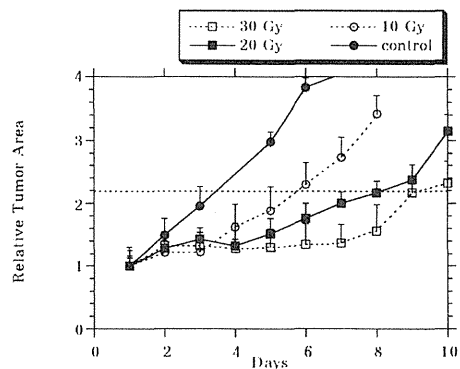


図1. γ 線による腫瘍成長曲線(面積)

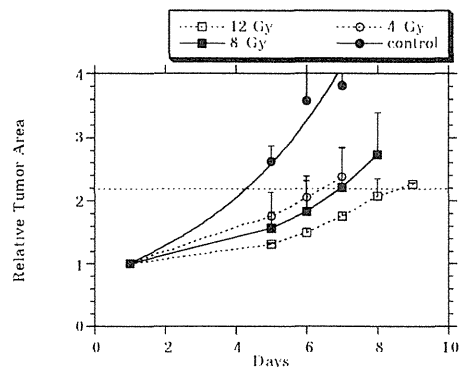


図2. 炭素線による腫瘍成長曲線(面積)

面積の腫瘍成長曲線では、相対比2.2になる線量毎の日数から、照射腫瘍の非照射腫瘍に対する腫瘍成長遅延時間を求めた。

次に、コバルト60と炭素線における腫瘍成長曲線（体積）を図3と図4に示す。

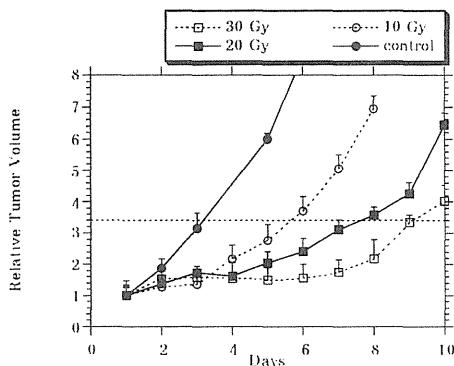


図3. γ 線による腫瘍成長曲線（体積）

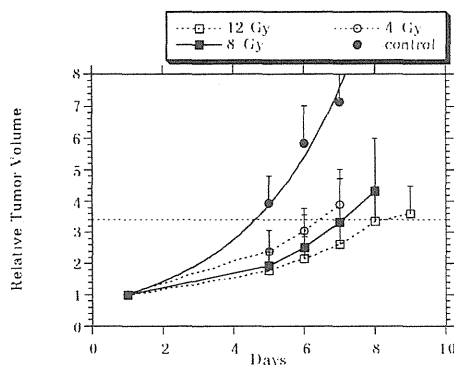


図4. 炭素線による腫瘍成長曲線（体積）

体積の腫瘍成長曲線では、相対比3.4になる線量毎の日数から、照射腫瘍の非照射腫瘍に対する腫瘍成長遅延時間を得た。

ガンマ線と炭素線での線量と腫瘍成長遅延時間の関係を直線で近似し、RBEを求めた。面積と体積による腫瘍成長曲線の比較はそれぞれ図5と図6に表された。

面積で比較した場合、RBEは1.81であり、体積で比較した場合のRBEは、1.50であった。

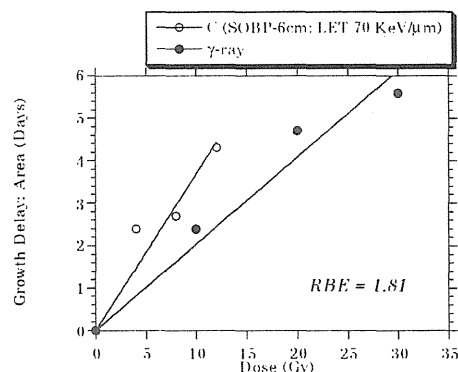


図5. 線量と腫瘍成長遅延時間（面積）

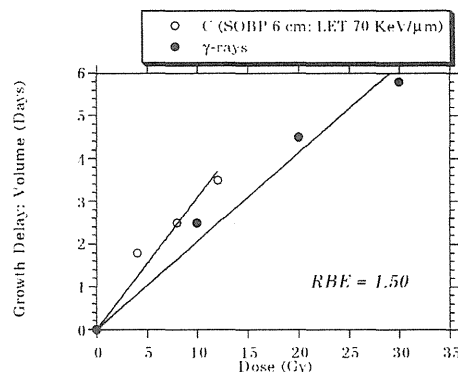


図6. 線量と腫瘍成長遅延時間（体積）

2.3 今後の研究

これらの実験結果をもとに、1) 他の線質による腫瘍成長曲線の解析ならびに2) 腫瘍内での増殖動態について検討する予定である。

実験誘発腫瘍を用いた重粒子線の治療効果

(6B-104)

渡辺敦光^a, 荻生俊昭^b

^a 広大原医研予防腫瘍, ^b 放医研生理病理

1. 研究の目的及び年次計画

今年度は上記の題で共同利用を行う予定であったが、本年度並びに次年度に亘り重粒子線の晩発効果を検討する事にした。即ち我々は広大原医研で B6C3F1 マウスを用いカルフォルニウム中性子線 (^{252}Cf) やコバルト γ 線を用いて発癌効果を検討してきている^{1,2)}。その結果 Cf 照射の雄での肝腫瘍発生は 12.5cGy までの線量で直線的に増加し、それ以上の線量 (50-200cGy) では発生頻度が緩やかに増加し、12.5cGy に critical point を持つ 2 本の直線を思わせた。肝腫瘍の発生が急上昇する 12.5cGy までの直線での Co γ 線に対する Cf の RBE は雄では 15.2 であった。一方雌では線量依存性に肝腫瘍腫瘍が増加し、その結果による RBE は 2.5 であった。又、雌では卵巣腫瘍が 100cGy までの照射で増加した¹⁾。そこで次に Cf の線量率を変えて 50cGy を照射を行った。0.8cGy/min では 50% の動物に卵巣腫瘍は発生したが 0.05cGy/min では in vitro と異なり発生率は 18% と有意に減少した²⁾。そこで今年度は重粒子線並びに X 線を照射して B6C3F1 マウスの晩発効果を検討するために予備実験を行う。動物の照射から屠殺まで 13.5 カ月の観察期間であるため次年度にまたがる。線量は我々の以前の結果から考えて 50cGy とした。これらの結果と以前の我々の結果と比較し重粒子線の腫瘍発生効果を検討する。

2. 今年度の研究経過及び成果

材料と方法：

日本チャールスリバー (株) 日野生産場で生まれた同一ロットの B6C3F1 マウス 5 週齢 (ロットが異なると感受性が異なる場合がある 渡辺未発表) を各々原医研並びに放医研に発送して貰い、各々の飼育場で 1 週間飼育し、放射線照射を行った。

重粒子線照射：

イオン C；
エネルギー 290MeV/u；
ビームの種類 SOBP 6cm；
動物の位置 SOBP の後端より 20cm；
Ridge フィルター 56(Sr.0020)；
BF 116.42mm；
LET 51.45keV/ μ m；
の条件で雌雄各々 30 匹ずつ照射した。
照射日は 1994 年 12 月 8 日 20:21-21:07
であった。

X 線照射：

X 線照射条件は
定格値 電圧 200KV, 電流 25mA；
半価層 1.18mmCu；
外部フィルター 0.5mmCu+1mmAl；
線量率 1Gy/min；
の条件で雌雄各々 30 匹ずつ照射した。
照射日は重粒子と同じ日に行った。

実験群：

第 1 群：重粒子線 50cGy 全身照射
第 2 群：X 線 50cGy 全身照射群
第 3 群：非照射群 (雌雄各々 30 匹)
照射群は麻酔なしで照射。

3. 参考文献

- 1) Takahashi, T., et al. Cancer Res., 52, 1948-1953, 1992.
- 2) Watanabe, H., et al. J. Radiat. Res., 34, 235-239, 1993.

移動：

重粒子照射マウスは照射後放医研重粒子動物飼育棟で飼育され、12月27日にペット扱いとして飛行機にて広大原医研に運ばれ飼育されている。

観察：

毎日通常の観察を行い、月に一度の割で体重測定を行っている。

屠殺：

照射後13.5カ月目に動物を屠殺する。体重、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、精巣もしくは卵巣の重量を測定並びに観察。

特に雄は肝臓、雌は卵巣に注目する。ハーダー腺、甲状腺、乳腺、下垂体、膵臓、消化管の観察。中性フォルマリン液で固定し、HE染色後病理診断を行う。必要に応じ特染を行う。

現在までの経過：

現在実験が進行中で6週目を経過した。放医研より運搬した動物も順調に生育している。1月6日に測定した32日目の体重は以下の通りであった。

照射の種類	性	匹数	体重 (平均±標準偏差)
重粒子線	雄	30	28.2±1.7
	雌	30	20.7±1.0
X線	雄	30	29.4±1.8
	雌	30	22.4±1.5
非照射	雄	31	27.1±1.4
	雌	31	22.0±0.9

重粒子線による実験脳腫瘍の治療効果及び中枢神経障害に関する基礎的研究

(6B-105)

埜本勝司¹、巽祥太郎¹、廣田佐栄子²、副島俊典²、辛嶋 博²、木村修治²、入江俊章³

1. 研究の目的及び年次計画

【目的】悪性脳腫瘍、とりわけ悪性 glioma はこれまで手術、放射線治療、化学療法、免疫療法あるいはそれらの集学的治療が積極的に行われてきたにも関わらず、治療に抵抗性であり予後は極めて不良である。放射線治療に対する期待は大きいですが、従来の X線、コバルト等の放射線治療では、腫瘍の局所 control も不良な点から近年中性子治療が試みられつつあるが、その効果と障害も問題となっており、その線量分布及び生物学的効果から更に良い放射線治療法としての陽子線治療や、重粒子線治療が期待されている。脳腫瘍や頭蓋底腫瘍は重粒子線の線量分布の良さを最も利用しやすい疾患であり、良い治療対象である。我々はこれまで悪性 glioma の実験モデルを用いて放射線及び温熱療法、免疫療法等の集学的治療を実験的に検討してきたが、今回この共同利用研究に参加し、重粒子線による悪性 glioma の治療効果を実験モデルを用いて検討し、同時にその中枢神経系に及ぼす障害の有無、程度に関して検討したい。この基礎的研究は、今後の臨床応用に向けての必須の検討事項であり、兵庫県に於て近い将来設置が予定されている重粒子線治療センターの基礎データになり得ると考えられる。

【年次計画】

共同利用研究の応募時には平成6年度の研究計画として (1) ラット脳組織に及ぼす重粒子線の影響ラット全脳分割照射による線量分布と脳組織の形態的变化を MRI で、代謝変化を PET で検討し病理組織学的変化に関して光学顕微鏡及び電子顕微鏡的

に検討する。

(2) 実験脳腫瘍に対する分割照射法の検討

ヌードラット脳内に定位的にヒト悪性グリオーマ細胞U-251MGを移植してヒトグリオーマ実験モデルを作成し、経時的にMRIまたはCTを撮影しその位置、大きさを確認する。一定の大きさになった時点で全麻下に重粒子線治療を行いそのシュミレーションの精度、線量分布測定、と治療効果を種々の分割照射条件で施行する。治療効果の判定はMRI又はCTによる画像診断、生存期間の測定、病理組織学的検索により行う。

の2点につき計画を立てたが、実験動物の管理面での問題があり、下記の実験計画に変更して検討を行った。

(1) 重粒子線照射によるヒト悪性グリオーマ細胞株U-251MGの生存率の検討

(2) マウス脳組織に及ぼす重粒子線の影響

マウス全脳分割照射による線量分布と脳組織の病理組織学的変化に関して光学顕微鏡下に検討する。

(3) 実験脳腫瘍に対する1回照射の治療効果及び組織学的変化に関する検討

ヌードマウス皮下にヒト悪性グリオーマ細胞U-251MGを移植してヒトグリオーマ実験モデルを作成した後重粒子線治療を行い、線量分布測定と治療効果を検討する。治療効果の判定は、生存期間の測定、病理組織学的検索により行う。

2.今年度の研究経過及び成果

マシンタイムが決定した時点で、照射実験約1ヶ月前の1994.11.2放医研重粒子線治療生物実験施設でBALB/C-nuヌードマウス10匹の皮下にU-251MG悪性グリオーマ細胞 1×10^6 個を移植した。

1994.12.9 第1回の照射実験では1ヶ月前に移植したグリオーマ細胞のヌードマウス皮下への腫瘍生着が不良で腫瘍の照射実験には不適當であったため、その内の5匹を全脳照射に用い、腫瘍に対する照射は兵庫県立成人病センターで移植した担腫瘍ヌードマウス3匹を用いて予備実験を行った。

(1) 重粒子線照射によるヒト悪性グリオーマ細胞株U-251MGの生存率の検討
U-251MG培養細胞の照射実験条件はMono (Photon: 8.5, 7, 5, 4, 2.5, 1.5, 0 Gy), RBE=1.3; 7, 6, 4.5, 3.5, 2, 1, 0, 13KeV, RBE=2; 4.5, 3.5, 2.5, 2, 1.25, 0.75, 0.4, 0, 50KeV, RBE=3; 3, 2.5, 2, 1.5, 0.75, 0.4, 0, 120KeV で、照射後72時間で色素排除法により生細胞数を測定し生存率を検討した。

(2) マウス脳組織に及ぼす重粒子線の影響
U-251MGの生着が不良であったヌードマウス5匹にSOBP残り飛程3cmで各々5, 10, 15, 20, 25 Gyの全脳照射をおこなった。

(3) 担腫瘍ヌードマウス皮下腫瘍への照射
直径20mmの腫瘍(大)に対しmono接線照射を入口部10Gy (peak photon 60 Gy相当)で行い、直径15mm(中)及び直径10mm(小)の腫瘍に対しSOBPにて残り飛程3cmの条件で各々20Gy, 10Gyの照射を行った。

【結果】 preliminaryな実験のためまだ十分な結果は得られていないが、(1) 重粒子線照射によるヒト悪性グリオーマ細胞株U-251MGの生存率の検討では予想よりも生存率が高くU-251MGは重粒子線照射にもある程度抵抗性であることが判明した。(2) マウス脳組織に及ぼす重粒子線の影響に関しては、全脳照射後11日頃から顔面の皮膚の爛れ、眼瞼の爛れが20, 25 Gyの全脳照射マウスに認められた。No.2 (10Gy照射)ヌードマウスは照射後45日目に死亡した。死因について現在検索中である。他の4匹は生存中で今後も神経症状の発現や全身状態に関し観察を続ける予定である。(3) 担腫瘍ヌードマウス皮下腫瘍への照射結果は3匹中1匹(直径20mm腫瘍: mono接線照射入口部10Gy=peak photon 60Gy相当)は照射翌日死亡した。死因は照射の影響よりも麻酔深度の問題が大きいと考えられた。腫瘍の組織学的変化に関してはまだ検討中であるが、対象例(Lienac 50 Gy照射)と比べて大きな変化は認めていない。残り2匹の内、1匹(直径10mm腫瘍: SOBP残り飛程3cm 10Gy照射)は照射後39日目に死亡したが(死因は不明)腫瘍体積は960→75mm³に縮小し、著明な腫瘍壊死が認められた。生存中の1匹(直径15mm)も照射後45日目のごく軽度ながら腫瘍体積の縮小(826.9→787.3mm³)を認めている。

【今後の方針】 これまでの結果を踏まえ、担腫瘍ヌードマウス皮下腫瘍への照射効果をLineac照射群と比較して検討する予定である。

1) 兵庫成人病セ: 脳神経外科
2) 兵庫成人病セ: 放射線科
3) 放医研: 障害臨床

重粒子線による腫瘍治療機構に関する研究

- 神経膠腫細胞の重粒子線感受性と細胞周期に関する研究

(6B-106)

坪井康次、* 安藤興一

筑波大学臨床医学系脳神経外科、

* 放射線医学総合研究所障害臨床研究部

1. 研究の目的及び年次計画

悪性神経膠腫は脳内に浸潤性に発育し、きわめて予後不良な疾患である。現在 γ 線による放射線治療も行われているが、感受性が低いために十分な治療効果は得られていない。それに対し重粒子線は急激な Bragg peakを持ち、LETが高くDNAの修復を起しにくくすることから新たな治療法として期待されているが(1,2)、これまでに神経膠腫細胞の重粒子線感受性に関する基礎的な研究は極めて少ない。

一方、各種細胞の放射線感受性は放射線照射後の細胞周期の変化と密接な関係がある。我々は γ 線照射後、放射線感受性の低い神経膠腫細胞ほどG2 blockが強く出現し、caffeineでこのG2 blockを解除すると放射線感受性が上昇することを報告したが(3)、LETの高い重粒子線照射後に細胞周期がどのように変化するかはきわめて興味深い点である。

そこで、本研究の目的は、1) 神経膠腫細胞において種々の重粒子線の γ 線に対するrelative biological effect (RBE)を算出し、臨床応用に際しての基礎的裏付けを得ること、2) 照射前後の細胞周期とそれに関連する遺伝子解析により、神経膠腫細胞のDNA自己修復機構の解明を進めることであり、その成果としては、放射線感受性を上げることによる、より有効な治療法の開発などへの発展も期待できる。当該期間においては1) 使用可能な重粒子に対する培養神経膠腫細胞の感受性を生存率から明らかにし、2) 重粒子線照射後のDNA自己修復の機構を照射後の細胞周期の変化から解析することを目的に研究を行った。

2. 今年度の研究経過及び成果

【研究材料、方法】

細胞及び培養条件：2種類の神経膠腫細胞株(U-251, TKB-1)と1種類の髄芽腫細胞株(ONS-76)、正常線維芽細胞(NB-1)を10% FCSを含むDMEMにて5% CO₂、湿度100%下で培養し対象として用いた。

重粒子線照射：使用したビームは290 MeV/u Carbon mono-peak beamでLETは20, 40 keV/ μ mである。

生存率：放医研において重粒子線照射後直ちに各細胞を筑波大学臨床医学系に持ち帰り細胞を各dose pointにつき3枚の6cmシャーレに相当数プレイトした。実際には照射後約3時間となった。プレイト後10~20日で生存率をcolony forming assayにて計測した。

細胞周期：重粒子線照射後の各種細胞を筑波大学臨床医学系に持ち帰り、照射後12時間で10 μ M BrdUを30分間取り込ませた後に固定し、FITC結合抗BrdU抗体とPIにてDNAを二重染色して、細胞周期の変化をフローサイトメトリー(FACSort)にて解析した。

【結果、考察】

生存率： γ 線、20 keV/ μ m, 40 keV/ μ mにおける各細胞の生存曲線はFig. 1-3に示した。10% survivalで見ると、腫瘍は γ 線に対して線維芽細胞の1.2~1.8倍の抵抗性を示したが20keV, 40keVではそれぞれ0.85~1.18, 0.86~1.09倍となり、LETが上がるにつれこの感受性の幅は狭くなっている。また、興味深いことに、 γ 線に対しては正常線維芽細胞(NB-1)が最も高い感受性を示したが、20 keV/ μ m, 40 keV/ μ mに対しては髄芽腫細胞株(ONS-76)が最も高い感受性を示した。

Fig. 1

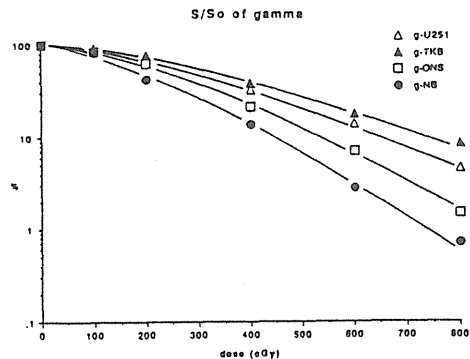


Fig. 2

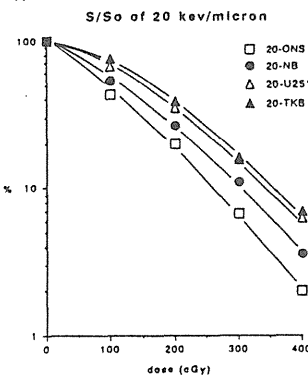
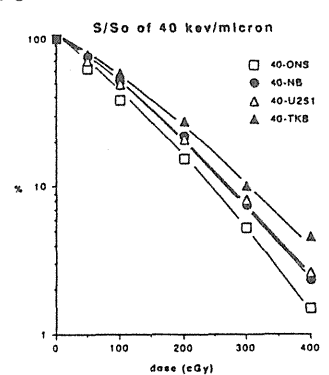


Fig. 3



また、それぞれの細胞の生存曲線について検討してみると Fig. 4-7 のようになり、さらに、10% Survival における γ -線に対する RBE は Table-1 に示した。

Fig. 4-7

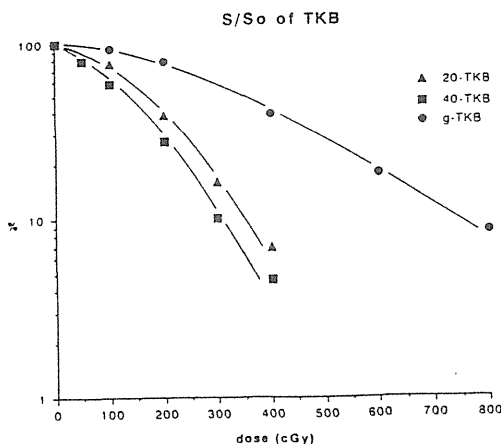
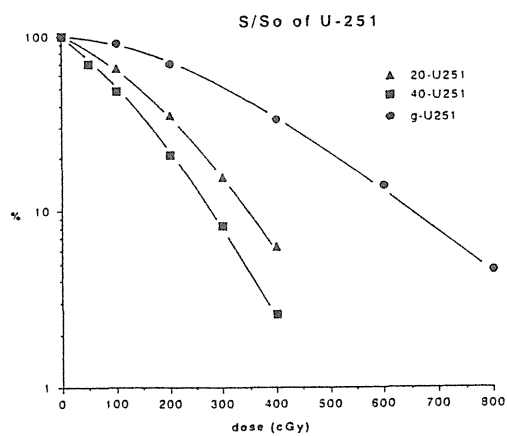
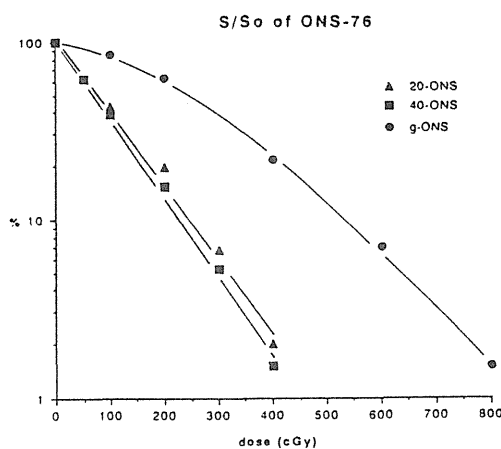
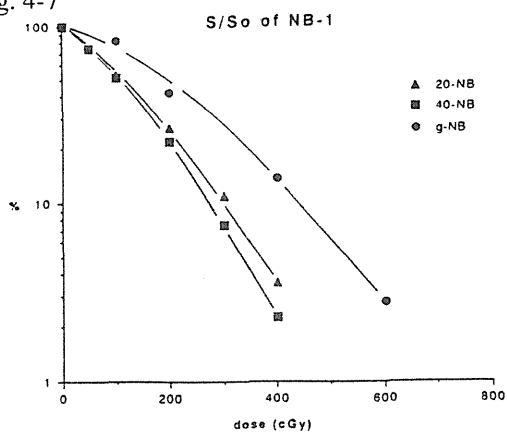
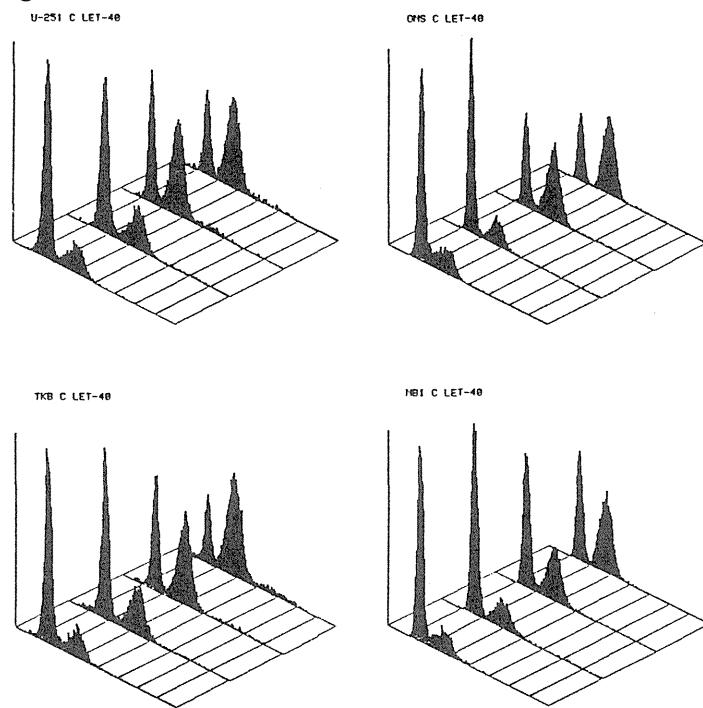


Table-1 RBE at 10% survival

	γ -線	20keV	40 keV
NB-1	1	1.4	1.6
ONS-76	1	1.9	2.2
U-251	1	2.0	2.4
TKB-1	1	2.1	2.6

細胞周期：照射後12時間での解析の結果、各細胞とも dose dependent に G2 block が現れたが、Fig. 8 に 40 keV/ μ m の結果を示した。dose は手前から順に 0, 1, 2, 4 Gy であるが、特に、最も感受性の低かったTKBではその出現が著しいことが示唆されている。また、同じdose (2 Gy) で比較すると γ -線、20 keV/ μ m、40 keV/ μ m ではこの順に LET が上昇するにつれてやはり G2 block が強く起きることも明らかになった。

Fig. 8



以上のことから炭素粒子線の γ -線に対する RBE は、 γ -線感受性の低い膠芽腫細胞株において特に高くなり、LET が上がるにつれ各細胞の感受性の差は少なくなることが明らかになった。また dose, LET が上がるにつれ特に膠芽腫細胞株で G2 block が強く起きることが示唆された。

【参考文献、学会発表】

1. Tsuboi K et al : Charged Particle Mutagenesis I. Cytotoxic and Mutagenic Effects of High-LET Charged Iron Particles on Human Skin Fibroblasts : Radiation Research 129 : 171-176, 1992
2. Tsuboi K et al. : Cytotoxic and Mutagenic Effects of High LET Charged Particles. Proceedings of International Congress in Evolution of Beam Applications. 570 - 575 1992
3. 坪井康次 et al : 神経膠腫細胞の放射線感受性と細胞周期に関する検討 第53回日本脳神経外科学会総会 (徳島) 1994年10月

放射線（重粒子線）、サイトカインに対する細胞の応答機構 および致死過程の解析

----- 重粒子線治療照射における細胞死と分化誘導およびサイトカインの効果の解析 -----
(6B-107)

鈴木紀夫、酒井一夫、平野和也、森松暁史、康 芸
東大・医・放基

1. 研究の目的及び年次計画

本研究ではヒト大腸癌細胞HT29を用いて、重粒子線感受性と照射後誘導される癌抗原（ムチン）との関係を調べ、重粒子放射線治療における先行指標としての可能性を探ることを目的とする。

年次計画：

(1) ヒト大腸癌細胞株HT29のX線および炭素線に対する感受性をコロニー形成法により調べる。

(2) ヒト大腸癌細胞株HT29を用いてX線および炭素線照射後のムチン（MUC1）産生、分泌量をELISA法により測定する。

(3) ヒト大腸癌細胞株HT29のX線および炭素線照射後、TNF β 添加条件でのムチン（MUC1）産生、分泌量をELISA法により測定する。

2. 今年度の研究経過及び成果

材料と方法：

細胞はヒト大腸癌細胞株HT29細胞を用いて、Fetal bovine serumを10%添加したHam's F12/DME(1:1)にて培養した。

X線は島津深部治療用X線発生装置（200kV-20mA, 0.5 mm Cu+ 1.0 mm Al フィルター）より得られるX線を用いた。（線量率1.0 Gy/min）

炭素線はHIMAC（290 MeV/u, LET 80

keV/ μ m, SOBP, 3 Gy/min)より得られる炭素線を用いた。

ムチンの測定にあたっては簡便で、定量性のある測定系が必要であり、一種のサンドイッチELISAを用い、即ち細胞外に放出されたMUC1ムチン量を測定した。

結果：

(1) HT29細胞の放射線感受性（図1）
X線、炭素線に対するD₀値はそれぞれ1.44、0.9となった。

TNF β （1000 U/ml）は照射後6時間後に添加した場合にコロニー形成を指標とした放射線感受性には影響しないことが判明した。

(2) X線照射によるHT29細胞のムチン産生

X線照射により線量依存的にムチン産生の増加が認められ、ムチンが放射線の細胞への影響の指標となる可能性が示唆された。また照射後6時間後のTNF β 添加によりムチン産生がさらに増強された。（図2）

(3) 炭素線照射によるHT29細胞のムチン産生

炭素線照射により線量依存的にムチン産生の増加が認められた。さらに照射6時間後のTNF β 添加によりムチン産生がさらに増強された。（図3）

考察：

放射線照射後の細胞死の過程で、放射線の線量に依存して産生されるタンパク分子として、癌抗原で上皮系細胞の産生するタンパク質であるムチンに注目した。実験の結果、X線、炭素線いずれの場合も照射により、ムチン分子の産生、分泌が増加することが判明した。また炎症性サイトカインであるTNF β 存在でこのムチン誘導作用が増強されることも明らかになった。これはin vivoの照射時における生体内のサイトカインの影響を考える上で重要なデータである。

ムチン産生量については、今回の実験では相対量しかわからないが、今後ムチンの標品を用いてアッセイをおこない、定量化を進めたいと考えている。

また今回の照射実験から、X線、炭素線に対するHT29細胞の生存率曲線が得られた。

今後、この生存率曲線をもとに、同程度の生存率を与える線量でのムチン産生量を測定することで詳細な相互比較を行う予定である。

この相互比較によりLETの異なる放射線に対して細胞の障害とムチン誘導との関係を調べ、新たな照射効果の指標としての可能性を検討していきたいと考えている。

図1. HT29細胞の生存率曲線

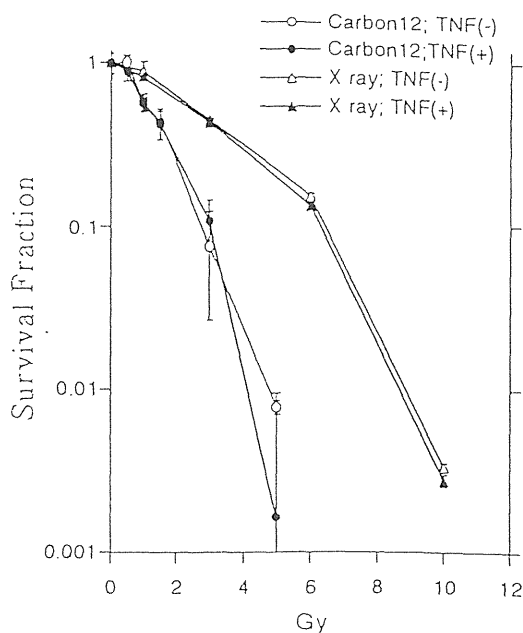


図2. X線照射によるHT29細胞のムチン産生

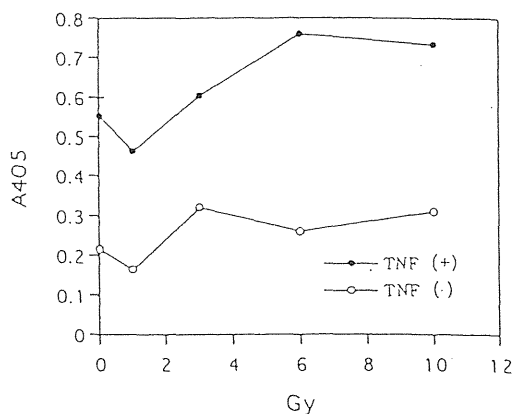
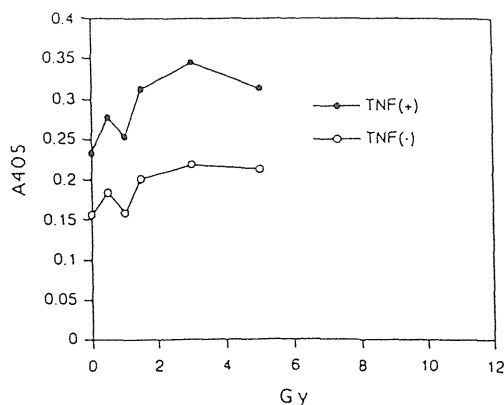


図3. 炭素線照射によるHT29細胞のムチン産生



重粒子線とBRM (biological response modifier) の
併用療法の研究

(6B-108)

放医研重粒子センター、治療診断部 向井 稔、

臨床障害研究部 安藤興一、小池幸子

1、研究の目的及び年次計画

ヘリウムイオン及びカーボンイオンなどの重粒子線に対する各種BRM
(OK-432 (溶血連鎖球菌製剤)、MY-1 (BCG核酸成分)など)の増
感作用を検討する。

平成6年度：実験班及び実験協力体制の確立。実験計画の作成。

平成7年度：放射線抵抗性で免疫原性の弱い自然発生マウス腫瘍(NFSa)
に対する腫瘍増殖抑制効果及び治癒率より、各種BRMの粒子線
増感効果を検討する。

平成8年度：重粒子線の治療効果とX線の治療効果の比較検討及び、治療効果
の作用機序の解明のために、組織学のおよび免疫学的検討を行う。

2、今年度の研究経過及び成果

平成7年度の実験計画の作成。

C3Hマウス線維肉腫(NFSa)に対するカーボンイオンの抗腫瘍効果と
OK-432、MY-1の局所投与の併用による重粒子線増感効果を腫瘍増
殖抑制効果と腫瘍治癒率にて検討する。

3、参考文献

1, Effect of High LET Radiation on Murine Skin and Tumors,

Proceeding of the Third Workshop on Physical and Biological
Research with Heavy Ions.

2, OK-432の放射線増感作用、Ther. Res. 11:19-27, 1993.

3, A Pilot Study of Combination Therapy of Radiation and Local
Administration of OK-432 for Esophageal Cancer, CANCER (in Press)

重粒子線と温熱との併用療法の基礎的研究

(6B-110)

大西武雄^a、松本英樹^a、矢野友昭^b、王新江^a、湯川修身^c
奈良県立医科大学・^a生物学教室、^b第一外科学教室、^c放医研・生物

1. 研究の目的および年次計画

γ 線と温熱との併用療法は現在一般に広く行われるようになり、かなりの治療効果が報告されてきている。しかし温熱処理を短期間に繰り返すと細胞は温熱耐性を獲得し、治療効果が下がることも報告されている。また癌細胞の種類によっては、この療法の効果が少ないものがあることも知られている。つまりいわゆる難治癌があることも事実である。本年度は、ヌードマウス移植癌に重粒子線によるDNA損傷と温熱処理による活性蛋白質の失活という細胞にとって異なったターゲットに損傷をもたらすことによって、より効率良く癌細胞に致死をもたらすことをねらい、実験を行った。つまり難治癌に対する治療の向上の為に、重粒子線のより大きな効用を見いだそうと模索している。細胞の温熱耐性獲得の分子機構も最近明らかにされてきており、重粒子線と温熱との併用は難治癌にとって大いに期待される展望と言え、その基礎的研究が重要と考えられる。

2. 研究経過および成果

[材料および方法]

(1)材料：動物は6週齢、雄、BALB/cA Jcl-nuヌードマウス、腫瘍は食道癌患者から採取し、ヌードマウス皮下継代を行っているヒト食道中分化型扁平上皮癌株(ESO-2)を用いたり。直径約3mm大に細切した腫瘍片をマウス左右大腿部皮下に移植し、14~18日後腫瘍径が8-10mmの大きさとなるまで増殖させた。対照群および各照射群には3個体6腫瘍を用いた。

(2)重粒子線照射：腫瘍径が8-10mmの大きさになった時点でC/290 MeV/uによる治療を行った。照射線量は2.5、5、10および20 Gyとした。

(3)腫瘍径(長径および短径)の計測：治療時とその後は週1回ノギスを用いて行った。各腫瘍の推定腫瘍重量(TW)(mg)は

$TW=L \times W^2/2$ (L:長径mm、W:短径mm)の式にて算出した。相対腫瘍重量(RW)は $RW=TW_n/TW_0$ (TW_n :各測定時推定腫瘍重量、 TW_0 :治療開始時推定腫瘍重量)の式にて算出し、各群6腫瘍のRWを平均した。効果判定は3週間後に治療群と対照群の間でRWの平均を比較し、t検定で $P<0.05$ の有意差が認められた場合、有効と判定した。

(4)腫瘍の組織学的観察：対照群、10 Gyおよび20 Gy照射群の3週間後の腫瘍を摘出後、10%ホルマリン固定またはO.C.T.compound(SRL)包埋後凍結し、それぞれHE染色または抗CD31抗体染色した。HE染色標本では特に細胞の致死形態を、抗CD31抗体染色標本では特に血管の分布状況を観察する。

[結果]

(1)重粒子線単独による治療

1)治療成績：図1に相対腫瘍重量からみた治療成績を示す。対照群では3週間後に腫瘍は約6倍に増大していた。2.5 Gyの照射群においては全く治療効果がみられなかった。5 Gyの照射群では、3週間後にわずかな増殖抑制がみられた。そして、10および20 Gyの照射群においては、顕著な抗腫瘍効果が得られた(対照群との間にそれぞれ $p < 0.01$ 、 $p < 0.001$ で有意差あり)。どちらも2週間目までは増殖抑制がみられたに過ぎなかったが、3週間後、10 Gy照射群では腫瘍は約2倍にしかならず、20 Gy照射群では腫瘍は約0.9倍と照射時よりも縮小していた。それぞれの治療効果比(T/C; T:治療群の平均RW、C:対照群の平均RW)は32.3%および14.0%であった。

2)腫瘍の増殖状況：10 Gyおよび20 Gy照射群において腫瘍部皮膚に痂皮が観察された。10 Gy照射の場合、3週間目に1腫瘍にのみみられ、20 Gy照射の場合2週間目には全腫瘍にみられ、3週間目には2腫瘍にその瘢痕

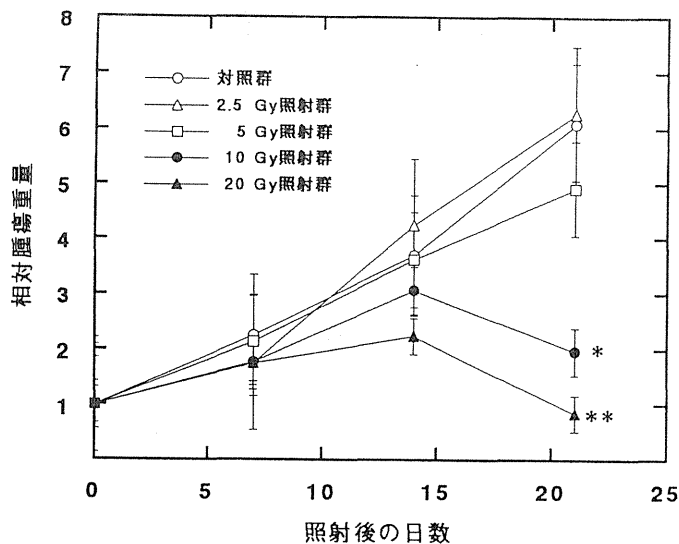


図1 相対腫瘍重量からみた治療成績

*, $p < 0.01$ to control; **, $p < 0.001$ to control

が残っており、その他は消失していた。対照群、2.5 Gyおよび5 Gy照射群においてはこのような痂皮はみられなかった。またヌードマウスの体重減少はいずれの群でもほとんど観察されなかった。

3)腫瘍の病理組織学的観察：現在検討中である。

(2)重粒子線および温熱療法併用による治療：平成7年2月8日の実験において行う予定である。

[考察]

ヌードマウス皮下移植ヒト食道癌株 (ESO-2) の重粒子線単独治療はC/290 MeV/uの場合10 Gy以上の線量においてはきわめて有効であることが明らかとなった。しかしながら、10 Gyおよび20 Gy照射群において腫瘍の増殖が全く観察されなかったわけではなく、2週間目までは増殖抑制を示しながらも一旦増殖し、その後退縮を示した(図1)。これは温熱療法の場合と非常に異なる現象である⁷⁾。この重粒子線Cの20 Gyによる殺細胞機序は、損傷を受けた細胞が何回か分裂した後に致死へと導かれているのかもしれない。実際のところは病理組織標本の解析を待たねばならないであろう。また顕著な痂皮が観察された20 Gy照射群において明らかな抗腫瘍効果がみられたことから、この腫瘍における細胞の動態が5 Gy以下の照射群とは明らかに異なっていることを観察しているが、それは何を意

味するのであろうか。増殖後に致死にいたるといふ細胞の動態はネクロシスか、アポトシスか病理組織学的観察の結果が待たれるところである。また、今回の実験では3週間目までしか観察していないので、その後再増殖が起こるのかどうか不明である。さらに長期に亘る観察も必要と考えられる。従って、次回の重粒子線および温熱療法併用による治療においては、10 Gy以下の重粒子線と温熱療法(42℃および43℃)との併用により抗腫瘍効果が得られるのかどうかを可能な限り長期に亘って検討する予定である。

我々の研究グループは、CDDPと温熱療法との併用により相乗効果が得られること、そしてその細胞および分子レベルでのメカニズムを明らかにした⁷⁾。また、同様のモデルを使った実験で、温熱療法を行った直後に再び温熱療法を行うと温熱耐性が発生し、効果がなくなるが、4日後に再度温熱療法を行うと再び効果がみられるようになることを報告した⁸⁾。また、セファランチンというアルカロイドを併用すると温熱感受性が増加し、42℃の温熱療法でも43℃に近い効果が得られることも報告した⁹⁾。これらの結果は、重粒子線と温熱療法の併用により、少ない重粒子線量で同等以上の治療成績が得られる可能性を暗示するものであり、癌治療の新しい手段になり得るものと考えている。

3. 参考文献

- 1) Yano, T., Nakatani, K., Nakano, H., *et al.* : Hyperthermic enhancement of cis-diamminedichloroplatinum(II)-induced DNA damage in human esophageal cancer transplantable to nude mice. *Anticancer Research* (1993) 13 : 1989-1998.
- 2) Yano, T., Nakatani, K., Watanabe, A., *et al.* : Effects of pre-heating on cis-diamminedichloroplatinum(II)-hyperthermia-induced tumour growth depression of transplantable human esophageal cancer to nude mice. *International Journal of Hyperthermia* (1993) 9 : 699-708.
- 3) Yano, T., Nakatani, K., Watanabe, A., *et al.* : Additive effects of cepharanthin in CDDP/hyperthermia combination therapy against transplantable human esophageal cancer in nude mice. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics* (1994) 29 : 525-528.

治療線量域での腫瘍細胞致死感受性の迅速な測定法の開発

(6B-111)

鈴木雅雄^a、加瀬陽子^a、金井達明^a、古澤佳也^a、蒲原敦子^a、安藤興一^b

1. 研究の目的及び年次計画

重粒子線によるがん治療において、対象となるがん細胞の重粒子線感受性を事前に把握しておくことは、治療計画を立てる上で重要な要素の一つとなる。本研究課題では、がん細胞の重粒子線感受性を、細胞のクロマチン切断誘発とその再結合の動態との相関関係より、低線量域（治療線量域）で迅速かつ正確に測定する実験法を確立するとともに、それを用いての生物学的基礎データを集積することを目的として計画した。

研究計画としては、平成6年度のうちに樹立されている種々のがん細胞による細胞死の重粒子線感受性を調べる。平成7年度から8年度にかけて上記の細胞に対するクロマチン切断誘発とその再結合を早期染色体凝縮法（PCC法）を用いて検出し、細胞死の感受性との相関関係を検討する。さらに前述のPCC法に蛍光インサイチュハイブリダイゼーション法（FISH法）を組み合わせ、クロマチン損傷の検出感度の向上を検討し、放射線感受性を細胞のクロマチン損傷として推定する実験法を確立する。その後（平成8年度以降）、実際の患者由来のがん細胞について上述の実験法によりデータを収集し、同時に治療のためのデータベースを作成する。以上を予定している。

今年度は上述の通り、細胞株として樹立されているヒトのがん細胞（7種類）および正常細胞（1種類）を用いて、炭素イオンビームによる細胞死の感受性を調べた。

2. 今年度の研究経過及び成果

実験には、がん細胞として、4種類の脳腫瘍由来細胞（T98G, A172; glioblastoma,

これらの細胞はJCRB細胞バンクより分譲を受けた。およびKNS60, KNS81; glioma, これらの細胞は財団法人発酵研究所より分譲を受けた。）、2種類の肺がん由来細胞（A549; adenocarcinoma, Lc-1sq; squamous carcinoma, これらの細胞はJCRB細胞バンクより分譲を受けた。）、1種類のメラノーマ（C32TG; amelanotic melanoma, 理研細胞開発銀行より分譲を受けた。）以上7種類のがん細胞を用いた。さらにヒトの正常細胞として、ヒト皮膚由来の正常二倍体細胞（NB1RGB; 理研細胞開発銀行より分譲を受けた。）を用いた。

細胞死は、コロニー形成法によって細胞の分裂死として検出した。

重粒子線は、HIMAC 290MeV/nの炭素イオン単一エネルギービームを用いた。照射は、低LETビーム（13.3keV/ μ m）と高LETビーム（78~80keV/ μ m）の2種類を用いて行った。対照として、X線（200kV）を用いた照射実験を行った。

表1に、2種類のLETの炭素イオンビームによる各細胞の10%生存率を与える線量（ D_{10} ）と、 D_{10} 線量で比較したX線に対するRBEを示す。皮膚由来の細胞（NB1RGB, C32TG）、肺がん由来細胞（Lc-1sq, A549）同志では、RBEは各々のLETビームでほぼ同じ値をとることがわかる。しかしながら D_{10} 線量で見ると、C32TGに対して正常細胞のNB1RGBは各々のLETビームで約1.4倍感受性であることがわかる。また、肺がん同志でもLc-1sqの方がA549よりも1.5倍~2倍感受性であることがわかる。一方脳腫瘍由来の細胞では、各細胞間・各LETビームでのRBEの変動が大きく見られる。KNS81ではどちらのLETビームに対してもRBEは

高くなっている。この細胞系でのD₁₀線量は13.3keV/μmで3.75Gy、78~80keV/μmで1.55Gyであり、肺がん細胞のLc-1sqと同程度である。それにもかかわらずRBEが高くなるということはX線に対する細胞の感受性に差があるからであり、X線の感受性のデータをもとにして重粒子線の感受性を類推することは困難であることを物語っている。また、A172のように、正常細胞よりも炭素イオンビームに対する致死感受性が高く、さらに13.3keV/μmのビームでのRBEが比較的平均的な値を取っているにもかかわらず78~80keV/μmのRBEが突出するような細胞が存在することもわかる。このように、炭素イオンビームの線質によって特異的な効果が存在する可能性があり、このような現象の把握が、重粒子線によるがん治療のより一層の効果向上に必要不可欠になるはずである。

た。平成7年度からは、細胞のクロマチン切断誘発と再結合に注目して、これらの無規則的な細胞死に対する感受性応答を、同一の尺度で規則的に説明するための方法論を具体化する研究を行う予定である。

- a 放医研 医用重粒子
- b 放医研 障害・臨床

表1 10%生存を与える線量 (D₁₀) でのX線に対するRBEとD₁₀値

Cell	13keV/μm		80keV/μm	
	D10 (Gy)	RBE	D10(Gy)	RBE
NB1RGB	3.15	1.17	1.45	2.55
C32TG	4.51	1.10	2.01	2.47
A549	5.27	1.18	3.08	2.02
Lc-1sq	3.50	1.05	1.55	2.26
A172	2.90	1.17	0.90	3.78
T98G	5.20	1.15	3.10	1.93
KNS60	5.30	1.23	2.80	2.32
KNS81	3.75	1.36	1.55	3.29

今年得た実験結果は、細胞レベルでの細胞死の効果のみであるが、どこの臓器・組織由来のがん細胞であるのかによって重粒子線に対する感受性応答がことなり、あるいは同じ種類のがん細胞であっても全くことなる反応を示すことがわかった。さらに、放射線の線質によっても一定の法則にしたがった感受性応答を示さないこともわかつ

腫瘍に対する生物効果線量分布を作成する技術に関する研究

(6B-112)

安藤興一^a、小池幸子^a、清水わか子^b、古沢佳也^c、陳玉昭^a、根本久美恵^d

1. 研究の目的及び年次計画

本研究は、腫瘍治療に関する重粒子線拡大ブラッグピークの生物効果線量を均一化する技術を作る事を目的とする。

生物効果は粒子種・LET・線量・エンドポイント・分割照射法に依存するが、本研究では生物側要因として(1)複数のマウス移植腫瘍間でのEBE比較、

(2)腫瘍増殖遅延、治癒、コロニー形成で調べた各RBEの比較、(3)分割照射効果に関する解析を行う。ヌードマウスに移植したヒト腫瘍についても検討し、マウス腫瘍との間で最も高い相関性を示す因子を抽出する。この因子を決めることができれば、治療効果予測にも役立つであろう。

2. 今年度の研究経過及び成果

10ないし12週齢の500匹のC3H雄マウスの下肢部皮下に0.6-1.0 x 10⁶の同系腫瘍(MMC a乳癌、NR-PG唾液腺腫瘍、NF Sa線維肉腫、NF Sa-Y83線維肉腫)細胞を移植した。7ないし10日後に、重粒子炭素線290MeV/uにて一回照射した(6cm SOBP, Proximal Peak, 腫瘍中心で43.3keV/μm)。線量域は32Gyから52Gyまでとし、5Gyステップ幅とした。一群10匹を用い、照射は5匹の下肢腫瘍部を28mm幅にコリメートしてネムブタール麻醉下にて行った。照射実験は1994年

12月12日から16日にかけておこなった。照射総線量は2210Gyであり、ビームオンタイムは12.5時間であった。

本報告書作成時現在(1995年1月末日)、低線量域(32Gy)では総ての腫瘍が再増殖し、中線量域では再増殖と腫瘍消失が認められている。高線量域(52Gy)では、ほぼ100%の腫瘍が消失している。ガンマ線の場合、50%腫瘍治癒線量は4腫瘍とも70Gyないし80Gyであるが、炭素線proximal peak一回照射による腫瘍治癒線量については1995年5月に判明する。

炭素線のDistal SOBPに関しては、1995年2月13日から照射実験を行う。マウス4腫瘍を用いるが、照射時間の範囲内で、ヌードマウスに移植したヒト唾液腺腫瘍HSGにも照射する予定である。

^a放医研・障害臨床、^b国立がんセンター・東病院、^c放医研・重粒子、^d放医研・生理病理

重粒子線照射による皮膚の耐容線量および容積効果に関する研究 (6B-113)

安藤興一^a、小池幸子^a、清水わか子^b、古沢佳也^c、陳玉昭^a、根本久美恵^d
松下悟^e

1. 研究の目的及び年次計画

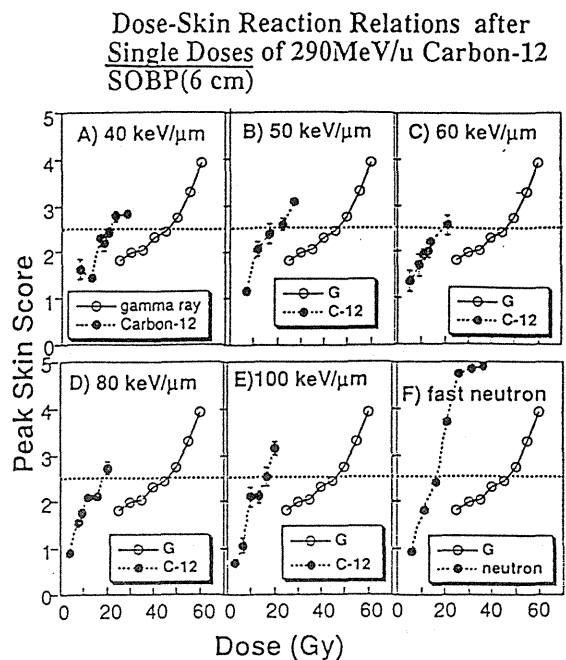
重粒子線による皮膚障害の耐容線量を求めるため、マウス皮膚の早期および晩期反応を炭素線拡大および未拡大ブラッグピーク 290 MeV/u の分割照射法にて求める事を目的とする。早期皮膚反応はスコア法と皮膚短縮率測定法を用いるとともに、病理学的手法による検討をおこなう。晩期反応については皮膚短縮率と下肢短縮率（支持組織）を計測するとともに、病理学的・免疫組織学的手法により調べる。得られたデータから α/β ratio を求め、皮膚および支持組織に対する炭素線分割照射ほうにおける等価線量を求める。

2. 今年度の研究経過及び成果

10ないし12週齢のC3H雌マウスの下肢部皮膚を除毛剤にて除毛し、また同一ないし他のマウス下肢部皮下に墨汁を入墨した。その後6ないし10日後に重粒子炭素線290 MeV/u (6 cm SOB P) にて1回、2回および4回分割照射した。拡大ピーク前入り口の2ヶ所 (15 keV/μm、20 keV/μm) およびピーク内部の5ヶ所 (40 keV/μm、50 keV/μm、60 keV/μm、80 keV/μm、100 keV/μm) を用いた。照射後7日目から隔日、皮膚反応スコアを各マウスにたいして付け40日間計測した。最大スコアを含む5測定スコ

アの平均値をもって、各照射群の代表値とした。また、照射後30日から1ヶ月毎に入墨2点間距離をノギスにて計測し、照射前値との比を求めて、皮膚短縮率を調べた。

本報告書作成時現在 (1995年1月末日)、1回照射と4分割照射に関してはほぼデータがまとまって来ており、その一部を図に示す。



^a放医研・障害臨床、^b国立がんセンター・東病院、^c放医研・重粒子、^d放医研・生理病理、^e放医研・動植課

移植腫瘍細胞の重粒子線照射による細胞動態変化

(6B-114)

松本信二^a, 玉野井逸朗^b, 常学奇^a, 古瀬雅子^a, 古瀬健^a, 曾我文宣^a

1. 研究の目的及び年次計画

重粒子線照射によるがん治療を効果的に行うため、マウスの皮下に移植した腫瘍細胞に重粒子線を照射し、その後の増殖率を種々の条件下で比較検討し、腫瘍の部位にあわせた重粒子線照射の的確な制御を行う。

年次計画

6. 先ずリンパ性腫瘍細胞(EL-4)を試験管内で重粒子線ビームを照射し、その生残率を測定する。更に、マウス(C57BL/6, BALB/c, C3H/He)の皮下にこれらの照射された細胞を移植し、その後の増殖率を調べる。

7. マウスの皮下にEL-4を移植し、ある大きさまで増殖した腫瘍組織を照射し、その後の腫瘍の増殖率を線量及び飛跡の位置関係の関連で調べる。

8. 重粒子線照射による失活した腫瘍細胞、血液細胞などから血液中に流失した成分を検索する。

9. 照射後の腫瘍組織中における蛋白質の質的、量的変化を2次元電気泳動法で、元素量変動をPIXE法で、分子変動を液体クロマトグラフで分析する。

10. 重粒子線照射によるマクロファージ、好中球などの食作用能力への影響を調べるとともに、免疫能力を促進する中薬免疫促進剤の投与など免疫学的手法との組み合わせによる腫瘍細胞への重粒子線の効果を検討する。

2. 今年度の研究経過及び成果

重粒子線照射による腫瘍細胞EL-4の増殖状態ならびに血液成分の変化をx線照射したものと比較検討した。重粒子線照射では、ビームの大きさおよび深さを調節することができることから、今回の実験系においては、

臓器への放射線障害が少ないと考えられるので、血液成分の元素分析および腫瘍細胞の増殖状態をX線照射との比較の上、効果を検討した。

腫瘍細胞の増殖には、免疫系が関与することから、主要組織適合抗原の明確なマウスC57BL/6J (H-2b)、BALB/c (H-2d)、C3H/He (H-2k) の3系統を用い、C57BL/6J由来のリンパ性腫瘍細胞EL-4の増殖状態を照射後しらべるとともに、移植後および照射後のマウスの血液成分をバンデグラフ加速器を用いて、経日的に分析する。バンデグラフによる分析のための血液試料は5 μ lで測定可能なことがわかったので、同じマウスの生理的状态を追跡することができる。

生物照射室において核子あたり295MeVの炭素ビームを用いて照射を行った。腫瘍部位のみ照射するため、リッジフィルターにより平坦化されたビームの残余飛程、1cmの状態での照射した。ビームの断面積は直径、2cmの円形とした(コリメーターの準備について古沢氏に感謝する) 照射直前にネブタール麻酔を行い、アクリル板上に照射位置をしるした線上にEL-4腫瘍を合わせ、マウスを固定する。

BALB/cマウスにEL-4腫瘍細胞を移植後5日目に径20mm、深さ10mmの条件で総線量5Gy、3Gy、1Gyの重粒子線を照射し、EL-4の増殖状態をしらべたところ、線量に応じて増殖が抑えられるとともに、わずかに拒絶される日数が早まった(図)。しかし一方で、5Gy照射中に1匹、翌日3匹が死亡した。

他方、バンデグラフ加速器による血液の元素

分析では、5 μ l の血漿で十分分析が可能であることがわかり、C57BL/6J、B10、C3H/He、BALB/c、A/Jの5系統間でCa、Kなどの含量比の差異が確認できた。またEL-4細胞を移植したC57BL/6JおよびB10では腫瘍死の前にはCaの含量比が高くなること、EL-4を拒絶したA/JではCa値はむしろ低いことがわかった。重粒子線照射したBALB/cの血漿成分については現在測定中である。

したがって、H-2bのC57BL/6JでEL-4の増殖がどの程度抑制されるのか、またH-2kのC3H/HeではH-2dのBALB/cと同じような曲線を描いて拒絶されるのかどうか今年度の実験で明らかになるとともに、血液成分の変化を比較検討することができる。

重粒子線照射と比較するため、同様の条件下でX線照射による試験を実施中である。

3. 参考文献

松本信二, 古瀬雅子, 粒子線生物学1, 放射線科学 37(11) 407-414, 1994

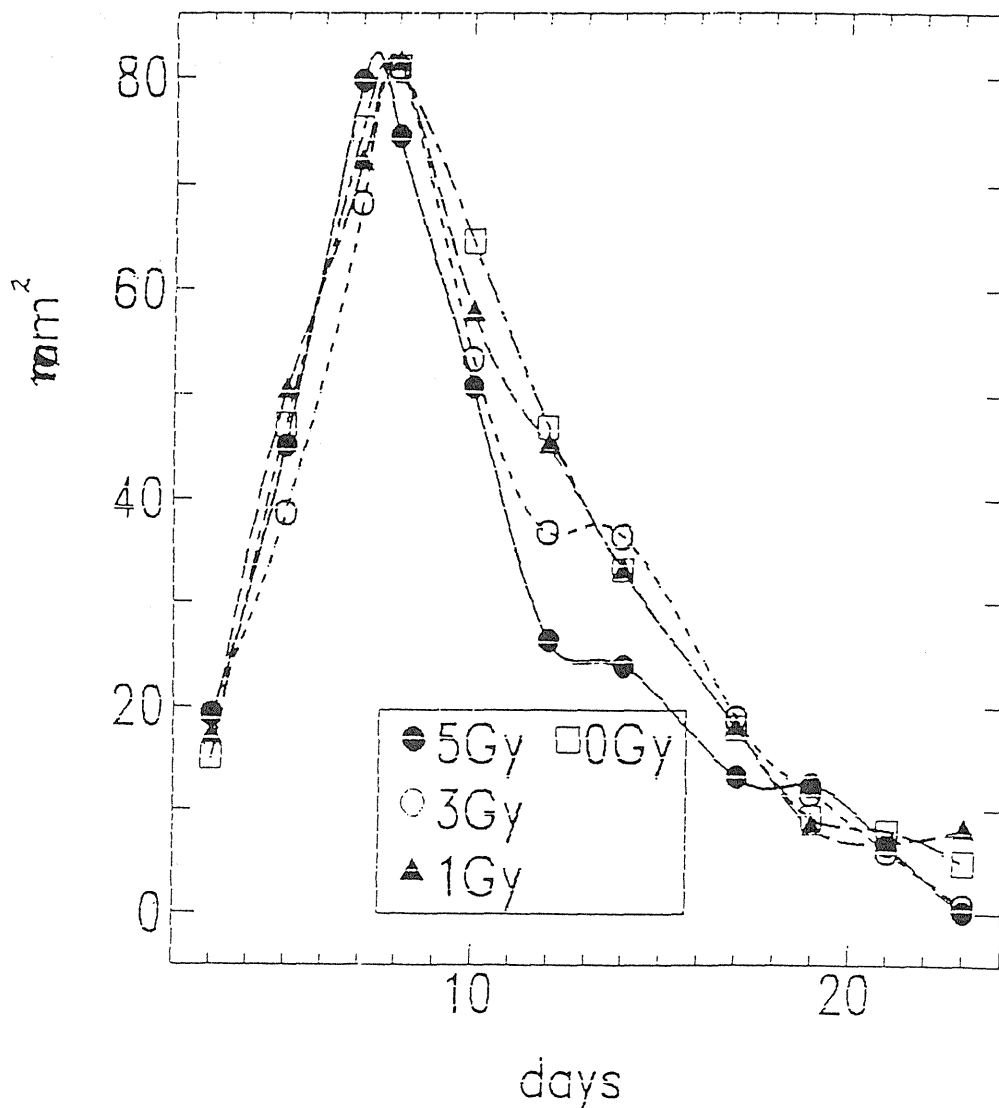
4. 成果発表

1. Elemental analysis of mouse hair by PIXEmethod. I. Tamanoi, K. Oohashi, S. Matsumoto, Z. Murakoshi & T. Matsumoto. Int. J. PIXE, 4(1), in press, 1995

2. Possible characterization of mouse strains by plasma analysis with PIXE.

K. Hoshikawa, I. Tamanoi, A. Nakamura, M. Kachi, K. Oohashi & S. Matsumoto. Int. J. PIXE, in press, 1995

^a放射線医学総合研究所, ^b千葉大学薬学部
図の説明: 炭素ビーム照射による腫瘍サイズの縮小. BALB/cマウスに移植したEL4腫瘍細胞集団のサイズを経時的に測定.



皮膚における重粒子線照射後の早期および晩期障害の評価に関する研究 (6B-201)

松下 悟^a、安藤興一^a、小池幸子^a、根本久美恵^a、飯塚正之^a、堀 信一^a、
金井達明^a、古川重夫^a、松本恒弥^b、Grdina D. D.^c、
(^a放医研、^b環境研、^cArgonne Natl. Lab.)

1. 研究の目的および年次計画

重粒子線治療において、正常組織の障害は治療計画や継続性を左右する最も重要な因子の一つである。外部照射では、皮膚およびその周囲浅部組織の障害が特に問題となるが、重粒子線による影響に関する知見は乏しい。本研究は、動物実験によって皮膚の障害を明らかにすることにより、重粒子線の生物影響評価を行うとともに、治療の最適化をはかることを目的とする。従って、皮膚および周囲浅部組織の障害が、粒子線の照射容積、分割方法、線質、線量、線量率などの差異によりどのように変化するかを、臨床的および病理学的方法を用いて動物実験から究明する。さらに、障害の進行過程、RBE、病理発生、発生機序、修復過程などを明確にし、他の正常組織障害との比較検討を行い、重粒子線障害による正常組織の本態を解明する。

今年度は、マウスを用いた皮膚と周囲組織の障害評価の方法論に関し、従来より行われていた肉眼計測的方法と、我々が着目した計測的方法とを、低LET線を用いて比較検討し、高LET線への適用を試みた。

2. 今年度の研究経過および成果

C3Hマウスの後肢(片側)に¹³⁷Cs- γ 線(10~45 Gy)、または放医研サイクロトロンから得られた30MeV d-Be速中性子線(9~27 Gy)を照射した。照射後1年目に、照射側および非照射側の後肢を検索した。エンドポイントとして、まず肉眼計測的方法である皮膚短縮、および後肢拘縮を指標とし、変化の程度を測定した。また、顕微鏡計測的方法として、組織標本作製後、膝関節角、皮膚組織の厚さ、筋の断面積を指標として、変化の程度を測定した。さらに、各組織の病理組織像を観察した。その結果、皮膚短縮、後肢拘縮および皮膚組織厚は一定の線量まで線量依存性に増加し、膝関節角、筋断面積は線量依存性に減少した。各エンドポイントに相関関係が明らかで、いずれも放射線障害に有用な指標と位置づけられた。特に我々が着目した膝関節角の測定は、今回初めてその有用性が実証された。なお、速中性子線のRBEは、膝関節角(正常の75%レベル)で1.7であった。さらに、病理組織学的に、後肢拘縮は皮膚の肥厚(表皮細胞の増殖と真皮の線維化)、骨端軟骨の障害に関連した膝関節の伸長不全、および筋萎縮などの複合的障害の結果と考察された。

次に、上記のエンドポイントを用いて、

理研リングサイクロトロンより得られた $135\text{MeV}/\mu$ の非拡大ピーク炭素線により、粒子線の組織到達度とLETの差違が正常組織障害にどのように影響を及ぼすのか、について検討を行った。その結果、ビームの到達度が高くLETの低いビームほど皮膚組織、膝関節および筋組織に対する障害が強くと出現する傾向が認められた。

さらに、重粒子線による皮膚組織の障害に対する分割効果をみるために、HIMACで得られたLETの異なる ($40\text{-}100\text{keV}/\mu$) $290\text{MeV}/\mu$ 炭素線をマウスの後肢に照射し、同様のエンドポイントを用いて検索する実験に着手した。現在、組織標本作製中である。

3. 成果発表

- 1) Matsushita S., Ando K., Koike S.,
Grdina D. J., Furukawa S. : 1994.
Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.
30, 867-872.

- 2) 松下、安藤、小池、松本：第118回日本獣医学会、十和田、1994、9.
- 3) 松下、安藤、小池、飯塚、堀、金井：第37回日本放射線影響学会、福岡、1994、10.
- 4) 根本、小池、加瀬、蒲原、万川、富沢、青柳、溝江、松下、金井、安藤：第37回日本放射線影響学会、福岡、1994、10.
- 5) 小池、安藤、松下：第53回日本癌学会、名古屋、1994、10.

中枢神経系の正常組織障害の評価に関する研究

(6B-202)

寺原敦朗^a、石川敦子^a、中野隆史^a、蓑原伸一^b、松下悟^c、古川重夫^a、
吉田勝哉^d、井上修^d、安藤興一^d

1. 研究の目的および年次計画

最近の放射線治療の一つの流れとして、特に中枢神経系においては、小さなターゲットに対して高い位置的精度をもって集光照射を行なうことにより、周囲の正常組織の障害発生を容認できる程度に抑えつつ、ターゲットにのみ高い線量を与える治療法が次第に広く行なわれるようになってきている。しかし、その際に線量、照射容積、線量分布、分割方法、線質、照射部位などの多数のパラメーターがどのようにその障害発生に関与しているかは未知の面も多い。また、障害発生の検出方法、判定評価方法にも未だ確立されたものは存在しない。

重粒子線および陽子線は線量分布としては通常の光子線や中性子線に比べてその集中性に優れており、とくにその照射容積と障害発生に関する研究には最も適したモデルであるといえる。そこで、今回はラット及びウサギを用いた動物実験によって、線量及び治療容積、照射部位、さらに線質、RBEの違いが、中枢神経系の正常組織の障害発生に与える影響を明らかにする。またそのデータから、正常組織障害発生率の算出式を考案して、それがどの程度信頼性があるかを検討する。また、その際に中枢神経系の障害の評価方法についても検討を行い、その確立を目指す。その成果をもとに、実際の臨床試行の際のデータを応用することによって、データの再評価、および治療の最適化が可能になるものと思われる。

今年度はまずその基礎的な実験としてラットの脳に対して重粒子線を用いた一回照射を行う。その際に粒子線を用いた実験動物照射用の実験系の開発及び整備を行うとともに、照射線量の異なる実験群間において放射線障害の発生率および発生様式を比較検討評価する。それにより、RBEの推定、評価や今後の実験における至適線量の決定に役立てることを目的とする。

2. 今年度の研究経過及び成果

まず、実験動物としてラットを用いた重粒子線照射実験用の固定具を作成した。生物照射室の固定台に装着可能なアクリル製の板に、頭部及び前肢の分岐部にて固定をするための加工を加え、ラットを一枚の板に等間隔で5匹まで固定可能とした。それにより、最初に設定を行えば、計画した照射野が常にそれぞれのラットの同じ位置にくるようになり、頭部への照射の設定も容易となった。

11週齢のウイスターラットを用いた照射実験を1994年12月7日に生物照射室にて行った。径2cmの円形のコリメーターにブロックを組み合わせて半円状の照射野を作成し、左半脳をターゲットして照射を施行した。290MeVカーボンビームの6cm SOBPの終端部1cmを用い、ボラスは使用しなかった。線量は一回照射で5, 10, 15, 20, 25Gyの5群、各群5匹とした。

現在経過観察中であるが、照射後1.5か月の時点で、20および25Gy照射群全匹と15Gy照射群の3/5において、照射部位の体毛の脱落が認められている。

最終的には6か月間経過観察を行ったのちに脳の組織標本を作成し、壊死や浮腫、血管障害などの有無および程度やその範囲等の評価を行い、照射による障害を組織学的に検討する。

3. 参考文献

- 1) Brennan, K.M.; Roos, M.S.; Budinger, T.F.; Higgins, R.J.; Wong, S.T.; Bristol, K.S. A study of radiation necrosis and edema in the canine brain using positron emission tomography and magnetic resonance imaging. *Radiat Res.* 134:43-53; 1993.
- 2) Lo, E.H.; DeLaPaz, R.L.; Frankel, K.A.; Poljak, A.; Phillips, M.H.; Brennan, K.M.; Woodruff, K.H.; Valk, P.E.; Steinberg, G.K.; Fabrikant, J.I. MRI and PET of delayed heavy-ion radiation injury in the rabbit brain. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 20:689-96; 1991.

^a 放医研治療診断

^b 放医研重粒子物理工学

^c 放医研動植

^d 放医研障害臨床

齧歯類脳の組織発生・細胞発生に及ぼす重粒子線の影響

(6B-203)

伏木信次^a、田口泰子^b

1. 研究の目的および年次計画

本研究の目的は、哺乳類の脳組織形成過程に重粒子線が作用するとその発生がどのような修飾を受けるかを、組織・細胞・分子レベルで明らかにすることにある。その際に着目する事象は、母細胞の増殖、母細胞から神経細胞への分化・移動、神経細胞の突起伸展、シナプス形成や回路形成、さらにはグリア細胞の増殖、分化である。*in utero*、すなわち子宮内被曝の系では組織構築や細胞接着分子・シナプス関連分子の細胞レベルでの変化を中心に解析するが、他方で、神経細胞やグリア細胞などの初代ないし継代培養系を対象とした *in vitro* 実験を進めることにより、ネットワーク形成や神経細胞相互間ならびに神経細胞・グリア細胞間情報伝達における重粒子線の影響を、分子レベルで解析することを目標とする。

今年度はマウス胎仔への重粒子線 *in utero* 照射による大脳皮質形成過程への影響を、主として組織構築に着目しながら解析することを目的とする。

2. 今年度の研究経過および成果

今年度の重粒子線照射は1回目を平成6年12月14日に、2回目を平成7年1月11日に、現在まで計2回、妊娠B6C3F1マウス（妊娠15日目）を対象に

施行した。マウスには照射1時間前にあらかじめ5-bromodeoxyuridine (BrdU) を腹腔内注射した。マウスはアクリル製特注容器により固定し、Carbon ion 290 MeV/u のSOBPビームを用いて0.25、0.5、1.0 Gyの照射を行った。1回目は0.25 Gyと0.5 Gy照射群を各4匹、非照射対照群を4匹もうけた。2回目は0.25 Gyと0.5 Gy照射群を各4匹、1.0 Gy照射群を6匹、非照射対照群を4匹もうけた。各実験群は照射4時間後、1日後、3日後、出生後2週、3週、8週の時点で4% paraformaldehydeにて固定、そのちパラフィン包埋、薄切の過程を経て、抗BrdU抗体による免疫組織化学を施行する（一部はすでに施行した）。

上に述べたように長期にわたる追跡が本研究の眼目であるが、報告書執筆時点では大部分の材料は入手できる段階に達していないため、大脳皮質構築への重粒子線の影響を評価するには時期尚早である。

ただし照射直後に固定した胎仔脳組織切片の観察により、0.25 Gyという低線量照射群において大脳壁、とりわけ母細胞層に壊死が多数みられたことは特記されるべきであろう。わたしたちはこれまでX線やガンマ線の低線量を胎仔に照射する実験を行ってきた（参考文献1,2）が、それらの実験によると0.25 Gy程度の低線量照射では壊

a 京都府立医大・老化研・病態病理

b 放医研・生物

死はほとんど出現しなかった。この相違は重粒子線の高 LET 線としての特性を反映しているのかもしれない。神経細胞移動に対する影響についても X 線やガンマ線と重粒子線では様相が異なるのかどうかに関しては大いに興味もたれるが、結果を得るまで今しばらく時間を待たなければならない。

3. 参考文献

1) Fushiki, S., Matsushita, K. and Schull, W.J. : Decelerated neuronal migration of neocortical neurones in explant culture after exposure to radiation. *NeuroReport*, 5, 353-356, 1993

2) Fushiki, S., Matsushita, K. and Schull, W.J. : Effects of low-doses of ionizing radiation on the developing brain - experimental studies, in vivo and in vitro. Brain damage associated with prenatally environmental factors (ed. by T. Seki), *The Organizing Committee of the 6th International Symposium on Developmental Disabilities*, 31-39, 1994

4. 成果発表 なし

重粒子線による中枢神経系の傷害と修復の機序に関する病理学的研究 (6B-204)

桶田理喜^a、岡田忍^a、松下悟^b

1. 研究の目的及び年次計画

放射線による中枢神経傷害については既にX線等で報告されているが、重粒子線については、どのような条件下でどのような傷害が生じるか、その発生機序は何か、更にその傷害がどのような経過をたどるかについてはわかっていない。研究代表者桶田は、ヒト脊髄と大脳の放射線遅発性壊死の発生機序について、病巣の連続切片再構築から、これが血管内皮細胞の損傷によるものであり、この損傷は照射野の全血管に生じるもののそれによる透過性亢進は一般炎症と同様に静脈側により高度に起こり、元来細胞外腔の広い白質がPlasmafiltrationsnekrose (Scholz) に陥ること、静脈構築上血液うっ滞が生じ易い脊髄側索や前索に病変が好発することを見いだした¹⁾、²⁾、³⁾。重粒子線についても同様の変化が生じるのか、またその機序は同じかについて、動物を用いて病理学的に検索する。

平成 6年度はラットにおいて重粒子線照射による中枢神経傷害発生時の照射条件とその病変の性状および分布に関して検討し、平成 7年度はこれに加えて脳の構造がよりヒトに近いネコで同様の検討を行う予定である。

2. 今年度の研究経過及び成果

Wistar系雄ラットの側腹部の背面よりの高さ 1cm×胸骨剣状突起を中心とした 3cm の範囲に¹²C (290keV) の重粒子線を5 (4匹)、10 (3匹) 及び15Gy (3匹) 照射した。照射後約 2ヶ月経過した時点では15Gy照射群に照射野を中心とした脱毛が観察されており、そのうち最も脱毛の強い例でごく軽度の歩行異常が観察されているが、まだはっきりとした神経症状は認められてい

ない。同様の条件で30GyのX線照射を行った場合には、照射 4～5ヶ月後に後肢の麻痺が出現しており、重粒子線においても放射線による中枢神経傷害の発生にはある程度の潜伏期間が必要であると思われる。

3. 参考文献

- 1) 神経進歩 15:619-639, 1971
- 2) Acta Pathol Jap 23:867-883, 1973
- 3) 病理と臨床 8:1032-1044, 1990

a 東京医歯大難治研神経病理

b 放医研動植物管理課

マウス正常組織における高LET放射線誘発突然変異の特性 (6B-205)

小野哲也^a、小村潤一郎^a、池畑広伸^a

1. 研究の目的及び年次計画

放射線の晩発性障害を推測する有力な方法のひとつとしてDNA上に起こる突然変異があるが、この突然変異を定量的に検出することは難しく、ごく限られた遺伝子と細胞種についてのみ可能である。ところが最近大腸菌の遺伝子を導入したトランスジェニックマウスが開発され、これを使うことにより、体のほとんどの組織で突然変異が測定できるようになった。このトランスジェニックマウスを用い突然変異誘発に及ぼす高LET放射線の特性を明らかにするのが本研究の目的である。

平成6年度の目標は2種のトランスジェニックマウスを用い、アッセイ系を確立すること、また比較の対称とすべきX線による突然変異誘発のようすを明らかにすることの2点であった。

2. 今年度の研究経過及び成果

(1) MutaTMマウス

この系は*lacZ*遺伝子をλに組み込んだものを細胞あたり約80コピー導入されたものであり、λのpackagingを経て*lacZ*遺伝子の変異を測定する⁽¹⁾。このpackagingには当初Stratagene社のGigapack II Goldを用いていたが、途中からpackaging効率が大きく低下してしまい、実験が続けられなくなった。そこで、P. Glazerらの開発した新しい菌を用い⁽²⁾、自分でpackaging extractを作った。それを用いて実験を重ねた結果

a. $5 \sim 10 \times 10^5$ 個の遺伝子について解析

すればデータにそれ程バラツキが出ない。

b. 新生児の脾の自然突然変異頻度 (3.2 ± 1.3 (SD)) $\times 10^5$ である。

c. 自然突然変異頻度はその後加齢とともにほぼ直線的に増加し、1年令では (8.3 ± 1.8) $\times 10^5$ となる。

の3点が明らかになった。X線照射も行っているが、まだ解析が充分には進んでいない。

(2) IngenoTMマウス

これは*lacZ*をプラスミドの形で細胞当たり約60コピー導入したものであり、制限酵素によるプラスミドの切出とそのligation後大腸菌への導入を経て*lacZ*の突然変異を検出するものである。

このマウスのDNAについて自然突然変異率を求めているが今の所、 $10^{-4} \sim 10^{-3}$ の値がでてきている。しかし、それはMutaTMの例からすると頻度が高いので、assay上の問題がないかどうかさらに検討する必要がある。

3. 参考文献

- (1) Gossen, JA. et al. 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:7971-7975.
- (2) Gunther EJ. et al. 1993, Nucleic Acids Res., 21:3903-3904.

4. 成果発表

学会発表

1. 小野哲也 他、Muta-mouseの脾と肝におけるX線誘発突然変異、日本癌学会総会第53回大会、10月19～日21日、1994年。
2. 小野哲也、他、Mutaマウスを用いた放

射線誘発突然変異検出系の問題点、日本放射線影響学会第37回大会、10月27日～29日、1994年。

3. 小野哲也、他、マウスの加齢に伴う体細胞突然変異頻度の変化、日本基礎老化学会第18回大会、10月11日～14日、1994年。

^a東北大医放射線基礎

重粒子線による消化器粘膜の障害評価に関する研究

(6B-206)

福津久美子^a、金井達明^b、安藤興一^b

(放医研、^a障害基礎、^b重粒子センター)

1. 研究の目的及び年次計画

粒子線治療を行う際問題となる正常組織障害を予測することは、治療計画において重要なことと考えられる。特に治療に用いられる分割照射時の影響研究は障害予測において重要な課題である。本研究は消化器粘膜、主として小腸に注目し、重粒子線分割照射の影響研究を行うことにより、細胞再生系組織での障害評価に寄与することを目的とする。

今年度は、すでに理研リングサイクロトロンによる実験で得られた結果をもとに、腸管クリプト細胞生存率でのRBEのLET依存性を290MeV/uの炭素線で確認した後、分割照射によるクリプト細胞の動態変化の実験へと進展する予定であった。しかしながら、マシンタイムの利用可能時期には長期海外出張となり、実験実施が不可能となった。さらに来年度についても、引き続き長期海外出張となっているため、この課題の継続は困難と思われる。従って、今年度は理研での実験結果を報告し、これをもってこの課題を中断することとする。

2. 今年度の研究経過及び成果

理研で行った実験は、培養細胞のデータをもとに設計されたレンジモジュレーターによって作り出される拡大ブラッグピークが生体の正常組織である小腸においてどのような影響を与えるかを検討することを主たる目的とした。

重粒子線照射は、理研リングサイクロトロンで135MeV/uに加速された炭素線を

レンジモジュレーターにより拡大したブラッグピークを用いた。使用したレンジモジュレーターは培養細胞V79の10%生存率でのRBEをもとに、拡大ピーク内での生物効果が一定となるように設計されている。ここでいう生物効果とは、物理線量と10%生存率でのRBEとの積として表される。拡大ビーム内での照射位置はproximal、mid、distalの3点であり、各々のLETは65,79,117keV/umである。なおリファレンスにはセシウム-137ガンマ線(線量率0.62Gy/min)を用いた。どちらもネンプタル麻酔下での一回及び3分割(分割間隔4時間)の全身照射を行った。実験動物にはC3H/Heマウスの雌16~22週齢を、腸管クリプト細胞生存率の検定にはWithersらのマイクロコロニー法を用いた。

図1に示すように、腸管クリプト細胞の致死効果は、一回、3分割照射ともにLETが高くなるほど、つまりproximalからdistalへ向かうほど強くなることが認められた。また分割照射においては、

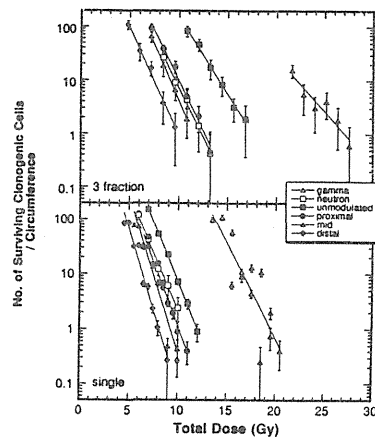


図1

LETが高くなるにつれて回復効果の低下がみられた。LET変化に伴うこれらの結果は、培養細胞で観察されたことと一致する。この結果をもとに、さらに拡大ピーク内での生物効果として評価するために図1のデータからクリプトclonogenic細胞あたりの生存率を計算し、LQモデルによる生存率曲線の解析を試みた。LQモデル解析を試みた理由は、レンジモジュレーターの設計にLQモデル解析による α 、 β とLETとの関係を基本概念として導入しているからである。得られた生存率曲線から50%~0.1%生存率でのRBEをもとめ生物効果を計算した。その結果、 α 、 β とLETとの関係がV79の場合と非常によく似た結果を示した。そこで培養細胞V79のデータをもとにした設計期待値と比較してみると(図2)、設計基準とした10%生存率では驚くほど期待値に近い値を示した。

以上の結果より、培養細胞のデータをもとに設計したレンジモジュレーターの生体への応用、さらに生存率曲線のLQモデル解析による生物効果予測の可能性が示唆された。

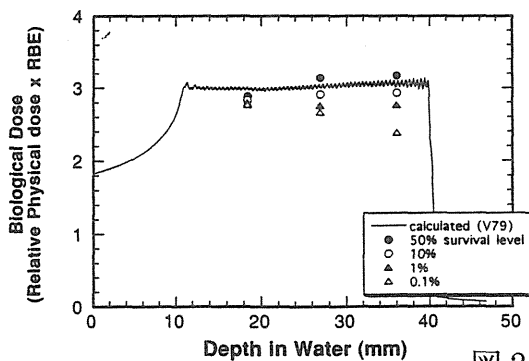


図2

小型熱帯魚（グッピー）における重粒子線の生物学的効果の研究

(6B-207)

大原 弘^a、香田康年^a、大津裕司^b、野田攸子^b、金井達明^c、宮原信幸^c

^a岡山大学理学部、^b放医研生理病理研究部、^c放医研医用重粒子物理・工学研究部

1. 研究の目的および年次計画

小型熱帯魚グッピー（Guppy: Lebistes reticulatus Peters）を重イオン粒子線照射の材料として、全身照射および特定組織を標的とする部分照射による生体機能への影響に関する病理組織学的研究を行ない、重粒子線による生体機能不活化機構の特質を明らかにすることを目的とする。同時に、生体局所の微小部位を選択的に照射する（或いは不活化する）技術の開発をも目的とする。また、この課題による共同利用研究は研究期間の予定を3年として進める。

（平成6年度） 粒子線の全身照射による個体の線量一致死感受性、致死感受性の標的組織器官の検索、標的組織不活化に関する線量効果、不活化効果の病理学的検索などを中心に実験を進め、すでに得られた理研重粒子線（炭素線）の効果と比較する。

（平成7年度） 粒子線の全身照射による致死感受性のLET効果、イオン種による効果、感受性標的組織（表皮／消化管／腎／鰓／精巣など）における高感受性標的細胞（鱗、消化管、鰓などの上皮細胞／血球細胞／精原細胞など）の検索、標的細胞の不活化動態などに関する生物学的実験研究をすすめる。また、水生の小動物の生体固定法と生体固定による生体微小部位にたいする選択的部分照射法の開発を試みる。

（平成8年度） 選択的部分照射法の確立、部位別生体部分照射（頭、口、鰓、

腹の各部）による感受性と標的組織不活化のFIDELITY、部位別照射による重粒子線障害の病理組織学的評価と組織の障害修復能に関する研究を進め、重粒子線による生体不活化機構の特質を考察する。

2. 今年度の研究経過と成果

（I）研究のねらいと経過：重粒子線のガン治療の応用によって期待される利点の一つとして線量の局所集中があるが、この特性は標的が早期で微小なサイズである初期ガンであるほど効果が期待される。早期ガンに対する治療効果はどの治療法（MODALITY）でも効果的であるが、重粒子線療法は局所特異性とLET効果に加えて、将来期待できる3次元的ビーム制御により外科手術による摘出に匹敵する効果が期待できる。この研究は、その可能性を小動物を用いて実証しようとするものである。この観点より、過去3年間にわたり、理研において重粒子加速器を用いた炭素イオン線（135 MeV/n）の効果についてグッピーの全身照射実験を行ない、研究材料の有用性ならびに照射効果の検討を行なった。従って初年度の計画は理研の結果を基礎とし、その結果の再現性の確認を主たる目的としている。しかし、最初のマシンタイム割当てが6年度末の予定であるため、この報告では理研での実験結果の考察を試み、研究進展への指針とした。

（II）研究材料の特性：グッピー（成魚の体長約20mm）は卵胎生の淡水性熱帯魚

でメダカ族の一種である。熱帯性であるものの15℃以上の温度であれば充分生息が可能であり、また多少の水質低下などの環境条件の変動や簡単な輸送に充分耐え、数百匹の大量輸送、飼育管理も比較的容易である。繁殖は四季を通じて旺盛であり、安定した材料の生産を期待できる。従って年齢、性別等による群別も可能である。飼育の容易さと旺盛な繁殖能に加えて安価な飼育設備と小スペースという経済性は、研究機関相互に材料等の移動を伴う共同利用研究には最適となる。また、近年、魚類などが生物研究材料として開発されている現状から、この研究成果は生物学的にも関心を持たれるものになろう。

(Ⅲ) 135MeV炭素線全身照射の効果：

1) 個体の感受性： 5-25 GYの線量域では個体の死は線量の直線的増加に対して段階的に減少するが、200kVpのX線による効果を対照としてLD_{50/30}に関する生物効果比(RBE)を試算すると4.0となった。個体の死はいずれの場合も照射後20日以内に起こるが、炭素線では動物の死は上記期間内に集中的に起こり、X線では分散的に起こる。5-10GYの線量域ではいずれの場合も感受性の変動は少なく、プラトー部を形成する。これは感受性標的器官の変化を示唆している。病理組織検索によって、この線量変化による標的組織の候補として明らかになった器官・組織は、腎臓、表皮、前頭口器部、鰓部、消化管、生殖腺などであり、それぞれ特徴的な病理組織変化を示している。

2) 標的組織とその感受性： 10-20GY炭素イオン線照射群において、その構成組織細胞の減少および形態変性が顕著となったのは、魚類では造血器官となる腎臓と呼吸器官である鰓であった。それに比して、咽頭部の下流に位置する消化管で

は組織の巨視的損傷が顕著でなく、特に腸管では上皮の褶曲頻度はやや増加していることが観察された。

a) 腎臓における組織の放射線損傷としては、細尿管の細小化およびボーマン氏嚢の萎縮、構成細胞の矮小化と変性が著しい。また、正常には細尿管の隙間に充満する有核血球細胞は照射線量の増加に従って減少が著しい。

b) 表皮および口腔部では、正常では内外共に多層上皮を形成しているが、照射群では単層化している。また、放射線死に表皮の出血を伴う例が屢々観察された。一方、前頭部口腔内上皮では、通常多層上皮内に多数存在する感覚細胞が上皮の単層化とともに消失する。さらに、咽頭部では上皮の単層化と同時に柱状上皮細胞層は著しく薄層化する。

c) 鰓部の病変の特徴は、魚類の鰓を構成する鰓弓部の呼吸上皮細胞の消失が目立ち、同時に鰓弓部毛細血管の露出も顕著となった。

d) 消化管上皮では、表皮、口腔上皮と異なり、損傷や薄層化は顕著でなく、消化管内腔上皮の褶曲頻度数は非照射対照に較べて増加することが認められた。この事実は、腸上皮がの褶曲構造が哺乳類腸上皮の腺窩による絨毛構造を基礎とする褶曲構造とは異なることを強く示唆する。つまり、魚類の腸上皮の細胞再生機構は哺乳類と異なり、皮膚などの表皮に見られる様な増殖幹細胞が単層上皮に2次元的に点在することを示唆している。従って、照射による褶曲頻度の増加は腸管を囲む筋肉または弾力性に富む繊維芽細胞層の萎縮による腸管径の短縮から生じる折畳み効果であり、それは同時に最も内側に存在する腸上皮で障害が少ない観察事実と符合する。

正常肝に対する重粒子線照射影響の評価に関する研究

(6B-208)

村磯 知採 (放医研、生物)

1. 研究の目的及び年次計画

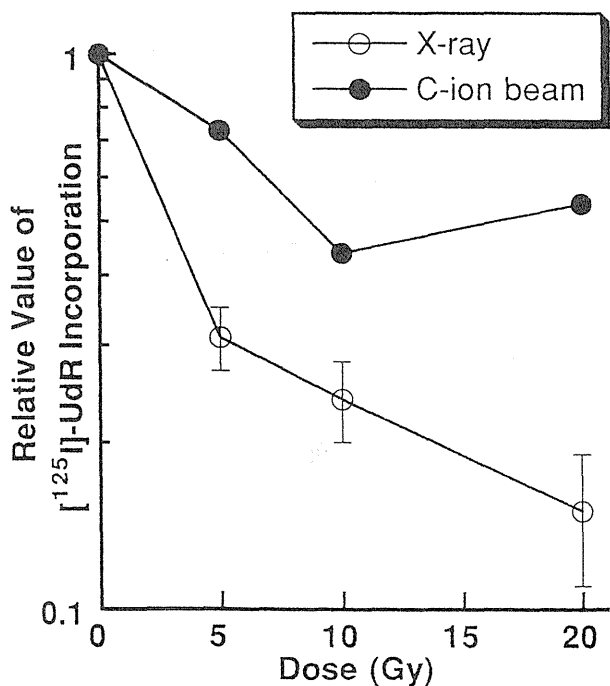
肝臓は、通常細胞増殖が活発に行われている臓器ではないが、虚血、物理的圧迫、薬剤投与などで細胞が損傷を受けたり、部分肝切除により細胞が失われると、肝機能を回復させるため肝実質細胞増殖因子HGF (Hepatocyte Growth Factor, HGF), 上皮細胞増殖因子 (Epidermal Growth Factor, EGF)などの細胞増殖を喚起する因子が、肝非実質細胞のみならず肺、腎臓等から速やかに供給されて、損傷を受けていない肝細胞をG0期からG1期に移行させ肝再生が行われる。そして、肝細胞数が十分に回復すると肝細胞増殖抑制因子 (Transforming Growth Factor- β , TGF- β)等の働きにより増殖が停止し肝細胞は機能発現のみを呈するようになる。このように増殖刺激を受けとった細胞では経時的に種々の遺伝子が順序だてて発現し、増殖刺激を正確に核へと伝達していると考えられる。初代培養肝細胞を用いた実験系では、EGF添加によって細胞増殖刺激が与えられると24時間後にDNA合成の開始が観察され、70時間後に終熄するという結果が得られている。このDNA合成誘導期において種々の遺伝子の発現増強ならびに終熄が観察されており、増殖刺激伝達に関与していると考えられる。これらの遺伝子の発現に対して重粒子線照射が及ぼす影響を低LET放射線照射によって得られた結果と比較し、細胞増殖進行に関する障害評価法を確立することを目的とする。今年度は、肝細胞のDNA合成活性に対する炭素線の影響を検討し同時に増殖応答遺伝子の発現変動に関する基礎的知見を得ることを目的とした。

2. 今年度の研究経過及び成果

ウイスター系雄ラット (12週令) よりコラゲナーゼ灌流法を用いて初代培養肝細胞を分離し、炭素線 (LET 100-120 keV/ μ m)照射を行った後、直ちにEGF添加によって細胞増殖を開始させ、 $[^{125}\text{I}]\text{-UdR}$ の取り込み量によりDNA合成活性を測定した。

また、経時的に全RNAをグアニジンホットフェノール法を用いて抽出し、Northern Blottingを行ない、増殖応答遺伝子の発現変動を追跡した。プローブとしてHa-ras, Ki-ras, c-myc, β -actin, GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase)等を用いた。

$[^{125}\text{I}]\text{-UdR}$ の取り込み量によって測定されたDNA合成活性の炭素線照射による阻害は、X線照射に比べて顕著ではなかった、という結果を得たが、低LET放射線の影響と比較するためには、細胞の照射条件の検討が必要であると考えられる。



重粒子線によるマウス全身照射の晩発影響に関する研究

(6 B - 2 - 0 9)

1. 研究目的及び年次計画

高LET放射線の生物効果の線量反応関係は極めて低線量領域においても直線関係を示すと考えられているが、0.2Gy以下での実験データは少ない。我々の実験系では肝腫瘍が高LET放射線の低線量領域で、低LET放射線に比較して高い発現を見るので、本装置による高LETの重粒子線の効果を、肝腫瘍をはじめとするいくつかの腫瘍の誘発能を指標として明らかにすることは正常組織への重粒子線の生物影響評価に重要な意義をもつものとかんがえる。

これまでに、ヴァンデグラフとサイクロトロン中性子線によるC57BLマウスの肝腫瘍を中心とする発がん効果とRBEを得ているが、さらに高いLETをもつ重粒子線について、その線量反応関係からRBEを得て、線質効果に関して、より深い知見を得ようとするものである。

また今後、宇宙活動の活発化とともに宇宙線の影響の予測などに理論的根拠を与えるデータとなりうる。さらにこの研究は、発がんを指標にして、それぞれの組織の線量反応関係の違いに関するデータを得ることによって、発がんのメカニズム解明の手がかりの一つともなりうると思う。

年次	研究計画	使用希望装置等
平成7年度	C57BLマウスに100keV/um前後のLETの粒子線を全身照射し、SPF環境下で終生飼育を行う。600匹/12回	重粒子線がん治療装置 生物照射室
平成8年度	上記の照射を継続し、死亡したマウスについて剖検し、組織標本を作製、顕微鏡検索する。データベースを作る。600匹/12回	重粒子線がん治療装置 生物照射室
平成9年度	死亡したマウスについて剖検し、組織標本を作成、顕微鏡検索する。	
平成10年度	照射したマウスの飼育観察を続けるとともに死亡したマウスの病理学的検索を行い、データ処理および解析を行う。	

これまでの研究経過

C57BL/6Jマウスの低LET放射線による発がんにおける特徴は、高線量域での胸腺リンパ腫の発生と、低線量域での抵抗性とされている。この系を用いて γ 線と二つの速中性子線の線質の違いによる発がん作用の違いを明らかにしてきた。

寿命短縮

この実験条件において統計的に有意な寿命短縮が認められたのは γ 線では3 Gy以上、二つの中性子線では1 Gy以上であった。線量反応関係をプロットすると2 MeV中性子線がやや短縮効果大きい、有意差ではなかった(図1)。 γ 線の効果と25%短縮線量で比較したRBE値は、2 MeV中性子線で3.5、13 MeVのそれぞれ2.4であった。

腫瘍の発生

寿命短縮効果が有意でない γ 線1 Gyで増加傾向があった。5 Gy, 7 Gyの高線量ではC57BLマウスに特徴的な胸腺リンパ腫が発生し、それによる大幅な寿命短縮があった。

中性子線照射を受けたマウスには高率に肝腫瘍が発生し、低線量域において直線の線量反応関係を示した(図2)。この肝腫瘍に関する γ 線との比較で2 MeV速中性子線のRBEは3.3、13 MeV速中性子線のRBEは2.4となった。肺腫瘍はある線量以上になると発生率が低下するいわゆる細胞死の要素の大きい線量反応関係を示し、LETによってピークとなる線量が異なることを示した(図3)。ゼロからピーク線量までの各点を直線近似し、傾斜を比較すると、2 MeV中性子線で4.5、13 MeVで2.0となった。このほかに、 γ 線、両速中性子線照射群に下垂体腫瘍、副腎腫瘍、ハーダー氏腺腫瘍、甲状腺腫瘍等に増加傾向を認めた。

図1

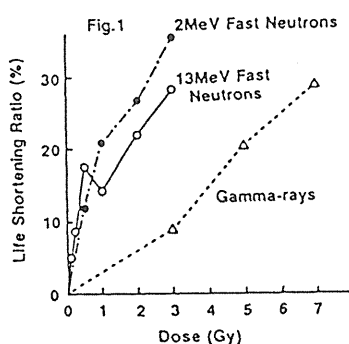


図2

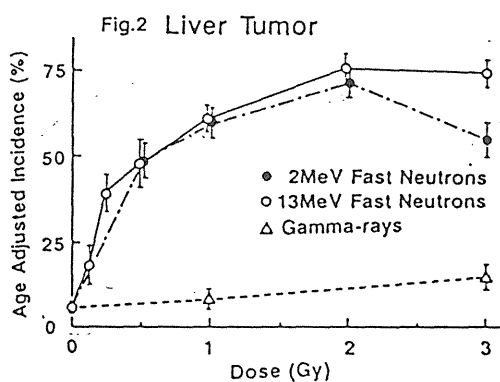
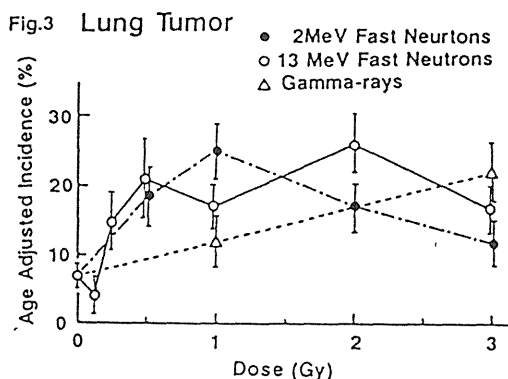


図3



2. 今年度の研究経過

放射線による発がん研究において、感染による動物の死亡は極力避けなければ有効なデータとはならないため、SPF環境下での飼育観察が必要となる。しかるに重粒子線生物照射室自体は通常環境であるため、照射中の動物をSPF状態に保つ特殊な装置が必要となる。我々は除菌フィルターを通して容器にポンプでエアを無菌的に供給しつつ、SPF飼育室から搬出、照射、搬入するための照射容器を作製した。

重粒子線による照射は1994年11月11日に行われた。290 MeVに加速されたカーボンイオンのSOBPビームを用い、照射位置でのLETは50-70 keV/ μ と推定される。1994年10月12-14日生まれのC57BLf/6J 雄マウス50匹について、非照射対照として10匹、照射群として、0.25 Gy:10匹、0.5 Gy:10匹、1 Gy:20匹が配置された。照射のためにケージに密閉されてから再び飼育ケージに戻されるまでに3時間以上を要したため、マウスの状態が心配された。1995年1月20日現在飼育観察中であり、マウスは全て生存している。今後順次照射を行う予定である。

3. 参考文献

D.L. Preston et al. RERF TR/5-86, 1986

Y. Shimizu et al. RERF TR/5-88, 1988

R.L. Ullrich & J.B. Storer Radiation Research, 80:303-316, 1979

T. Furuse et al. in Low Dose Irradiation and Biological Defense Mechanisms. pp207-210, 1992

E.L. Alpen et al. Radiation Research, 136, 382-391, 1993

4. 成果発表

野田、大津、古瀬、小林、丸山、大原 日本放射線影響学会第35回大会(大津)1992

野田、古瀬、小林、大津 日本放射線影響学会第36回大会(東京)1993

古瀬、野田、根本、大津、白貝、安田 日本放射線影響学会第37回大会(福岡)1994

重粒子線による照射線量容積と肺の放射線障害との関係に関する基礎的研究 (B-210)

中野隆史^a 石川敦子^a 寺原敦朗^a 蓑原伸一^a 松下 悟^b 古川重夫^a
金井達明^a 小木曾洋一^c 新部英男^d

1. 研究の目的及び年次計画

重粒子線は優れた線量分布と高い生物学的効果という特徴を有するがこの生物学的効果の定性・定量的解析はいまなお十分でない。とくに重粒子線治療の照射効果では照射容積を考慮した放射線障害の定量的研究が重要である。また照射方法の最適化のために腫瘍の局所制御と放射線障害の予測を行うことが必要となる。

このために実験動物を用いて重粒子線治療の照射効果を照射容積との関係で解析するとともに、線量分布と分割照射法から重粒子線の生物効果の理論を構築し照射効果のシミュレーションを行うことは多くの重要なデータを提供すると考えられる。

この目的の下に重粒子線による照射線量容積と肺の放射線障害との関係に関する基礎的研究を施行する。

平成6年度は実験動物を用いた重粒子線による肺障害の実験のための予備的実験を行う。プロトン、カーボン、ヘリウムにより実験動物の肺に正確な照射が可能な実験系を開発する。また1回照射による肺の照射容積効果を研究する。

2. 今年度の研究経過及び成果

実験動物による肺障害の照射実験の基礎としてラットを用いた照射実験装置の制作を行った。またこれを使用したラット肺のカーボンビーム照射実験を施行した。

(1) 照射実験用固定具の開発

平成6年度はラットを用いてカーボンによる肺の照射実験を行うこととし、この際に使用する固定具の開発／作成を行った。50cm幅の透明なアクリル板に固定用の円柱

をつけ5匹ずつの照射を可能にした。またラットの固定位置を移動することにより肺以外の部位の照射も可能とした。

(2) 照射実験

平成6年12月7日に生物照射室にて11週齢ウイスターラットを用い290MeVカーボンビーム(SOBP)による肺照射を行った。照射部位は左肺の片肺とし線量は1、5、9、13、17Gyの5群とした。各々の群は5匹とした。

照射野の調整には2×2cmの正方形コリメーターを用いた。ボーラスは用いなかった。

照射効果の評価として照射後6ヵ月にわたり肺線維症の観察をX線フィルムにて行うとともに、6ヵ月後に照射肺の組織学的変化を病理学的に検索することとした。

(3) 結果

ラットはすべてネンブタール腹腔内投与による全身麻酔下に固定及び照射を施行した。照射線量は1,5,9,13,17Gyの5群とした。照射終了後、現在まで引き続き経過観察を継続中である。

(4) 今後の予定

肺障害の出現・進行に伴う生理学的機能の変化を経時的に観察する。6ヵ月間の観察期間終了時には肺の組織標本を作成し血管障害及び線維化の拡がり・程度、照射野外への影響の有無等の評価を行い照射効果を組織学的に定量化する。

3. 参考文献

(1) Kanazawa H., Rapacchietta D., and Kallman R. F.: Schedule-dependent Therapeutic Gain from the Combination of Fractionated Irradiation and *cis*-Diamminedichloroplatinum (II) in

C3H/Km Mouse Model Systems:CANCER
RESEARCH 48, 3158-3164, 1988.

(2)木村 誠：放射線と抗癌剤の併用による肺病変に関する研究：北関東医学 31 (6) 407-421, 1981.

(3)Suga K., Uchisako H., Nishigauchi K., et al:Technetium-99m-HMPAO as a Marker of Chemical and Irradiation Lung Injury : Experimental and Clinical Investigations:J Nucl Med 35, 1520-1527, 1994.

(4)Yorke E.D., Kutcher G.J., Jackson A., et al: Probability of radiation-induced complications in normal tissues with parallel architecture under conditions of uniform whole or partial organ irradiation: Radiotherapy and Oncology 26,226-237, 1993.

a放医研重粒子 b放医研動植課
c放医研内ばく d群大放

重粒子線照射に伴う骨代謝および関連臓器の障害の評価に関する研究 (6B-211)

福田 俊^a、飯田治三^a、田口貞善^b、家森幸男^b、奈良安雄^b、内藤善久^c

^a 放医研内部被ばく研究部、^b 京都大学大学院、^c 岩手大学農学部

1. 研究の目的及び年次計画

目的：重粒子線照射による骨代謝への影響を、異なる年齢、性、モデル動物の全身あるいは骨およびその関連臓器（血管、筋、副甲状腺、甲状腺、腎臓など）に局所照射してX線照射の影響と比較検索し、評価する。

今年度は、すでに先行しているX線照射と同年齢のラットを用いて、照射野の条件から後肢に局所的に照射し、骨およびその周辺組織への影響を比較して、実験条件を設定する。

年次計画：次年度以降、照射野の拡大条件を考慮しながら、これまで骨代謝の年齢変化に基づいて作成したラットと人の対応データを利用した全身あるいは骨代謝調節ホルモン調節臓器のある頸部局所照射などを予定し、重粒子の生物効果比、骨障害の修飾因子、その予防方法の検討を進める。

2. 今年度の研究経過及び成果

第1回目は照射条件を検索する目的で成熟雌ラット(3カ月齢)の後肢に重粒子線(LET:42,35KeV/ μ m)2.5-15Gyを照射した結果、7.5-15Gy群(3頭/群)は照射5-6日後に体重減少や下痢などの臨床症状を伴って死亡した。この結果は、重粒子の推定される生物効果比から、X線照射の結果とほぼ一致していると判断された。比較対照のX線照射群では、0-5Gy群では骨量や石灰化、含有ミネラル量の減少、骨強度の低下など骨脆弱化が線量の増加に伴って認められた。7.5Gy以上ではこれらの骨障害に萎縮などの器質的な障害が加わった変化が見られた。また、5Gy以下の線量では骨格筋線維の酸化系酵素活性レベルは線量の増加に伴って減少傾向を示した。

現在、重粒子線を照射した死亡例の骨および臓器の病理検索を進めている。生存し

た2.5と5.0Gy群は計画通り照射3カ後まで観察し、骨2重標識後骨を採取して骨障害の検索、血清生化学成分の分析等を行う予定である。また、本年度に予定されている第2回目の照射では、第1回目の結果を参考に動物数を増やし、同様の観察および検索を行う。

3. 参考文献

なし

4. 成果発表

田口貞善、岡本啓、山崎先也、家森幸男、福田俊、土倉覚、飯田治三：X線照射が骨格筋線維の酵素化学的特性に及ぼす影響。日本運動生理学会第2回大会。

成長軟骨細胞コロニー及び急性腓島細胞死で見た重粒子線のRBE

(6B-212)

坪内 進 (鈴鹿医療科学技術大学)、福津久美子、五日市ひろみ、村上正弘、古沢佳也、笠井清美、金井達明、小池幸子、安藤興一、松下 悟 (放射線医学総合研究所)、大原 弘 (岡山大学)、谷田貝文夫 (理化学研究所)、加納永一 (福井医科大学)

1. 研究の目的及び年次計画

正常及び腫瘍を含めて低増殖性もしくは非増殖性で放射線抵抗性組織の細胞の重粒子線による障害をin vivo, in situの条件で把握することを目指す。このため低い増殖能の細胞として低酸素性の成長軟骨細胞を用いコロニー法で、一方ほとんどもしくは全く増殖しない細胞として腓臓ランゲルハンス島細胞 (腓島細胞) を用い急性細胞死でもって検討する。

今年度の計画として実験環境の整備とビームの選択を含めて予備実験を行う。次年度に分割効果及び線量率効果の検討を行う。

2. 今年度の研究経過及び成果

(経過)

従来より腓臓ラ氏島の系では理研リングサイクロトロン、放医研のサイクロトロン、中性子線等で粒子線照射を行い検討を行ってきた。一方マウス尾骨の成長軟骨細胞のコロニーの系では中性子線及びx線での仕事は行ってきたが、炭素線、及び陽子線は未経験であり線量率の限界及びマシントイムの制約からHIMACのビームを使うに当たって腓島ではなくまず軟骨の系で炭素線照射で検討する事にした。

(成果)

腓島細胞死

現在までの理研、放医研、及び福井医大での低線量率又は高線量率でのx線、 γ 線、陽子線、炭素線の結果をを全体として見ると、

(1) いずれの線質共に分割による回復効果が少ないかほとんどない。

(2) LETの異なる γ (又はx) 線、陽子線、及び炭素線での線質効果は高線量率ではあまり顕著でないがどちらかといえ炭素線が若干低いRBE値を示した。しかし低線量率では炭素線に限局して比較すれば低LETのx線の方が生物効果が高くでた。

(3) 低線量率の陽子線はx線及び炭素線と比較して低いRBE値を示した。この結果は一回だけのものであり更なる検討が必要ある。

軟骨コロニー

昨年12月にパイロット実験として最初の炭素線照射を行い、約1カ月後にサンプリングしコロニー形成の検討を開始した。まだ手探りの段階であるが、従来のx線等の結果と異なり、同一個体での同じ尾骨での不均一性が顕著であり、従って現在線量効果関係を見いだすにはほど遠く、実験条件又この軟骨の実験系の妥当性を含めてまだ検討すべきことがあるものと考えている。

3. 研究発表

1. 腓臓ランゲルハンス島 (ラ氏島) の γ 線、陽子線、炭素線照射による急性細胞死。坪内 進、小池幸子、安藤興一、大原 弘、谷田貝文夫、加納永一
日本癌学会総会記事 p 680、1994

重粒子線のLETに対する細胞致死効果のスペクトル

(6B-301)

古澤佳也^a、金井達明^a、安藤興一^b、鈴木雅雄^a、加瀬陽子^a、蒲原敦子^a、宮原信幸^a

1. 研究の目的及び年次計画

粒子線による癌治療では照射野内での物理的線量分布のみならず、その線質が重要な意味を持つ。粒子線の線質は、加速された重粒子線の粒子種あるいはその電荷及び加速エネルギーあるいは入射粒子の速度によって異なるが、これはX線やγ線とは異なる重粒子線のトラック構造等による空間的・時間的線量分布の違いによって引き起こされると考えられる。この課題ではこういった粒子線の物理的パラメータと、その線質による生物効果（致死、増殖抑制、形質転換、突然変異など）の違いに関して理解を深めるための研究を行う。

粒子線の線質、LETやトラック構造等の物理的パラメータの違いによる生物効果の違いが明確にされれば、重粒子線の生物効果における特殊性を理解でき、効果的な治療を行なうための治療ビームの設計を行なう事が可能となり、治療の最適化を計ることが可能となる。

この目的の為、初期には細胞の増殖死を指標として、重粒子線（炭素線）のLETに対するRBEあるいは平均致死線量（ D_{01} ）のスペクトルを調べる。平成7年度は、エンドポイントに細胞の間期死（アポトーシス）とコメット（マイクロゲル電気泳動）法によるDNA損傷の解析を加え、DNA一本鎖切断検出による生物学的トラック構造の検出系を開発する。年次計画は明らかでないが、順次実験対象とする粒子種を拡張し、陽子線からアルゴンあるいはさらに重い粒子についていくつかの可能な粒子種について、粒子種で異なるであろう生物効果を明らかにして行く。

2. 今年度の研究経過及び成果

本年度は、6月より始まった重粒子線がん治療の前臨床試行実験として、治療照射室においてカーボン290MeV/u重粒子線の非拡大ビームのLETに対する致死効果のスペクトルをV79細胞及びHSG細胞を用いて求め、平成5年度以前より理化学研究所リングサイクロトロン（カーボン135MeV/uビーム）を用いて予備実験を行ってきた結果と照合した（図1）。この結果、RIKENにおける予備実験に用いたビームとHIMACにおける前臨床試行実験のビームが等価であり、理研予備実験の結果を基に決定されたリッジフィルターの設計法は、HIMACの治療ビーム形成のための有効であることが確認された。

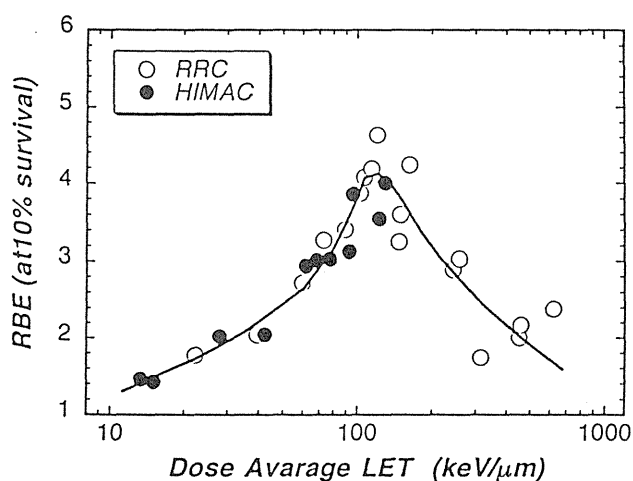


図1. V79細胞のRBEのLET依存性

この事実に基づいて、最初の臨床試行に用いられる予定の6cmの拡大ブラッグピーク（SOBP）を得るためのリッジフィルターが作成された。次に、ここで作成されたリッジフィルターによるSOBPビームの拡大領域内で生物学的効果が均一であること

^a放医研・重粒子、^b放医研・障害・臨床

を確かめるため、6cm-SOBPビームによるHSG細胞の照射実験を行った。非常に初期のリッジフィルターでは、その工作精度などによる拡大領域内の生物学的効果の均一性に多少の問題がみられ、いくつかの手直しを行った結果、ほぼ満足の行くリッジフィルターの制作が可能となった。さらにこのリッジフィルターによって作り出されたビームが、他の細胞系でも同じように均一な生物効果を示すことを確かめるため、さらに4種類の異なるヒト由来細胞 (HeLa, Fibrosarcoma, Glioblastoma, Keratinocytes) についても照射実験を行った (図2)。細胞種によって生物効果は拡大領域内でのproximal位置からdistal位置にかけて違いが認められ、これは生存率曲線の肩の大きさの違いに起因するLETに対するRBEの変化の大きさの違いによって引き起こされているものと考えられる。治療の対象となる患者固有の癌細胞の生存率曲線が得られない状況であるのでこの違いが治療成績に及ぼす影響は議論できない。ここで用いた5種類の細胞実験による結果からは、それらの細胞種全体に対する生物効果の幅として凡そ±15%程度となっている。

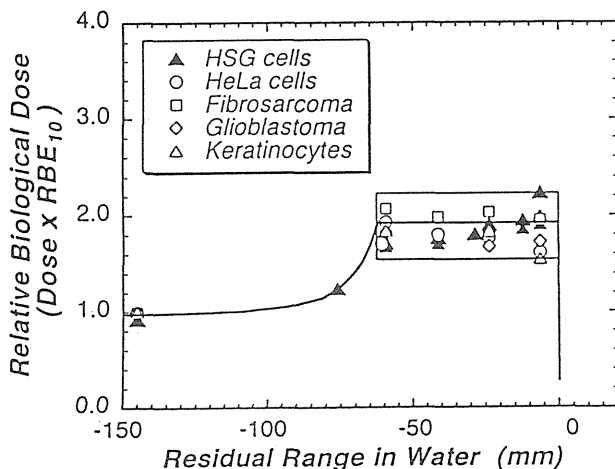


図2. SOBPビーム内の生物学的均一性

本年度の実験は、臨床試行開始に伴うHIMACビームの評価と、共同利用実験の開始に伴う、実験環境整備及び共同利用研究員の受け入れ体制の整備に多大の労力を割かざるを得ない状況で合ったことと、HIMACの生物照射室で供給するビームの種類をカーボン290MeV/uに限ったことで、本来、課題の目的とする実験はほとんど行うことができなかった。来年度は粒子種 (Ne, Arを予定) とともに加速エネルギーの異なったビームを用いて実験を行う。

4. 成果発表

- 古澤佳也ほか、HIMAC臨床試行のための培養細胞による¹²C-290MeV/u治療ビームの検証、日本放射線影響学会代37回大会
- 鈴木雅雄ほか、重粒子線がん治療用炭素イオンビームを用いた前臨床試行実験；拡大ブラッグピーク内での生物学的線量分布均一性の検討、日本放射線影響学会代37回大会
- 金井達明ほか、重粒子線治療のための照射装置と物理測定、日本放射線影響学会代37回大会
- 古澤佳也ほか、重粒子炭素線治療用ビームの生物効果—培養細胞—、日本放射線腫瘍学会第7回大会
- Y.FURUSAWA et al., Biological Effectiveness of Heavy-Ion Beams on Cultured Mammalian Cells., RIKEN Accl. Prog. Rep. 1994. (in press).
- Y.FURUSAWA et al., RBE vs LET of Cultured Mammalian Cells for Heavy Ion Beams. Proceedings of the PTCOG XXI (in press).
- その他

酸素効果に及ぼす重粒子線のLETの影響

(6B-302)

古澤佳也^a、谷下一夫^b、佐野浩史^b、笹井啓資^c、宮原信幸^a、伊藤敦^d

1. 研究の目的及び年次計画

重粒子線による癌治療では照射野内での物理的線量分布のみならず、線質とその分布が重要な意味を持つ。重粒子線の生物効果を評価する指標として線質によって大きく影響を受けるパラメーターには、生物効果比 (RBE) とともに酸素効果 (OER) が重要である。OERは標的内の酸素濃度の分布とLETの分布の両者に依存して変化し、さらにLETに従ってRBEも変化しているため、腫瘍内部での生物効果の評価は複雑な分布となる。この酸素効果はLETのみならず、照射する粒子の種類によっても異なる可能性がある。治療効果を評価するためには、個々の粒子について、RBEとOERの分布から生物学的効果を決定することが重要である。この課題ではこういった粒子線のLETと酸素濃度によって変化する生物効果に関する研究を行う。

培養細胞を用いた実験系では、照射する粒子の種類を変えてLETに対応するOERの変化を調べる。実験動物を用いた系では、腫瘍を移植し、腫瘍内の酸素濃度を測定した個体で、重粒子線照射後の腫瘍の再増殖を調べる。また腫瘍内の酸素濃度分布を測定するために、微小領域の酸素濃度を測定できる電極の開発を行う。

粒子線のLETや腫瘍内酸素濃度分布の違いによる腫瘍増殖抑制効果の違いが明確にされれば、治療効果の予測が可能となり、また治療を行なうための治療ビームの設計が、個々の腫瘍の酸素濃度分布にあわせて行なうことを可能し、より一層の重粒子線によるがん治療の治療成績の改善を計るための資料となることを期待する。

2. 今年度の研究経過及び成果

本年度までの研究で、細胞にたいする酸素効果は、X線ではOER=3であったのに対し、重粒子線の場合には粒子種を無視した全体的な傾向としてはLET=100keV/μm付近でOER=2となり、LET=4-500keV/μmで完全に酸素効果が消え、OER=1となった。また比較的軽い粒子であるHe-3イオンでは比較的低いLET領域からOERの減少が始まり、ついでカーボン、重いヘリウムでは比較的高いLET領域に入らないとOERの減少が見られないなど粒子種によって異なるLET依存性を示す事が明らかになってきた (図1)。

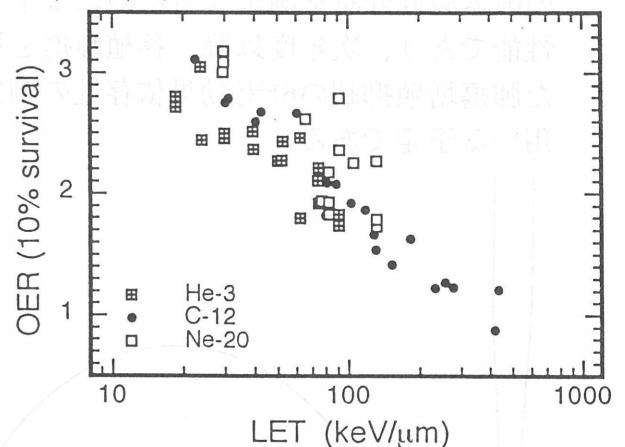


図1. 重粒子線のLETに対するOERの変化

移植腫瘍の酸素濃度分布を測定するには、非常に限られた狭い領域の酸素濃度を正確に計る必要がある。腫瘍内に電極を挿入し、腫瘍表面からの深さを変えながら連続的に酸素濃度を測定する装置が必要となる。この為マイクロマニピレーターを用いて電極を腫瘍内に送り込みながら、自動的に酸素濃度を測定し、コンピューターで電極の位置と酸素濃度を自動的に測定する装置の

^a放医研・重粒子、^b慶応義塾大学・理、^c京都大・医、^d東海大・工

設計を行い、準備が整った。

電極については同軸型微小酸素電極の開発を行い、図2に示す先端構造を持った電極を試作した。生体内酸素濃度分布を計る場合の電極の性能を知るため、ラットの体外に引き出した挙率筋に、実体顕微鏡下にマイクロマニピレーターを用いて電極を挿入し、筋肉側から動脈へ向かって針を進めていった場合に測定された酸素濃度の変化の典型例を示す(図3)。筋肉組織内では16-23 mmHgであった酸素濃度が、血管壁で30 mmHgに、さらに血管内に入ると、40-50 mmHgに上昇している。この実験では動脈の中心から80 μmの位置から5 μmステップで電極を移動させた。血管壁前後で明らかな酸素濃度の変化が見られ、電極の位置分解能は10 μm程度であることが示されている。この分解能は、腫瘍内の酸素濃度分布を測定するためには十分の性能であり、次年度以降、移植腫瘍を用いた腫瘍増殖抑制の酸素効果依存性の測定に用いる予定である。

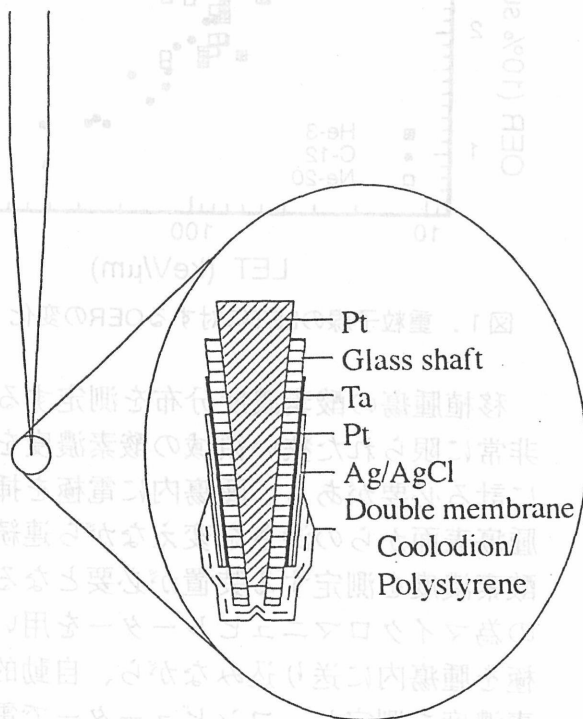


図2. 同軸型微小酸素電極の構造

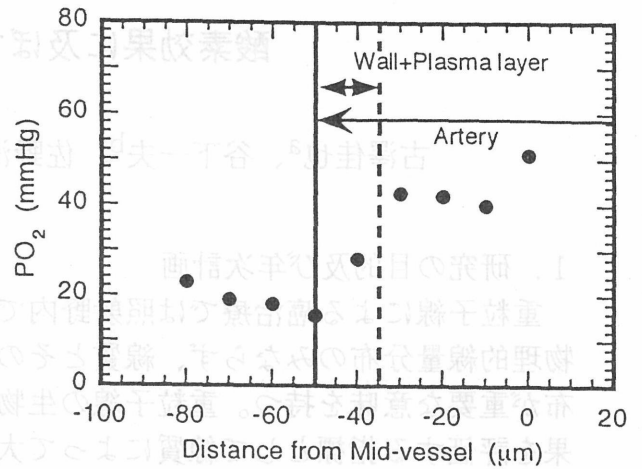


図3. 動脈周辺での酸素濃度分布

3. 参考文献

佐野浩史、生体組織内の酸素輸送に関する研究、慶応義塾大学大学院、修士論文

4. 成果発表

Y.FURUSAWA et al., Biological Effectiveness of Heavy-Ion Beams on Cultured Mammalian Cells., RIKEN Accl. Prog. Rep. 1994. (in press).

Y.FURUSAWA et al., RBE vs LET of Cultured Mammalian Cells for Heavy Ion Beams. Proceedings of the PTCOG XXI (in press).

HIMAC重粒子線のヒト腫瘍細胞の多細胞 スフェロイドに対する作用に関する研究

(6B-303)

窪田宜夫^a、大村素子^a、鈴木雅雄^b、古沢佳也^b

1. 研究の目的および年次計画

本研究の目的は固形腫瘍の優れたin vitro モデルと考えられるヒト腫瘍細胞の多細胞スフェロイド¹⁾を用いて、治療用の重粒子線の生物作用を調べることである。多細胞スフェロイドの使用により、従来の単層培養では実験の不可能であったヒトの固形腫瘍に近い条件、即ち、3次元細胞構築、低酸素、低栄養、低pH等の腫瘍内微小環境での重粒子線に対する細胞、分子レベルの反応を解析することが可能である。本年度は従来から行なってきた理研での実験結果²⁾を基礎にして、スフェロイドを構築している細胞の細胞生残率、照射後の亜致死障害、潜在的致死障害の回復能、重粒子線の拡大ブラッグピーク内と導入部での生物効果等を検討し、low LET放射線では制御の難しい難治癌の重粒子線の治療法の確立に寄与するデータを得ることを目的とした。

2. 今年度の研究経過及び成果

今年度はlow LET放射線治療に対して抵抗性を示すヒトの腺癌由来のHT-29細胞(大腸癌)の多細胞スフェロイド³⁾を構築し、まず対照実験として¹³⁷Csガンマー線でスフェロイドの反応を調べた。HT-29細胞は単層培養では中等度の放射線感受性を示したが、多細胞スフェロイドでは照射後に潜在的致死障害(PLD)の回復が観察された。これら

の知見より、腺癌の放射線抵抗性には照射後のPLDの回復が大きく関与していることが強く示唆された。

重粒子線の実験は290 MeV/uの炭素線の拡大ブラッグピークの3点と導入部で単層培養と直径が約350 μmのスフェロイドで照射直後の生残率曲線を求めた。照射直後の細胞生残率は単層培養とスフェロイドではほとんど差異が認められなかった。しかしスフェロイドでは照射後の環境がその反応を大きく左右すると考えられるので、今後、照射後のPLDの回復などについて検討する予定である。

3. 参考文献

1) Kubota, N., Kakehi, M., and Inada, T., Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 25, 491-497, 1993.

2) Kubota, N., et al., Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. (in press)

3) 朱新康、窪田宜夫、笈正兄、松原升、日本ハイパーサーミア誌、10, 348-353, 1994.

^a 横浜市立大学、放

^b 放医研、重粒子

重粒子線によるヒト皮膚細胞応答の研究

(6B-304)

前澤 博^a、秋庭健志^a、古澤佳也^b

1. 研究目的および年次計画

がんの重粒子線治療はこれまでの放射線治療に比べ正常組織障害の軽減が期待されている。組織障害の程度は粒子線による組織内細胞の直接的致死とともに残存および新規増殖細胞の遺伝的あるいは一過性の各種機能、性質の変化に依存すると考えられる。本研究は皮膚細胞の重粒子線に対する応答に着目し、ヒト表皮細胞（ケラチノサイト）と線維芽細胞の致死感受性、突然変異・形質転換出現頻度および重粒子線照射前後での表皮および線維芽細胞における細胞外マトリックスおよび増殖因子等の産生を調べる。上記の事柄について各種重粒子線および単回・多分割照射法について比較する。本研究の目的は各種重粒子線による皮膚細胞の応答を知り、重粒子線治療方法を考慮する時に必要な基礎データを得ることである。

今年度は、炭素線の分割照射効果について知るため、単回・多分割照射後の細胞致死率を調べ、各種のLETの間で比較する。また可能ならば線維芽細胞内でのコラーゲン産生についても検討する。

2. 今年度の研究経過および成果

今年度はまず最初に、ケラチノサイトおよび線維芽細胞の生残率を指標にして5分割照射の致死効果について調べる。炭素線(290MeV/u)スプレッドブラッグアウトビーム(SOBP)のentrance(13keV/um)、proximal(40keV/um)およびdistal(100keV/um)部で細胞を照射した(線維芽細胞はdistal部のみ)(1994年12月実験)。細胞はT25フラスコ内でコンフルエントにまで培養され24時間間隔で分割照射された。

ケラチノサイトをentranceおよびproximalで単回照射した場合には、生残率曲線に肩があるがdistalでは肩は消失した(図1)。Preliminaryであるが、Co-60 γ 線を対照にしてRBEを求める。10%生残率を基にするとentrance、proximalおよびdistalでのRBEはそれぞれ1.7、1.9および2.9であった。また、Co-60 γ 線2Gy照射時と同じ生残率を与える線量を基にすると、entrance、proximalおよびdistalでRBEは1.8、2.1、3.6となった。

entranceおよびproximalでは2分割および5分割照射された細胞の生残率(図2、3)は分割回数の増加と共に増加したが、distal(図4)では生残率に変化があるかどうか明瞭でない。distalで照射された線維芽細胞の場合、単回照射、2分割および5分割照射の3種の細胞生残率曲線の間には差はみられなかった。

分割照射の期間中に細胞の損傷修復能に変化が有るかどうかを知るため、分割回数と生残率との関係を見た。Co-60 γ 線を1回、2Gy照射したときの細胞生存率(ケラチノサイトでは0.55)と同程度の生残率を与える炭素線一回線量(Dc2)を求め(Dc2を知るためのデータが不足していたためおよびその線量を推定した。)、Dc2を24時間毎に分割照射した。図5に示すように、細胞生残率は分割回数の増加につれ指数関数的に減少した。照射した炭素線LETによらず、この照射期間中には細胞の修復能に変化は起きていない(修復能の亢進あるいは抑制がない)ように見える。

まとめると、炭素線SOBPのentrance(13keV/um)とproximal(40keV/um)での照射では肩のある細胞生残率曲線がみられ、

また24時間の分割間隔中に生残率の回復がみられた。distal (100keV/um) では肩は消失し、分割照射による生残率の増加はなかったが、一方5回の分割照射期間中に細胞の修復能が低下する現象もみられなかった。これらの結果を確認し、また細胞外マトリックス等の産生について調べるために、更に実験が必要である。

a 東海大・医、 b 放医研重粒子

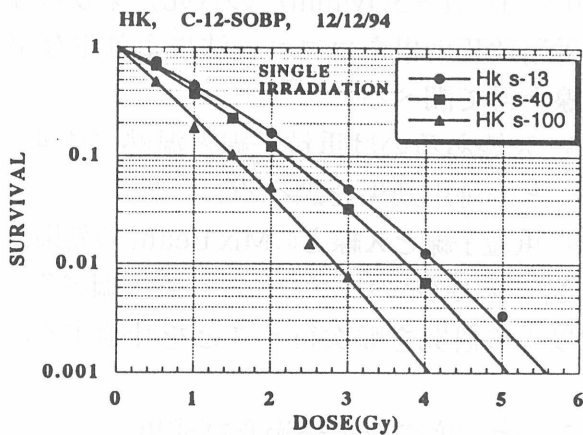


図1 炭素線 SOB Pで単回照射されたケラチノサイトの生残率曲線。

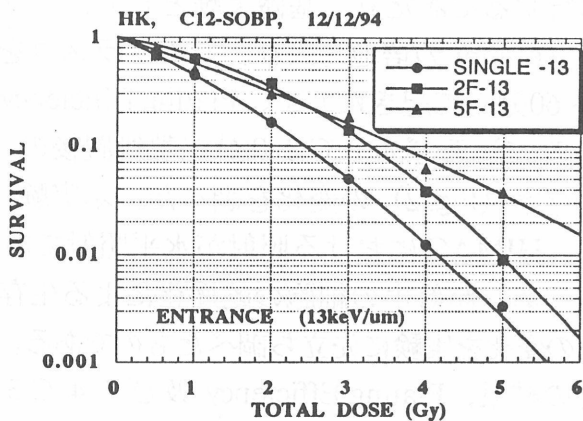


図2 多分割照射されたケラチノサイトの細胞生残率曲線。炭素線 SOB Pentranceで照射。

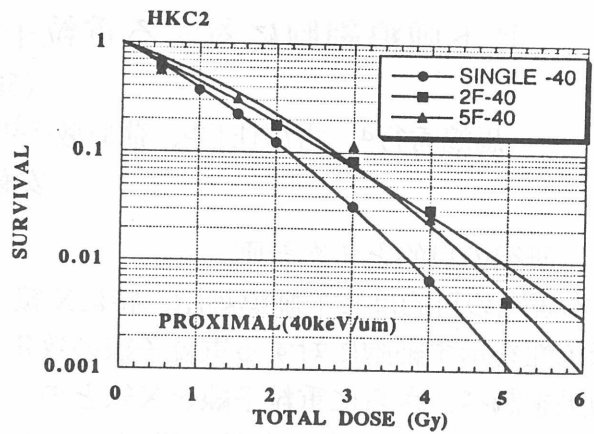


図3 多分割照射されたケラチノサイトの細胞生残率曲線。炭素線 SOB P proximalで照射。

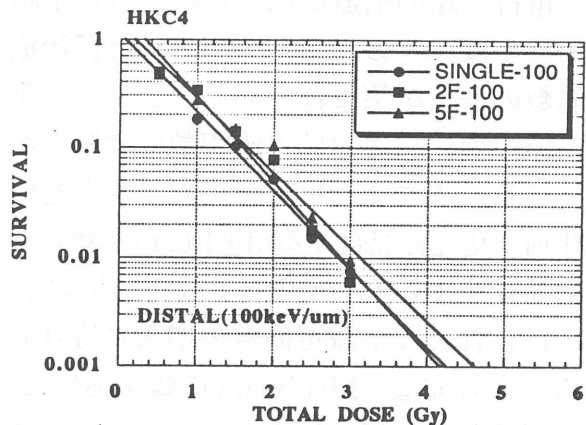


図4 多分割照射されたケラチノサイトの細胞生残率曲線。炭素線 SOB Pdistalで照射。

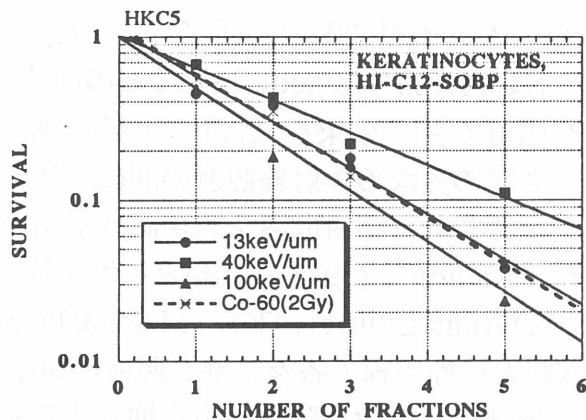


図5 分割照射回数と生残率との関係。

ヒト腫瘍細胞に対する重粒子線及びX線の Mix Beam の効果

(6B-305)

馬嶋秀行^a、古澤佳也^b、蒲原敦子^b、山口洋子^c、志村まり^c、若松佳子^c、
安藤興一^d

1. 研究の目的と年次計画

本研究の目的はヒト腫瘍細胞、特にX線抵抗性を示す細胞に対する重粒子線の致死効果を調べ、さらに重粒子線とX線との Mix Beam の効果、特に細胞の致死のリペアーについて調べることである。実験には、臨床を想定し、HIMACにおける癌治療の適応症となりうるヒト由来腫瘍細胞、特に神経膠芽腫、頭頸部扁平上皮癌等放射線抵抗性腫瘍細胞を用いる。難治癌の治療に対し、重粒子線の治療が期待され、重粒子線の治療では、その適応症の明確化及び治療可能数の増大が望まれている。しかし、重粒子線治療施設における治療数には限度がありうる。そこで、X線と重粒子線とを治療計画上交互に混合する Mix Beam 治療は、その効果がX線抵抗性腫瘍で致死効果の増大が得られれば治療可能数の増大に寄与しうる。本研究は、Mix Beam の臨床応用にさきがけ、X線抵抗性を示す細胞を用いその効果を調べるものである。

Mix Beam の効果に関する研究成果は少ない。1960年にBarendsenらは線とX線との同時混合照射法で相加効果を報告しているが、Masuda(1970)は中性子線とX線、Ngo Ngo(1981)らはNeon線とX線の同時混合照射で相乗効果を報告している。また、2種の異なる放射線照射の間に3時間または4時間の照射間隔をおき調べた結果では、Railtonら(1975)が γ 線と中性子線で、DurandとOlive(1976)、Majima(1983)はX線と中性子線で各々、混合照射の順序に関係せず、亜致死障害回復を抑制する結果を報告しているのみである。

本研究は4種の神経膠芽腫細胞及び6種

の頭頸部癌（扁平上皮癌株）細胞を用い、

1. X線に対する感受性をコロニー法により生存率曲線を得て調べ、その中で抵抗性癌を選別する。

2. 次いで重粒子線（C, N, Ne等25, 50, 75, 100, 125, 150keV/mm, 1~5Gy/min）及び中性子（1~5Gy/min）の致死効果及び温熱併用致死効果をコロニー法により生存率曲線を得て調べる。

3. X線あるいは重粒子線と温熱（44℃）との併用効果を調べる。

4. 重粒子線とX線との Mix Beam の効果、特に細胞の致死のリペアーについて調べる。

以上の研究を順次行うことを計画する。

2. 今年度の研究経過及び成果

重粒子線の実験に先立ち、まず、X線に対して抵抗性を示す細胞を選別した。即ち、ヒト由来細胞の一つである神経膠芽腫細胞A-7細胞である。重粒子線を用いた実験を施行するにあたり、基礎実験として、フラスコに4 ml の培地を入れ、そのフラスコを0~60分立て起きにして、Plating Efficiency (Fig. 1) 及び44℃30分温熱処置後の生存率 (Fig. 2) の変化を調べた。本実験は、HIMACにおける照射が水平照射であるため、照射中の細胞の乾燥化による生存率の変化を実験に先立ち調べたものである。その結果、Plating Efficiency 及び44℃30分温熱処置後とも、0~60分フラスコを立て起きにしても生存率に著しい変化を及ぼさないことが判明した。次に、HIMAC Cビームによる照射実験を行った。今回の実験では、ユーザーの数が非常に多く、前日に行ったマシンタイムの時間協議の会で

一番最後の時間帯となり、各割当のマシ
ンタイムの遅れに伴い5時間のマシン
タイムが1時間たらずのマシタイムとなっ
てしまい、44°C 30分温熱併用生存率
曲線を1回得た (Fig. 4) (この1時間
たらずのマシタイムについてはご配慮を
頂き若干の時間の延長をしていただいた)
。X線における生存率曲線 (Fig. 3) と
比較し、Cビームに対するDo値の比較
でRBEを求め

ると1.58、温熱併用時では1.68が得
られた。現在さらに実験を行っている
(2回目はマシタイム5時間のところ
4時間使用)。

- a 福井医大放基
- b 放医研重粒子
- c 日大歯総歯研
- d 放医研障害・臨床

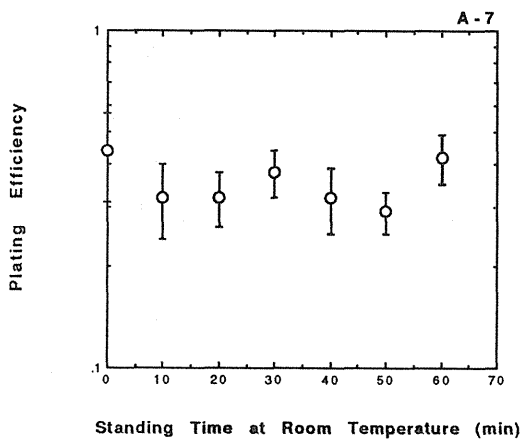


Fig. 1

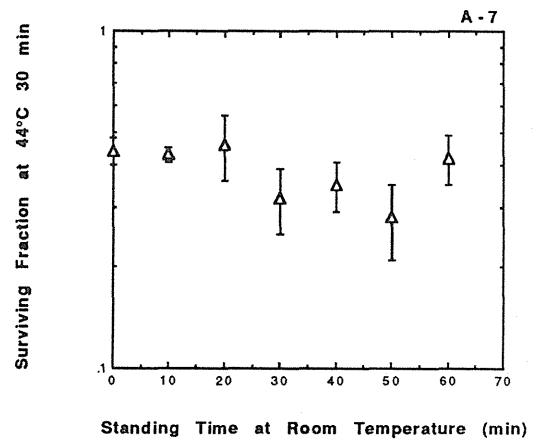


Fig. 2

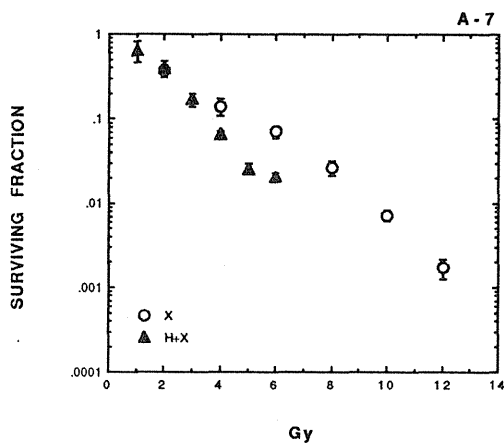


Fig. 3

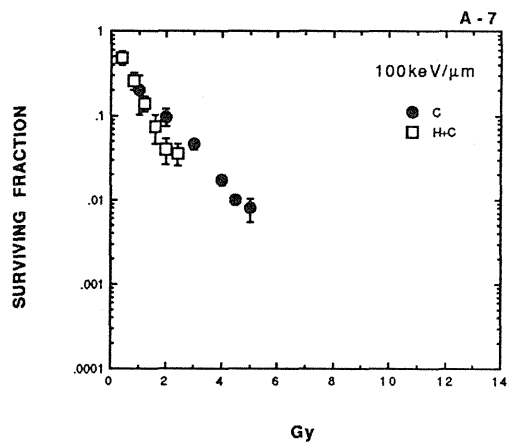


Fig. 4

染色体異常誘発を指標とした重粒子線の 生物学的作用についての研究 (6B-306)

横浜市大医学部放射線科

松原 升、 朱 新康、 大村素子、 窪田宣夫

放医研

鈴木雅雄、 古沢佳也、 金井達明、 安藤興一

1 研究目的および年次計画：

今回は生物学的線量計としての価値が確立しているヒトの末梢リンパ球の染色体異常を指標にして重粒子線の生物学的效果について研究する。まず、染色体異常生成の線量効果曲線を求め、ガンマ線によるものとの比較から、いくつかの重粒子線の生物学的效果比について調べる。なお、血液は小さなプラスチック製の試験管に密封してファントム中の種々の深さでの照射が可能であるので、spread out したビームのいろいろな位置において照射することにより重粒子線の生物学的作用について調べる。また、照射野中およびその周辺の種々なる部位、特に、照射野辺縁における線量分布と生物学的效果比の変化などについても分析、検討する。分析する染色体異常は不安定型異常と安定型異常に分け、前者については通常の染色体分析方法を採用して調べることとし、後者に対しては FISH (Fluorescence in situ hybridization) 法を使用して安定型異常についてもより効果的に、また、詳細に研究する。なお、この後者については平成8年度あたりから実施する予定である。

2 今年度の研究経過および成果：

今年度は炭素ビーム、29 MeV のSOBPを10 cm x 10 cm の照射野で曝射した場合の深さ方向における線量分布を通常の染色体分析法でまず調べた。方法はヘパリンを加えた全血を小さなプラスチックの試験管に入れて照射した後、45時間の全血培養を行い FPG (Fluorescence plus Giemsa)の方法により標本を作製した。

得られた2動原体染色体異常と環状染色体の頻度を⁶⁰Co-ガンマ線による頻度と比較、検討した。照射した線量は原則として0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0Gyとした。炭素ビームの2動原体染色体異常と環状染色体誘発における生物学的效果比は、まだ十分な数の細胞を分析していないが、1細胞あたり上記の異常を平均1個をもたらす線量レベルにおいては約1.5、同様に10個の細胞当たり1個の異常を生じる点における生物学的效果比は約5なる値が得られた。また、SOBP内における線量分布はほぼ平坦な分布をすることが示された。次回は、照射野内およびその辺縁近傍における生物学的にみた線量分布と生物学的效果比について調べる。

3 研究成果の発表はまだ行っていない。

重粒子線を照射された細胞の増殖障害動態とチェックポイント制御機構 (6B-307) (1) アポトーシスの誘発

佐々木 弘、朱 衛 国 (九大医学部放射線基礎)

古沢 佳也、金井 達明 (放医研重粒子物理工学)

(研究の目的及び年次計画)

放射線による細胞の死は増殖死と間期死に区別されている。X線で間期死を起こすには10 Gy以上が必要だが、LETが大きい重粒子線では局所的に重度の損傷が生じるので間期死が起きやすい可能性がある。以前に行ったアルファ線を照射されたHeLa細胞の微速度写真観察結果はその可能性を支持している¹⁾。間期死は細胞が長時間G2期に停止し巨大化した後に起きるが、最近、偶然のきっかけからこの巨大細胞にカフェイン等(その他レプトマイシンB、スタウロスポーリン)を投与すると細胞死が早期に起き、それはアポトーシスでありCDC2 H1 キナーゼが関与していることが温度感受性変異細胞(tsFT210)を用いた実験から明らかになった²⁾。

本研究では培養哺乳動物細胞を材料として間期死誘発のLET依存性を明らかにする。間期死前の細胞にはカフェイン等によりアポトーシスが誘発されるので、それをもとに間期死を行う細胞の割合を推定することができる。アポトーシスに伴う細胞の形態変化(核の凝縮と断片化)を指標としてすでにX線について線量効果関係を明らかにしている。また、理化学研究所のリングサイクロトロンでNeやCイオン(LET: 約100 KeV/ μ m)について予備実験を行ってきた。本年度は12月よりHIMACのCイオンを用いて研究を開始した。まず、形態変化を指標としてLETが約80 KeV/ μ mのCイオンについて線量効果関係を明らかにするとともに、その他の指標(DNA断片化など)について検討を行う。次年度(平成7年)は種々のLETについて線量依存性を調べる予定である。

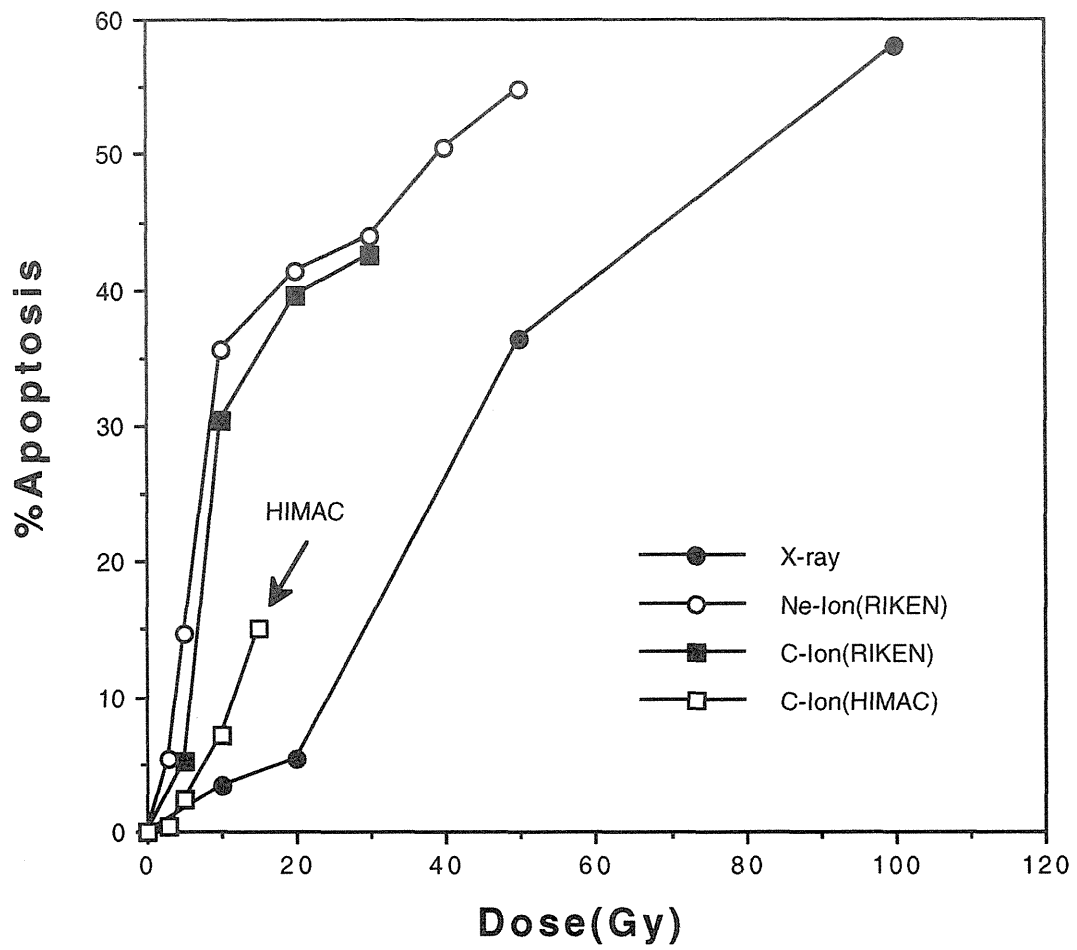
(今年度の研究経過及び成果)

12月20日に第1回目の照射実験を行った。プラスチックフラスコに単層培養したCHO (Chinese hamster ovary)細胞に単一エネルギーBraggピークのCイオン(LET: 79 KeV/ μ m, 線量率: 6 Gy/min)を1回照射(線量: 3-15 Gy)後24時間培養しカフェイン処理(5 mM, 1-3時間)を行った。アポトーシス細胞の割合は細胞の形態変化(ギムザ染色)を指標にして求めた。図にその結果を示す。なお、理研で得られたデータも一緒に示す。明らかに、アポトーシスの発生頻度は理研で得られた値より低い。また、冷凍して持ち帰った細胞の周期分布をフローサイトメトリ(FCM)で測定したが、G2期に停止している細胞も少なかった。その原因がLETの違いによるのかどうかを次回(2月6日予定)に確かめたい。一方、X線による予備実験からCHO細胞をエタノール、トリトンXで処理すると断片化したDNAが細胞から流出しDNA含量が少ない細胞が増加するので、FCM測定によりアポトーシス細胞の割合を求めることができそうであり、今後さらに検討したい。

(参考文献)

- 1) H. Sasaki, Cell killing and division delay in asynchronous and synchronized HeLa cells irradiated with alpha particles or X rays. *Radiat. Res.*, **99**:311-323(1984).
- 2) H. Sasaki et al., Cdc2 H1 kinase required for apoptosis of heavily irradiated cultured mammalian cells destined to undergo interphase cell death (Submitted).

Dose-dependence of Caffeine-induced Apoptosis
in CHO Cells Exposed to X Rays or Heavy Ions



がん治療の臨床試行に関連する研究

(6B-308)

伊東久夫^a、茂松直之^a、戸矢和仁^a、山下昌次^b、古澤佳也^c

1. 研究の目的及び年次計画

従来、培養細胞を用いた重粒子線照射効果の研究は、V79等の動物由来細胞を用いて行われたものが多い。これは、動物細胞の方が実験が容易なことによる。しかし、ヒト由来細胞は通常のX線照射でも、生存曲線のDo値やshoulderが、動物細胞に比べて小さいことが知られている。したがって、重粒子線照射時も、ヒト由来細胞と動物由来細胞は反応が異なることが予測される。本検討では、各種悪性腫瘍より樹立された15種類のヒト由来培養細胞を用いて、重粒子線照射に対する反応を、RBE、SLD repair、DNA損傷の点からX線に対する反応と比較検討し、重粒子線治療における治療効果の推定に役立つ情報を得ること、およびX線照射による治療の問題点を、重粒子線治療から再考することを目的とした。

平成6年度は単層培養細胞を用いてX線と重粒子線照射に対する効果の差異を検討する。

1) 子宮頸癌および卵巣癌由来の腺癌細胞8種、子宮頸癌由来の扁平上皮癌細胞6種に単層培養でX線照射を行い、Colony法により放射線感受性を検討する。

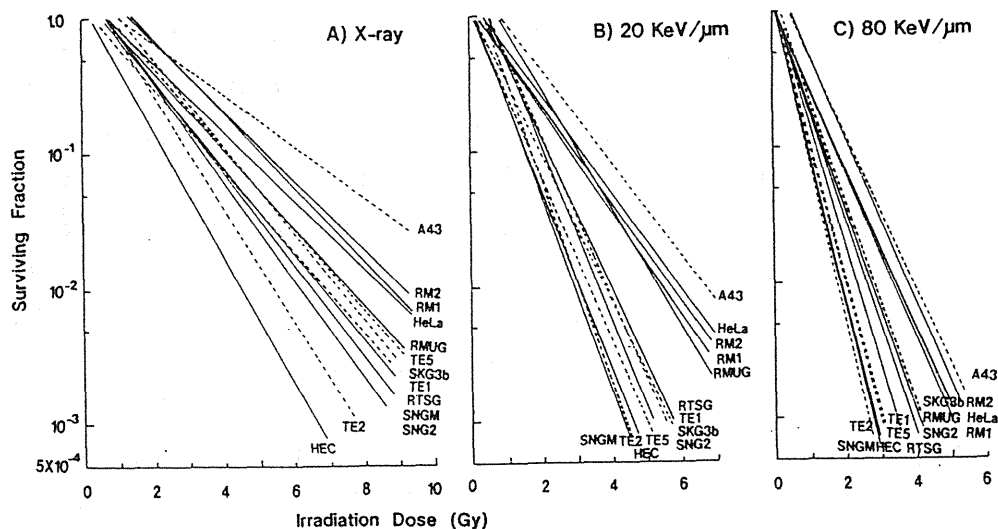
2) 上記の細胞を用いて、X線に対する放射線感受性を検討したのと同様に、Colony法により重粒子線(20-100KeV 炭素線)に対する感受性を検討する。X線に対する生存率曲線と重粒子線で得られ

た生存曲線から、それぞれのlinear energy transfer(LET)におけるrelative biological effect (RBE)を算出する。

3) X線に対する放射線感受性は同様であるが、重粒子線に対して感受性の異なる細胞(RBEが異なる)と、X線に対する感受性は異なるが重粒子線に対して感受性が同一(RBEが異なる)の細胞の組み合わせを選択する。それぞれの選択された組み合わせの細胞を用いて、(a)分割照射時の回復をcolony法で比較検討する、(b)Flow cytometry法を用いてcell cycleを検討する、(c)細胞質と核のグルタチオン量を定量する、(d)アルカリ抽出と中性抽出でDNA損傷を検討する。

2. 今年度の研究経過及び成果

ヒト培養細胞のX線、20、80KeV炭素粒子線に対する生存曲線を作成し下図に示した。X線照射時はDo値が0.95-2.43Gyであったが、20KeVでは0.63-1.30Gy、80KeVの時は0.40-0.78Gyとなった。X線照射時と比べて炭素粒子線照射時は、細胞間の差異が小さくなり、LETが大きくなるとその傾向はより明らかとなった。



^a慶大・医・放 ^b国立埼玉・放 ^c放医研・重粒子

磁場下における重粒子線の作用機構

(6B-309)

鈴木捷三^a、古澤佳也^b、山口寛^b、法村俊之^c、宮越順二^d、高辻俊宏^e
金沢光隆^b、野田耕司^b、蓑原伸一^b、鈴木雅雄^b、宮原信幸^b、丸橋晃^f

^a東大、^b放医研、^c産医大、^d京大、^e長崎大、^f筑波大

1. 研究の目的

磁場下で細胞を放射線で照射すると非磁場下でのそれと比較し、条件により放射線の効果に違いが出る。これは物理、化学、生化学、生物学的な複雑な過程を経ての現象と考えられる。すなわち、ローレンツ力による陰陽両イオンの再結合阻害やイオンの空間的分布の変化によるラジカル生成量の変化、また生体分子の配向などによる立体構造の変化、これらに伴う生化学反応速度、代謝などの変化が誘起される結果であろう。しかし、これらの因子の大小や効果への方向性は必ずしもはっきりしていない。変動磁場下では放射線の効果は⁶⁰Co γ 線の場合はほとんど影響を受けないが、中性子(43 MeV proton \rightarrow Be)では影響を受け、その効果は増強される。また静磁場では、両放射線とも磁場の影響を受けない、という実験結果は物理学的因子である電子の陽イオンとの再結合阻害がこの増強効果に大きく関与していること、重粒子線ではさらに増強されることを示唆している。これらの結果は放射線作用機構の解明に寄与するのみならず、応用利用への寄与も期待される。radiosensitizer (酸素、ミソニダゾール、ara A など) の効果はほとんどすべての場合、高LET放射線のDRF(Dose Modifying Factor)は低LET放射線のそれに比べて小さく、従って、その併用効果も小さいが、変動磁場はこれらと逆で、重粒子線のradiosensitizerとして利用できる可能性がある。その他宇宙空間においても重粒子線を含めた放射線と磁場の混合した空間があり、今後の宇宙開発の基礎的研

究としても本研究は重要である。

2. 今年度の研究経過および成果

本来ならば今年度はHIMACの重粒子線を用いて実験を行う予定であったが、本研究に欠くことの出来ない電磁石装置が経済的理由により調達出来なかったため、実験を行うことが出来なかった。しかしながら、研究グループ作り、照射装置や電磁石製作の検討、文献検索、前述した中性子実験データの考察等を行って、次年度以降の研究に備えることにした。本報告ではこれらのうち中性子実験データを考察した結果について述べる。

チャイニーズハムスターV79細胞を恒温水槽中でサイクロトロン中性子(43 MeV proton \rightarrow Be)と⁶⁰Co γ 線で変動磁場下または静磁場下で照射し、コロニー生成能を指標に細胞生残率を求めた。これらの結果のうち、サイクロトロン中性子で照射した結果を図に示した。統計的に若干問題はあるが、いずれの変動磁場の場合も静磁場より生残率が低かった。しかし、⁶⁰Co γ 線の場合、変動磁場、静磁場で照射しても、生残率に差はなかった(図略)。なぜ中性子でのみ静磁場と変動磁場で殺細胞効果に差が生ずるかを考察してみることにする。

「目的」でも述べたようにこの両磁場による中性子照射効果の差を考える場合、
①損傷を与える側のイオン量、イオン分布、それに伴うラジカル生成量などの放射線物理学的、化学的变化の差

②損傷を受ける側の両磁場による細胞および細胞構成物質(DNA、タンパク質、膜

など)の変化の差、すなわち、細胞等の構造変化による放射線感受性の差の二つに便宜上分けて考察する。

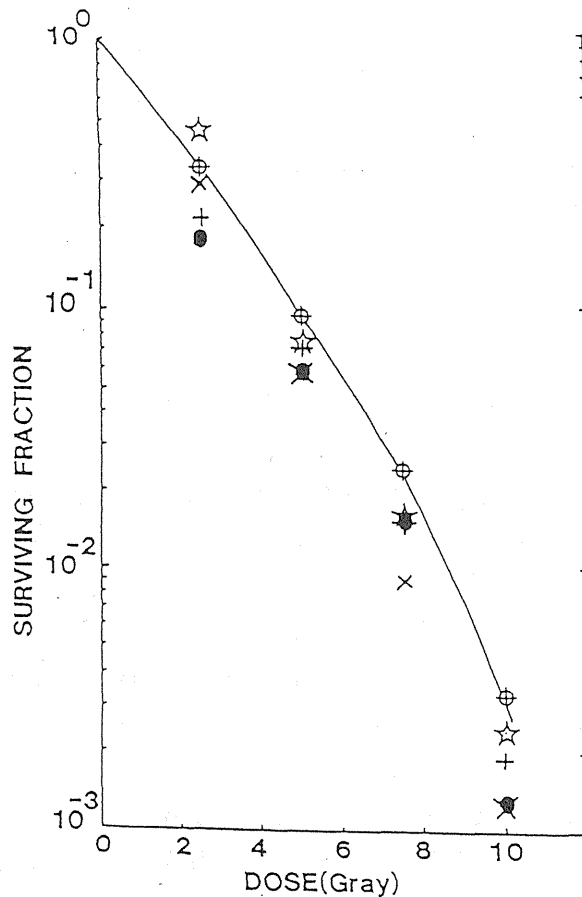
トラックのイオン分布が変動、静磁場で異なるのではないかという考えがあり、もちろん、このこと自体は正しいが、問題は損傷に差をを与える程の大きなイオン分布の差を与えるかということである。例えば、kick out された 200-300 eV 電子のrangeは高々 $1\mu\text{m}$ であり、これではイオン分布に多くの差をもたらすとは考えにくい。運動電子はローレンツ力により磁場に対し平行の場合は影響を受けず、垂直の場合はラセン運動を行うが、いずれにしても range が小さすぎる。

変動磁場と静磁場の違いは、変動磁場の場合、周期的に磁束密度が変化すること以外に誘導起電流を生ずる(ファラデーの法則)ことである。この起電力がトラック近傍のイオンの再結合を減少させることにより、charged species を長寿命化し、フリーラジカルの生成量を増加させ、細胞の損傷を変動磁場下では大きくする。この推論はさらに定量的な解析が必要であるが、他に説得力のある推論もないことから、かなり信頼性が高いと考えている。

^{252}Cf 照射では変動磁場と静磁場で生残率に差はなかった。これは ^{252}Cf は γ 線を多く含む中性子 ($E_n < 2\text{ MeV}$) 発生源で、高LET成分が少なく、サイクロトロン中性子 ($E_n \doteq 20\text{ MeV}$) は反跳核 C、N、O などの高LET成分が ^{252}Cf に比べて多いためと思われる。このほかに ^{252}Cf の線量率が極めて低いという違いはあるが、変動磁場で効果に差が出るためには高LET成分が多くあることが必要のようである。従って、重粒子線ではサイクロトロン中性子よりもさらに大きな差が出る事が予想され、HIMAC での本研究を始めるきっかけになっている。

今まで損傷を与える側の要素について考察してきたが、次に損傷を受ける側につい

て考察する。曝露時間は長いが比較的弱い磁場でも細胞の増殖や促進が数多く報告されている。前述した実験ではいずれも磁場のみでは細胞のコロニー形成能に影響の無いこと、無磁場と静磁場で中性子による生残率曲線に差が無いことを確かめている。しかし、このことは変動磁場下では細胞になんら影響がないこと必ずしも意味しない。すなわち、変動磁場で細胞にコロニー形成能には影響のない変化が生じ、密度の濃いラジカルなどの攻撃を受け易くなり、放射線感受性になったという可能性を否定することが出来ないからである。このかなり抽象的な変化を特定の物質の変化として捉えることは困難である。しかし、二つに分けた①と②がどちらが大きく寄与しているかを判断するだけなら、細胞の方向性はランダムであることを考慮して、磁場の向きを放射線の入射方向に対して平行、垂直にする実験で解決する可能性はある。



サイクロ中性子によるV79細胞生残率
静磁場 (⊕)、変動磁場 (その他の記号)

重粒子線によるDNA損傷と修復のLET依存性

(6B-310)

渡辺 宏^a、小林泰彦^a、菊地正博^a、古澤佳也^b

1. 研究の目的及び年次計画

DNA 2本鎖切断を高効率で修復できる放射線抵抗性細菌 (*D. radiodurans*) を用いて、粒子線のイオン種、LETなどの線質の違いによって起こるDNA損傷の質的特徴と、その修復反応機構を明らかにすることが本研究の目的であり、平成9年度までに以下の実験を行う計画である。HIMACでは、1つのイオン種で種々のLETを取ることが可能であるので、まず正確なLET依存性を調べるために、イオン種はCイオンに限定して細胞懸濁液を照射し、その時の放射線感受性のRBEとLETとの関係を明らかにすると同時に、DNA 2本鎖切断の生成効率とその修復速度のLET依存性を測定する。更に損傷部位の化学分析を行うことによってDNA損傷の化学的特徴を調べると共に、修復反応の特徴を明らかにする計画である。今年度の目標はまず具体的な照射条件を検討することと、可能であればLETの異なるCイオンを用いて、LETと放射線感受性のRBEとの関係を調べることである。

2. 今年度の研究経過及び成果

今年度は実験の開始に当たって、具体的な照射条件の検討を進め、以下の問題点が明らかになった。供試細菌を原研TIARAのサイクロトロンを用いて、乾燥状態で照射した場合の生存曲線は¹⁾ 5~10kGyの肩を持ち、指数関数的に生存率が減少する領域は15~30kGyにわたることが分かっている。細胞を懸濁液状態で照射する場合には、乾燥状態よりも感受性が増大するが、それでも肩の大きさは余り減少しないこと

が予備実験から分かっているので、少なくとも最大20kGyの照射が生存曲線を求めるために必要になる。HIMACでは現在50Gy/minの線量率が得られているが、この条件では約7時間の照射が必要であり、これは実施が不可能に近い条件であることが分かった。そこでもし500Gy/minの線量率が達成できることを想定して、実験計画を検討した。この場合には、20kGy照射するのに40分かかるが、生存曲線を作成するためには幾つかの線量区が必要であるので、最低3時間かかると考えられる。この条件での照射の可能性については今後検討したい。またこの場合には、放射化試料のクーリングに約1日かかると考えられるので、試料の取扱いについても検討する予定である。

一方、照射後の酵素の誘導時間と修復速度の測定については、3~4kGyの照射で測定できるので、その実験の可能性を検討した。現在の線量率では4kGy照射するには80分かかるので室温での照射は適さないが、試料を冷却することが出来れば実験が可能である。そこで今後は冷却が可能な試料ホルダーの作製を検討する予定である。

3. 参考文献

- 1) Y. Kobayashi, T. Shimizu, A. Tanaka, M. Kikuchi, G. Taucher-Scholz and H. Watanabe; JAERI TIARA Annual Report, 3, 35-37(1993)

a 原研高崎研、b 放医研重粒子

重粒子線分割照射における培養細胞の致死効果および突然変異誘発効果に関する研究

(6B-311)

鈴木雅雄^a、加瀬陽子^a、金井達明^a、古澤佳也^a、蒲原敦子^a、安藤興一^b

1. 研究の目的及び年次計画

重粒子線の物理学的・生物学的特性からして、従来行われてきた分割スケジュールをそのまま適用することは重粒子線による治療の利点・特質を殺してしまいかねない。重粒子線による治療を効果的に行うためには、重粒子線の生物効果を把握した上で重粒子線独自の分割照射法を確立する必要がある。本研究課題は、重粒子線治療における分割照射スケジュールの最適化を計るために必要な生物学的基礎データを集積することを目的として計画した。

本研究においては、がん細胞に対する致死効果と正常細胞に対する晩発影響の2つの観点から、がん細胞を効果的に殺しつつ同時に正常組織に対する影響を出来る限り軽減するような分割条件（1回線量・分割回数・分割時間等）を見出すことを、細胞レベルで実現しようとするものである。

今年度においては、4種類の臓器・組織由来のがん細胞と、正常組織の影響としてまず考えるべきである皮膚由来の正常細胞を用いて、炭素イオンビーム分割照射による細胞死の効果を調べた。

2. 今年度研究経過及び成果

分割照射による細胞死を調べるために、脳腫瘍由来細胞2種類、肺がん由来細胞1種類、メラノーマ1種類および正常皮膚由来細胞1種類を用いた（表1に用いた細胞系の一覧表を示す）。

細胞死は、コロニー形成法によって細胞の分裂死として検出した。

重粒子線は、炭素イオン単一エネルギービームを用いて、低LET(13.3keV/ μ m)および高LET(78~80keV/ μ m)の2種類のビームで照射を行った。コントロールとして、X線(200kV)を用いた照射実験を行った。

分割照射については、各細胞系で各々のビームに対して、細胞生存率が30~40%となるような線量を1回の線量として設定し、24時間間隔で5日間照射（5回照射）を行うスケジュールで実施した。（一部の実験では、マシンタイムの都合上5回分割照射の実行が出来ず、3~4回分割となったものがある）。

表1 実験に用いた正常細胞およびがん細胞

Cell	General characteristics
NB1RGB ^a	normal human skin fibroblast
C32TG ^b	amelanotic melanoma, 6TG-r
A549 ^b	lung cancer, adenocarcinoma
T98G ^b	glioblastoma
KNS60 ^c	glioma

a; 理研細胞開発銀行より分譲を受けた
b; JCRB Cell Bank より分譲を受けた
c; (財)発酵研究所より分譲を受けた

図1及び図2に、分割照射による細胞死の線量効果関係の代表例として、正常細胞(NB1RGB)及びがん細胞(C32TG)の結果を示す。また、表2には、10%生存率レベルでの1回照射に対する分割照射における生存率の上昇率を示す。

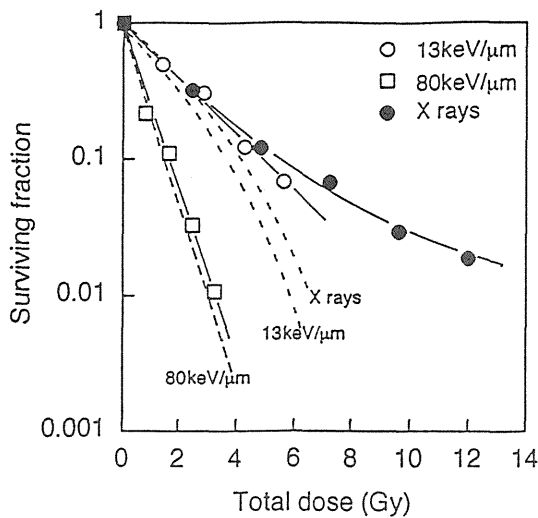


図1. 分割照射によるNB1RGBの細胞死の効果

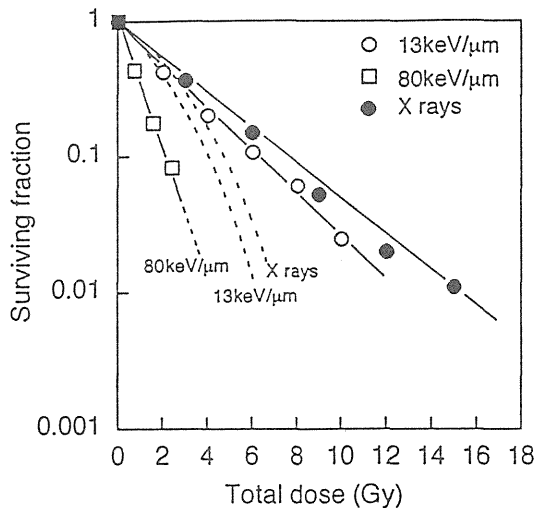


図2. 分割照射によるC32TGの細胞死の効果

表2. 分割照射による生存率の上昇

Cell	X rays	13keV/μm	80keV/μm
NB1RGB	1.92	1.46	1.10
C32TG	1.48	1.36	1.00
A549	1.84	1.58	1.00
T98G	1.67	1.55	1.14
KNS60	1.60	1.43	1.10

以上の結果より、

(i)高LET(78~80keV/μm)ビームでは1回照射と分割照射とで細胞死の効果にほとんど差がない。

(ii)X線・低LET(13.3keV/μm)ビームでは、1回照射に対して分割照射で生存率の上昇が見られる。

(iii)正常細胞(NB1RGB)のX線分割では、分割回数が多くなるに従って生存率の上昇が見られるが、炭素イオンビームではそのような現象は見られない。また、他のがん細胞についてはX線・炭素イオンビームいずれも分割による感受性の変化は見られない。

ということがわかる。

今年度は、単一エネルギービームによる細胞死について実験を行ったが、来年度以降は生物学的エンドポイントとして、正常細胞の突然変異誘発を加え、さらに重粒子線としてもブラッグピークを拡大したビームを用いて、分割照射の最適なスケジュールを検討する予定である。

a 放医研 医用重粒子

b 放医研 障害・臨床

ヒト白血球における重粒子線の染色体異常誘発に関する研究

(6B-312)

大原 弘^a、南久松真子^b、五日市ひろみ^b、古沢佳也^c、金井達明^c

^a岡山大学理学部、^b放医研障害基礎部、^c放医研医用重粒子物理・工学部

1. 研究の目的および年次計画

放射線照射によって誘発される染色体異常は感受性の高い細胞生物学的事象であり、細胞の遺伝的、致死的障害の目安となる。また、その障害の誘発は線量に比例し、線質に依存する。その為、古くから放射線による細胞障害の研究に用いられて来た。通常、放射線による染色体異常の生成は直線-2次式 (Linear-Quadratic Equation) に適合させてその線量効果を表現している。従って、この研究の目的と年次計画の概要は下記の通り。

(初年度) 放医研 H I M A C から得られる予定の 129 MeV/n 炭素イオン線による異常生成に関する線量効果曲線を確立、同一イオン線の L E T 変動にたいする線量効果依存性を求め、重粒子線の細胞障害の特性を考える。

(2年度) 重粒子線の異なるイオン種による異常生成効果を相互比較し、細胞致死効果線量との相関を考える。特に、細胞核あたりの線量と flux の分布を考慮した細胞致死と染色体異常生成の量的ならびに質的な関連を求める。

(3年度) 細胞核当り重イオン線 1トラックの通過を目指した照射法を試行し、染色体上の異常発生部位とその頻度を求め、核内の染色体および染色分体の相互位置関係を定め、放射線誘発の染色体異常生成について部位依存性の可能性を検討する。

2. 今年度の研究経過および成果

今年度の研究では、初回実験が年度末に実行されたため、その結果はここでは得られていない。しかし、H I M A C の炭素線の効果と比較するための理研重粒子加速器によるヒト白血球の染色体異常誘発効果についてはすでに過去2年間の研究成果が得られている。

理研の 135 MeV/n 炭素線の効果

粒子線を厚さの異なる吸収体 (アルミフィルム、プラスチックなど) を通過させると、被照射体に付与される L E T 値は異なる。理研の炭素線に関する実験では、22.4、41.5、69.9 KeV/ μ の L E T 値について染色体異常生成の線量効果曲線が得られている。上記3点の L E T 値が与える線量効果曲線は、それぞれ特徴的な形態を示した。最も低い値では、曲線は上方に凹となり、中間値では逆に曲線は凸となる。L E T 値が 69.9 KeV/ μ に達すると低線量域から染色体異常の頻度は直線的に急増し、4 G Y までに直線的増加はプラトーに達していない。

これらの結果から、曲線の L E T 依存性は、L Q モデルの一次項の係数 (α) が L E T 増加に比例することが明らかになった。この事はすでに異なる L E T の陽子線でも証明されているが、高 L E T 放射線では 1 ヒット事象が優先的に生じることを示す。H I M A C の炭素線では 1トラック当りに多量の異常が生じる可能性のある高 L E T 域 (100 KeV/ μ 以上) のビームで立上がり鋭く、上方に凸の曲線の形態がどう変化するか興味深い。

遺伝子レベルにおける重粒子線による分子損傷発現に関する研究

(6B-402)

谷田貝文夫^a、鈴木雅雄^b、古沢桂也^b、金井達明^b

宮原信幸^b、渡部正己^c、加藤武司^d

a 理研細胞生理、 b 放医研重粒子、 c 長崎大薬学部、 d 大阪大医学部

1. 研究の目的及び年次計画

重粒子線による細胞レベルでの生物効果は、X線やガンマ線に比べて高いことが多くの研究から明らかになってきている。しかしながら、そのような現象の発生メカニズム、分子レベルでの損傷の重粒子線特異性、などの遺伝子レベルでの重粒子線影響の実体については、ほとんどわかっていないのが現状である。

本課題においては、重粒子線の生体への影響を分子レベル（DNA、クロマチン、染色体レベル）で研究し、重粒子線の作用機構の解明を目的とする。

2. 今年度の研究経過及び成果

今までに、渡辺、鈴木らが中心になつてヒト胎児初代培養細胞に対して、理研リングサイクロトロンによって加速した初期エネルギー135 MeV/nの炭素イオンを利用し、照射位置でLETが39,68,124,230 keV/μmになるように調節して照射を行ない、得られたHPRT (-) 突然変異体について解析をすすめてきた。彼らの行なった、主に多重PCR法を利用した解析から、致死や突然変異のRBEピークを与えるLET124 keV/μmではエキソン領域が欠損してい

るHPRT (-) 変異体が多く得られたのに対して、LETの高い230 keV/μmでは、エキソン領域が保持されているという大変興味深い結果が示された。

その後、これらLET230 keV/μmで得られたHPRT(-)変異体をcDNA塩基配列決定等の分子生物学的手法で詳細に検討したところ、多くの変異体はmRNAのスプライシング異常と考えられる可能性が高まってきた。この可能性を追試する為にHIMACの炭素イオンを利用してヒトリンパ芽球に対する同様の効果の解析をはじめたところである。比較検討の為にX線照射では生存曲線が求められ、変異体を集める直前まできている

HIMACでは先月（平成7年1月）末に照射を行ない、現在データの収集をはじめたところである。

重粒子線による体細胞突然変異の細胞周期依存性

(6B-403)

田内 広¹, 笠井清美², 古澤佳也³, 小松賢志¹

1. 研究の目的及び年次計画

重粒子線をはじめとする放射線治療においては、周囲の組織等に対する影響評価は重要な課題である。なかでも突然変異は発癌の1つのステップとなりうることを考慮するとそのリスク評価の重要性は高い。一方、各組織での放射線のリスクを評価する上では、組織を構成する細胞の細胞周期の分布とそれぞれのステージでの感受性の違いに関する情報も必要となる。ところが、高LET放射線による突然変異の細胞周期依存性を調べた報告は非常に少ないのが現状である。本研究では、HPRT欠失(6-チオグアニン耐性)突然変異を指標として、重粒子線による体細胞突然変異の細胞周期及びLET依存性を明らかにすることを目的としている。研究は2年ないし3年にわたって行う計画で、初年度に細胞試料の運搬、照射条件、処理方法等、具体的な実験方法についての詳細な検討を行い、それに基づいて2年次に本格的な実験データの収集を行う。必要な場合には3年次目に追加実験及びデータの解析を行う計画である。

2. 今年度の研究経過及び成果

今年度は照射用サンプルの調製、輸送方法と照射容器の検討を中心に行い、実際に照射を行って見て実験方法の細部について検討を加えた。まず、実験材料であるマウスL5178Y細胞の細胞周期を同調させる必要があるが、これについては多くの装置・器具及び時間を必要とするので広島大学原医研にてサンプルを調製し、各ステージの細胞を液体窒素中にて凍結保存することにした。凍結保存された細

胞は融解してすぐ照射することになるが、少なくともコロニー形成率に関しては凍結融解がそれほど影響しないことを確認した。凍結細胞はそのまま放医研まで輸送し、照射直前に融解して液層の厚さが1mmのアクリル容器にてビームを照射し、生存率及び6-チオグアニン耐性突然変異を調べるという方法で準備を進めた。上述の方法により1994年12月末に実際に照射を行ったが、実験方法については大きな問題はないものと思われた。

第1回目の実験では290MeV/nの¹²Cビームの13keV/ μ m, 50keV/ μ m, 80keV/ μ mの3種類のLETについてそれぞれ1.2, 1.0, 1.0 Gyを照射した。その結果、LETの違いにより6-チオグアニン耐性突然変異の細胞周期依存性のパターンに違いが現れる傾向が認められ、それは⁶⁰Coガンマ線と²⁵²Cf核分裂中性子(平均LETは約50keV/ μ m)について突然変異の細胞周期依存性を比較した場合のパターンの変化⁽¹⁾と類似したものであった。しかし、少なくとも今回の実験では、LETが高いビームで²⁵²Cf核分裂中性子の場合のようなG₂/M期での生存率に対して異常に高い突然変異誘発率は認められず、今後さらに実験データを追加して検討する必要があるものと思われた。

3. 参考文献

- (1) Tauchi, H., Nakamura, N., Sawada, S. (1993) *Int. J. Radiat. Biol.* 63, 475-481

¹広島大・原医研, ²放医研・障害基礎
³放医研・重粒子

重粒子線照射による cell cycle arrest に対する p53 の関与 (6B-404)

井上俊彦^a、大関修治^b、唐 勁天^a、松村聡子^c、山崎秀哉^a、香川一史^a、井上武宏^a

1. 研究の目的及び年次計画

放射線による感受性を決定する因子の一つとして細胞周期がある。高LET放射線で従来のX線、電子線に比べ、特にG2ブロックが起きやすいとの報告があるが、高LET放射線の細胞周期に与える影響について明らかにされてはいない。p53の細胞周期への関りが重要であると考えられるが、低LET放射線ではG1 arrestにおける関与が明らかとされる一方、G2 arrest には関与していないとされている。細胞周期におけるdelayやarrestは照射後の細胞応答において重要であることが解明されつつあることから、高LET重粒子線が従来の低LET放射線に比較して細胞周期に対してどのような異なる影響を及ぼすのか、p53の関与から検討していくことを目的としている。本年はp53に異常をきたしているAT細胞、KT細胞（いずれも京大放射研より譲受）を、次年度はp53を欠損しているとされるHL-60を使用し照射後の細胞周期の変動についてPI染色後、フローサイトメトリーを使用して検討する予定である。

2. 今年度の研究経過及び成果

初回の実験が2月に予定されているので、その後報告書を作成したい。

3. 参考文献

- C. Lücke-Hühle et al, Drastic G2 arrest in mammalian cells after irradiation with heavy-ion beams. Radiat. Res. 79, 97-112 (1977)
- H. Beamish et al, Ionizing radiation and cell cycle progression in Ataxia Telangiectasia. Radiat. Res. 138, S130-S133 (1994)

- a 阪大医・集学放射線治療学
b 阪大・遺伝情報実験施設
c 阪大歯・歯科放射線学

肝臓における陽子線及び重粒子線照射効果機序及び治療効果予測法の研究 (一平成6年度一)

(6B-405)

筑波大学消化器内科 松崎靖司, 荒木真裕
陽子線センター 千葉俊也, 辻比呂志, 奥村敏之
放医研 笠井清美

1. 研究の目的と意義

近年、肝臓の治療法は、切除はもとより多種の非観血的治療によって成果が上がりつつある。現在各治療法には適応とともに一定の限界があることが明らかとなってきた。そこで今日では集学的治療や新治療法の開発によってその限界を突破する努力が計れている。

こういった中で、最近注目されている陽子線、重粒子線（狭義）は、体内で高線量或（Bragg-peak）を形成する性質有しているため、周辺肝組織にはあまり障害を与えることなく癌病巣のみを集中的に狙い撃ちすることが可能である。この理論的背景より肝臓（肝細胞癌、転移性肝臓）の治療においても優れた効果が期待できる放射線である。

そこで我々は数年前から肝細胞癌に対する陽子線治療のPilot studyを開始し、その安全性と有効性を報告した(The Lancet, (II), 340, 1992, Gastroenterology, 106, 1994)。肝臓に対する陽子線療法は世界でも初めての試みであり、その臨床効果判定法や効果発現機序についてはいまだ未知な部分が多い。

そこで本研究では、肝臓に対する陽子線、重粒子線照射の臨床的、基礎的検討を行うことにより、集学的治療が必要である肝臓の治療法の一つとしての本治療法の臨床的有用性の確立を目的とする。

具体的な基礎的検討は、ヒト培養肝臓細胞を用いて、陽子線及び重粒子線照射療法の感受性とアポトーシスに関して検討する。

方法

Hep-G2は理化学研究所細胞開発銀行より提供をうけ、37°C, 5%CO₂下で培養した。培地はDulbecco's modified essential medium(DMEM)を用い、10%牛胎児血清を加えた。細胞は6穴の3.5×10cmプラスチックディッシュ (Linbro,U.S.A.) に1穴あたり1.0×10⁵/cellsの細胞密度で播種した。実験当日、mediumをsimple Hank's mediumに交換し、陽子線医学研究センターで陽子線を照射した。また重粒子線はCイオンを放医研HIMACにて照射した。照射後、筑波大学臨床医学系に細胞を搬入し、DMEMの培地に交換したあと、一定の時間培養を続け、トリプシン-EDTAを用いて細胞を回収した。

感受性はWST assayを施行する。また、Flowcytometryにより、Ki-67抗原、BrdUを測定し、増殖抗原、DNA合成の阻害状況を測定する。Fas抗原をFlowcytometryにより測定し、さらにDNA fragmentation assayを行いアポトーシスの誘導を検討する。

2. 今年度の研究経過及び成果

1) これまでの細胞陽子線照射実験結果については以下の通りである。

第1回実験

8Gyと16Gyの照射を行い、6時間後にassayを行った。

WST-1による細胞数のcountでは照射線量に比例し、細胞数の減少を認めた
が、LDH assayでは有意なdose-effective curveを認めず、DNA fragmentation
も認めなかった。

第2回実験

前回の実験ではassayまでの時間が早すぎたことが考えられたため、Hep-G2
に8Gyと16Gyの照射を行い、72時間後と144時間後にassayを行った。

細胞の回収数が不足したため、Ki-67,Fasともにassayができなかった。DNA
fragmentationはいずれの時間でも認めなかった。

第3回実験

8Gy,16Gyといった線量では"programmed"の過程を経ずにnecrosisに陥ってし
まうことが考えられたため、1Gy,5Gyの照射を行った。assayは2時間後、20
時間後、24時間後に行った。結果は電顕によると、核、細胞質の変化は起こ
るが、DNA fragmentationはいずれの時間でも認めなかった。

2) 細胞HIMAC照射実験については以下の通りである。

Cイオンを用い、LET 50keV/μmで、1Gy, 2Gyの照射を陽子線の実験と同様
の細胞条件で施行した。各測定は未。

今後期待される成果：

実験により観察される組織像変化と臨症例における画像情報との対比から、肝組織に
不可逆的な損傷をもたらす線量及びその分割回数を明らかにする。陽子線、重粒子線
効果発現機序の解明が可能となる。

最終的に、正常肝組織を可及的に温存しながら、腫瘍に対し必要十分な線量を投与す
るための理想的な照射法を確立する。さらに、照射適応基準、効果判定基準の作成が
可能となる。

3. 参考文献

1): Tannaka N, Matsuzaki Y, et al: Proton irradiation for hepatocellular
carcinoma. 1992, The Lancet (II), 340, 1358.

4. 成果発表

- 1): Matsuzaki Y, Osuga T, et al: A new effective and safe therapeutic option using proton irradiation for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*, 1994, 106(4): 1032-1041.
- 2): 松崎靖司, 大菅俊明, 他: 切除不能肝癌に対する新しい陽子線照射療法. 日内会誌 83. 160-163, 1994.
- 3): 松崎靖司, 大菅俊明. 肝細胞癌に対する新しい陽子線照射療法. 第80回日本消化器病学会総会, クリニカルフォーラム(5), 1994. 4
- 4): 松崎靖司, 大菅俊明. 切除不能肝癌に対する新しい陽子線照射療法. 第91回日本内科学会講演会, シンポジウムII. 1994. 4
- 5): 松崎靖司, 斎藤吉史, 他. 肝細胞癌に対する陽子線照射前後における細胞増殖能とApoptosisの変化. 第30回日本肝臓学会総会, 要請演題(2) 肝疾患とアポトーシス. 1994. 7
- 6): 松崎靖司, 斎藤吉史, 他. 新しい放射線照射としての肝細胞癌に対する陽子線照射療法. 第32回日本癌治療学会総会, 1994. 10
- 7): 松崎靖司, 斎藤吉史, 他. 肝細胞癌に対する陽子線照射前後における細胞増殖能とApoptosisの変化-陽子線治療効果判定-. 第53回日本癌学会総会, 1994. 10
- 8): 松崎靖司, 辻比呂志. 肝細胞癌に対する集学的治療としての陽子線照射療法の意義-治療成績, QOLの面より- 第36回日本消化器病学会大会, シンポジウム(3), 1994. 11
- 9): 千葉俊也, 松崎靖司. 陽子線照射-肝細胞癌に対する新しい非観血的治療法. 第36回日本消化器病学会大会, ワークショップ(2), 1994. 11
- 10): 松崎靖司, 千葉俊也. 肝細胞癌に対する新しい陽子線照射療法の意義-L-TAIと治療成績とQOLの比較. 第29回日本肝臓学会東部会シンポジウム, 1994. 11

重粒子線の細胞周期への影響に関する研究

(6 B-4 0 6)

笠井清美^a、佐藤弘毅^a、村上正弘^a、五日市ひろみ^a、曾我文宣^b

1. 研究の目的及び年次計画

粒子線による癌治療では、放射線による癌治療で通常用いられる分割照射の効果を予測することが重要なポイントとなる。このためには、粒子線の種類、加速エネルギー、LET等によるElkind repairの大きさや細胞周期による致死効果および同調効果の違いなどを総合的に調べる必要があるだろう。重粒子線などの高LET放射線照射による細胞周期への影響に関しては、(1)細胞周期による感受性の差が小さく、(2)G2停止効果は大きくなるといわれている。しかしながら、これらの現象は、詳しく調べられているとはいえず、その機構に関してはほとんど解明されていないのが現状である。本研究は、重粒子線の細胞周期調節機構への影響を明らかにし、そのメカニズムを調べることを目的とする。

本研究は5年間にわたって行われる予定である。初年度である6年度には、照射法と細胞周期同調法を確立する。またX線、理化学研究所リングサイクロトロン、放医研サイクロトロンを用いた予備実験を行う。その結果に基づいて次年度以降は、細胞周期による致死効果の感受性の変動および細胞周期の進行に対する影響についてデータの収集を行う。また、細胞周期調節物質阻害剤などの薬剤の影響、および細胞周期調節遺伝子の関与などについてもあわせて検討する予定である。

2. 今年度の研究経過及び成果

放射線医学総合研究所サイクロトロンおよび理化学研究所リングサイクロトロンを用いて、チャイニーズハムスター由来培養細胞V79における炭素イオン線照射後の細胞動態の解析および各細胞周期における致死効果の解析を試みた。2 Gy照射後のmitotic indexの変化とサイトフルオロメーターによる細胞周期分布の解析から、LET \approx 150 keV/ μ mおよび240 keV/ μ mの炭素線で照射後4時間でG2/M期にある細胞数の顕著な増加およびG1期の細胞数の減少が

認められた。現在、HIMACを用いて、30 keV/ μ mおよび80 keV/ μ mの炭素線照射後の細胞動態を解析中である。

エルトリエーション装置を用いてV79およびSCA1細胞の、細胞周期による細胞の分取を試みた。V79ではかなり純粋なG1期細胞が得られた。S期は前期、後期に分けて分取した。G2/M期細胞は数が少なく、また全細胞を解析するときには無視できるレベルのDNA量が異常に多い細胞群の割合が大きくなった。これらの細胞群ではG2/M期の細胞群でX線感受性は最も高かった。しかしながら、文献に見られるM期同調を用いた場合のような大きな感受性の差は見られなかった。分取前の細胞のクローニングを含めて分取条件の厳密な検討が必要であると考えられた。SCA1細胞では分取後の細胞の死が顕著であった。G1期細胞は比較的安定であり、実験に使用可能であると考えられた。

3. 成果発表

江口清美、五日市ひろみ、村上正弘、福津久美子、他：日本放射線影響学会第36回大会、広島、1993.10.

K. Eguchi-Kasai, H. Itsukaichi, M. Murakami, K. Fukutsu, Y. Furusawa, T. Kanai, K. Shimizu, and K. Sato: Enhancement of cell killing by split exposure of high LET heavy ion beams. *Proc. 3rd Workshop on Physical and Biological Research with Heavy Ions*, HIMAC-006 :50-53, 1993.

K. Eguchi-Kasai, M. Murakami, H. Itsukaichi, K. Fukutsu, et al.: The role of DNA repair on cell killing by charged particles. 30th COSPAR Meeting, Hamburg, July, 1994.

^a放医研障害基礎、^b放医研重粒子

重粒子線誘発アポトーシスに関する研究

(6B-407)

大山ハルミ、福田幸弘、下川卓志

1. 研究の目的及び年次報告

アポトーシスは遺伝子にプログラムされ、高度の制御機構を持った細胞死である。近年、このアポトーシスが放射線の生物作用発現に多岐にわたり関与していると考えられるようになってきた。本研究は、アポトーシスという視点での、重粒子線の生物効果の判定と分子機構の解明を目的としている。

われわれは、これまで胸腺細胞および放射線高感受性リンパ腫細胞株を用いて、X線誘発アポトーシス発現に関する解析を進めた。それらの結果から、これらの細胞はきわめてX線高感受性にアポトーシスを起こすことが各種の指標から明らかにした。

重粒子線はその特性から細胞に対する障害がX線とは異なると考えられ、重粒子線とX線でアポトーシス誘発の線量依存性など大きく異なるのではないかと考えられた。

今回、胸腺細胞やリンパ腫細胞に対する重粒子線照射の効果を調べ、X線の効果と比較検討した。

2. 今年度の研究経過及び成果

実験条件

95年1月10日、PM10:00～

使用細胞：ラット胸腺細胞、
マウスリンパ腫細胞 (3SB)

照射線源：C、290MeV/u モノビーム

照射線量：0.25、0.5、1、2、5、10、
20、50、100Gy

(ただし10-100Gyは胸腺細胞、0.25Gyはリンパ腫細胞のみ)

実験目的：

a. 胸腺細胞のアポトーシス発現の線量依存性を調べる。

b. 胸腺リンパ腫細胞の照射によるアポトーシス発現の細胞周期依存性 (0.5Gy) をしらべる。

結果

a. 胸腺細胞のアポトーシス発現の線量依存性の解析

胸腺細胞はアポトーシスに伴い著明な細胞サイズ減少、クロマチン凝縮、DNA断片化を示す。これらの指標で判定した結果、20Gyまでは照射線量の増加に伴いアポトーシスによる細胞死が増加した。しかし、50、100Gyでは照射線量の増加に伴いアポトーシスの低下が認められた。さらに、ネクローシスも含め判定する色素染色性で判定しても、50、100Gy照射以上の照射では細胞死の低下が見られた。図1a、bは、重粒子線とX線10Gy照射後の細胞サイズ分布で調べたアポトーシス発現の効果を比較したものである。

このように胸腺細胞のアポトーシス発現の線量依存性は、X線誘発のものと同様、あるいは軽度に重粒子線の効果が低いことが分かった。

b. リンパ腫細胞のアポトーシス発現の細胞周期依存性

これまでの研究で、3SB胸腺リンパ腫細胞はきわめて放射線高感受性であり、X線と紫外線でアポトーシス誘発の細胞周期依存性がまったく異なることを明らかにしている。重粒子線による細胞死は細胞周期非依存性になるとの報告もあるため、とくにこの点に関して重点をおいて調べた。

実験は、これまでX線の細胞周期依存性解析を行ってきたと同様の0.5Gy照射後、時間を追って細胞周期変動を解析した。その結果、予期に反してX線とほぼ同じ細胞周期依存性が認められた (図2a、b)。

また、5Gyまでのアポトーシス発現の線量効果関係も、X線とほぼ同じであった。クロマチン凝縮などアポトーシスに伴う諸変化をほぼ同様に認められた。

今回は一回の実験の結果であり、今後これらの結果を、さらに確認する予定である

a放射線医学総合研究所、重粒子治療センター、障害臨床研究部

図1 細胞体積変化でみたアポトーシス発現の違い

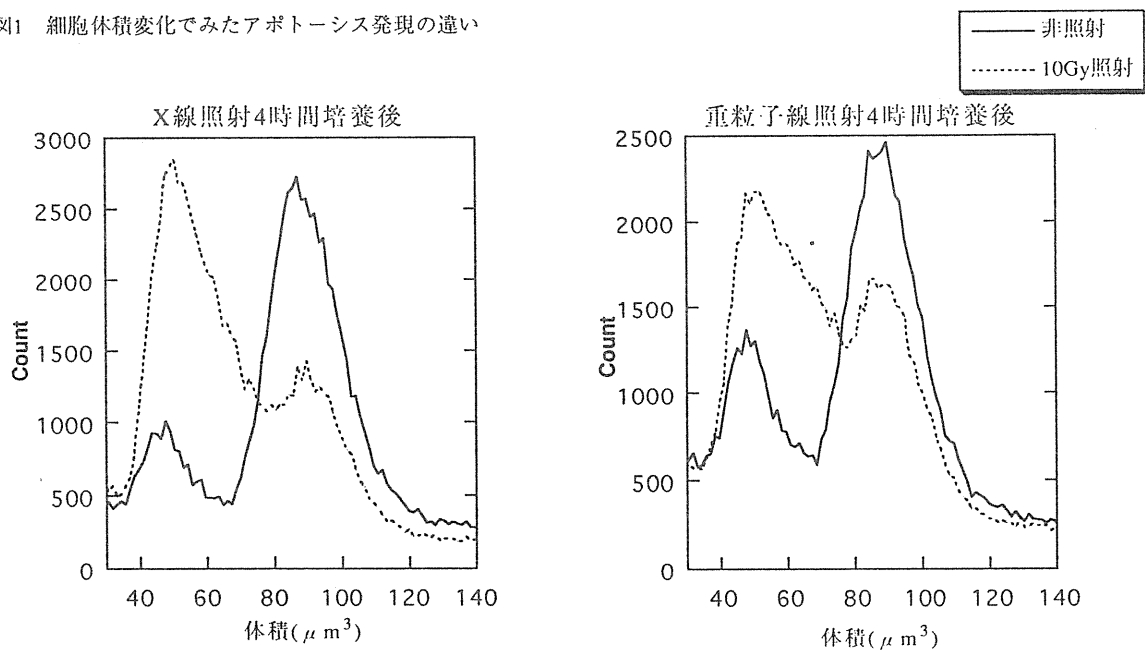
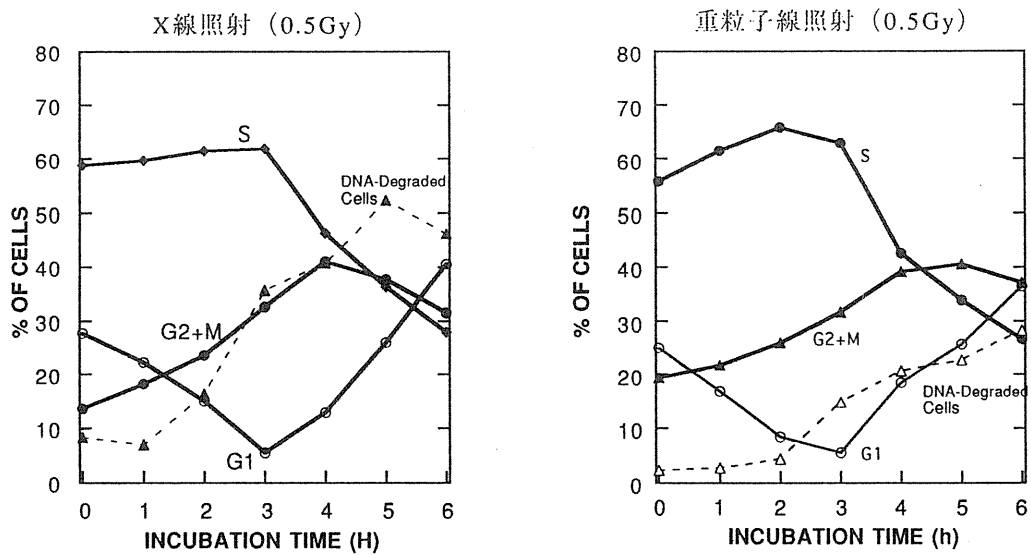


図2 細胞周期依存性でみたアポトーシス発現の違い



重粒子線によるDNA切断の誘発とその修復機構について

(6B-408)

村上正弘、佐藤弘毅、笠井清美、福津久美子、根井充、曾我文宣 (放医研)

1. 研究の目的および年次計画

重粒子線は細胞致死効果が高く、現在までの報告によるとその原因は修復されずに残るDNA切断を生じるためであると考えられている。しかし、これまでの研究では重粒子線で生じるDNA切断がどのようなものであるかは報告されていない。

そこで、本研究においては、重粒子線によって生じるDNA切断がどのようなものであり、なぜ修復されないのかを、切断されたDNA自身およびその修復遺伝子の性質を調べることにより明らかにする。

さらに、クロマチン構造との関係についても検討を行う。

今年度は、まずHIMACでの実験の前にこれまで実験を行っていた理化学研究所のリングサイクロトロンを用いてDNA切断検出系を開発すると共に哺乳類のDNA修復能欠損細胞株を用いて、DNA修復遺伝子の単離を試みた。

2. 今年度の研究経過および成果

今年度は、まず重粒子線によるDNA切断の解析のための実験として、理研リングサイクロトロンを用いて培養細胞に対してNeビーム照射を行い、DNA二重鎖切断の誘起をパルスフィールドゲル電気泳動を用いて調べた。

試料としては、マウスL細胞由来のLTA細胞とその細胞から薬剤処理により分離した、電離放射線高感受性細胞SL3-147細胞を用いた。SL3-147細胞はDNA二重鎖切断修復能が欠損していることが分かっている。

これらの細胞に加速エネルギー135 MeV/uのNeビームをLET 60 keV/μm-200 keV/μmの範囲で照射した。照射線量としては、それぞれのLETで30 Gy、60 Gy、80 Gyを用いた。

照射後細胞をアガロースのプラグに埋め込んで固定化した後プロテイナーゼKによりタンパク質消化を行った後、パルスフィールドゲル電気泳動法によりDNA二重

鎖DNA切断の誘起を調べた。

LTA細胞では、照射線量30 Gyで分子量およそ1Mbp-5.7Mbpの範囲に切断されたDNAの分布が認められた。

この切断されたDNAの量は、60 Gy、80 Gyと照射線量が大きくなるにつれて増加する傾向が認められた。しかし、用いた線量範囲では、照射線量の増加によるDNA切断片の分子量の顕著な減少は認められなかった。

一方、SL3-147細胞においては照射線量依存的なDNA切断片の増加が認められたことは、LTA細胞と同様であるが、LTA細胞でははっきりとは認められなかった分子量およそ5.7MbpのDNA切断片がSL3-147細胞でのみ認められた。

次に、DNA修復遺伝子の研究については、哺乳類の二重鎖DNA切断修復欠損株を用いてその変異を相補する遺伝子の単離を試みている。

3. 参考文献

Warters, et al., 1993. Mutation Research, 293, 91-98.

4. 成果発表

村上正弘ら、日本放射線影響学会第37回大会、博多、1994年10月。

重粒子線に対する細胞のポリアミン合成代謝系の応答

(6B-409)

市村幸子^a、 浜名康栄^b

1. 研究の目的及び年次計画

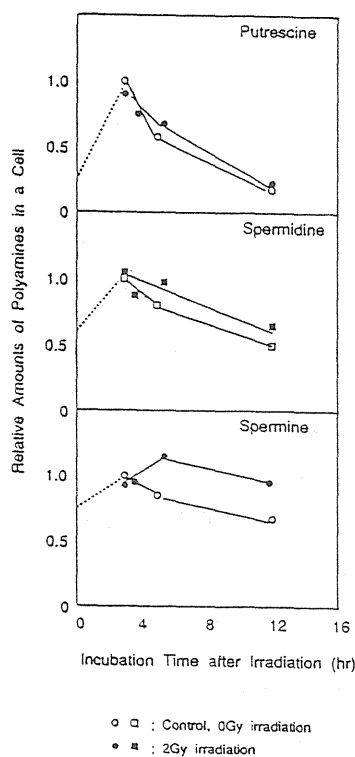
プトレシン、スペルミジン、スペルミン等のポリアミンは細胞中に多量に存在する多価カチオンで、細胞中では主にDNA、RNAに結合して様々な生理機能を担っている。細胞増殖とは特に関連が深くガン細胞では一般にポリアミンレベルが高いことが知られている。このためポリアミン合成阻害剤の制ガン効果が注目されている。一方ポリアミンは様々なストレスに敏感に反応し、またラジカルスカベンジャーでもあることから放射線応答物質であると考えられる。従って放射線によるガン治療に於ては細胞内ポリアミン量の変化を把握することが重要である。しかしながらこの観点に基づく研究は世界的にも少なく、データを系統的にまとめるまでに至っていない。我々は放射線による細胞内ポリアミンレベルの変動とこれを引き起こすメカニズムを解明することによりポリアミンより見た照射の最適条件を決めるための基礎データを提供する。

平成6年度は初年度であることから主に基本的な実験条件の整備に重点をおき、HeLa細胞を用いた予備実験を行った。今後はガン細胞と正常細胞の比較や薬剤等によってポリアミンレベルを変動させた場合の効果を調べる。

2. 今年度の研究経過及び成果

まず細胞からポリアミンを効率よく抽出する方法を検討した。Trypsin処理によって集めた細胞を低張液(TE buffer)に懸濁し凍結、融解によって細胞を壊した後10%TCAで結合ポリアミンを解離させると共に核酸蛋白質等を沈殿除去した。ポリアミンはHPLCを用いたOPAラベル法によって分析したがこの分析には専用器が必要であり群馬大学で分析した。次にポリアミン関連酵素遺伝子のノザン解析に用いるプローブの検討を行った。ヒトのオルニチン脱炭酸酵素(ODC)やスペルミン/スペルミジン-アセチル転移酵素(SSAT)はすでにその塩基配列が決定されていることから合成ポリペプチドを用いることが可能であるが通常の末端ラベル法で

はSSAT遺伝子の場合には検出困難であった。そこで高感度ラベル法を検討した結果よい結果を得ることが出来た。HeLa細胞に炭素粒子(LET 80keV/um) 2 Gy照射し1時間室温放置の後新鮮な培地を等量加え37°Cでインキュベートした。経時的にポリアミンを分析すると図に示す様に照射していない細胞でも培地の添加による1時的なポリアミンレベルの上昇が見られる。これに対し照射したものはスペルミンが高いレベルを維持したままの状態にとどまっていた。x線の場合には主にプトレシンの上昇が見られスペルミンの上昇は見られない。従ってプトレシン/スペルミン比の変化は炭素粒子とx線では逆になる。プトレシンは主に細胞質にスペルミンは細胞核に存在することから損傷に対する細胞の応答がx線では主に細胞質内の反応系で起こるのに対して炭素粒子では核内の変化として起こるとも推測され興味深い。実験数が少ないことやx線の実験と若干の条件の相違がある点を早急に解決する必要がある。



^a 放医研生物

^b 群馬大学医療技術短期大学部

宇宙生物学：宇宙空間を想定した粒子線の影響下における 生物現象の実験的研究

(6B-501)

荒井興夫[□]

1. 研究の目的

突然変異の要因の一つに宇宙線がある。地上では大気や地球自信によって宇宙線の影響は減弱されているが、将来人類が長期間にわたって宇宙空間に滞在するようになったとき、宇宙線量の増大によって突然変異のリスクは高くなると考えられる。宇宙空間において宇宙線は生物にどのような影響を与えるのか、これがこの研究の目的である。

宇宙線を想定した粒子線が生物に及ぼす影響のうち、器官形成や発生に関してどのような作用があるかを問題とした。特にその器官として脳を扱い、中枢神経回路形成にどのような影響があるか、これを調べることを当面の目的とした。

この目的のために実験動物として特徴的な脳を持つ鳥を用いる。鳥は成体になっても神経細胞の発生が起こり中枢神経回路網の形成に関与している。この成体になっても生じる神経細胞の発生源は脳室壁層の幹細胞で、発生初期の過程が成体になってまで延長していると考えられているところである。①脳室壁層で生まれた神経細胞は②遊走して標的の中枢に到達し、すでにできている③中枢の形成に関与する。成体の鳥の脳ではこれらの諸過程(①～③)が明確に分離し、しかも同時に観察できるということを特徴としている。したがって粒子線の影響も一つの脳で一度に諸過程の影響を観察することができることになる。

放射線では成熟した細胞への作用は少なく、幹細胞など発生初期の未熟な細胞はその影響を受けやすいとされている。その作用の一つとして幹細胞のアポトーシスがあ

る。鳥の成体脳の幹細胞で粒子線によって誘導されるアポトーシスが著明に起こるならば中枢の形成に影響があるはずである。したがって脳室壁の幹細胞とアポトーシスという点に目的を絞って実験を行なうことにした。

計画では6年度、7年度とも培養神経細胞を用いることにしていたが、成体鳥の脳の特徴を活かせない点があり、*in vivo*で実験を行なうことに切り替えた。6年度は基礎的な実験として正常脳のアポトーシスとアポトーシス関連遺伝子の発現、重粒子線照射、7年度はその継続実験と行動変化について調べる計画でいた。しかし、6年度は実験動物としてマウス、ラット以外は許可がおりなかったので照射実験は見送った。したがって本年度は予備実験としてアポトーシスが正常脳にどのくらい起こっているのかを調べたのでこの点について報告する。

2. 研究経過及び成果

①アポトーシスはその形態的特徴に基づくが、一般にDNA断片化を伴うとされる。中枢神経系ではDNA断片化の報告は少なく議論のあるところだが、まずこれが観察されるかどうかを検討した。このために発達過程の一時期にプログラム細胞死が起こるとされる中枢について調べた。これはDNA断端にDIG標識したヌクレオチドをTdT (terminal deoxynucleotidyl transferase)で付加して可視化する方法で行なった¹⁾。実験動物は雌キンカチョウを用いた。これは発達に伴って初め雄と同じ大きさの中枢(発声中枢:HVc、RA)が細胞死を起こして縮小すると考えられて

いるからであった。実験の結果、H V c においてフ化後 30 日に D I G 陽性細胞数が最大となり (図 1)、この最大の時期は H V c が縮小していく時期とほぼ一致した。また形態的にもこれらの D I G 陽性細胞の中には典型的なアポトーシス像があることからこれらの陽性細胞はアポトーシスを反映しているものと結論した。以上によって D N A 断片化を指標として鳥脳のアポトーシスが検出できることがわかった。

②粒子線によってその影響が一番生じ易いと考えられる側脳室壁細胞層についてのアポトーシスを調べた。フ化後 50 日までと成体について有意な差はなく極めてアポトーシスは少なかった。

③脳全体にわたってのアポトーシスはフ化後 30 日前後が多く成体ではかなり減少するものの皆無ではなかった。したがって脳実質内では、特定の中枢に注目してアポトーシスを調べる必要がある。

以上より本年度の目的の一つである鳥脳のアポトーシスのデータが蓄積されてきたので in vivo で鳥の照射実験ができるような装置を作っていきたい。

3. 参考文献

1) Gavrieli, Y., Sherman, Y., Ben-Sasson, S.A. (1992): Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J. Cell Biol.* 119, 493-501.

4. 成果発表

第 18 回日本神経科学学会 (1994) において発表。

Neuroscience Research Suppl. 19, S131., 1994 にアブストラクトとして収録。

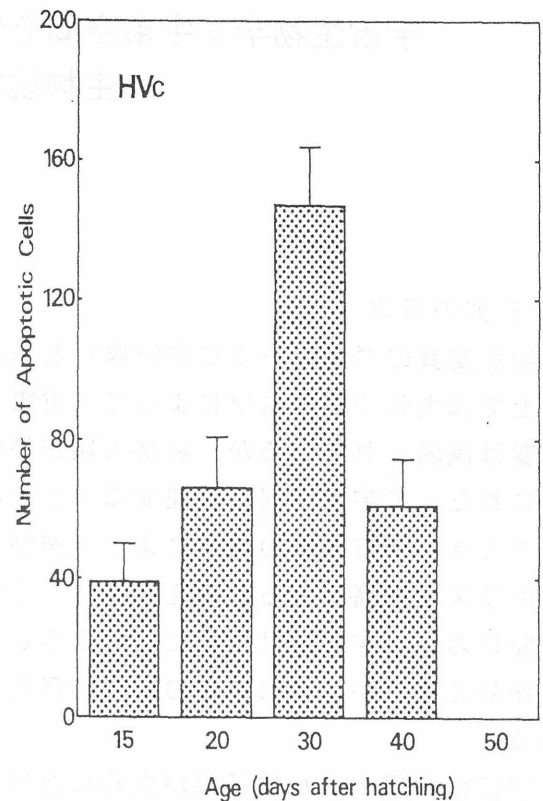


図 1 雌キンカチョウ生後発達過程における発声中枢 H V c の細胞死 (アポトーシス)

重粒子線の線量率効果に関する研究

(6B-502)

立崎英夫^a、阿部由直^b、松下悟^c、辻比呂志^a、宮川牧子^a、藤浩^a

^a筑波大学臨床医学系、^b東北大学加齢医学研究所、^c放射線医学総合研究所動植管理課

1. 研究の目的及び年次計画

目的

有人宇宙飛行の長期化にともない、今後放射線防護の問題はますます重要性を増してくる。宇宙自由空間では高エネルギー陽子線を中心とした荷電粒子線が電離放射線の主体をなしているが、また、鉄イオン等重粒子を含む銀河宇宙線も有り、地上とは違った放射線環境を呈している。ところで、宇宙空間での放射線管理を考える時、被ばく評価にも、各線種ごとの線量を測定し、それにmodifying factor を乗じて線量当量を得るのが現実的と考えられている。しかしこれらの因子(modifying factor)、特に重粒子に関するものは十分な支持データが揃っていない点が多い。重粒子の線量率効果もその1つである。重粒子の作用機序が γ 線などの間接電離放射線と違うとすると、線量率効果に関しても従来の放射線と同じと考えるのは危険が有る。本研究はこの点を明かにする事を目的とする。

放射線防護の観点から考えると、低高度地球周回軌道上での有人活動では発癌が重要である。一方、地磁気圏外有人探査においては、突発的太陽活動(フレア)に伴う大量被ばくが大きな問題となる。この場合、注目される臓器は、骨髄、皮膚、水晶体であるが、本研究ではまず骨髄を取り上げる。重粒子線の持つ骨髄による致死効果の試験方法は単純ではあるが良く確立された方法であり、誤差も少ない。また、実際の現場での問題に即した方法で有る。この研究により、宇宙空間において特異的に見られる重粒子被曝の生物学的効果評価に関して有益な情報が付加される。

具体的には、マウスを用いin vivoの系で重粒子線と γ 線の骨髄半数致死線量に対する線量率の影響を調べる。最終的には線量率1Gy/min - 0.01 Gy/minの範囲に関しての実験を検討している。

年次計画

94	照射装置、飼育設備の整備
95	予備実験
96	本実験
97	本実験
98	結果解析

今後、本課題の実験に際しては、1回にある程度のサンプル数を照射できる広い照射野と、十分なマシンタイム、そして線量率可変の γ 線照射装置等の整備が必要であり、実験の遂行はこれらと平行して進める予定である。

2. 今年度の研究経過及び成果

1994年11月のマシンタイムの一部を利用し条件設定の一環として照射野平坦度の確認をおこなった。方法はフィルム法で行った。材料としては、コダック社製X-OMAT TL filmを用い、炭素イオンビームの入射部プラトーと拡大ブラッグピークの中央で2から4Gyの曝写をした。

結果は、照射野内の黒化度が飽和に達してしまい、評価可能なサンプルが得られなかった。1995年の2月のマシンタイムで照射野平坦度の再評価を予定している。

また、同マシンタイムに於て、通常線量率の炭素イオン線によるマウス予備実験を予定している。

宇宙環境を想定した重粒子線の影響下における

生物現象の実験的研究

(6B-503)

吉川 勲^a・星 正治^b

1. 研究の目的及び年次計画

宇宙空間は、無重力とともに地上に比較して多量の放射線が降り注ぐ環境である。この空間におけるヒトの生存には、宇宙放射線の影響が最も憂慮される。地上では地磁気と空気層によって遮蔽されている宇宙線のうちHZE（高エネルギー重荷電粒子）は、X線やガンマ線に比較して生物効果が大きく、遺伝を含めた生体への影響が特に危惧される。

ショウジョウバエの突然変異実験系は、高等真核動物の系の中で最も高感度な系の1つであり、宇宙線を想定した重粒子線の遺伝的効果（突然変異誘発量）を詳細に明らかにすることができるかと期待される。

本研究の目的は、重粒子線の遺伝的影響をショウジョウバエの2つの体細胞突然変異検出系—眼色モザイク突然変異（遺伝子レベル）¹⁾と翅毛モザイク突然変異（染色体レベル）²⁾—を用いて、X線やガンマ線に比較した相対的生物効果比と線量率効果に焦点をあて、明らかにすることである。

初年度は直線的エネルギー付与率(LET)の異なった重粒子線の生物効果比をX線との比較において調べることにした。

2. 今年度の研究経過及び成果

突然変異検出方法の概略： ショウジョウバエ幼虫（3日令）に重粒子線を照射し、成虫個体の複眼及び翅器官において、遺伝子レベルの突然変異と染色体レベルの突然変異を同一個体によって調べた。遺伝子レベルの突然変異は、*white-ivory* 色の複眼中に 2.9kbDNAの欠失で生じる赤色モザイクスポットによって、また、染色体レベルの突然変異は、染色体つなぎかえによる多翅毛遺伝子（劣性）のホモ形成で生じる多翅毛モザイクスポットによって検索する。

重粒子線照射の概略： 重粒子線 (Carbon, 290MeV/u) の照射線量は、0.5、1、2、4、6 Gyとし、LETは、13.8、62、95 keV/ μ m とした。同時に、照射したX線(200kV, 20mA) の線量は、2、4、6 Gyである。

実験結果： 当初予定した実験（10月22日）は、落雷により実施できなかった。そこで再び、12月18日に照射実験を行った。現在、突然変異の検索中であるが、これまで得られた結果は以下の通りである。

（1）重粒子線及びX線共、2つの突然変異に関する線量効果関係は直線的である。

(2) 眼色モザイクスポット（遺伝子レベルの突然変異）の単位重粒子線々量当たりの頻度は、X線のそれと等しく(RBE=1)、LET依存性は見られない。

(3) 翅毛モザイクスポット（染色体レベルの突然変異）では、LET依存性が認められた。95keV/ μ m重粒子線のRBEは約6、62keV/ μ m重粒子線のそれは約4、そして13.8keV/ μ m重粒子線のRBEは約1であった。

考察：これらの結果から、線量にのみ依存する眼色突然変異は、1ヒットの事象であることを、また、LETに依存する翅毛突然変異は、2ヒットの事象であることを示唆している。第1回の照射実験の結果について解析中であり、平成6年度中に第2回目の繰り返し照射実験を実施し、体細胞突然変異のLET依存性を明らかにしたい。

3. 参考文献

- 1) Green, M. M., T. Todo, H. Ryo, and K. Fujikawa: Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 83, 6667-6671, (1986).
- 2) Graf, U., F. E. Wugler, A. Katz, H. Frei, H. Juon, C. B. Hall and P. G. Kale: Environ. Mutagen., 6, 153-188, (1984).

4. 成果発表等

(1) 池永満生、原隆二郎、吉川勲：宇宙飛行でショウジョウバエに誘発される突然変異—1992年のFMP T宇宙実験を中心に—、放射線医学物理、No.43,1-20 (1994).

(2) 池永満生、原隆二郎、吉川勲：

FMP T実験結果の概要、HZEおよび宇宙放射線の遺伝的影響—ショウジョウバエに生じた突然変異、日本航空宇宙学会誌、42, 632-635, (1994).

a 長崎大学医学部

b 広島大学原爆放射能医学研究所

高エネルギー宇宙重粒子線による DNA 損傷とその修復に関する基礎研究 (6B-504)

原田和樹^a、帯屋有里乃^a、中野立央^a、今村正浩^b、今村正人^c、蜂谷みさを^d、明石真言^d

1. 研究の目的及び年次計画

人類が宇宙へ進出する際に、乗り越えなければならない障害が二つある。一つは微小重力環境であり、もう一つは宇宙空間に存在する高エネルギー宇宙重粒子線であるが、その宇宙重粒子線は、宇宙空間で生物に及ぼす影響が全く判ってないだけに、重要な問題点である。

宇宙飛行士の放射線防御システムを、将来、バイオ技術によって開発する事が望まれるが、まずは、宇宙重粒子線が生物にどのような影響を及ぼすか、そのメカニズムを調べる事が先決である。そのためには、宇宙での実験に限られる状況ゆえ、地上部でのシミュレーション実験が大変重要となり、そこにHIMACを利用する意義が存在する。

本課題では、平成10年度までをめぐり、大腸菌野生株と DNA 修復能欠損突然変異株群の細胞やシャトルベクタープラスミド pZ189 DNA を用いて、宇宙空間に存在する各種の重粒子線を HIMAC で発生させて、その重粒子線が及ぼす影響を、致死、DNA 損傷、突然変異における DNA 分子の塩基配列上での変化等で調べる。また、放射線高抵抗性細菌 *Deinococcus radiodurans* 細胞内に起こった重粒子線損傷の DNA 修復過程に、宇宙空間の微小重力がどのような影響を及ぼすか、その基礎実験も行う。更に、ロシア宇宙ステーション・ミールを用いて、実際の宇宙軌道上での実験も計画している。

本年度は、「第1次材料実験 (FMPT)」と「第2次国際微小重力実験室計画 (IML-2)」で実際にスペースシャトルに搭載した大腸菌細胞を用いて、炭素 (C) イオン照射の影響を、コロニー形成能を指標とした生存率で調べた。

2. 今年度の研究経過及び成果

使用した大腸菌細胞は、KMBL3835 株 (DNA 修復能では野生株) と KY385 株 (*recA*) である。これら大腸菌細胞の紫外線感受性については、既に調べられており、KMBL3835 株、KY383 株 (*lexA*)、KY386 株 (*uvrA*)、KY385 株の順に感受性が大になる事が知られている¹⁾。その際の KY385 株の D_{10} 値は約 2 J/m^2 であった。また、この大腸菌群は、いずれも栄養要求性突然変異株で最少培地中で復帰突然変異を調べる事ができる。紫外線照射では、KY386 株が最も高い変異誘発率を示し、 5 J/m^2 で 1.28×10^{-6} という値であった。

さて、KMBL3835 株と KY385 株に、京都大学原子炉実験所の ^{60}Co 照射棟にて γ 線を照射し、日本原子力研究所高崎研究所の TIARA 照射施設では、エネルギー 220 MeV で $\text{LET} = 121 \text{ keV}/\mu\text{m}$ の炭素 ($^{12}\text{C}^{5+}$) イオンを照射し、HIMAC では、290 MeV/u で $\text{LET} = 80 \text{ keV}/\mu\text{m}$ の炭素 (C) イオン (Mono Beam) を照射して、その生存率を比較した (Fig. 1)。なお、細胞条件として、 γ 線照射の場合は乾燥細胞を用い、炭素イオン照射の場合は生理食塩水に懸濁した細胞を用いた。

Fig. 1 の結果から、どの照射の場合でも、野生株の KMBL3835 株が、KY385 株に比べて抵抗性を示したが、これら 2 株は、 γ 線照射、HIMAC での照射、TIARA での照射の順に感受性が大きくなった。この差は、LET の違いによるものと思われる。121 keV/ μm までは、LET が大きくなる程、感受性が高くなるものと思われる。

さて、紫外線照射の時と比べて、 γ 線照射の場合は、KY385 株と KMBL3835 株の

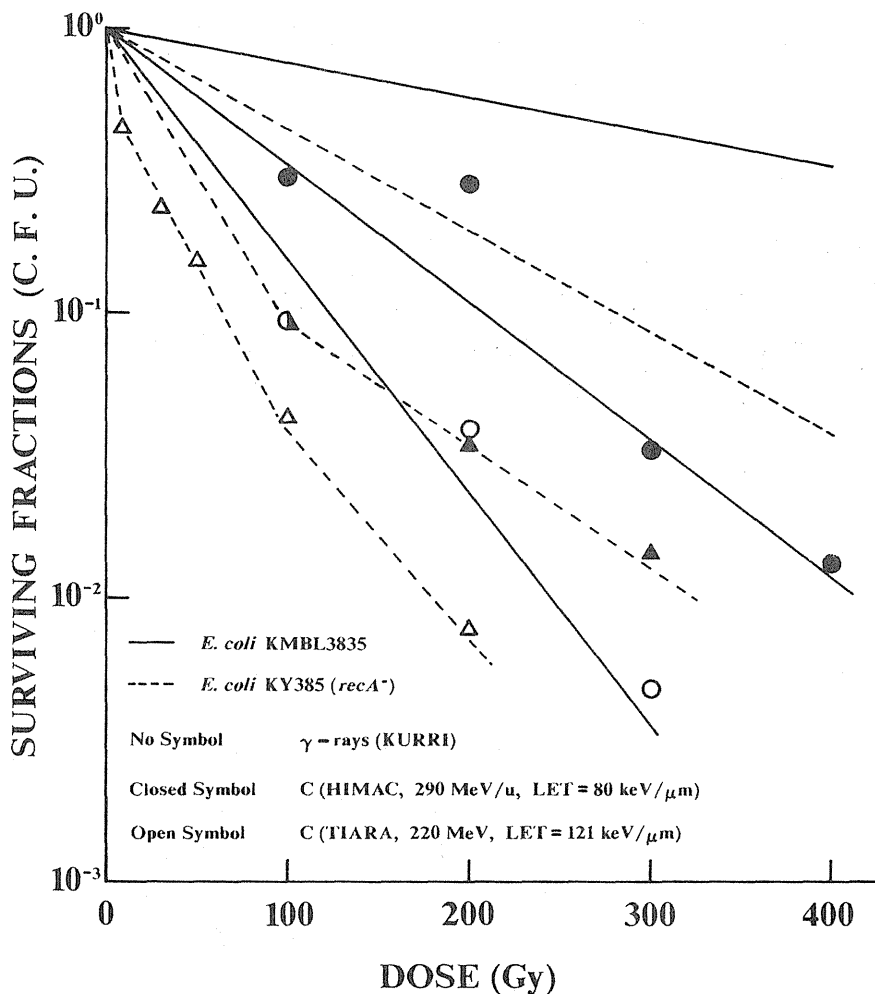


Fig. 1 Dose-Response Survival Curves of *E. coli* KMBL3835 (*trpE9777*⁻) and KY385 (*trpE9777*⁻, *recA56*⁻) Cells Irradiated with C Ions and γ -rays.

D_{10} 値の比が小さくなり、LET が大きくなるにつれて D_{10} 値の比は小さくなった。この事は、現象的には LET が大きくなるにつれて、DNA 修復能欠損株の KY385 株が感受性になっていく度合よりも、野生株の KMBL3835 株が感受性になっていく度合の方が大きい事を示している。すなわち、紫外線照射では、*recA* 遺伝子が存在すれば修復できる様な DNA 損傷が生じるのに対し、炭素イオン照射による DNA 損傷は、修復酵素系を持っていても修復できない様な、致命的 DNA 損傷が生じている可能性を示唆している。

3. 参考文献

1) Y. Obiya and K. Harada, *PL G. W. J. C. Bull.*, **21**, 1 (1994).

^a PL 女子短大植物研・分子生命

^b 関西医大・放射線科

^c 関西医大・第3内科

^d 放医研・障害・臨床

哺乳類細胞の試験管内発癌に対する重粒子線のRBE

(6B-505)

池永満生^a、綾木 仁^a、原 隆二郎^a、明石真言^b

1. 研究の目的及び年次計画

本研究の目的は、哺乳類培養細胞の *in vitro transformation* 系を用いて、放射線発癌に関する重粒子のRBEを求めることである。西暦 2,000年頃から利用が可能になると考えられている宇宙基地アルファ計画においては、微小重力や宇宙放射線の影響を調べるための種々のライフサイエンス実験が予定されている。我々の研究も、すでに第一次選定課題として採択されている。本研究は、この宇宙実験のための地上予備実験の一貫として計画したものである。

年次計画は以下の通りである。

平成6年度

本研究の目的に適した細胞株の選抜と重粒子照射後の生存率曲線を求めるための予備実験。

平成7年度

例えば、3種類程度のLETが異なる炭素粒子を照射して、X線との比較から発癌のRBEを求める。

平成8年度

平成7年度の結果をふまえて、発癌のRBEのLET依存性を明らかにするための詳細な実験を予定している（まだ申請していない）。

2. 今年度の研究経過

結論から先に書けば、本年度はHIMACの照射実験を行うことができなかったため、研究成果は「なし」ということになる。従って、上記年次計画は後にずれることになる。照射実験を行わなかった理由は以下の通りである。

研究課題は「哺乳類細胞」となっているが、我々はあくまでもヒト細胞を用いた *in*

vitro 発癌系を開発したいと考えている。そこで、本共同利用研究が始まる以前の平成5年度から、すでに株化（不死化）したヒト細胞について、自然発癌頻度（軟寒天培地中でのコロニー形成頻度）が低い細胞株の選抜を始めた。そして、調べた16株中半数の8株が目的に合うことを確認した。平成5年下半期から、これらのヒト細胞株にX線を照射し、放射線で容易に癌化する細胞の選抜を始めた。この作業は約1年で終了すると予想していたので、平成6年度の後半にはHIMACを利用した照射予備実験ができるものと考えていた。

しかしながら、一向にX線で高頻度に（げっ歯類の細胞のように）癌化する細胞株が見つからず、ほとんどの場合は生存率が10%以下に低下する6Gy程度を照射しても、発癌頻度（コロニー形成率）が無照射の場合の数倍に増加する位であった。

最近になって、やっと有望なサブクローンが見つかったため、現在このクローンについてX線照射実験を進めている所である。

^a京大放生研、^b放医研障害・臨床

重粒子線生物学に関する研究 (宇宙生物学)
(重粒子線の造血組織に対する影響および防護に関する研究)
(6B-506)

小島 栄一、 田中 薫
放医研 障害基礎

1. 研究の目的及び年次計画

正常造血組織に対する重粒子線の影響に関する研究は、重粒子線による癌治療の際の造血系障害の評価ならびに宇宙空間における粒子線の生体への影響評価などの基礎的研究として重要な意義を有している。本研究は、各種重粒子線のマウス造血系細胞に対する効果およびその修飾について検討し、重粒子線による造血系障害の防護および治療に役立ち得る基礎的知見を得ることを目的とする。

これまで、放医研で実施される重粒子線癌治療のための基礎的資料を得るために、脊髄、胸部、大腿骨などに生ずる癌の放射線治療において制限要因の一つとなる造血系障害を対象とし、理研のリングサイクロトロンで発生させた135 MeV/uの炭素線による造血系障害について、X線(200kVp)による不活化効果と比較して、その生物学的効果比(RBE)に関する研究を行ってきた。今年度から、放医研HIMACの発生装置を使って、各種重粒子線の造血組織に対する効果について検討する。

2. 今年度の研究経過及び成果

炭素線のマウス造血系細胞に対する効果について調べた。炭素線の照射は、290 MeV/uのエネルギーをもつ炭素イオンビームを用いた。マウスは、アクリル製照射用箱に入れられ、6 cm幅に拡大したSOBPの中心部位置に、アクリル板に固定して、全身照射された。照射野の直径は10 cm。線量率はSOBP中心部(LET: 50 keV/ μ)で約3 Gy/分。対照としてのX線照射は、200 kVp, 20 mA, 線量率0.7 Gy/分の条件で行われた。

放射線による効果は、1) 骨髄および脾臓由来の外因性脾コロニー形成細胞(CFU-S)、2) 内因性CFU-S、3) 顆粒球・マクロフェージコロニー形成細胞(GM-CFC)、4) 巨核球コロニー形成細胞(Meg-CFC)、5) 末梢血中血液細胞などを指標として検討した。

290 MeV/u炭素線の造血幹細胞および前駆細胞に関するRBEについては、実験結果がまだ不十分であり、蓄積した上で解析を行う。

なお、放医研HIMACを使って本研究を行うにあたって、前実験として以下の項目について検討した。

1) 無麻酔状態での照射方法の確立。

(理研においては、マウスをネンブタールで麻酔し、アクリル板にスコッチ・テープで固定して照射。⇒アクリル製照射用箱を使用。)

2) 内因性CFU-Sを指標にして、無麻酔(照射用箱利用)と麻酔下状態(理研方式、あるいは麻酔後、照射用箱利用)での照射方法の相違による線量効果関係の検討。

(⇒無麻酔で照射した場合、炭素線とX線とのiso-effect 線量比(DRF)は1.15であり、麻酔下で照射した場合、炭素線の効果については二つの方法の間に差異はみられず、炭素線とX線とのDRFは1.45であった。)

3) マウス放射線感受性の日内変動について。

(マシン・タイムが夜間、早朝となる。⇒マウスの線量生存率関係を調べた結果、ほとんど差異が認められなかった。)

[研究発表]

1) 坪井 篤、小島栄一、田中 薫、金井達明：炭素線による造血系障害のRBEに関する研究. 日本医放会誌、第55巻3号(1995) (in press).

分裂の盛んな臓器の腫瘍の発生（マウスの腫瘍発生）

（6B-507）

川瀬淑子^a、蜂谷みさを^a、明石真言^a

（1）研究の目的及び年次計画

これまでに、3 Gy X線照射により R F M / M s N r s 雄マウスの放射線誘発骨髄性白血病の発生、性質、病型、寿命をみてきた。同等線量の重粒子線照射により、終生飼育で差異があらわれるかをみる。照射後、白血病発生までに約6か月の期間を要するため、結果を得るまでに2年を要する。平成7年3月までに照射を終了し平成8年下半期には成果を発表する予定である。

（2）今年度の研究経過及び成果

はじめに、3 Gy 照射条件として、重粒子線照射では、イオン種、C、エネルギー 290 MeV/u、LET、50 KeV/um、SOBPビーム、単一全身照射、線量率 1 Gy/min、X線照射では、200 kV、20 mA、0.5 mm Al + 0.5 mm Cu filters、Focus Sample Distance、56 cm、単一全身照射、線量率 0.61 Gy/minで行った。

マウスのX線照射による急性造血障害度及び重粒子線照射によるその障害度を知らため同等線量 3 Gy を 10 週令マウスに全身照射し照射後のマウス尾静脈採血による抹梢血の白血球数、血小板数の回復動態をみた。その結果、次ページにその回復時期を示したようにX線照射マウスと同様の回復を重粒子線照射マウスにおいても示した。重粒子線照射マウス (n=8) では照射後 2 時間で白血球数の半

減がみられ (3,800/ μ L)、5日には極点 (900/ μ L) に達し、その後、徐々に回復していった。X線照射マウス (n=8) では、照射後 2 時間には、やはり白血球数は激減し、2日から7日にかけて最低値に達するが、その後、回復に向かう。血小板数をみると重粒子線照射マウスでは2時間では急激な変化はみられないが5日で半減し7日で極点に達し (24x10⁴/ μ L) その後の回復は順調である。X線照射マウスもやはり7日の極点 (37x10⁴/ μ L) 以後回復は早い。これら2つの放射線照射による抹梢血の急性障害度から3 Gy 重粒子線全身照射を行っても白血病発生予測時期以前にマウスが死亡することなく腫瘍の観察が可能であると考えられた。

現在、X線 3 Gy 照射マウスは 20 匹、重粒子線 3 Gy 照射マウスは 15 匹行っており、マウスが 10 週令になり次第、X線 3 Gy 照射、及び重粒子線 3 Gy 照射を逐次行っていく予定である。

（3）成果発表

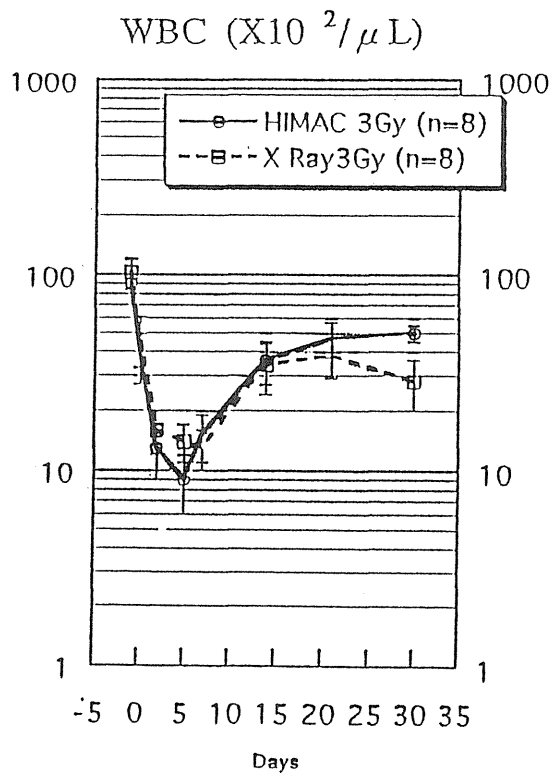
1. Kawase Y, Akashi M, Ohtsu H, Aoki Y, Akanuma A and Suzuki G.: Effect of human recombinant granulocyte colony-stimulating factor on induction of myeloid leukemias by X-irradiation in mice. Blood. 82:2163, 1993.

^a放医研障害・臨床

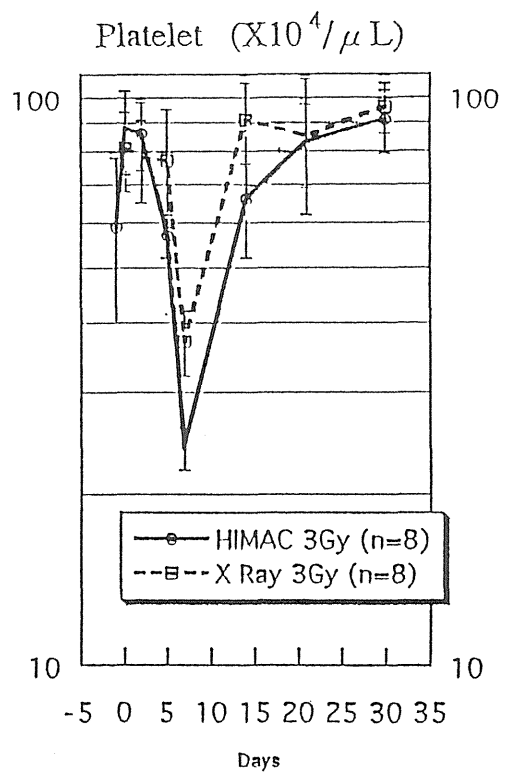
2.川瀬淑子、明石真言、鈴木元、能勢正子、青木芳朗、大津裕司、稲盛健：hr-G-CSFの白血病誘発リスクの検討、日本血液学会第53回総会 口頭発表1991, 4. (京都)

3.川瀬淑子、今井康文、能勢正子、中尾勇：低線量域における放射線誘発骨髄性白血病の潜伏期の差異、日本放射線影響学会第30回大会口頭発表1987, 11. (東京)

重粒子線及びX線3 Gy 全身照射後のマウスの白血球の回復動態



重粒子線及びX線3 Gy 全身照射後のマウスの血小板の回復動態



放射線による遺伝子発現： γ 線と重粒子線との比較

(6B-508)

明石真言^a、大沢宜明^a、川瀬淑子^a、蜂谷みさを^a

1. 研究の目的及び年次計画

宇宙空間は、地上とは異なった粒子線の影響下にある事が想定されている。21世紀にはこの空間を利用した研究が発展することが期待される一方、細胞、組織、動物を用いた基礎研究の要求度も必然的に増加する。最近の研究では、放射線により誘導される遺伝子、また抑制される遺伝子が報告されている。この研究課題では当研究所が所有する重粒子線を始めとする様々な粒子線から受ける生体への影響を遺伝子発現から実験的に考察する。同時に、低線量・長時間被ばく去感受性の高い系を確立することを目的とする。

計画はその発現が放射線によく反応しかつ正常組織と腫瘍組織において差があり、放射線による腫瘍の治療効果の指標となり得るものを検索することから始まる。また長時間・低線量にて差があり、線質により反応動態が異なる遺伝子の検討も行う予定である。同時に発現機序、即ち転写・転写後調節を明らかにする事を最終目標としている。平成6年度はx線もしくは γ 線と重粒子線照射により、培養腫瘍細胞を用いて生物効果をNorthern Blottingを行い、遺伝子発現という観点からこれらの効果を比較したので、非常にpreliminaryながら結果を報告する。平成7年度は発現機序を中心として進める。

2. 今年度の研究経過及び成果

これまでに我々は放射線(x線及び γ 線)によりManganese superoxide dismutase (MnSOD) 及びWAF1/p21の発現が誘導される事を報告している。MnSODは、ミトコ

ンドリアに存在するMnを持った酵素で、放射線等により増加するsuperoxide radical (O_2^-)を H_2O_2 と H_2O に変える。放射線による障害や悪性転換にはこれらのradicalが重要な役割を果たしていると考えられている。また、放射線に対する感受性や抵抗性にも関係している。WAF1 (wild-type p53-activated fragment) は、cyclin-cyclin dependent kinase (CDK)を阻害し、細胞周期を止める。このWAF1遺伝子のpromoterの蛋白質をコードしている領域から2.4Kb上流には、p53の結合部位が存在する事が示されており、WAF1の遺伝子の転写はp53の下流にある事が報告されている。これらの研究によれば、正常なp53を持つ細胞では、放射線被曝に対しWAF1が誘導されるが、正常なp53を欠く細胞ではWAF1が誘導されない。

今回我々は、p53を持たないヒト卵巣癌腫瘍細胞株SK-OV-3を用いて γ 線と重粒子線(Carbon)のこれら遺伝子の発現に及ぼす効果をみた。 γ 線照射4時間後のMnSODの増加は非常に軽度であったが、重粒子線ではほぼ線量依存性に増加し、最大3倍となった(図1)。我々は、p53を持たないヒト骨髓系白血病細胞株KG1で、このWAF1が放射線により誘導される事を見出しているが、 γ 線照射ではSK-OV-3細胞でWAF1は10 Gyまで増加がみられず、20 Gyで増加が認められた。ところがこの細胞を重粒子線で照射するとWAF1 mRNAは線量依存性に増加し、1 Gyで約4倍、20 Gyでは約10倍もの増加が観察された。

今回の結果は、 γ 線と重粒子線にて同線量で照射した場合、MnSODとWAF1の発現に差があることを示している。放射線による障害は細胞の核というよりミトコンドリ

^a 放医研障害・臨床

アの方が大きいとも考えられておりMnSODの発現は治療効果と放射線に対する障害を考える上で非常に重要である。MnSODのoverexpressionは放射線に対する抵抗性を増す事からも発現動態の研究は有効な治療方法の確立に貢献する。また、今回の検討では重粒子照射によりp53を欠く細胞でWAF1がより効果的に誘導された。これまでp53のない細胞ではWAF1は発現しないと考えられていたが、WAF1発現は放射線によるapoptosisにおいて重要な働きを示しており、注目される結果である。しかしながら、LET (40 KeV)・線量率などが単一であるなど結論を導くには不十分であると言わざるを得ない。低線量・長時間の効果など宇宙医学への応用を目指して詳細な検討が望まれる。さらにこの発現機序を転写及び転写後調節、即ちmRNAの安定化や生化学的な検討もこれからの課題である。

3. 成果発表

1. Akashi, M. et al. Irradiation induces WAF1 expression through the p53-independent pathway in KG1 cells. The American Society of Hematology : 36th Annual Meeting. Nashville, Tennessee December 1994.
2. Hachiya, M. et al. Irradiation increases Manganese superoxide dismutase gene through production of TNF in monocytic cells. The American Society of Hematology : 36th Annual Meeting. Nashville, Tennessee December 1994.
3. Shiohara, M. et al. Stabilization of WAF1 mRNA by tumor necrosis factor. The American Society of Hematology : 36th Annual Meeting. Nashville, Tennessee December 1994.

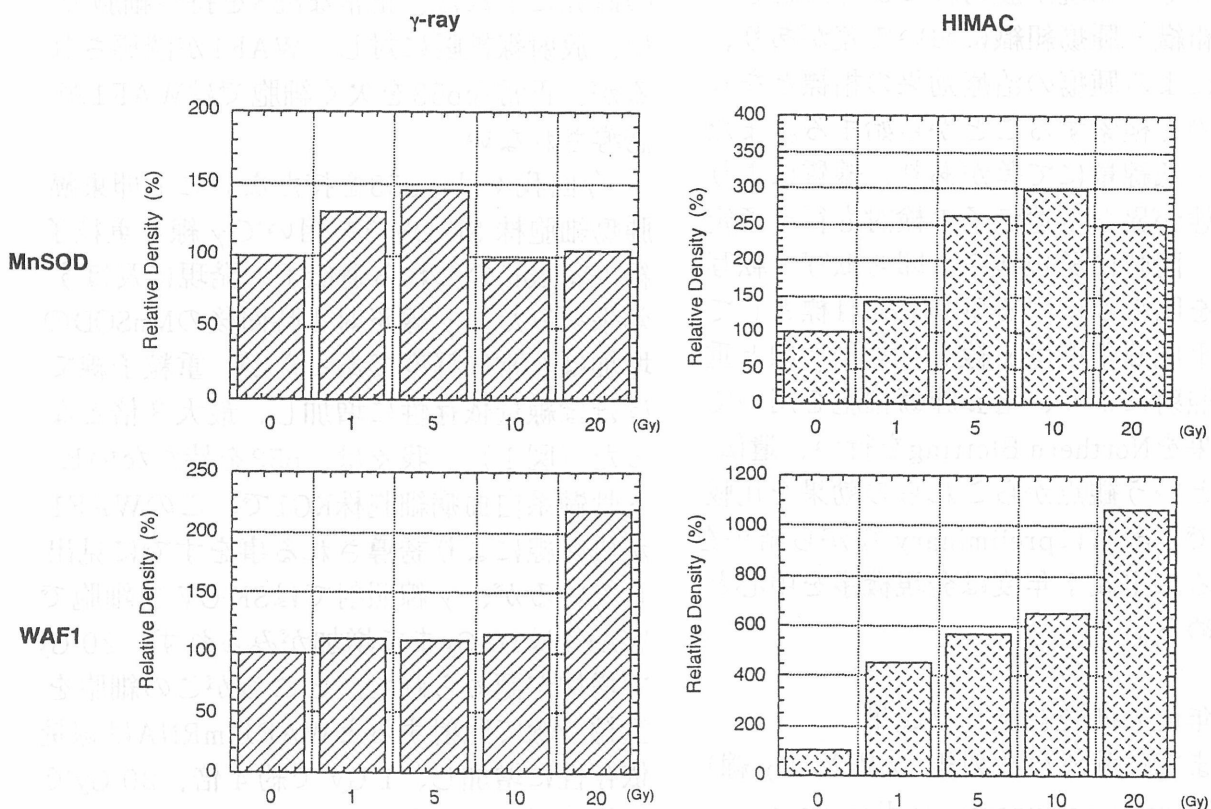


図1. ヒト卵巣癌細胞 SK-OV-3 におけるMnSODとWAF1 mRNAの発現。 γ 線もしくは重粒子線(Carbon)で照射、4時間培養後 total RNA を抽出し Northern Blotting を行った。得られたMnSOD・

WAF1バンドは、デンシトメーターで定量し β -actinバンドにてRNA量を補正した。照射していないもの(0 Gy)を100%とした。

物 理 · 工 学 班

重粒子線治療計画法の開発に関する研究

(6P-001)

遠藤真広^a、古山浩子^a、蓑原伸一^a、宮原信幸^a、外村浩美^a、東 明男^a、
金井達明^a、中村 譲^a、溝江純悦^a、中野隆史^a、伊藤 彬^b、稲邑清也^c、
西台武弘^a、高井通勝^a、George Chen^f

1. 研究の目的及び年次計画

重粒子線はその優れた線量分布と生物効果のため、治療成績の向上と正常組織の障害の減少を目的とした高精度な治療を行うことが可能である。しかし、その可能性を十分に活かすためには、病巣領域を的確に決め、そこに線量を集中する治療計画を行い、それを忠実に再現する治療を実施する必要がある。本研究はそのような治療計画法を開発することを目的として、5年程度の期間にわたり、病巣領域の抽出、線量分布の計算と測定、ビーム整形並びに生物効果などの側面から多面的に進める。臨床試行を円滑に進める観点から操作性の向上及び計算処理の高速化についても研究を進める。さらに、本研究の成果を光子治療の高精度化という形で一般の放射線治療に還元することも目的とする。

2. 本年度の研究経過及び成果

2.1 操作性の向上

本年度は臨床試行開始の年であり、年度末までに21名の患者の治療を行った。臨床試行を円滑に進めるため、従来からの研究の中で開発してきた重粒子線3次元治療計画装置の操作性の大幅な向上をはかった。主な点は次の通りである。

1) ハードウェアを従来の TITAN 750V (クボタコンピュータ製) から、Indigo2 (Silicon Graphics Inc. 製) へ変更した。この結果、計算速度やレンダリング速度が2-3倍に向上した。

2) 1) に伴いグラフィカルユーザーインタ

ーフェースを非標準のものから標準的な OSF/Motif ベースのものに改めた。

3) 輪郭入力方法を改善し、前後スライスの参照及び輪郭線の編集機能を付加した。この結果、標的(病巣)の3次元的形状がより実際に近いものとなった。

4) 照射野サイズ、照射野面積、標的体積など臨床試行で必要になるパラメータの計算機能を追加した。

2.2 照射パラメータファイルの作成

重粒子線治療においては、治療計画によって決められた照射野を実現するため照射ビームラインに配置されている機器の運転パラメータを制御する必要がある。HIMACでは、これらのパラメータは治療計画の際に照射パラメータファイルを参照することにより得られる。今年度は臨床試行の開始にあたり、290 MeV/n のエネルギーの炭素ビームに対してそのようなファイルを測定データから作成した。

照射装置のパラメータを決めるために、CT画像から標的径、標的最大厚、ビームの体内飛程を求める。この際、CT値を用いて不均一性の補正を行う。これらからまず照射野径、リッジフィルター種別(SOBP幅)、レンジシフト長などを計算する。次に、ワブラー電流、散乱体厚、RBEなどを照射パラメータファイルを参照することにより求める。表(1)-(3)はパラメータファイルの例であり、水平コースの11cmφの照射野に対してのものである。

2.3 頭部ファントムによる線量計算精度のチェック

治療計画で用いている線量計算精度をチェックするため、頭部ファントムに線量計を挿入し、患者治療と同一手順で照射を行い治療計画と実測線量とを比較した。頭部ファントムの左下顎から上顎にかけて直径 1 cm の孔をあけ、線量計を挿入した。線量計はPTW 電離箱と半導体を用いた。結果を表4に示す。表より左側の軟部組織のみを通過した場合の計画値と実測値のずれは±2%程度、右側より顎骨（及び歯）を通過した場合のずれは±5%程度であることがわかった。誤差の原因については検討中である。

3. 成果発表

- 1) 遠藤真広：重粒子線治療における治療計画 Med Imag Tech 9:134-138, 1991
- 2) 古山浩子、遠藤真広：重粒子線治療計画への画像位置合せ法の試用。3次元画像コンファレンス講演論文集。pp251-256, 1994
- 3) 古山浩子、遠藤真広：Digitally reconstructed radiograph の開発。日本医学放射線物理学会誌（印刷中）
- 4) 遠藤真広、古山浩子、葦原伸一：重粒子線治療における3次元画像の役割。Med Imag Tech（印刷中）

^a放医研 重粒子治療センター、^b癌研究所物理部、^c大阪大学医学部、^d京都府立医療短大、^e浜松医科大学、^fUniv. of Chicago

表1. 照射パラメータ(1) ワブラー電流 BHC. 11 cmφ

リッジフィルター サイズ	ワブラー電流	
	X	Y
30 mm	268.1 A	294.7 A
40 mm	261.4	287.4
60 mm	261.4	284.4
80 mm	261.4	287.4
100 mm	278.0	305.6
120 mm	278.0	305.6

表3. 照射パラメータ(3) RBE

リッジフィルター サイズ	RBE
30 mm	2.78
40	2.62
60	2.41
80	2.28
100	2.18
120	2.10

表2. 照射パラメータ(2) 散乱体厚(mm) BHC. 11cmφ

リッジフィルター サイズ	レンジシフト長(mm)								
	0	10	20	30	40	50	60	70	80
30 mm	0.8		0.7			0.6			
40	0.7			0.6			0.5		
60	0.7		0.6		0.5				
80	0.7	0.6			0.5				
100	0.7								
120	0.7								

表4. 計画値と実測値

左側より照射			
線量計	計画値(A)	実測値(B)	B/A
CH1	0.93 Gy	0.918	98.7 %
CH2	0.98	1.002	102.2
CH3	0.98	0.986	100.6
PTW	0.85	0.862	101.4
右側より照射			
線量計	計画値(A)	実測値(B)	B/A
CH1	0.94 Gy	0.892 Gy	94.6 %
CH2	0.89	0.960	107.9
PTW	0.96	0.951	99.1

重粒子線の照射初期過程における時間分解ESRイメージングによる研究

(6P-002)

大野桂一^a、峯岸安津子^b、塩谷優^c、八尋秀典^c、土橋宣昭^d、小沢俊彦^e

1. 研究の目的と意義

高LETの重粒子イオンを高エネルギーで照射すると、重粒子イオン自身の電荷変化と核反応に伴う核種変換、またノックオンによる反跳粒子及び主に電子からなる2次粒子が生成する。これらの2次放射線の空間における方向と広がりはかなり異なり、照射直後生成する反応種は不均一となるがしかし液体や軟組織では時間とともに拡散することが予想される。生体組織内における飛程は数10cmに及ぶものと見られるから、かなり複雑な放射線場が出現する可能性がある。ESRは放射線効果に大きな役割を果たすラジカルを選択的にしかも高感度で検出する機器である。塩谷はじめ共同研究者達はこれにより多くのラジカルが関与した反応の研究を行って、大きな成果を上げている。ESRイメージングは更にラジカルの空間分布を測定するために申請者がパイオニアの一人となり開発して来た研究手法である。本課題では重粒子パルスに同期したマイクロ秒オーダーの時間分解能ESRイメージングを開発し、不均一な2次放射線場におけるラジカル反応を空間及び時間系列で研究することを目的とする。

1994年度 全研究分担者にとって重粒子照射は初めての経験であり、具体性のあるイメージが得にくいこともあって初年度は“慣らし”と放射線場の把握を主目的にした実験にならざるを得ない。従って各研究者の使用しているESR装置の実用感度に入るラジカル量を得る照射条件を探り、併せて現実の実験環境のもとでどのような実験がより有意義な研究であるか、の方向固めを行う事にした。

1995年度 既に94年度の測定で大変興味のある結果が得られている。すなわちガラスに吸着した水と重粒子線の炭素原子自身が反応し、ホルミルラジカルとなっている可能性が観測された。 C^{6+} は照射中に C^{n+} ($n=5, 4 \dots$)と変化するし、高エネルギーのため核変換も可能性があり色々と興味のある反応が照射深度に沿って期待できる。95年度は深度をパラメータとした実験を行なう。

^a 職業能力開発大学校情報工学科、^b 神奈川大学総合理学研究所、^c 広島大学工学部応用化学講座、

^d 福島県立医科大学 RI 研究室、^e 放医研薬理化学部

2. 今年度の研究経過及び成果

【大野、土橋G】 初年度であるため生成したラジカルを各共同研究者の研究室に持ち帰るための低温保存容器が揃わなかった。取り敢えず室温で安定なラジカルを生ずるアランを主体に実験を行った。

試料 日立電線（株）製の線量計用アラン試料（商品名：アミノグレイ）を3個使用した（成分、アラン：ポリスチレン、70：30重量%、サイズ、直径3mm、長さ15mm、密度、 1.23g/cm^3 ）、照射場 放医研重粒子棟地下2F E14（線種： C^{60} 、ビーム直径：12mm、最大線量率：13Gy/sec（この線量率で15分間照射すると放射化が著しいとのこと）、照射方法、照射により蛍光を発する蛍光板に方眼目盛りをし、モニターによりビーム位置を確認しておく。試料をその位置に固定する。床からビームまで125.5cm。試料は化学用スタンドのアームで調整する。試料①：48.2nC、カウンターで482（1カウンター=0.1nCに相当）、石英管に入れて照射（約1000Gy）。試料②ホルダーに入れたまま照射（47.0nC）。試料③試料①と同じ状態で、線量を1桁落とす（5.1nC）、試料①、③を大野が、試料②を土橋が持ち帰り測定した。

測定結果、室温保存後のESR測定の結果、用いた線量がESR測定に適量なであることがわかり、実験のルチン化ができた。得られたスペクトルは従来報告されて来たガンマ線照射のスペクトルと類似のものである。ガンマ線照射のアラニン結晶については線量と電子スピン緩和時間の関連が報告されている。本研究におけるような重イオン粒子線照射による場合の緩和時間との比較は興味あるところである。

【峯岸G】 汎用照射室：DL- α -アラニン（多結晶）、N-アセチル-DL-アラニン（多結晶）を2KGY, 1KGY, 500GY, 100GY照射した。前者では線量に比例した脱アミノラジカル($\cdot\text{C}(\text{CH}_3)\text{HCCOO}$)が生成。後者では脱カルボキシルラジカル($\text{C}(\text{CH}_3)\text{ONHC}(\text{CH}_3)\text{H}$)が前者の2%以下の収率で生成する。この他ESR石英試料管のみの照射で、従来見出されていないホルミラジカル($\text{HCO}\cdot$)であろうと思われるラジカルが検出された。ホルミラジカル内のCは重粒子のCが考えられる。生物照射室：同一試料に200GY照射。キャピラー管に入れた複数の試料を、アクリル板で照射口より一定間隔とすると共に、水換算を行なった。アランラジカルの生成量を水の深度でプロットするとBragg peakに対応する曲線が得られた。N-アセチル-DL-アラニンについてはラジカル生成量が十分ではなく生成曲線を得られなかった。生体関連物質への重粒子線効果をESRから検討するためには液体窒素温度での実験が必要である。1月27日に今年度最後の実験を行なう予定である。

【塩谷G】 諸般の事情により第1回目の実験を1月27日に行なうように計画している。地理的に遠方なことから、現在照射して即測定が出来ない環境にあるため、この問題を選ぶ試料や用具で克服する必要がある。

重粒子線とプラズマの相互作用に関する研究

(6P-003)

小川 雅生^a、中島 充夫^a、藤井 浩太郎^a、細貝 知直^a、幕内 秀和^a、
岩瀬 修^a、遠藤 剛^a、中村 匡志^a、堀岡 一彦^a、宮本 修治^b、村上 健^c

1. 研究の目的及び年次計画

重イオン加速器技術への応用及び重イオン慣性核融合の基礎物理を目的として、重イオンビームがプラズマに入射する場合の物理現象を実験により調べる。特に興味深い相互作用は高密度プラズマ ($n_e > 10^{19} \text{ cm}^{-3}$) と中・低エネルギーの各種重イオンとの衝突に期待される。今年度はZピンチ放電により高密度水素プラズマ

($n_e \sim 10^{18} \text{ cm}^{-3}$) を生成するプラズマ標的の製作とその差動排気系へのビーム輸送試験が行われた。平成7年度には標的プラズマの分光光学測定、アルバレイナックからの重イオンビーム (6 MeV/u の12Cや14N) によるエネルギー損失測定、荷電状態変化を計測するための測定系の開発などを計画している。平成8年度以降には、エネルギー損失の入射イオンのZに対する依存性、Zピンチプラズマの高密度化、RFQライナックからの低エネルギービームの利用、更に低いエネルギーの重イオンを用いた測定、レーザ生成プラズマの実用化などを考えている。

2. 今年度の研究経過及び成果

ガス放電によるプラズマ標的として差動排気系を製作した。充填ガス密度は10 Torrであり、ビームラインの真空度10-6 Torrを乱さないことを設計目標とした。放電コラムは長さ175 mm, 直径80 φのガラス管である。この寸法は封じきりの放電コラムによる準備実験の結果から決定されたものである。排気系は排気速度1000 m³/hのメカニカルブースターポンプ、2台のターボ分子ポンプ、4インチ配管などから構成される。機械工作の精度が原因のため、6枚の2 φアパーチャーのアライメントに少し問題を残しているけれど

も、真空排気はうまく動作することが分かった。94年11月のマシンタイムでは差動排気系を中エネルギー室のビームラインに接続し、12Cビームを透過率は僅かであるが系の最後まで輸送することができた。現在はガスフロー形式の放電コラムによるZピンチ放電を行うための、高電圧回路を組み立てている。95年2月のマシンタイムでは、水素ガス標的を透過する12Cイオンをプラスチックシンチレーターを用いてモニターする予定である。

3. 参考文献

D.H.H.Hoffmann et. al, Particle Accelerators, 37-38 (1992) 371-384

D.H.H.Hoffmann et.al, GSI Scientific Report 1993

4. 成果発表

細貝知直ほか、[プラズマ・重イオン相互作用実験のためのプラズマターゲット] 日本物理学会94年秋講演予稿集第1分冊、p125

a 東工大総合理工、b 大阪大学レーザ研、
c 放医研重粒子

重粒子線による三次元照射に関する研究

(6P-004)

金井達明^a、蓑原伸一^a、宮原信幸^a、外村浩美^a、松藤成弘^a、河野俊之^a、遠藤真広^a、古沢佳也^a、鈴木雅雄^a

1. 研究の目的及び年次計画

重粒子線によるがん治療は、陽子線の線量分布の良さと中性子線の生物効果の高さを兼ね備えている治療であると期待されている。腫瘍部に線量を集中させることはすべての放射線治療にとって全く疑いなく治療効果を上げることに直結する。特に重粒子線の場合は、その生物効果が大きいことから、正常組織によけいな線量を照射しないことは特に重要である。この意味から重粒子線の深部線量分布における鋭いBraggピークを腫瘍部だけに限定して照射する三次元照射法の開発は重粒子線治療における正常組織の傷害を少なくし、治療効果をあげることには貢献することは疑いない。

2. 今年度の研究経過および成果

2. 1 制御プログラムの整備

今年度は三次元照射を治療照射ポートBで行うための機器の整備および機器制御のソフトウェアの整備を行った。また、三次元照射を行った場合の正常組織への線量一体積ヒストグラムをヘリウム・カーボン・ネオンの間で比較したり、二次元照射との比較を行ったりして三次元照射の有効性を比較検討した。三次元照射では多葉コリメータの開口形状、高速レンジ・シフターの厚さを照射線量の大きさにしたがって変える必要がある。制御プログラムでは、プリセット・カウンタ一値、多葉コリメータの開口形状、高速レン

ジ・シフターの厚さを1セットとしたスライス毎のデータ列を用意し、照射直前にデータを各機器に送信する。照射スタートしてからは、ビーム照射されてプリセット値に達するごとに形状・厚さを変えるトリガー信号を多葉コリメータ・高速レンジシフターに送り、あらかじめ送られている形状・厚さに設定していく。今年度はこの制御プログラムを整備してモニターの信号で線量に応じてあらかじめ決められた多葉コリメータの開口形状、高速レンジ・シフターの厚さに設定されることを確認した。また、レンジ・シフターを照射中に変化させるので、一様照射条件が照射中にやぶれる可能性もある。十分一様照射条件が保たれる環境で照射できるようにレンジ・シフターでの散乱の大きさを測定し確認した。

2. 2 シミュレーションによる線量一体積ヒストグラム

計算による深部線量分布を用いて、三次元照射した時の線量分布を計算し、いろいろな場合の線量一体積ヒストグラムを計算した。図1に7cm直径の球状のターゲットを15cmの飛程のビームで照射した場合の結果を示す。入射ビームをカーボン・ネオン・ヘリウムにした場合の比較を示している。カーボンの場合が一番正常組織への線量が少ないことがわかる。図2には3次元照射と2

Dose-Volume Histogram
7 cm diameter Target, 15 cm Range Beam

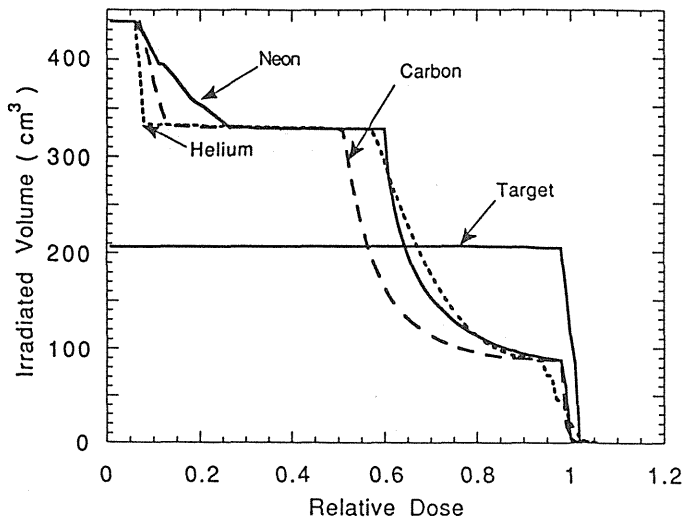


図1 三次元照射時の線量一体積ヒストグラム。ヘリウム、カーボン、ネオンの場合の比較

次元照射の違いを示している。点線が2次元照射の場合で実線が3次元照射の場合である。明らかに3次元照射の方が正常組織への線量・体積が小さくなっている。

来年度からは3次元照射を行って、線量分布を測定し、計画どりの線量分布になっていることを確かめる予定である。

^a放医研重粒子

Dose-Volume Histogram
C 15 cm Range, 7 cm φ Target

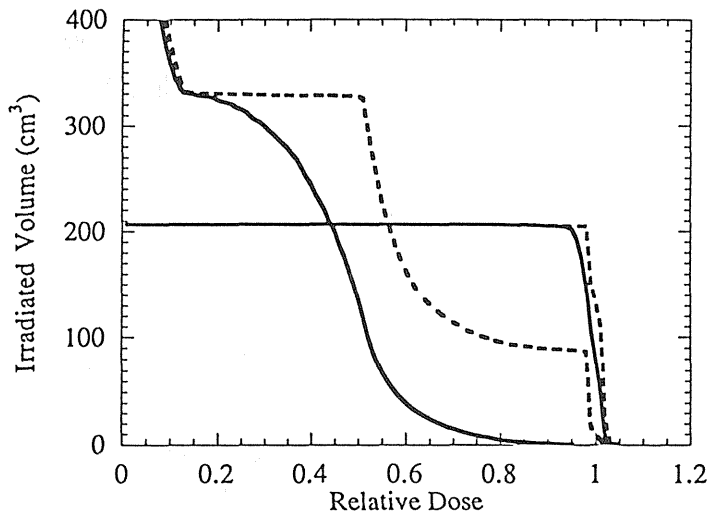


図2 三次元照射時の線量一体積ヒストグラム。2次元照射の場合との比較

重粒子線治療照射法に関する総合的研究

(6P-005)

金井達明^a、外村浩美^a、松藤成弘^a、福村明史^b、河野俊之^a、古沢佳也^a、安藤興一^c、
鈴木雅雄^a、福津久美子^d、板野明史^e、正木満博^f、渡辺伸一^g、富沢正人^g、
吉沢盛男^g、畑中吉治^h、細野和彦^h、佐藤健次^h、板橋隆久^h、松多健策^h、福田光順^h

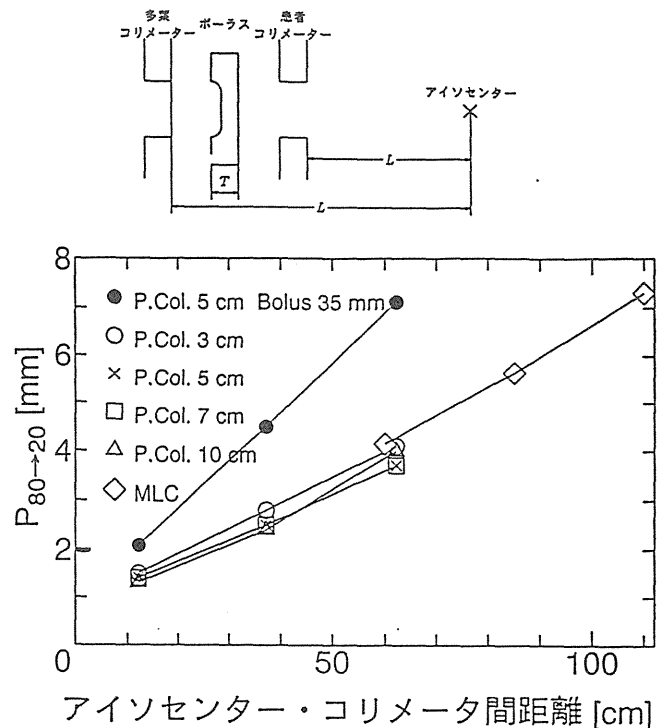
1. 研究の目的および年次計画

重粒子線によるがん治療は、陽子線の線量分布の良さと中性子線の生物効果の高さを兼ね備えている治療であると期待されている。しかし、実際には重粒子線を治療に適用していくうえで、最適の照射方法を求めていく努力が必要である。最適の照射方法を検討していく上で、第一に物理的側面からよりよい線量分布を実現していく照射装置の様々な機器の配置の最適化を検討していくことが必要となる。第二に重粒子線の生物学的効果の高さを検討し、最適の拡大Braggピークを設計していくために重粒子線の線質を測定または計算していく必要がある。第三に重粒子線治療における最適の分割照射のスケジュールを求めていく治療モデルを確立していく必要がある。これらの研究を通じて重粒子線の最適の照射方法あるいは最適の重粒子線の核種を見いだせることができる。

2. 今年度の研究経過および成果

2. 1 照射野形成

今年度は、まず第一に重粒子線の治療装置として使用できることを示すために、照射装置でつくられた炭素290MeV/uビームの一樣照射野のペナンプラの大きさや照射野の大きさの拡大率の測定を行った。これ



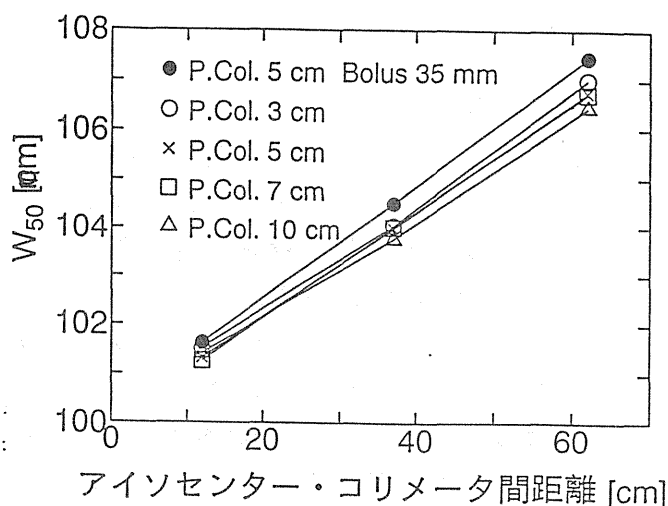
$$P_{80-20} = (1.72 + 0.0574 \cdot T) \frac{L}{370} + 0.8 \text{ [mm]}$$

T : ボーラス厚

L : アイソセンター・コリメータ間距離

図1-1 ペナンプラの大きさの照射位置・コリメータ間距離依存性

らの測定から、まず照射入射面でのペナンプラの大きさや照射野の大きさの拡大率についての経験則を導いた。また、一様媒質内での線量分布も測定し、現在は簡単にペナンプラの大きさや照射野の大きさの拡大率を計



$$W_{50} = (W/100) * (L/370) * (4.07 + 0.0143 T)$$

W: コリメータ幅

T: ボーラス厚

L: アイソセンター・コリメータ間距離

図1-2 50%照射野幅の照射位置・コリメータ間距離依存性 (コリメータの幅は100mm)

算する方法について検討中である。図1にペナンプラの大きさや照射野の大きさの拡大率の測定結果について示す。

2.2 線質測定

重粒子プロジェクトの福村グループとも協力して重粒子線治療場における線質を測定した。検出器系は理化学研究所のリングサイクロトロンで加速されたC135MeV/uの線質測定ですでに開発してきたTEガスフローの比例計数管によるLET測定器、シリコン検出器の ΔE とBGOシンチレーションによるE検出器のカウンター・テレスコープ法による粒子識別検出器の組み合わせを用いている。今年度は、最大30cmの飛程をもつ重粒子線を測定できるように

スケール・アップした検出器の特性を調べた。最終的な結果はまだ検出器の改良を待たねばならないが、図2に得られた単色C290MeV/uビームの試験的な粒子弁別測定の結果を示す。

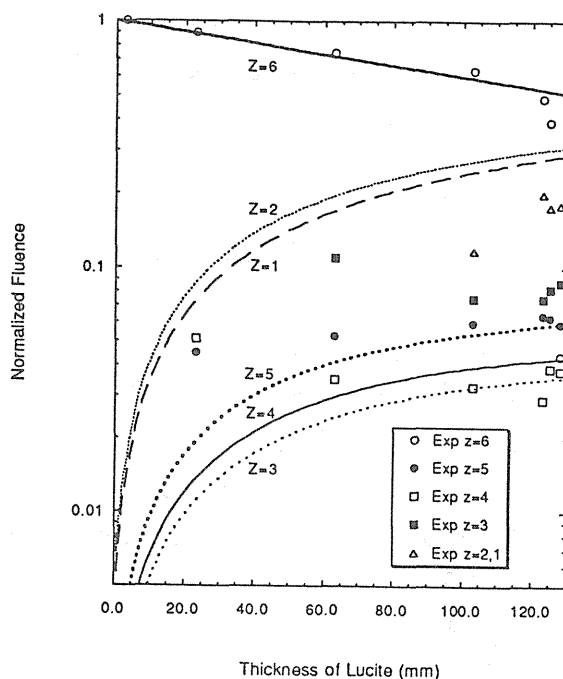


図2 C290MeV/u一様ビームがルサイト中を進行する際の各電荷Zをもつ粒子のフルーエンスの分布

2.3 分割照射法の検討

今年度は結果的には分割照射法の検討までは行き着かなかった。来年度は線質の測定及び生物効果の大きさのデータから治療モデルの検討を進めていきたい。

^a放医研重粒子、^b放医研物理、^c放医研障害・臨床、^d放医研障害基礎、

^e兵庫県、^f筑波大、^g東大核研、^h大阪大学

重粒子線治療における放射線防護

(6P-006)

隈元芳一^a、白貝彰宏^a、野田 豊^a、丸山隆司^b

1. 研究の目的および年次計画

本研究の目的は重粒子線加速装置をがん治療に使用する際の放射線防護である。研究のテーマは本装置において発生する中性子およびガンマ線の遮蔽および患者の治療部位以外の臓器の線量および実効線量の測定である。

先ず遮蔽に関して述べる。現施設の遮蔽性能は確保されているわけであるが、将来、本施設の拡充また他施設の建設にあたってより効率的な遮蔽を行うためには、実際に運転されている施設での測定が重要である。研究は現施設の空間線量の測定、遮蔽体を使用した測定実験、モンテカルロ計算との比較などを行って重粒子加速装置に関する遮蔽指針の作成を行う予定である。本年度は現施設、特に物理・汎用照射室における測定を行った。

治療部位以外の臓器・組織の被曝線量を測定し、がん治療に伴うそれらへの影響を推定することがもう一つの目的であるが、本年度は測定方法の検討の第一段階として、熱ルミネセンス線量計 (TLD) を用いる方法について検討を開始することとした。

2. 今年度の研究経過および成果

2.1. 空間線量測定

中性子線の実効線量当量の測定には減速材とBF₃カウンターを組み合わせたいわゆるレムカウンターが使用される。このカウンターは熱エネルギーから15MeVの中性子に対しては実効線量当量を防護上必要な精度で与える。しかし、重イオン加速装置において発生する中性子は数100MeVにも及ぶ。この高エネルギー中性子による実効線量当量の測定には¹²C(n,2n)¹¹C反応を利用する。この反応の断面積とフルエンス対実

効線量当量がエネルギーに関して同じような変化をするので、フルエレンを測定することにより実効線量当量を決定できる。

¹¹Cの半減期は20.38分である。¹⁾

5インチ直径 x 5インチ長のプラスチックシンチレータ (NE102A) をコンクリート4.5mの後方に設置し、炭素400MeV/n、粒子数 $\sim 10^8$ ppsで1時間照射する。5インチ光電子増倍管と接合し遮光蓋をかぶせ5cmの鉛遮蔽体の中に設置し測定する。半減期補正を行い、反応断面積、線量当量換算係数などを用いて計算した実効線量当量はレムカウンターで測定した値と同じ程度であった。求める実効線量当量はこの2つの測定器の値の和である。レムカウンターは20MeV以上の中性子に対しても10-20%の寄与があると思われるので遮蔽壁後方の実効線量当量はこの2つの測定器の結果の和を越えることはない。実際の測定結果は、小さく問題はない。炭素100MeV/nの場合は20MeV以上の成分は上記コンクリート後方では検出限界以下であった。

本年度はこの他、2, 3, 5, 8, 12, 10, 18インチ直径のボナー球、通過型電離箱の設計、発注、製造を行った。デテクターとしてはBF₃カウンターのほか、ボロン10の薄い膜とポリカーボネイトフィルムを対向させたものを使用する。また、広領域レムカウンターを発注した。このカウンターは従来のレムカウンターが高エネルギー中性子に対して感度が低下することに対処するために鉛の層を付加し、高エネルギー中性子による(n,2n),(n,3n)などの反応を利用している。今後はこれらの装置を用いて中性子線の線質測定、コンクリートの厚さを変えた遮蔽実験を行う予定である。

2. 2. 臓器・組織の吸収線量

現在治療に用いられている290MeV/nの炭素ビームを用いて、TLD素子 $Mg_2SiO_4:Tb$ による線量測定の基礎的検討を行うことを最初の目標とした。最終的な目的は主ビーム外での線量測定であるが、重イオン照射場での素子の線量計としての特性をまず検討しておく必要があるために、主ビームを用いて、線量特性、エネルギー特性、SOBPビームの深部線量分布などの予備的測定を行った。

炭素ビームの線量は生物照射室での照射において基準とされている電離箱で測定を行い、TLDによる線量評価では ^{60}Co γ 線の空巾組織吸収線量に対するレスポンスを基準にした。

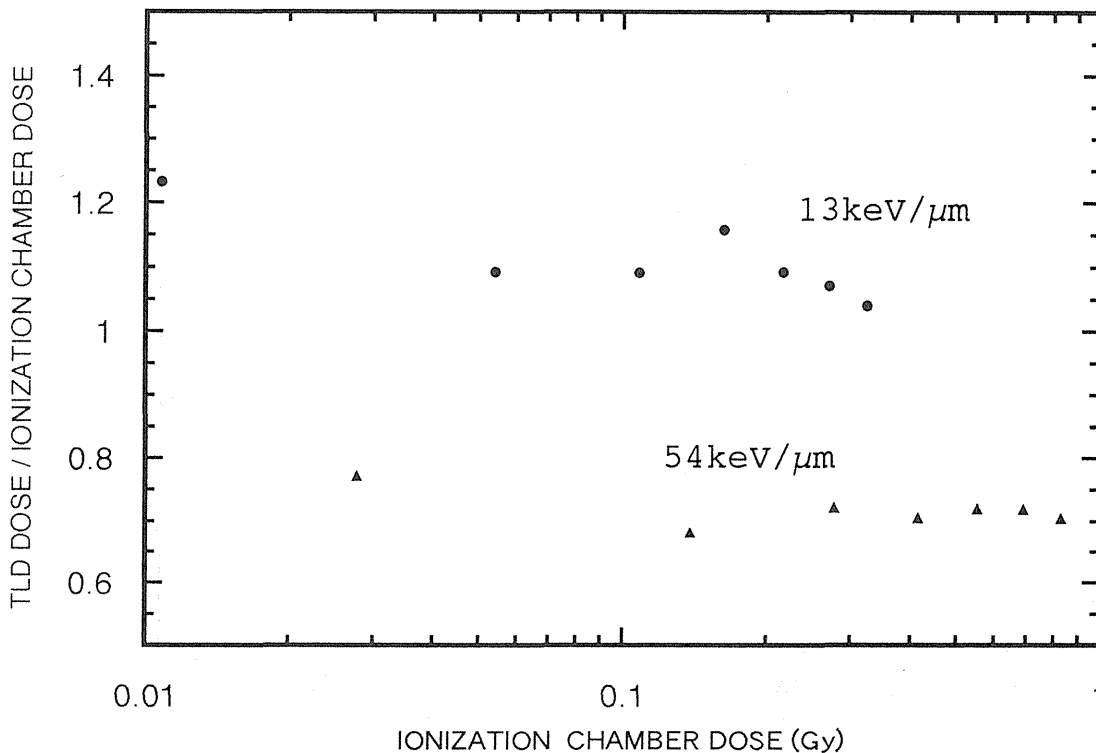
結果の一例を図で示す。この素子は線量感度が高いためにビーム強度をかなり低くしても照射する線量の統計精度が悪く、また測定数の関係もあって実験精度が良くないために一つの傾向として例示するにとどめた。レスポンスの線量依存性や線質依存性があるような結果を示している。

今後は、さらに精度の良い実験を行い詳細な検討を加えていく予定である。また、他のTLD素子についても検討を行いたい。

3. 参考文献

- 1.H.W.Patterson and Ralph H. Thomas, Accelerator Health Physics, pp621-626.

a物理研究部 b養成訓練部



高エネルギー重イオン反応で生成する核異性体の探査 (6P-007)

郷農靖之^{a)}、御手洗志郎^{a)}、村上 健^{b)}

1. 研究の目的及び年次計画

本研究では、高エネルギー重イオン反応における核異性体生成率を実験的に研究することを目的にしている。従来、反応機構の研究では、角運動量移行は実際上無視出来た。しかしながら、このようなバイオレントな反応では、基底状態では角運動量ゼロの対を組んでいる多くの核子対が壊されて入射粒子破砕片も標的粒子反応片も高い角運動量状態にあることが期待される。従って、種々の核異性体の生成も当然期待されることになるが、過去にはこのような研究はなされていない。我々は3年計画で上記の研究を実施する。平成6年度はその準備期間と位置付けている。

2. 今年度の研究経過及び成果

我々の研究に直接関係する過去の重イオン反応の研究報告として、入射粒子破砕片の核異性体生成率の測定結果が2～3の論文に見られる(参考文献1,2)。これらの研究はいづれも比較的軽い元素についての研究であるので、低い角運動量の核異性体のみが研究対象になっている。しかしながら例えば文献2の30 MeV/uのビームによる $^{12}\text{C}(^{40}\text{Ca}, ^{42}\text{Scm})^{10}\text{B}$ 反応では基底状態(スピン=0)に比べて核異性体(スピン=7)が50倍多く生成されたことが報告されている。又、文献1には500 MeV/uの ^{46}Ti ビームを ^9Be 標的に照射して、生成した ^{43}Sc の5～10%の割合がスピン=19/2の異性体であったとの報告がある。

これらの実験結果は、より重い元素の標的核破砕片ではより高い角運動量の核異性体の生成が十分に期待出来ることを示している。そこで放医研HIMACに比べて遥に低いエネルギーのビームを用いた理研での核異性体探査実験で、我々が核融合反応を使って見いだしたN=83の原子核(^{144}Pm , ^{145}Sm , 等)のスピン=27、49/2の核異性体が100～600

MeV/uの非常に高いエネルギーのビームによる標的核破砕反応で生成出来るかどうかを研究することは極めて興味深いものである。

そのために先ず、高エネルギー重イオンビームによるA~150領域核生成の実験例を調査すると、文献3に86 MeV/uの ^{12}C ビームでTa, Tm等の標的を照射した時のA~150領域核生成反応断面積が図1のように報告されており、生成断面積が十分に大きいことが分かる。

更に、これらの標的核破砕片のエネルギー分布と角度分布は文献4、5に報告されており図2、3に示した。これによれば、エネルギーは薄膜ストッパーで捕獲するのに適した十分に低いものであり、角度分布も捕獲膜で捕獲しやすい大きな角度まで広がっていることが分かった。

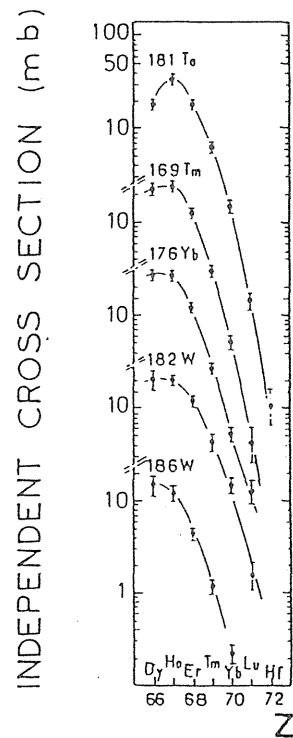


図1

以上の調査から、以下の実験条件で実験を実施すれば良いことが分かった。

標的： ^{165}Ho $\sim 1 \text{ mg/cm}^2 (8\mu\text{m})$

ビーム： ^{12}C , ^{14}N 100 \sim 600 MeV/u

捕獲膜：Al箔 $5.4 \text{ mg/cm}^2 (20\mu\text{m})$

この時、A \sim 150 領域核種の生成量は、 $Y \sim 10^3 \text{ sec}^{-1}$

と評価され、ガンマ線測定に十分な量であると言える。

現在、本実験に必要な標的と捕獲膜を設置出来る真空箱を製作中である。

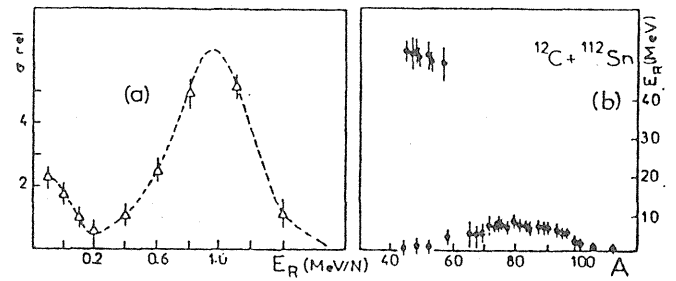


図 2

参考文献

1. W.D.Schmidt-Ott et al., Z.Phys.A 350, 215 (1994).
2. J.L.Uzureau et al., Phys.Letts.B 331, 280 (1994).
3. J.P.Dufour et al., Phys.Letts. 109B, 265 (1982).
4. J.Blashot et al., Z.Phys. A 303, 85 (1981).
5. Y.Morita et al., Phys.Rev.C26, 511 (1982).

- a) 九州大学 理学部
 b) 放射線医学総合研究所 医用重粒子
 物理・工学研究部

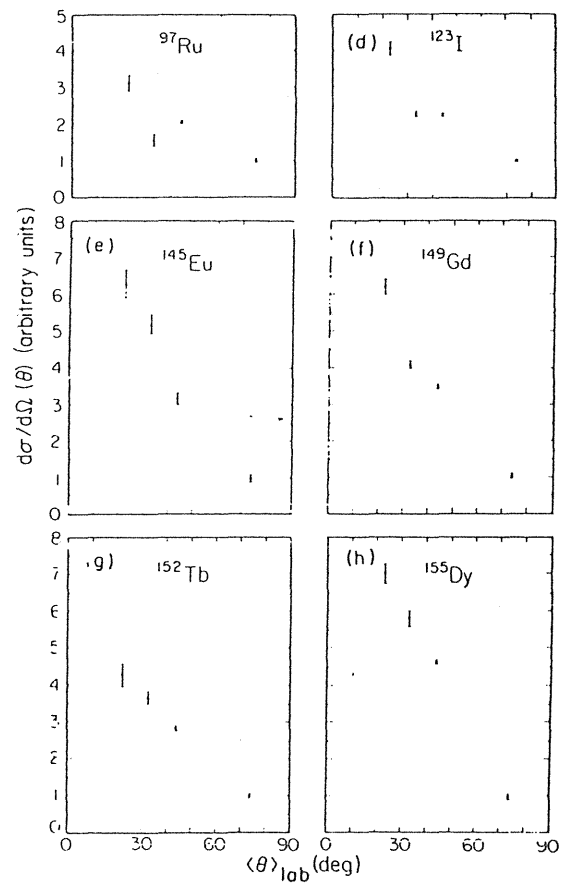


図 3

逆運動学による (p, 2p) 準弾性散乱のテスト実験 (6p-008)

小林俊雄¹ (理研)、高田栄一² (放医研)

1. 研究の目的

高エネルギー陽子を用いた (p, 2p) 準弾性散乱は原子核中の単一粒子軌道の情報を得る方法として用いられてきた。逆運動学を用いた重イオン (2次原子核) ビームと水素標的の組み合わせでは不安定核を含むすべての原子核を研究の対象にすることができる。この方法はまだ試された事がないが不安定核中の単一粒子軌道の情報を得る有用な方法と思われるので、1次重イオンビームを用いて、この新しい実験方法の確立を目指す。将来はこの方法を2次原子核ビームにも適用する予定である。

2. 年次計画

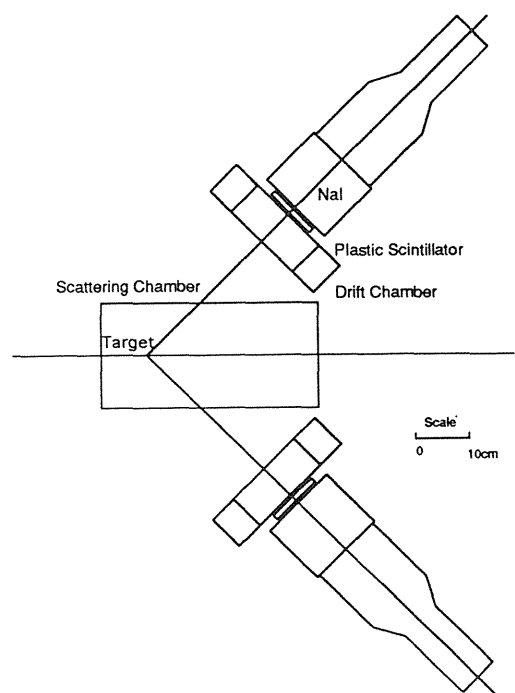
平成6年度：検出器系の準備と製作。
平成7年度：軽い原子核ビーム (炭素や酸素) を用いたテスト実験。主にバックグラウンドの調査や入射エネルギーの最適化。
平成8年度：テスト実験の継続と重いビームへの拡張。

3. 今年度の研究経過

考えている実験の配置図を下に示す。重イオンビームとポリエチレン標的中の水素の準弾性散乱から実験室系45度 (重心系90度) 付近に放出される2個の陽子はドリフトチェンバー、プラスチックシンチレータとNaIによってその位置、エネルギー損失と全エネルギーが測定される。2個の陽子の全エネルギーから放出された陽子がしめていた軌道の束縛エネルギーが、又陽子間の角度相関から軌道の角運動量の情報がひきだせる。

NaI (直径6インチ 厚さ5インチ) は、約200MeVまでの陽子の全エネルギーが測定でき、今マイクロンが製作中で今年度中に完成する。ドリフトチェンバーはWalentaタイプ (ドリフト距離1cm XX' YY' 有効領域13cmX13cm) のものを製作中で6月頃には完成する予定である。

残っている仕事としては、この実験に適した真空散乱槽の設計と製作がある。



重粒子線の生物効果初期過程における基礎物理研究

(6P-009)

佐藤幸夫, 古沢佳也, 曾我文宣, 田中昭好, 山口寛^a, 藤田雄三^b

放医研重粒子治療センタ, ^a放医研物理, ^b東大核研

1. 研究の目的及び年次計画

重粒子線による生物効果初期過程に関する基礎物理研究として、低速～高速領域の重イオンビームを用いた DNA 照射実験、重イオン衝撃による水分子からの放出電子スペクトル及び角度分布測定を行なう。本研究は、平成6～10年度にわたる5年計画の中で、順次 6MeV/n He～Ne による DNA 実験 (6年度)、6MeV/n Si～Ar による DNA 実験 (7年度)、6MeV/n 重金属イオンによる DNA 実験及び 6MeV/n He～Ar による電子スペクトル測定 (8年度)、100～800MeV/n He～Ne による DNA 実験及び電子スペクトル測定 (9年度)、100～800MeV/n Si～重金属イオンによる DNA 実験及び電子スペクトル測定 (10年度) と進められる予定である。得られた data に基づいて、次の項目を年次計画のゴールとしている。

(1) Single-strand break (SSB) or double-strand break (DSB) の電荷 (z) 依存性及び速度 (エネルギー) 依存性を明らかにする。SSB or DSB に対する cross section を求める。

(2) 重イオントラックの半径方向線量分布を明らかにする。その z-依存性及び速度依存性を求める。

2. 今年度の研究経過及び成果

2.1 電子スペクトル測定 (主に実験準備作業)

・ 10^{-6} Torr の鉄製 chamber 中に 10^{-2} ～ 10^{-3} Torr の水分子ビーム (5mm x 30mm 断

面形状) を生成し、長時間安定度を測定した→8～9時間程度の連続測定が可能であることが分った。

・上記 chamber 中の interaction 領域の磁場を測定した → XYZ 各方向において 10m Gauss のオーダであり、低速電子 (<10eV) の測定も十分可能であることが分った。実際に電子が走行する領域は大部分 μ -metal でカバーされているので実磁場はもっと低いと思われる。

・エネルギー分析系及び検出器 (MCP) を東大核研エアコア施設にて校正する作業に着手した。

2.2 6MeV/n He～Ne による DNA 照射実験

・10x14x1mm のアルミ板に金箔を張付け、その上に plasmid pBR322-DNA 1.3 μ g を塩と共 (1:2) に固着する。試料面積としては約60mm²、厚さは50nm程度である。

・上記試料を 10^{-5} Torr 程度の真空中にセットし (図-1)、6MeV/n の重イオンビームで照射する。例えば C^{6+} (LET= \sim 200keV/ μ m) の場合、水中 range は 200 μ m のオーダであるので、ビームは試料をつきぬけて金箔もしくはアルミ中で止る。止ったビームの charge を current integrator で読み、fluence に換算する。

・上記試料 (sample) 中の plasmid 数は 2×10^{11} /sample、一個の plasmid は約4400 base-pair で構成されている。

・照射した試料は電気泳動法を用いて、supercoiled (no-break)、circular (SSB)、linear (DSB) の形状に分析される。そして、

この蛍光撮影（図-2）及び光densitometer測定により、それぞれの成分が定量化される。

・no-break vs. fluence 特性（図-3）から、breaks と fluence との関係性を求める。

次に break の起こる確率 at nucleotide を入射粒子（電荷）を変えて試験し電荷依

存性を調べる。

現在、より精度の高い実験を行うため、種々の改良見直しを進めている。

・plasmid の試料板上での状態を、AFM（原子間力顕微鏡）で確認する準備作業に着手した。

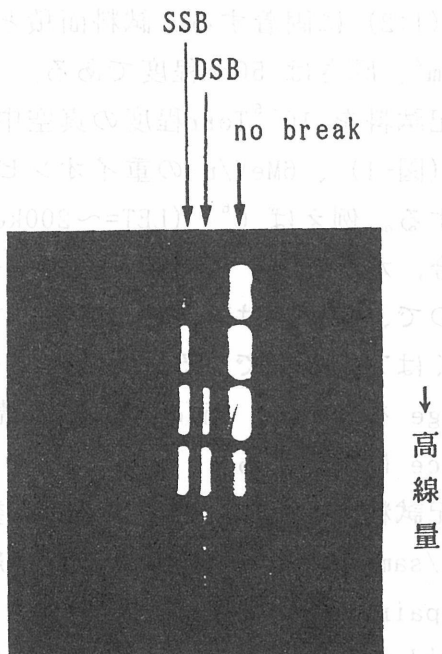
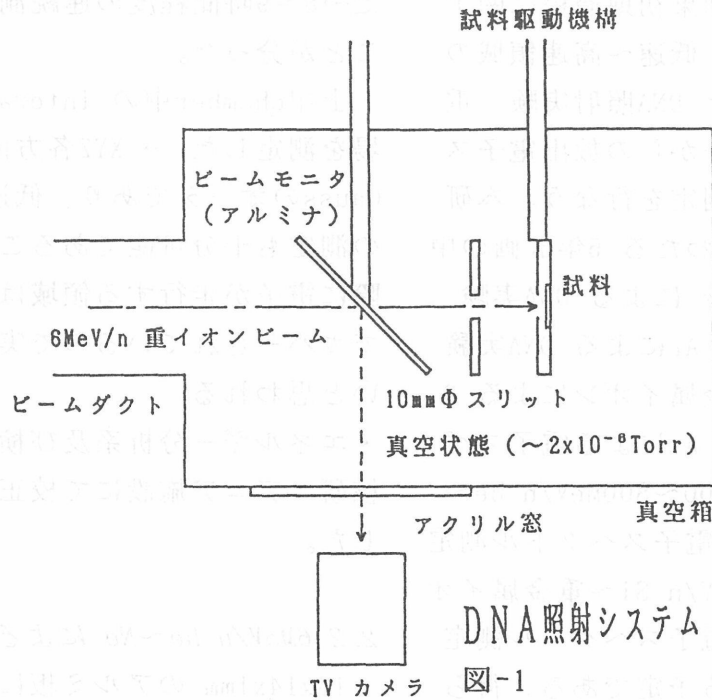


図-2. 電気泳動によるDNA分析の蛍光撮影

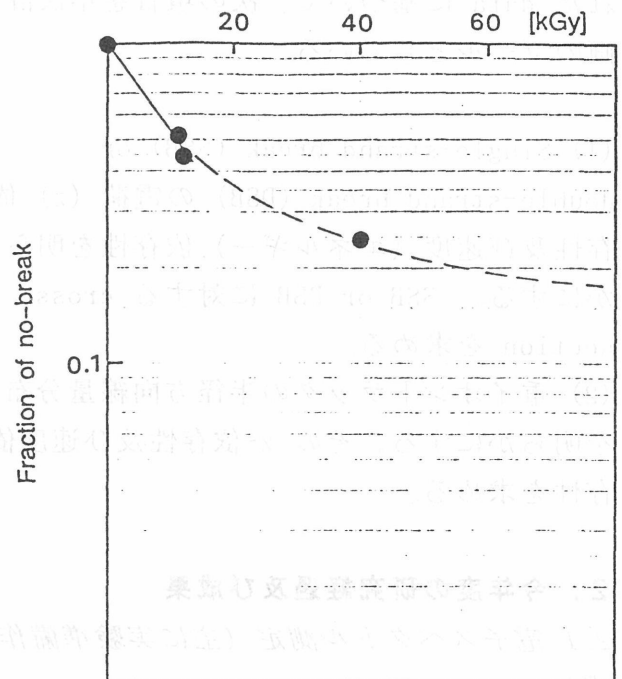


図-3. Fraction of no-break vs. the dose of 6MeV/n C⁶⁺ in a sample.

重イオン核反応生成物の超微量元素分析

(6P-010)

柴田貞夫^a、阿部道子^a、藤高和信^a、古川雅英^a、湯川雅枝^a、野田 豊^a、金井達明^a、
村松康行^a、内田滋夫^a、渡利一夫^a、安部文敏^b、大久保嘉高^b、安部静子^b、
古川路明^c、篠原 厚^c、今村峯雄^d、柴田誠一^d、馬場 宏^e、
斎藤 直^e、高橋成人^e、横山明彦^e、中村祐二^f

1. 研究の目的及び年次計画

重イオン核反応による破砕核や分裂核の生成量（反応断面積、質量分布）を放射線測定、高感度質量分析、放射化学分析を併用して求め、生体構成物質、微量必須元素あるいはシールドなどの放射化に起因する線質と線量の評価に寄与するとともに、治療時の放射線効果のより精密な評価を可能にする。

初年度から第2年度にかけては、照射装置の設計、制作を行う。これと並行して理研リングサイクロトロンで照射した試料について質量分析を行うとともに、試料の化学処理による影響を調べる。第3年度から第5年度にかけては、照射装置を用いて、重イオン核反応生成物の収率分布を高感度質量分析を主として用い、ビーム核種、ビームエネルギー、ターゲット核種の影響を調べる。これらの結果より各元素について重イオン核反応に起因する放射線の線質と線量の評価を行う。

2. 今年度の研究経過及び成果

今年度は照射条件を考える上で、HIMACのビームカレントが理研リングサイクロトロンに比して小さいことから、他の実験グループのパラサイティングを行うことを計画した。ターゲットにはSnを10mm x 10mm x 500mmのブロックとして10 x 10に積み上げてビームダンパー直前に設置することにした。照射に先立ち照射位置を確認するため放射線感光紙をビームダンパーの中心に貼りモニターしているところである。

一方、理研では既にFe及びAuの照射を済ませ、放射能の減衰を待って那珂湊支所に搬送して質量分析を行うこととしている。なお、放射化学分析はマルチトレーサーとしての研究と同時進行中である。

^a放射線医学総合研究所 ^b理化学研究所 ^c東京大学 ^d大阪大学 ^e名古屋大学 ^f環境科学技術研究所

重粒子線を用いた新しい核異性体の生成とその崩壊モードの研究

(6P-011)

菅原昌彦^a, 草刈英栄^b, 猪狩嘉延^b, 照井和志^b, 明神克弘^b, 村上健^c, 河野俊之^c,
森川恒安^d, 大島真澄^d

1. 研究の目的及び年次計画

重粒子線がん治療装置入射器からの核子当たり6 MeVに加速された重粒子ビームを用いて, 新たな核異性体を発見するための基礎的な実験を行った。入射器からのビームは, 1秒間に1回大強度 (in-beamで γ 線を測るには大強度という意味で典型的には数 μ A程度の強さ)のビームが数十 μ sから数百 μ sの間やってくるといふ, 我々 γ 線分光を主に研究しているものにとっては未経験の部分が多い。そこで今年度は,

- ① 1次ターゲットで既知の核異性体を生成し, それからの γ 線を直接Ge検出器で測定した場合の測定条件の検討を行うこと,
 - ② それらを1次ターゲット後方のキャッチャーフォイル上に集めて, そこからの γ 線を1次ターゲットからのバックグラウンドを十分遮蔽して測定できるような条件を確立すること,
 - ③ それらを基礎にして新しい核異性体を発見すること,
- 等を目標に実験を行った。

2. 今年度の研究経過及び成果

今年度第I期の共同利用マシンタイムとして, 10月27日18時から22時までと10月29日0時から20時まで, 中エネルギービーム照射室を用いて実験を行った。それぞれの実験の内容を以下に示す。

① 10月27日

ビーム幅150, 300 μ s,
ビーム強度 $\leq 1\mu$ AのCビームを

^{nat}Sb フォイル (厚さ数 mg/cm^2)に照射し, ^{123}Sb ($^{12}\text{C}, 4n$)反応で ^{131}La を生成。305 keV, ($11/2^-$)にある半減期0.17 msの核異性体からの γ 線を測定。測定器はGe検出器1台 (相対効率50%), 1次ターゲットから約22 cmの距離で測定。測定はビームパルスがoffになってから約2 msの間にゲートを設定して行った。残念ながら0.17 msのアイソマーからの γ 線は観測できなかったが, ビーム照射後の残留放射能の測定から, $^{121,123}\text{Sb}$ ($^{12}\text{C}, 3, 4n$)反応が起こっていることは確認できた。

② 10月29日

ビーム幅100, 700 μ s,
ビーム強度 $\sim 1\mu$ Aの ^4He ビームを ^{nat}Ta フォイル (厚さ約2.5 mg/cm^2), ^{nat}In フォイル (厚さ約7 mg/cm^2)に照射し, ^{181}Ta ($^4\text{He}, 2n$), ^{115}In ($^4\text{He}, 2n$)反応でそれぞれ, ^{183}Re と ^{117}Sb を生成, ($25/2^+$), 1.907 MeV半減期1.0 msのアイソマー, $25/2^+$, 3.1304 MeV半減期0.34 msのアイソマーからの γ 線を測定。測定方法はほぼ①の場合と同じであるが, 測定に用いたタイムゲート幅はそれぞれ, ビームパルスoffの後5 ms, 3 msである。図1に ^{183}Re の1 msアイソマーからの γ 線スペクトルを示す。図中●印

がついているのが1msアイソマーが崩壊したときに放出される γ 線である。これらの γ 線については、タイムゲートの位置をずらして強度を測定することによって、その崩壊曲線も測定し半減期1msと矛盾しない結果を得ている。

これらの実験を通じて次のような問題点が出てきた。

- ① 1次ターゲットを直接Ge検出器で見込む場合でも、ビーム幅を狭くする、ビーム強度を落とす、Ge検出器を遠ざける等の犠牲を払えば0.3ms程度のアイソマーからの γ 線は検出できることが分かったが、そうしなければプロンプトの γ 線のパルスがビルドアップして前置増幅器と主増幅器を含めた測定回路系が、ビームパルスがoffになってからもかなり長い間回復せず、短い半減期のアイソマーからの γ 線は検出できない。
- ② ①の問題を解決するために、1次ターゲットの後方にキャッチャーフォイルを置いてアイソマーを集め、そこからの γ 線を1次ター

ゲットからのバックグラウンドを十分遮蔽して測定する方法が考えられるが、現在のところGe検出器の前後に置いた厚さ約12cmの鉛シールドだけでは不十分で、ビーム強度をある程度強くするとやはり測定回路系がビームパルスがoffになった後でも一定時間回復しない。これらのバックグラウンドの起源はおそらくビームのハローによるものと考えられるが、今後さらにシールドを工夫する必要がある。

- ③ ①②の問題点を解決する上でGe検出器系についても何らかの対策をする必要があると思われる。そこで現在、ビームパルスがonのあいだはGe検出器を強制的にリセット状態にしておき、ビームパルスがoffになったら加速器からの信号に同期させてトランジスタスイッチを用いてGe検出器系を測定可能状態にするようなトランジスタリセットタイプのGe検出器の検討もしている。

°千葉工大 °千葉大 °原研 °放医研

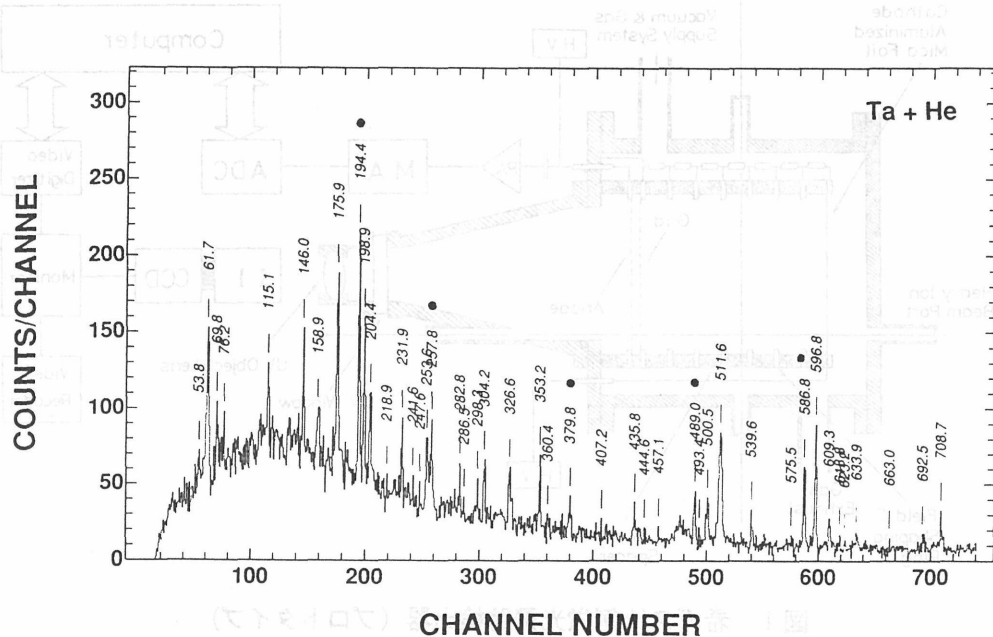


図1. ^{183}Re の1msアイソマーからの γ 線スペクトル

希ガス比例蛍光飛跡検出器及び固体飛跡検出器を用いた 重イオン電離トラックの実験的研究

(6P-012)

鈴木昌世^a、増田公明^b、道家忠義^c、岡田宏之^d、曾我文宣^e、村上健^e

1. 研究の目的及び年次計画

本研究は、希ガス比例蛍光飛跡検出器及び相補的に固体飛跡検出器 (CR-39) を用いて、重イオンが生物体に及びす影響を解明する過程に於て重要な初期条件と認識される電離トラックの空間的構造を実験的に解明することを目的とする。

本研究は3年計画であって、初年度に当たる本年度は、プロトタイプを用いた基礎実験を遂行し、その結果に基づき実機を製作する時期に当たる。

2. 今年度の研究経過及び成果

本年度は、 C^{6+} イオン (290 Me

V/u) を用いたビーム実験を3回行った (平成6年10月4日、11月22日、及び12月20日。平成7年2月21日に4回目を予定)。ビーム実験に於ては、プロトタイプを用いた基礎実験を予定通り遂行した (図1参照)。

プロトタイプは所定の性能を示し、 C^{6+} イオンが、アルゴン (90%) + メタン (8%) + トリエチルアミン (2%) 混合ガス中に形成する電離トラックを光学的に捕捉することに成功した (図2、3参照)。

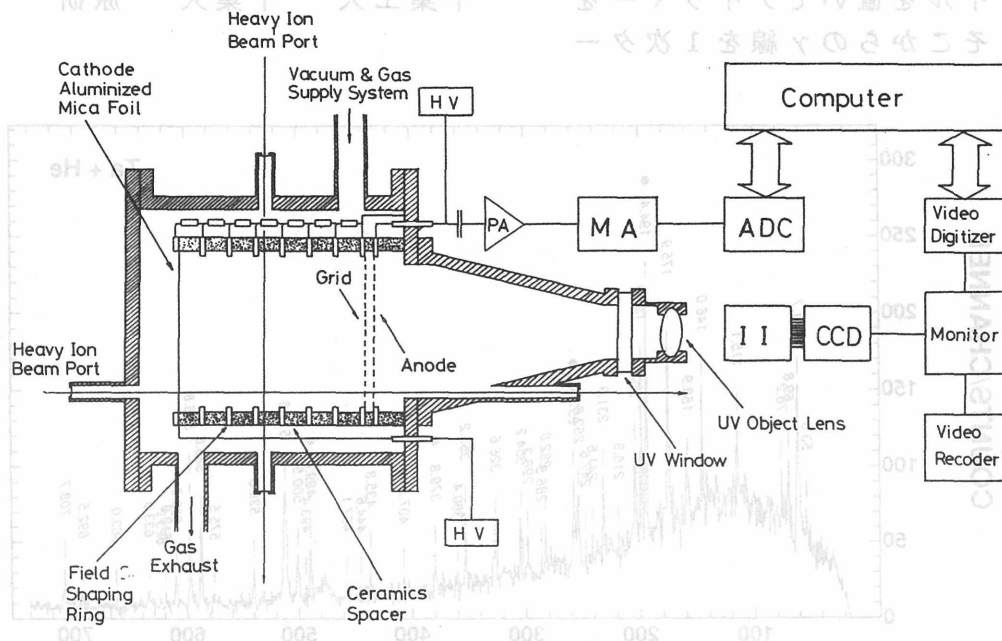


図1 希ガス比例蛍光飛跡検出器 (プロトタイプ)

3. 参考文献

- 1) M.Suzuki and T.Takahashi, Proceedings of "International Conference on Evolution in Beam Application," p. 397, November 5-8, 1991, Takasaki, Japan.
- 2) M.Suzuki et al., RIKEN Accel. Prog. Rep. 27(1993)98.

- a 高輝度光科学センター・研究グループ
- b 埼玉衛生短大・一般教養
- c 早大・理工研
- d 早大・理工総研
- e 放医研・重粒子

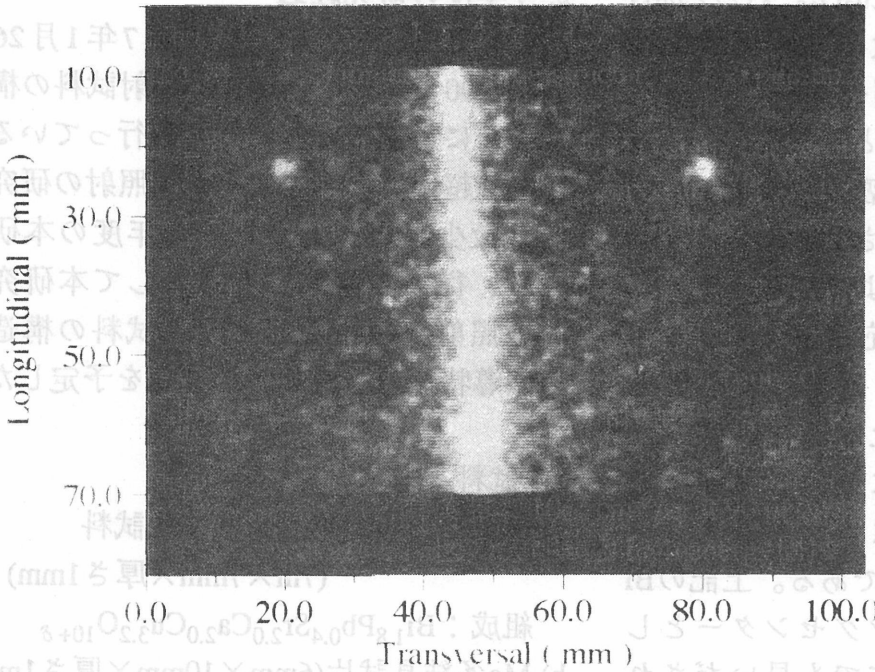
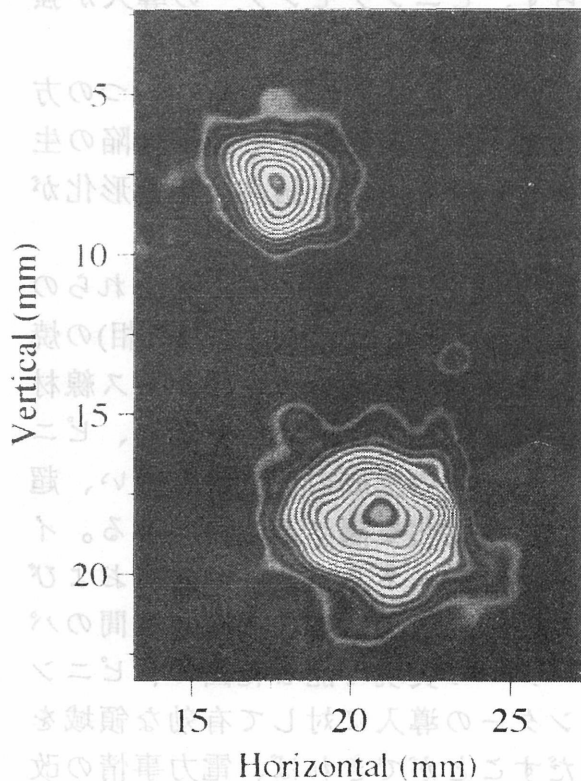


図2 希ガス比例蛍光飛跡検出器が捕捉したC6+イオン(290MeV/u)が形成した電離トラックの側面画像。左右上方の2輝点は、位置校正用のα粒子の発光点に対応する。

希ガス比例蛍光飛跡検出器が捕捉したC6+イオン(290MeV/u)が形成した電離トラックの正面画像(上方)。比較のために、α粒子(5.3MeV)の正面画像(下方)も加えた。

量検照	間判	実感
α	10	10
C6+	10	10

図3 希ガス比例蛍光飛跡検出器が捕捉したC6+イオン(290MeV/u)が形成した電離トラックの正面画像(上方)。比較のために、α粒子(5.3MeV)の正面画像(下方)も加えた。



重イオン照射によるBi系超伝導体へのピンングセンターの導入

(6P-013)

高野幹夫^a、池田靖訓^a、広井善二^a、高田 潤^b、草野圭弘^b、山本幹男^c、村上 健^c

1. 研究の目的

Bi系超伝導体の $(\text{Bi,Pb})_2\text{Sr}_2\text{CaCuO}_{8+\delta}$ (2212相)と $(\text{Bi,Pb})_2\text{Sr}_2\text{Ca}_2\text{Cu}_3\text{O}_{10+\delta}$ (2223相)は、既に知られている数多くの銅酸化物超伝導体の中でも、実用化の一つである線材に最も適していると言われている。実際、77Kでの臨界電流密度 J_c が $10^4/\text{cm}^2$ 以上の特性を有する、長さ1kmの長尺の銀シース線材が試作されるようになった。

しかし、この J_c の値は応用上達成すべき値の最低水準に近い。応用の可能性をさらに高め、また応用上範囲を広げるためには、超伝導体内部に侵入した磁束量子をとらえて動かないようにするピンングセンターの導入が必要である。上記のBi系超伝導体では、ピンングセンターとして有効となるものが現在でも見いだされておらず、ピンングセンターの導入が強く望まれている。

このピンングセンターの導入の1つの方法に、重イオン照射による格子欠陥の生成、あるいは局所的な結晶の無定形化がある。

本研究は、上記の2相ならびにこれらの基礎となる $(\text{Bi,Pb})_2\text{Sr}_2\text{CuO}_{6+\delta}$ (2201相)の焼結体、単結晶、薄膜および銀シース線材試料について重イオン照射を行い、ピンングセンターの生成の可能性を問い、超伝導特性の変化を調べるものである。イオン種、照射エネルギー、照射量および照射後の試料の熱処理の温度と時間のパラメーターの実現可能な範囲で、ピンングセンターの導入に対して有効な領域を見いだすことができれば、電力事情の改善、超伝導磁石やデバイスの開発に有効

であろう。

2. 今年度の研究経過

今年度の照射実験は平成7年1月26日(木)18:00より行い、現在、照射試料の構造ならびに超伝導特性の評価を行っている。

Bi系超伝導体への重イオン照射の研究報告は数少ないことから、今年度の本研究では、従来の研究を参考にして本研究所での照射条件の検討と照射試料の構造と超伝導特性の検討を行うことを予定した。

2.1 試料

a) Bi系2223相焼結ペレット状試料

(7mm×7mm×厚さ1mm)

組成： $\text{Bi}_{1.8}\text{Pb}_{0.4}\text{Sr}_{2.0}\text{Ca}_{2.0}\text{Cu}_{3.2}\text{O}_{10+\delta}$

b) Mo多結晶試片(6mm×10mm×厚さ1mm)

2.2 照射条件の検討

従来のいくつかの研究での照射条件を検討したところ、イオン照射量 $10^{11}\text{ions}/\text{cm}^2$ 程度が多いことから、本研究でもこのion fluxを中心にして以下の条件で照射することとした。

a) イオンの種類と取り出しエネルギー

: ^{12}C 290MeV/u

b) ビーム直径

: 10mm

c) 照射強度、時間、照射量:

	強度	時間	照射量
①	1.4×10^8 pps	120s	9.1×10^{10} ions/cm ²
②	4.4×10^8 pps	420s	1.0×10^{11} ions/cm ²
③	9.2×10^8 pps	1500s	7.8×10^{11} ions/cm ²

2.3 照射試料のキャラクタリゼーション

a京大・化研、b岡大・工、c放医研

現在、照射試料について、以下のキャラクタリゼーションを行っている。

(1) 超伝導体中での照射イオンによる格子欠陥の電子顕微鏡観察

a) 照射方向に平行な試料断面：照射イオンの軌跡、その近傍のBi系超伝導体結晶の原子配列の乱れの様相、大きさなどを高分解能電子顕微鏡により検討する。

b) 照射方向に垂直な試料表面：照射イオンの痕跡および密度を走査電子顕微鏡により検討する。

(2) 超伝導特性の測定

a) 臨界温度 T_c および臨界電流密度 J_c の測定：SQUIDにより T_c と J_c を測定し、イオン照射の影響を検討する。

b) ピニング力の測定：SQUIDによるM-H曲線、M-T曲線よりピニング力を評価する。

(3) イオン照射によるピニングセンターの導入の可能性の検討：上記(1)、(2)の結果に基づいて、本実験条件でのイオン照射がBi系超伝導体のピニングセンターとして有効か否かを検討する。

3. 今後の研究

今年度の研究結果・検討を踏まえて、今後の研究の展開を以下の点について検討する予定である。

3.1 照射条件

(1) イオンの種類と取り出しエネルギー

(2) 照射量

3.2 試料

(1) 焼結体試料 : Bi系2212相, Bi系2201相

(2) 単結晶材料 : Bi系2201相, Bi系2212相

(3) Ag シース線材 : Bi系2212相, Bi系2223相

高エネルギー多荷イオン衝突による励起・電離機構 および多荷イオンの分光研究 (6P-014)

俵 博之^a、東 俊行^b、北川 敦志^c、小牧 研一郎^b、槇 瓦介^b、松尾 崇^d、
水谷 雅一^e、二宮史郎^b、島 邦博^f、高田 栄一^c、戸沼 正雄^g、山崎 泰規^b

1. 研究の目的及び年次計画

シンクロトロンおよび線型加速器からの広い範囲にわたるエネルギーの各種のイオンと各種の原子、分子を標的として、相対論的エネルギー粒子と物質との相互作用の機構を解明する。特に、生体内で起こる衝突による2次粒子の効果を理解する上で分子を含む重要な基礎衝突過程の寄与を念頭においた上で、それらのデータの生体治療などへの応用を考慮して、実験研究を行う。

平成6年度は、高エネルギーイオンと標的との衝突によって放出されるX線を、いろいろなイオンや標的をくみあわせることにより、系統的に測定し、入射イオンと物質との相互作用の機構を解明しするために、衝突過程で放出されるX線、特に、1) 放射性電子捕獲

(bound stateへの捕獲= radiative electron capture (REC) : continuum stateへの捕獲= radiative electron capture into continuum (RECC) とよぶ) 放射線の強度・スペクトル分布および2) 内殻電離による特性X線をイオン種及びエネルギーの関数として測定する。

これらを遂行するにあたっては、関連する基本的な過程も理解する必要があり、理論との共同研究を行う。

2. 今年度の研究経過及び成果

今年(1994)度はこれまで、1) 1994.年11月26日 (18:00) -> 11.27 (19:00), 2) 12.17 (0:00-> 19:00), 3) 1995.1.20 (19:00) -> 1.22 (8:00)の3回の実験を行った。主として、HIMACからの高エネルギーでの核反応によるバックグラウンドを測定し、また、HIMACからのion beamの特徴を理解し、正確な断面積などが測定可能な実験条件(たとえば、a) X線検出器の遮蔽構造、b) targetの厚さなど)を見いだすことを主目的とした。これらの予備実験を通して、シンクロトロンからのion beamの特性(時間変化など)を考慮して、測定を最適化するためのパラメーター(たとえば、pile-up rejection)を決定し、次のような実験装置の開発・改良を加え、RECおよびRECC, 特性X線を測定することが出来るようになった。

1) halo beamによるtarget frame(0.5 mm厚さ)からのbackgroundを減らすために、target frameを非常に薄く(15 μm)して、発生するバックグラウンドを少なくした。

2) ion beamのtime-structureによるpile-up rejectionの最適化を行った。

3) Pbによる γ -線の遮蔽はstatic backgroundを十分減少出来たが、ion beamに伴うdynamic backgroundを必ずしも減らせない。

このような改善などを経て、290 MeV/amu Ne^{10+} イオンを15 μm Alに照射したとき、図に示すようなX線スペクトル(pure Ge 検出器を利用)が得られた。計算によると、RECピーク($E_{\text{lab}}=122.9$ keV)は小さく観測にかけられない(計算では、 10^{27} cm^{-2}/sr at 90 deg.)と考えられる。図の矢印よりhigh energy側はsecondary electron bremsstrahlung (SEB)、low energy側はRECCに対応すると考えられる。矢印は以下に示す計算で予測されるRECCのhigh energy edgeである。

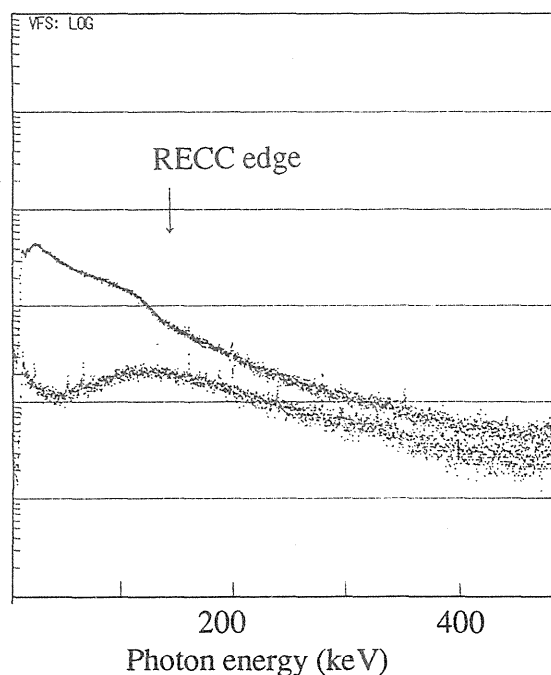


図 290 MeV/amu Ne^{10+} + 15 μm Al衝突で観測されたX線スペクトル (下側はAlがないと)

きのbackground) (注: 検出器の検出効率などの補正はしていない)

a) RECおよびRECC edge energyは次のように表すことができる:

RECC edgeの計算式¹⁾

$$E_{lab}(keV) = E_{cm}(keV)/[\gamma\{1 - \beta\cos\theta_{lab}\}] \quad (1)$$

$$E_{cm}(keV) = E_p - \gamma E_t + mc^2(\gamma - 1) \pm \gamma p_t v \\ = E_p - \gamma E_t + mc^2(\gamma - 1) \\ \pm \{(\gamma^2 - 1) \cdot 2 \cdot mc^2 E_t\}^{1/2} \quad (2)$$

E_{cm} : photon energy in projectile frame

θ_{lab} : observation angle

$$\gamma = 1/\{1 - \beta^2\}^{1/2}$$

E_p : projectile binding energy (= 0 for RECC)

E_t : target electron binding energy

p_t : target electron momentum

v_p : projectile velocity

mc^2 : electron rest mass energy = 511 keV

式(1)は相対論的Dopplerずれを示す。

290 MeV/amu Ne¹⁰⁺ + Al(15 μm)衝突で観測されたRECC edge energyの予備実験の結果と計算(Alの内殻1s電子の寄与を考慮)の結果を表に示す。このような高エネルギーでは内殻電子捕獲が大きく寄与しており、RECC edge energyをREC peakより、約34 keVほどhigh energy側に押し上げていることが解った。

表 RECC edge energy (E_{lab})の比較

projectile energy (MeV/amu)	290
expected RECC edge energy (keV)	144.5
observed RECC edge energy (keV)	138

今のところ、信頼出来るFaraday cupがなく、ion currentが正しく測定できないので、これらのX-線強度から、衝突断面積の絶対値を精度良く出すことは出来ない。

b) Au, Biなどのような重原子の内殻電離過程はあまり研究されていないので、これらの系統的な断面積の測定を行う予備実験を行い、ほとんど問題なく測定できることを確認した。

c) さらに、多荷イオンによる電離断面積の理論的解析・計算も行い、イオン電荷・イオンエネルギーの関数として比較的簡単な解析式をみだし、一部、公表した。

3. 参考文献

1) J.Eichler, Phys. Report 193 (1990) 165

4. 成果発表

論文:

1) 戸沼 正雄: 放医研HIMACでの原子衝突実験計画: 高エネルギーでのRECの特性原子核研究 INS-T-527 (1994) p.119-124

2) L.P.Presnyakov, H.Tawara, I.Yu.Tolstikhina and D.B.Uskov: Double ionization of atomic helium under heavy ion impact (in printing in J. Phys. B (1995))

学会等発表:

1) L.P.Presnyakov, H.Tawara, I.Yu.Tolstikhina and D.B.Uskov: Double ionization of atomic helium under heavy ion impact, Int. Conf. Phys. Highly Charged Ions (Vienna, 1994.9)

2) L.P.Presnyakov, H.Tawara and D.B.Uskov: Radiative and non-radiative electron capture processes, Int. Conf. Phys. Highly Charged Ions (Vienna, 1994.9)

3) 松尾 崇: 多荷イオンによる多重電離、多荷イオン研究会(1994.10)

5. machineなどに対する今後への要望

これまでの実験 (PH-2ライン) を通して気がついた改良・設置していただきたい点:

1) ion beam halo (tail)を少なくする--> target frameにあたり多量のbackgroundを発生する。

2) reliable Faraday cupを設置する--> Coulomb integration/absolute cross sectionの決定に不可欠である。

3) ion beamのtime structuresをなるべくsmoothにする--> counting systemのpile-upのために、弱いbeamで測定せざるを得ない(machineでの max. 10⁹ pps --> 測定では10⁷ pps以下)。

4) targetでのbeamのextractionによる横揺れを少なくする。

5) beam energy変更の時間を短くする--> エネルギーの関数として各種データが重要である。

6) ion charge separationのためのanalyzer magnetを設置する--> coincidence測定に不可欠。

7) backgroundの少ないconcave type beam dumperの設置

a 核融合研, b東京大・教養, c放医研・重粒子, d東京医歯大・難治研, e都立大・物理, f筑波大・加速器センター, g理研・リニアック

二次粒子線の医学利用に関する研究

(6 P 0 1 5)

放医研 富谷武浩、金澤光隆、吉川京燦、福村明史、佐藤幸夫、金井達明、曾我文宣

1. 研究の目的及び年次計画

重粒子線治療計画はX線CTより得られるX線CT値の分布をもとに、重粒子線の水中飛程に換算して行われる。人体中の複雑な構造、組成よりなる部位の上記計算法の検証手段が有れば、治療計画の信頼性を向上できる可能性が有る。その一つの方法として重粒子線の核反応で得られる陽電子を放出する二次粒子線を利用し、ポジトロンCTの技術と組み合わせで検証する方法がある。陽電子放出二次粒子線は飛程終端で陽電子を放出し、陽電子消滅に伴う対ガンマ線をポジトロンCTにより測定すると、放射性二次粒子の飛程終端分布を測定できる。

この研究では、1. 物体中の重粒子線飛程終端のポジトロンCTによる測定値と理論値との一致を確かめる、2. 治療計画のベースになる計算法に基づいて計算されたアイソセンター位置とポジトロンCTによる測定値との一致をテスト照射で確認する、3. 線量分布の推定、4. 放射性二次粒子線による治療と線量分布の検証などの研究を目指す。平成6年度は二次粒子線の識別測定器の検討を行った。

安定同位元素ビームが物質を通過する際に、その一部は核反応により、放射化する。反応後の粒子の核子当たりのエネルギーは入射粒子のそれとほぼ等しく、反応生成核の停止位置は入射粒子のそれと異なるものの、両者の間には一定の関係があるので、入射粒子の停止位置分布を知る助けになる。反応生成核種がポジトロンを放射する核種であれば、ポジトロンCT装置を用いてポジトロン放射体の分布を測定できる。この方法は自己放射化法と呼ばれている。自己放射化法は粒子の進行方向の位置測定精度が悪い欠点があるものの、通常の重粒子線治療により生じた放射能をポジトロンCT装置を用いて測定すればよく、簡便に行える利点がある。ポジトロンCTを用いるとメチオニン代謝、酸素消費量、FDG代謝などのがん診断画像と自己放射化画像とを直接比較ができる利点があるので、年次途中で自己放射化法の研究を新たに追加し、実験を行った。また、ウサギを用いて自己放射化で生じたポジトロン放出核種の生体内の代謝の有無を調べ実験を計画している。

2. 今年度の研究経過及び成果

二次粒子線分離装置の検討

二次粒子線分離装置は医用重粒子物理・工学研究部の研究課題となったので、本研究課題からは外したが、二次粒子線分離は二次粒子線利用の観点からもその理解は欠かせないので、文献調査を行った。フラグメンテーション反応では多様な核種が同時に生成し、所望の核種を選択するには分析電磁石、スリットを用いる。生成核のエネルギーは標的内の核反応位置に依存するため、二次粒子線のエネルギーに広がりを生じ、単色性はよくない。二次粒子線エネルギーを揃えるには分析電磁石でエネルギーに応じて空間的にビームが広がった位置に楔状のエネルギー・デグレダを用いる。その形状設計にはエネルギーの関数として表した飛程を用いると便利である。しかしLET(線エネルギー付与)はエネルギーの関数として表せるが、飛程はエネルギーの関数としては表せない。エネルギー・デグレダ形状の設計を解析的に行うには飛程を簡単な関数で近似する必要があり、飛程をエネルギーのパワーで近似する。一方、分析電磁石の特性はエネルギーをパラメータとして記述できるが、相対論的なエネルギーになると関数形が複雑になり、解析が困難だが、運動量をパラメータとして記述すると相対論的なエネルギーまで済一的に表現できる。反面、飛程を運動量のパワーで近似する必要があり、非線形回帰分析の手法を用いて試みたところ、エネルギーをパラメータに近似する場合に比べ、近似はやや劣るが、問題になるエネルギー領域に限れば問題ない事がわかった。運動量をパラメータにするとエネルギー・デグレダ形状設計を行う諸式を相対論的エネルギー領域まで済一的に記述できる。

二次粒子線識別測定器

平成6年度は各種検出器の文献調査と基本的検討を行った。二次粒子線識別には ΔE -Eカウンター・テレスコープ、飛行時間法、チェレンコフ・カウンターの非線形エネルギー応答を利用する方法など各種の方法が利用されているが、 ΔE -Eカウンター・テレスコープにつき検討した。E-カウンターとしては非線形性があるものの、取り

扱い、価格、サイズの点から、シンチレーション・カウンターを採用した。光検出器としては光量はじゅうぶんなので、線形性、ダイナミック・レンジの広い半導体光ダイオードを採用した。

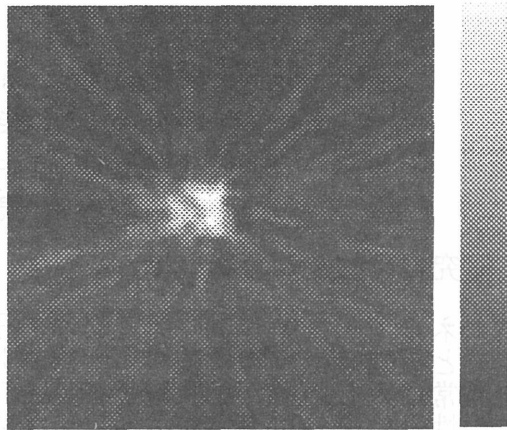
自己放射化分布測定

本年度から放医研の重粒子線加速器、HIMACが本格的に稼働し、 ^{12}C ビームによる重粒子線治療の試行が始まり、物理、生物実験も行える状況になった。放医研の核医学診断用ポジトロンCT装置を利用すると試料の機械的スキャンなしにポジトロン放射体の三次元分布を一度に測定できる。実際の重粒子線治療の1分割照射程度の線量を照射した場合にどの程度の画像が得られるかをテストした。

実験方法はポリエチレンの円筒形試料を重粒子線棟で照射し、サイクロトロン棟ポジトロン・カメラ室まで運搬し分布測定を行った。重粒子線治療では ^{12}C を用いるので ^{12}C から生じる半減期20.34分の ^{11}C を測定した。線量は重粒子線治療の1分割照射線量である1~1.2Gyに設定し、測定時間は通常の核医学診断の測定時間である40分に設定した。 ^{11}C の生成断面積は40~60mb程度であり、収量はきわめて少ないので、画像の統計雑音が多い。自己放射化の場合はRI分布は局在しており、画像のコントラストが高く、測定計数が少ない割には鮮明な画像が得られた。位置精度はビームに垂直な面では用いたポジトロンCT装置の位置分解能に支配され、半値幅8mm程度である。ビーム方向のそれは自己放射化の過程による広がり約10mmがこれに重畳し、13mm程度であり、この程度の精度で位置、広がり、照合ができる。第1図に自己放射化による ^{11}C 分布の一例を示す。

イオン注入された ^{11}C の生体内代謝の基礎実験

自己放射化により生じたか、または、外部で生成して生体内に注入した ^{11}C の分布は生体の代謝機能により分布が変化する可能性がある。重粒子線の飛程終端ではLETが高いため、ミクロ的にみると組織は破壊されていると思われ、正常組織中の代謝をするとは考えられず、血中に捕捉された ^{11}C のみが移動すると予測されるが、イオン注入された ^{11}C の生体内代謝の有無は放射性二次粒子線法、自己放射化法に共通した重要な問題なので、平成7年2月のマシン・タイムでウサギを用いた代謝の有無を調べる実験を計画している。



第1図 直径15cm、高さ10cmのポリエチレン円筒に ^{12}C ビームを1.24Gy照射して生じた ^{11}C の分布をポジトロンCT装置で40分間測定して得られたPET画像。ビームは図の右側から入射している。ビームの形状はリーフ・コリメータを用いて4cm角に絞り、4cm厚のリッジ・フィルターを用いて深さ方向にビーム拡大している。

3. 参考文献

- 1) Sihver, L., Tsao, C. H., Silberberg, R., Kanai, T., Barghouty, A. F. : "Total reaction and partial cross sections in proton-nucleus ($Z_t \leq 26$) and nucleus-nucleus reactions (Z_p and $Z_t \leq 26$) ,"

4. 研究発表

- 1) 富谷武浩、金澤光隆、須藤美智雄、曾我文宣、金井達明、稲辺尚人、吉田 敦、渡辺 康 : "RIビームの医学利用の基礎実験。—RIビーム形成と計測—", 第67回日本医学放射線物理学大会、神戸市、1994.4.
- 2) 富谷武浩、金澤光隆、須藤美智雄、曾我文宣、金井達明、稲辺尚人、吉田 敦、渡辺 康 : "RIビームの医学利用の基礎実験「荷電粒子の飛程終端分布測定」", 第67回日本医学放射線物理学大会、神戸市、1994.4.
- 3) 富谷武浩、金澤光隆 : "Linear Momentum Transfer とその簡単な関数による近似", 第68回日本医学放射線物理学大会、高野町、1994.9.
- 4) Tomitani, T., Yoshikawa, K., Kanazawa, M., Wada, Y. and Kanai, T. : "Preliminary measurements of auto activation of ^{12}C beams with a commercially available PET," '94 PTCOG, Chiba-Shi, 1994.11.

重粒子による生成二次粒子と核破碎生成物の媒質内分布

(6P-016)

中村尚司^a、黒沢忠弘^a、金 環 珠^a

中尾徳晶^b、柴田徳思^b、今村峯雄^b

上 蓑 義 朋^c、中 西 紀 喜^c

福村明史^d、隈元芳一^d

1. 研究の目的及び年次計画

高エネルギー重イオンによる二次粒子の生成と核破碎生成物に関するデータは現在非常に乏しいが、二次粒子のうちで特に中性子はその透過力が大きいことから高エネルギー加速器の遮蔽設計にとって、またターゲット中の核破碎生成物は誘導放射能評価にとって極めて重要な情報である。

本研究は2つの目的からなり、1つは二次中性子生成評価とそれに基づく遮蔽設計の妥当性を検証することを目的とし、他の1つは、生体模擬物質中の二次粒子核破碎生成物の情報を得て、線量分布を評価することを目的としている。

本研究は平成6年11月から始まったばかりであり、6年度は本実験コースの整備とともに、ベトカウンター方式の中性子を含む二次粒子検出器の開発とその特性テスト及びTOF測定法の可能性の追求、核破碎生成物の測定の前備実験などを行い、7年度から本格的に年次計画で以下の研究を順次進めていく予定である。

(1) 100~500MeV/核子の重イオン

(He, C, Ne, Ar) を C, Al, Cu, Pb の4種のターゲットにあてて生成される二次荷電粒子、中性子、 γ 線の角度微分エネルギースペクトル及びターゲットの核破碎生成物分布を測定する。

(2) 二次中性子の遮蔽体(コンクリート、鉄)透過後のスペクトル線量分布を測定する。

(3) 重イオンを生体模擬物質(水など)入射し、その中で的一次粒子のエネルギー吸収、二次粒子の生成とエネルギー吸収を測定する。

2. 今年度の研究経過及び結果

物理汎用実験室内のビームラインを用いて平成6年11月11,12日及び12月9,10日の2回実験を行った。このビームラインには

真空チェンバーが設置されていないので、図1に示すようにビームライン終端の窓の外側の空気中にC(密度1.77g/cm³)及びCu(密度8.39g/cm³)ターゲットを置いた。ターゲットは大きさ5cm×5cmで、Cは厚さ2mm、Cuは厚さ1mmのもの及び大きさ10cm×10cmで、C,Cuとも厚さ5mmのものを作成し、それを重ねて入射重イオンビームが完全に吸収されるようにした。今回の実験に用いたのは100MeV/核子の¹²C⁶⁺イオンで、そのC,Cu中の飛程がそれぞれ16.3mm,4.4mmなので、ターゲットの厚さはそれぞれ20mm,7mmとした。

ターゲット中で核破碎反応で生成された放射性核種の分布を測定するためにターゲットはこのように薄いものを重ねた。二次粒子検出器としては、図1に示すようにベトカウンター(ΔE カウンタ)として15cm×15cmで厚さ5mmのNE102Aプラスチックシンチレータを、中性子検出器(Eカウンタ)として12.7cm直径×12.7cm厚のBC501A有機液体シンチレータを用いた。Eカウンタの直前に ΔE カウンタを置き、それをターゲット後方1.3mのビーム高さの位置に置いて、図1に示すようにビーム軸に対し0,7.5,15,30,60,90,120度の角度に対して測定を行った。またこのビームライン軸上の後方1.8mの位置にはコンクリートの補助遮蔽体が設置されていて、そこからの後方散乱の寄与を評価するために、ターゲットと検出器の間に直接線を遮るための鉄のシャドーバー

(10cm×10cmで長さ60cm)を置いた測定も各角度で行った。現状ではターゲットに入射する重イオンビームの量が測定できないので、ビームモニタとして図1に示す位置に5cm直径×5cm長のNE213有機液体シンチレータを置いて、そのモニタカウンタを基準にして測定した。用いた重イオンビームの電流は測定した角度により異なるが、 $3 \times 10^5 \sim 3 \times 10^8$ p/sであった。HIMACからの重イオンビームは

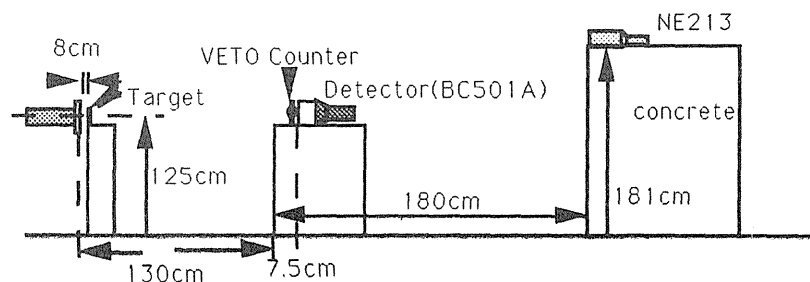


図1 実験体系

繰り返し周期1/2Hz,ビーム幅も広くRF出力をトリガーとする中性子のTOF測定は試みたがうまく行かなかった。このため既に求められているBC501Aの応答関数¹⁾を用いて、FERDOUコード²⁾によるアンフォールディング法から中性子スペクトルを求めた。ただし、H(n,n)反応による反跳陽子の最大飛程はこのシンチレータの長さ12.7cmに規定され、それに対応する陽子のエネルギーは120MeVとなる。従って応答関数は120MeVまでしか求められていないので、120MeV以上の中性子が存在する場合は大きな発振を生じる可能性がある。ベトカウンターの出力とBC501Aの出力の二次元分布を見ると阻止能の違いからくる ΔE の差が明瞭に見られ、e,p,d,t,³He, α までの二次荷電粒子が弁別されている。このベトカウンターの出力がある場合を荷電粒子、ない場合を非荷電粒子(n, γ)としてリストデータを弁別処理して各粒子のスペクトルが得られる。この二次元リストデータを各粒子グループに弁別して、一次元波高分布表示をしたのが図2である。このデータはシャドウバーを用いて室内散乱の寄与は差し引いてある。図2には例として中性子と陽子の波高スペクトルを示しているが、前述したように中性子、陽子とも最大チャンネルは大体120MeVに対応している。図から陽子はターゲット中及びベトカウンター中での吸収やクーロンバリアの存在などのために低エネルギー成分が少なくなっているのに対し、中性子は低エネルギー成分程発光量が多くなっていることが分かる。またBC501Aの検出効率も陽子に対し100%、中性子に対し約10%位であることから、高エネルギー端近くの中性子と陽子の発光量の比いわゆるn/p比がほぼ1に近いことが分かり、これは物理的に意味のある結果である。また角度分布のデータを得るために、この波高分布の積分量を図3に示す。これを見ると中性子は角度が大きくなると、低エネルギー成分が増加していることが分かる。現在、スペクトル解析を進めているが、中性子スペクトル発振の問題を解決する2,3の方法を現在検討している。最も良い方法はTOF法を用いることであり、そのため自己TOF型のテレスコプ式中性子検出器

を計画している。またターゲット中に生成した放射性核種の測定はGe検出器で行い、現在そのデータを解析中である。

3. 結論と今後の問題

初めての高エネルギー重イオンの実験であったが、室内のバックグラウンドが低く予想以上にうまく角度分布の測定ができ、しかも二次荷電粒子と二次中性子が同時に測定できることが分かった。しかし今後次の2つの点を是非実行する必要がある。

1) ターゲットに入射する重イオンビーム量の絶対測定

このためには真空チェンバーを設置してその中にターゲットをおき、ビーム電流を測定できるモニターを設置を要望する。

2) 中性子TOF測定

現在のビームではRFをトリガーをするTOFは不可能なので自己TOF型のテレスコプ式中性子検出器が必要でありその予算化を要望する。

なお、今回の研究成果は1995年春の原子力学学会年次大会で口答発表する予定である。

4. 参考文献

1) 中尾徳品."数十MeV中性子による有機液体シンチレータ応答特性及び物質透過に関する研究".修上論文、東北大学大学院工学研究科原子核工学専攻、(1994)

2) K.Shin,Y.Uwamino,T.Hyodo."Propagation of errors from response functions to unfolded spectrum".Nucl.Technol.,53,78-85(1981).

^a 東北大学サイクロトロンRIセンター

^b 東大核研

^c 理研

^d 放医研物理部

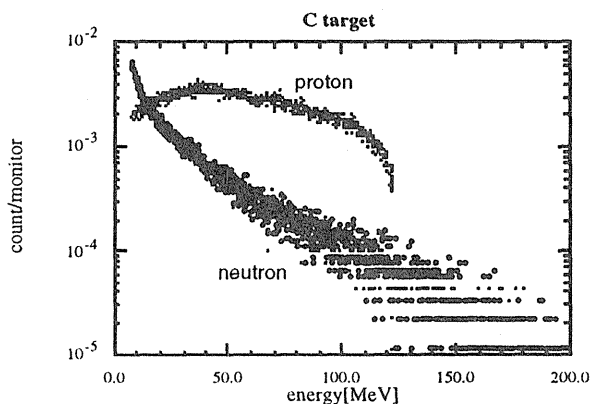


図2

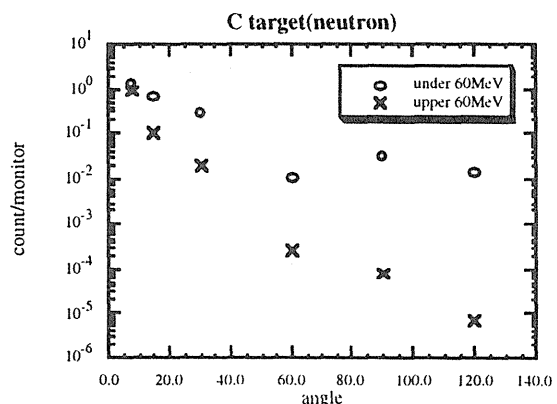


図3

重粒子線の線量評価および線量分布に関する研究

(6P-017)

平岡 武^a、小俣 要^a、福村明史^a、金井達明^b、佐方周防^c、入船寅二^d、Hans Bichsel^e

^a放医研物理、^b放医研重粒子、^c千葉がんセ物理、^d都立医短大、^eUniv. Washington

1. 研究の目的及び年次計画

重粒子線治療の基礎となる吸収線量を正確に評価することは、重粒子線による生体への線量・効果関係を明らかにする上でも重要である。しかし、現状での吸収線量の絶対評価精度は6%程度と考えられる。そこで、まずは種々の測定法から吸収線量の評価精度を速中性子線や陽子線と同じ4%程度にする必要がある。また、生体内での線量分布の評価法やインビボドシメトリの開発も、治療にとって欠くことのできない照射技術の一つである。従って、当面次の研究を推進する必要がある。(1)重粒子線治療のための生体組織の吸収線量を正確に評価するための諸方法を研究し、精度の良い安定な測定法を開発する。(2)重粒子線の人体不均質組織中の線量分布測定法および計算法を開発する。(3)重粒子線の吸収線量の算定に役立つ阻止能やW値などの基礎データを蓄積し、またインビボドシメトリを確立する。

これら研究内容は相補的な関係にあるから、今年度から平行して研究を進めてゆくことが、吸収線量の評価精度の向上に役立つ。しかし、重粒子線治療が開始された現状を考慮すれば、今年度は電離箱による線量評価法に関する基礎特性やその解明の研究を重点的に進めることが妥当である。また、インビボドシメトリについての測定法の検討も急を要する。

2. 今年度の研究経過及び成果

I. 電離箱による絶対線量評価

絶対吸収線量の算出は最も簡便で精度も

高い方法として、国家標準にトレーサブルな放射線場で校正した電離箱法に依った。電離箱による線量評価はBragg-Grayの空洞理論に基づいて行うが、その結果、電離箱で観測される電離電荷に1. 相互作用係数、2. 電荷測定補正係数、3. 空洞補正係数の値を乗じて吸収線量が算定できる。290 MeV/uカーボンビームに対する絶対吸収線量はPMMA製小型平行平板型(pp-15.5)およびA-150プラスチック製円筒型(IC-18)電離箱で測定した。幾何学的な電離容積はそれぞれ0.12および0.1 cm³である。電離ガスには空気、TEG(メタンを基準とした組織等価ガス)、窒素、炭酸、アルゴンガスで、空気を除き約5 ml/minの流量率にて測定した。イオン再結合損失による電離イオンの損失を出来るだけ少なくするため、それぞれ1000Vおよび700Vにて測定した。その結果2%以内で一致が得られた。

II. 質量衝突阻止能

エネルギー領域全般について見ると、重粒子に対する阻止能は電子に比べてその評価精度が悪い。ガスの測定電離量を組織の吸収線量へと変換するから、最終的には組織と使用ガスの阻止能の比が問題となる。現在、最も信頼できる理論的算出法の一つとしてBichselの計算式を用いて組織の代表である筋肉と、空気、窒素、TEG、炭酸、メタン、アルゴンガスとの阻止能比を評価した。前5者のエネルギー依存性は小さいが、アルゴンは大きく異なる。従って、単にエネルギー依存性の観点だけからすれば電離箱の壁材にはA-150をガスにはTEGを用いるのが望ましい。また、広いエネル

ギー領域に於て、水は1%以内で筋肉と一致している。

III.W値

電離箱による重粒子の線量評価精度を悪くする最大の原因はW値にある。重粒子に対するガスのW値の情報を得るためには、幾つかのガスの相対感度を求める必要がある。IC-18電離箱に、空気、TEG、窒素、炭酸、アルゴンガスを満たし、290 MeV/uカーボンビームに対するファントムの表面位置と、拡大ブラッグピークの中心位置で測定した。測定値は正負の両極性に対して行い平均した。極性効果はほぼ0.2%以下であったが、アルゴンガスだけは数%の違いが見られた。70 MeVの陽子線の結果と比較すると、空気の値で規格化した相対感度は、カーボンイオンでも陽子線でもほとんど同じ傾向を示す。但し、窒素だけが2%の差が見られる。これらの値に阻止能の補正を加えれば、相対W値が求められるが、より詳細な検討は今後行う。両ビームに対してガスの阻止能比はそれ程大きな違いはないので、相対的にはほぼ同じような値が得られるであろう。

IV.イオン再結合損失

重粒子線に対して得られる電離電荷の再結合損失には、一般再結合と初期再結合損失の両方の影響が考えられる。一般再結合損失に対する補正は電離箱への印加電圧(V)を変えて電離電荷(Q)を測定し、連続放射線の場合は $1/V^2$ に対し $1/Q$ をプロットし、パルス放射線の場合は $1/V$ に対し $1/Q$ をプロットする。両者の関係は直線関係にあるので、 $1/V$ 又は $1/V^2$ の値が零に外挿し、得られた値が飽和した電離電荷として求めることができる。

形状の異なる電離箱に空気やTEGを満たしカーボンビーム表面とブラッグピーク位置での飽和特性を測定した。現時点での

HIMACから取り出されるビームは、電離イオンの移動度の点から連続放射線と考えられる。また、イオン再結合損失の多くは一般再結合に起因しているが、LETとの関係については測定中である。

V.インビボドシメトリ

照射体のいかなる所にも配置でき小型の検出器であることから、TLDの重粒子線や陽子線に対する基礎特性を求めた。LETに対して比較的大きな依存性を示した。シリコンダイオードとの有利さの比較検討を行っている。

VI.物理因子の測定

W値の測定のためグリッド電離箱を、また衝突阻止能の測定のため飛程検出器を試作し、290 MeV/uのカーボンビームに対する測定を開始した。

3. 成果発表

1) Hiraoka, T: Dosimetry of heavy ion beams for therapy from HIMAC, 8th Meeting of Korean Association of Physicists in Medicine, Wonju, Korea, 1994.4

2) Hiraoka, T., Kanai, T., Omata, K., Fukumura, A., Minohara, S., Miyahara, N. and Soga, F.: Dosimetry of 290 MeV/u carbon ion beams from HIMAC. 36th Ann. Meeting of AAPM, Anaheim, California, 1994.7

3) 平岡 武、金井達明、小俣 要、福村明史、養原伸一、宮原信幸、外村浩美、曾我文宣、竹下美津恵：290 MeV/uカーボンイオン線の線量測定。第68回日医放物理学会大会、神戸、1994.9

4) Hiraoka, T., Kawashima, K., Hoshino, K. and Bichsel, H.: Energy loss of 70 MeV protons in tissue-substitute materials, Phys. Med. Biol., Vol. 39, 983-991, 1994

重粒子線による核フラグメンテーションの研究

(6P-018)

福村明史^a、平岡武^a、富谷武浩^a

金井達明^b、河野俊之^b、村上健^b、外村浩美^b、松藤成弘^b、中村尚司^c

1. 研究の目的および年次計画

高エネルギー重粒子線は媒質内走行中にその媒質を構成する原子核との間で核相互作用を起こし、次第に軽い二次粒子へと破碎される。重粒子線の線エネルギー付与(LET)は、粒子の持つ電荷の二乗に依存することから、この核フラグメンテーションを量的におさえることは、重粒子線の吸収線量や生物学的効果を考える上で極めて重要である。そこで本研究では重粒子線の主要生体構成元素等に対する核フラグメンテーション断面積や二次粒子の発生率を実験的に取得することを主たる目的としている。

このうち初年度にあたる本年は、まず検出器システムの検討および設計試作ならびに照射サイトの整備を実施し、さらに重粒子線がん治療装置(HIMAC)より得られるカーボンビーム(290MeV/u)を用いて、各検出器の性能評価および全断面積測定等に着手した。次年度以降は本年度得られた経験をふまえイオン種、エネルギーおよびターゲット種類を順次拡大する一方、検出器システムの改良、破碎片収量の角度分布等のデータ取得を開始し、重粒子線治療の線量評価、二次粒子線の医学利用および宇宙環境における線量推定への応用等をにらみ、関係グループとの連携をはかりながら核フラグメンテーションに関する基礎データの取得を推し進める計画である。

2. 今年度の研究経過および成果

今年度は、検出器システムの検討および性能評価ならびに290MeV/uカーボンビーム全断面積データの取得に主眼をおいて研究を実施した。

2.1 検出器システムの検討および性能評価

検出器システムには薄いプラスチックシンチレータと厚いアルカリハライド系シンチレータからなる、いわゆる ΔE -Eカウンターテレスコープ法を採用した。一般にシンチレーション検出器は、半導体検出器に比較して1個の情報キャリアを生成するのに数十倍のエネルギーを要するため、エネルギー分解能が劣ることが知られている。しかしながら本研究では、一次粒子の飛程や検出器の立体角を考慮すると、寸法の限定される半導体検出器の使用は困難である。また重粒子線の場合、シンチレータ内に吸収されるエネルギーは通常の γ 線に比べ ΔE 検出器で約二桁、E検出器で三～四桁も高く、十分な量の情報キャリア(光電子)が期待できる。以上のような理由から第一段階として上記のシステムを採用した。

実際にカーボンビーム(290MeV/u)を使用してテストを行ったところ、当初は光電子の量がむしろ多すぎて測定に支障をきたした。しかしシンチレータと光電陰極の間に絞りを設ける工夫や回路系の最適化などの試行錯誤の結果、現時点では両検出器に対して半値幅(FWHM)で2%前後のエネルギー分解能が得られ、全断面積測定の手続きに一応の明るい見通しを得た。また光電子増倍管に代えて、ダイナミックレンジや線形性の高い光ダイオードも用意しテストを実施するための準備も行った。

2.2 全断面積データの取得

上記の結果を得て、グラフィイト、ポリエチレン、ルサイト、アルミおよび銅をターゲットとして、290MeV/uカーボンビームの全断面積データ取得実験を開始した。

実験はビームモニター直後にターゲット、次に検出器システムを設置し、ターゲット厚を順次増減しながらデータを取得するという方法で行われた。

図1は ΔE 検出器から得られた波高分布スペクトルの一例を示す。鋭いピークは、一次粒子であるカーボンイオンの、検出器中でのエネルギー損失に起因する。ターゲット厚が増加するに従い、一次粒子が有する運動エネルギーは減少し、またその数も核フラグメンテーションにより減少する。一方、二次粒子の数は徐々に増加する。その結果このスペクトル上では、ターゲット厚の増加とともに、ピーク位置は右へ移動し、ピーク面積は減少し、さらにピーク左方には連続的な幅広い丘陵状の分布が徐々に現れ始めるという傾向がみられた。

図2には入射一次粒子数で規格化したピーク面積をターゲット厚の関数として示した例を示す。一次粒子の数はターゲット厚の増加とともに指数関数的に減少する。この傾きから断面積を決定することができる。

表1には今回得られた各ターゲットに対する断面積の実験値を示す。なお水素及び酸素の値は、グラファイト、ポリエチレン $((C_2H_4)_n)$ 、ルサイト $((C_5H_8O_2)_n)$ の値を基に算出した。また参考までにGSIで得られた670 MeV/uのカーボンビームの断面積も併記する。[1]

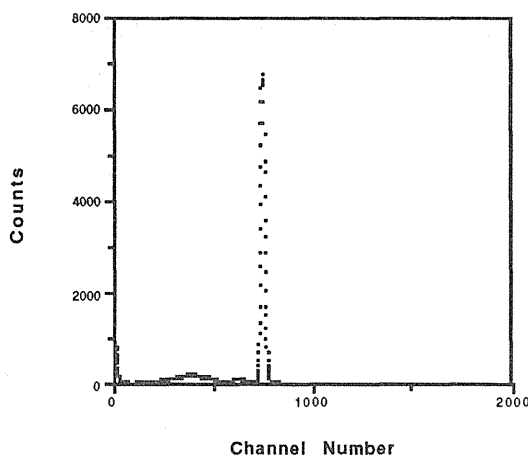


図1： ΔE 検出器の波高分布スペクトル (6cm厚Al)

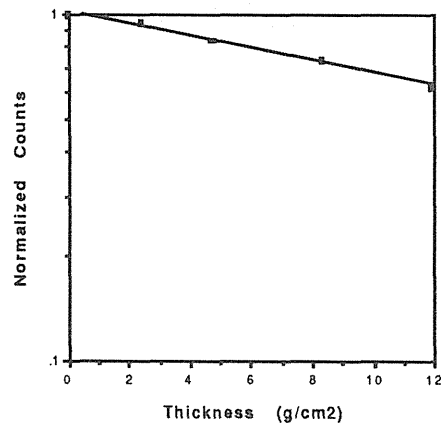


図2：カーボンビームの減衰(ルサイトターゲット)

このエネルギー領域では断面積の値は入射粒子のエネルギーにあまり依存しないことが知られているが、今回得られた値もGSIの値とよく一致していると言える。また断面積の値は、ターゲット核の幾何学的な大きさに依存するといわれるが、この実験でもターゲット核の質量数が大きくなるにつれその値が増加するという傾向が得られた。

以上述べてきた通り、今年度は一次粒子の減衰から全断面積を求める方法を確立した。これをふまえイオン種、エネルギーおよびターゲット種類を順次拡大していく予定である。

表1：全断面積の実測値 (単位mb)

ターゲット	290MeV/u C	670MeV/u[1]
グラファイト	730	699(7)
ポリエチレン	1046	1125(11)
ルサイト	6760	7410(350)
アルミニウム	1065	1137(109)
銅	1698	
水素	158	
酸素	923	

3. 参考文献

[1] I. Schall, Untersuchung der Kernfragmentation leichter Ionen im Hinblick auf die Strahlentherapie, Thesis, Technische Hochschule Darmstadt, April 1994.

^a放医研物理 ^b放医研重粒子 ^c東北大サイクロ

粒子線の飛跡構造とT C P評価の生物物理学的研究

(6 p - 0 1 9)

松本信二^a, 古瀬雅子^a, 常学奇^a, 竹尾漢冶^b, 佐藤幸夫^a, 曾我文宣^a, 大橋国雄^c, 玉野井逸朗^c

1. 研究の目的及び年次計画

重粒子線の飛跡構造を生物効果との対比で研究する. 粒子線の飛跡に沿ったエネルギー損失は線エネルギー付与として表しているが, これは平均的なエネルギー損失の一次元的な表現である. 生物効果の観点からは, 生物学的に意味を持つ微小空間に付与されるエネルギーの分布が重要である. この微小空間の単位としてどのようなサイズをとればよいのか, この空間へのエネルギー付与率の推定をどのようにすればよいのかが本研究の目的である. 細胞失活率はこの付与エネルギーがある閾値を超える確率と対応することが多くの実験で確かめられている.

年次計画.

7 飛跡に沿ったエネルギー損失の機構を知るため, ガンマ線, X線検出器を配置して, 飛跡上の各点における核反応, 原子反応のデータを得る. 更に, DNA多重損傷を高分子物理学の手法により解析する.

8. 軟X線の発生効率とDNA多重損傷につき, その関連を定量化する.

9. これらのデータを基に染色体間にまたがる多重損傷の形成確率の計算を行う. これらのデータと腫瘍内部の各位置における細胞失活率との全体にわたる対比からtumor control probability を求める.

10. 放射線物理学的データよりDNAの多重損傷, さらに治療計画作成の基礎データとなるT C P推定の基礎を得る.

今年度は飛跡に直角方向への線量分布, つまり生物影響の立場からのビームの太さを調べる手段を検討した. 試験的に細胞または胞子を照射し, その孔を通過できる色素(または色素で標識した種々のサイズの生体高分

子)によるDNA染色より粒子線の飛跡構造を理解して行こうとするものである.

次年度以降の予備実験として, 重粒子線の作る局所的多重損傷の化学的形態との対応を探るため, ビタミンB12およびポルフィリンを照射して, その試料安定性を測定した.

2. 今年度の研究経過及び成果

A. 照射系

中エネルギービーム利用室において佐藤氏の製作したターゲットチェンバーを用いて照射を行った. 炭素の核子あたり6 MeVの6価のイオンを直径1 cmの均一ビームスポットとして真空中で胞子, 高分子に照射した.

B. 胞子試料及び染色

最初の試験として胞子試料をアルミフォイル上に塗布したものを使用した. 炭素ビームの飛程に比して, 十分な薄さとする, 試料の耐久性がなかったので濾過法に切り替えた.

試料を均一な懸濁液として, ミリポアフィルター(HA, 0.45 μ)またはニュクリポアフィルター(0.8 μ , 25mm)を用いて濾過した. このフィルターを電子顕微鏡用の両面カーボンテープで洋銀基盤に貼り付けた.

胞子: *Cladosporium colocasiae* IFM 40702 株をスラント(PDA)に培養し, 胞子を形成させ, これを剥離, 秤量後, 蒸留水で希釈し試料とした. 最初の1及び2回目の実験ではマイクロピペットを用いて, 適当量を3 mm位のスポットでアルミニウムのターゲットバックキングに滴下後, 乾燥させた. 3回目以降はフィルター濾過による.

炭素ビームで照射後, 胞子を剥離し, 染色した. 染色剤として4', 6-ジアミジノー2フェニルインドール(分子量: 277.33)を

用いて、染色した。この試薬によりDNAが蛍光染色でき、核の観察により試薬が膜面を通過できたか否かが分かる。

C. 胞子照射の結果の要約

1回 (試料の厚さ, 640 μ m)

- a. 非照射試料は1%以下の染色
- b. 試料が高照射量により剥離, 落下
- c. 1例で30%台の染色比を示すが, 概ね数%の染色比に止まる。

2回 (図1)

試料の量を炭素の飛程 (178.5 μ m)に近い前回の1/2(340 μ m)又は1/4(170 μ m)で行う。

- a. 1/2の場合, 大線量において40%台の染色率となるが, これ以上は上がらないつまりビームが試料の底辺まで届いていない事が分かる。
- b. 1/4の場合, 小線量において高い染色率となるが, ある程度以上の照射に試料が耐えられず, 剥離, 落下する。

3回 (図2)

- a. フィルターに吸着させて照射した場合は低線量で十分染色されるようになる。
- b. 但し, 真空中で保持した非照射試料の染

色率が数十%になることがあり, 真空中における試料の破損が原因として考えられる。

D. 高分子試料の場合

ビタミンB12の水溶液を金の基盤上に滴下したが, 均一性に欠け, 照射に対しても若干, 剥落した。ポルフィリンはアルミニウム(上に滴下したが, 均一性照射に対する安定性とも十分であった。

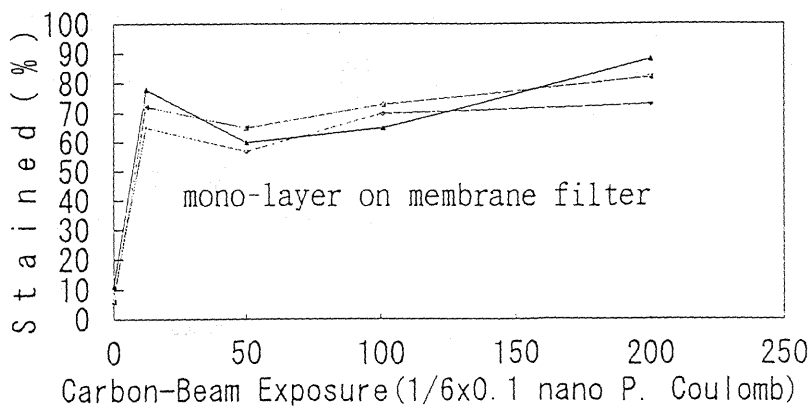
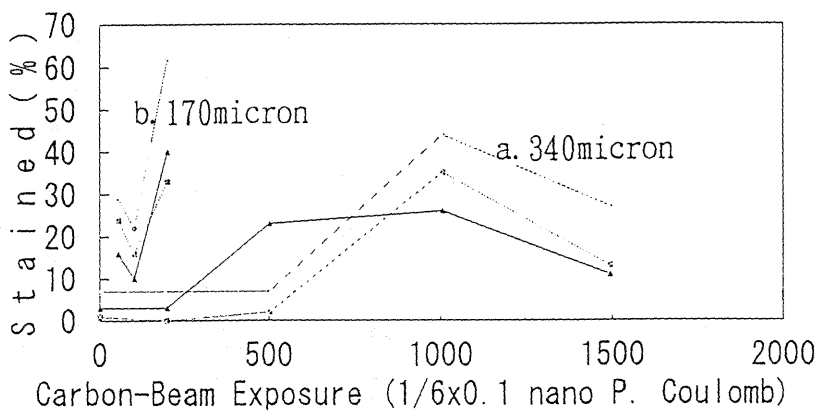
3. 参考文献

松本信二, 古瀬雅子, 粒子線生物学I, 放射線科学 37(11) 407-414, 1994

4. 成果発表

1. Elemental analysis of mouse hair by PIXE method. I. Tamanoi, K. Oohashi, S. Matsumoto, Z. Murakoshi & T. Matsumoto. Int. J. PIXE, 4(1), in press, 1995
2. Possible characterization of mouse strains by plasma analysis with PIXE. K. Hoshikawa, I. Tamanoi, A. Nakamura, M. Kachi, K. Oohashi & S. Matsumoto. Int. J. PIXE, in press, 1995 3.

^a放射線医学総合研究所, ^b千葉大学真核微生物研究センター, ^c千葉大学薬学部



重粒子線による呼吸同期照射法に関する研究

(6P-020)

蓑原伸一^a、金井達明^a、守屋正^b、田川憲男^b、
吉沢昌純^b、鹿野清一^b、伊維理^b、加藤博敏^c、辻井博彦^c

a 放医研重粒子物理工学、b 東京都立大学電気工学科、c 放医研治療診断部

1. 研究の目的及び年次計画

粒子線治療の特長の一つはビームエッジの鋭さにある。これを最大限に活かして標的部位にどれだけ線量を集中させられるかは医学物理サイドにおける課題の一つである。一方人間の臓器は呼吸・心拍・消化器系の自立運動等によって常に動いている。このような臓器に標的が含まれる場合、従来は照射マージンを広げることで対応してきたが、この手法では治療の高精度化は期待できない。本研究では、照射線量分布の高精度・高集中化を目的に、動く標的に精度良く線量を集中させる照射技術の研究・評価をおこなう。

安静時に最も大きな動きを示すのは、呼吸に伴う胸腹部の動きである。本研究では、まず呼吸による胸腹部の動き（形状変化の方向、変位量、速度）の解析を行う。次に計算機シミュレーションによって動態標的への線量分布の評価を行い、どのようなタイミングで照射すべきか、またその場合に線量分布がどの程度改善されるかの評価をおこなう。これらを踏まえてビーム制御法や治療計画のシステム化を行い、ファントム照射実験等経て臨床応用へと進めていく。

なお本重プロ研究の開始後、HIMAC治療に期待する社会的情勢から放医研では早期に呼吸同期照射（肺、肝臓）の開始をめざすことになり、現在その整備が進められようとしている。従って、本研究もこれにリンクさせ、特に動きの解析・線量分布の評

価及び同期照射の最適化に重点をおいて研究を進めて行きたいと考えている。

2. 今年度の研究経過及び成果

同期照射法の概念図を図1に示す。患者標的の動態を検出し、これに基づいてビーム出射のタイミング及び照射野形成機器を制御するというのが基本的な考え方である。

今年度は臓器の動態を検討するために、動画像を計算機へ取り込むための装置の整備を行った。臓器の動き（変位量・方向・速度）を検討するためには、X線透視画像や超音波画像として得られる動画像を、正確な時間軸に沿って解析出来なければならぬ。このために動画像を計算機にフレーム単位（1/30秒）で絶対番地（タイムコード）を管理しながら取り込めるようにした。現在肺がん患者の胸部X線透視撮影を直角2方向から行い、ビデオ画像データとした後、オフラインで計算機へ取り込み、形状の時間的变化をフレーム単位（解像度640*480pixel）で扱えるようになっている。得られたX線透視像は肺輪郭が明瞭なので、まずこれを着目点として2次元面内で動きの解析を行う。また直角2方向からの2次元投影像の解析から3次元での動きを再構成する。

一方、現在準備が進められている放医研の呼吸同期照射では、治療照射下でX線透視ができないこと及び簡単に使用出来る必要性から、まず呼吸ピックアップセンサー

(歪み計等)によって臓器の動態を検出する。このセンサーで得られる呼吸曲線に基づいてビーム出射の制御を行う。呼吸曲線のどのタイミングで照射するかは、照射前に撮影したビデオ画像上の標的の動きと呼吸曲線の相関を解析して決める。呼吸曲線から標的の動きを推定して照射するという手法である。現在、呼吸曲線と動画像を同じタイミングで記録するシステムを整備しつつある。さらに重粒子線の治療計画はCT画像上で行うが、このCT像も呼吸に同期して撮影されなければならない。照射に用いるのと同じ呼吸ピックアップ装置からの呼吸同期トリガー信号を受けて、CT撮影が出来るように放医研の現CT装置を改造する予定である。

また胸腹部(特に肝臓がん)での診断に超音波断層像が利用されていること及び動画像取得の簡便性から、超音波断層像を動態の距離計測に利用できるかの基礎実験を行った。脂肪層にオイルゼリーを用いたフ

ァントム実験から、距離計測を行う場合、断層像から脂肪層の形状を推定し散乱を考慮する必要があるとの結論を得ており、さらに応用への研究を進めつつある。

以上、本年度は主にデータ収集のシステムを整備した状況であり、来年度以降はこれで得られるデータの具体的な解析検討を進めていく予定である。

3. 成果発表

吉沢、鹿野、守屋、蓑原； セクタ型探触子を用いたBモード画像の脂肪層による歪みの検討、第33回日本ME学会大会 (1994.5)

Yoshizawa, Shikano, Moriya and Minohara; ROI location by compounding sector scan images, 7th Congress of World Federation for Ultrasound in Medicine and Biology (1994.7)

伊 他：超音波画像における呼吸と臓器変位の相関についての検討、通信学会全国大会(1995)

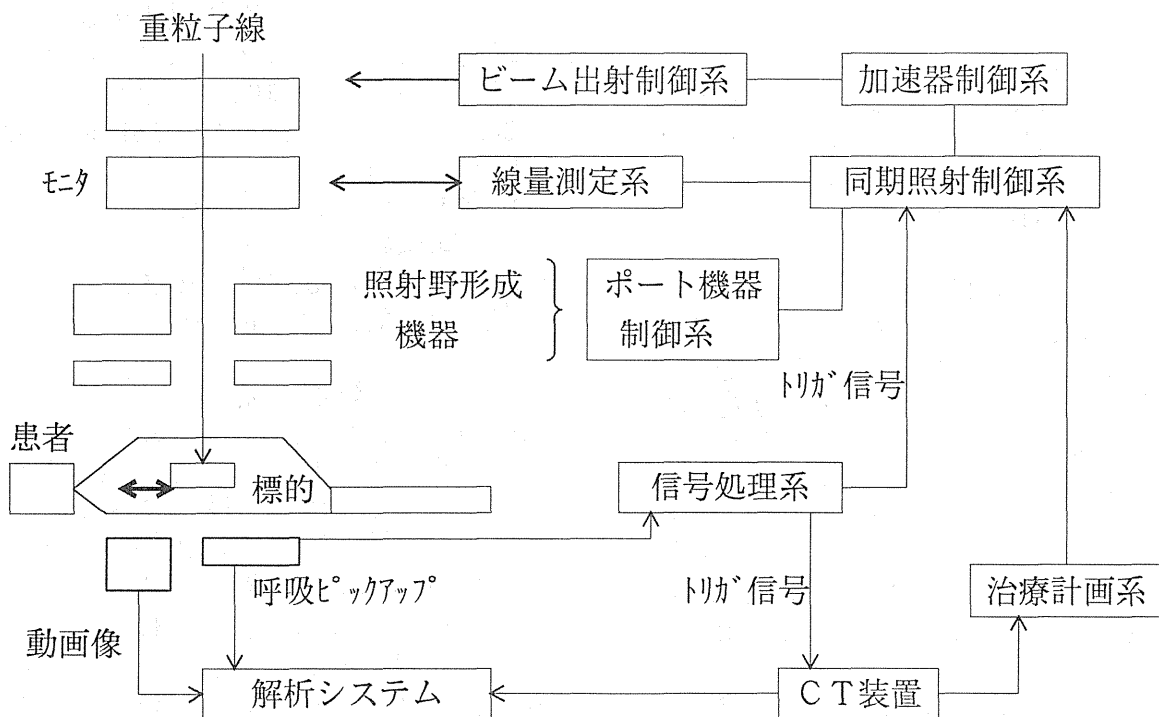


図1 呼吸同期照射システムの概念図

重粒子線効果の微細イメージング解析の報告書

(6P-021)

山本幹男^a、金井達明^b、石樽信人^c、土居雅広^d、早田勇^e、古川章^e、古角智子^a、
西川正子^a、蔵野美恵子^a、繁野雅次^f、西村敏也^f

放医研・^a物理、^b重粒子、^c内曝、^d安解、^e障害基礎、^fセイコー電子工業

1. 研究の目的及び年次計画

研究目的

重粒子線による治療などの医学利用を効果的に推進するためには、各種の重粒子線照射の作用やその効果を、実際の線量などの条件で微細に正確に把握し、解明・評価することが肝要である。

しかし現状では、実際のがん治療の高線量での効果を微細に観察する手法が存在しないが、本法はその可能性があり、それを実証する。

本研究は、重粒子線の作用や効果を、原子間力顕微鏡(AFM)などの各種顕微鏡的手法により、主として光学顕微鏡以下のナノスペースで微細にイメージングし解析する新しい方法を開発し、それを利用して、飛跡構造、エネルギー付与、また効果を実験的に解明し、上記の目的に寄与しようとするものである。

また、本研究で開発される方法は重粒子線顕微鏡の方法開発の基ともなる波及効果をもたらす。さらに、材料照射への作用・効果の解明にも役立つ。

研究方法

重粒子線を検体へ入射させ、入射に垂直な面ならびに平行な面に関する作用を顕微鏡的に微細にイメージングする方法を開発し、飛跡構造、エネルギー付与、生体への効果などを実験的に明らかにする。

1. ナノ・メートル領域のイメージング法の開発。原子間力顕微鏡(AFM)など各種スキヤニング・プローブ・顕微鏡、環境制御型電子顕微鏡などによる微細な飛跡構造のイメージング法の開発。

2. 光学顕微鏡領域でのイメージング法の開発。各種光学顕微鏡に高解像度カラービデオカメラを組み合わせたシステムによるカラーセンターなど飛跡構造のイメージング法の開発。

3. 生体への効果のイメージング法の開発。
4. これらのイメージングにより得た画像を画像処理・画像計測・データ解析し、結果を導く。

年次計画

1~3年目：プラスチックなど組成の単純な検体の薄片を束ねた、より扱いやすい検体を対象とする。

3~5年目：より生体に近い検体及び生体検体をも対象とする。

2. 今年度の研究経過及び成果

実験目的

本年度は、提案している原子間力顕微鏡(AFM)を用いる本法が、高密度に照射された資料に対し、光学顕微鏡以下の微細な効果を観察する有効な方法となり得るかどうかを判断するための概略の結果を得ることを主眼にした実験を行った。具体的目的を以下に列挙する：

1. 化学エッチング条件の選定。
2. 光学顕微鏡との比較。
3. 高密度で微細な効果の観察。
4. 本法の有効性の可能性を示す。

資料の照射

HIMAC生物照射系にて、135MeV/核子の単一エネルギーCビームを、実際のがん治療条件より数十倍高密度に照射した。

資料としては、プラスチック(CR-39)小片(10×10mm²×0.85mm厚)を10枚ずつ重ね合わせた2組を照射した。その他コントロールとして非照射群を用意した。第1組は最前方に、第2組は最後方に配位し、その中間はルサイトにて満たした。最後方の小片は最前方より37mmの距離となるよう配置し、第2組はブラッグピーク近辺となるようにした。

エッチング条件の実験

NaOH 27% 水溶液 80°Cに第1組の10枚と非照射のサンプルを組み合わせて、エッチング時間を変化させた。通常の光学顕微鏡での観察には2時間程のエッチング時間を要するが、本法ではより微細な観察が可能であるので、40分以下を試した。

表1. 光学顕微鏡による観察結果

エッチング時間(分)	倍率	照射	非照射
40	150 1500	大穴のみ計数可 C(炭素粒子)もかろうじて 観測可だが計測不可	大穴もなし Cもなし
15	150 1500	大穴もごみとまぎらわしい 大穴は観測可 Cは見えるものもあり	大穴かごみか区別つかず
8,4,2	150 1500	大穴も点状でごみと区別つかない 大穴も見つけにくい Cは見えず	大穴かごみか区別つかず なし
0	150 1500	なし なし	なし なし

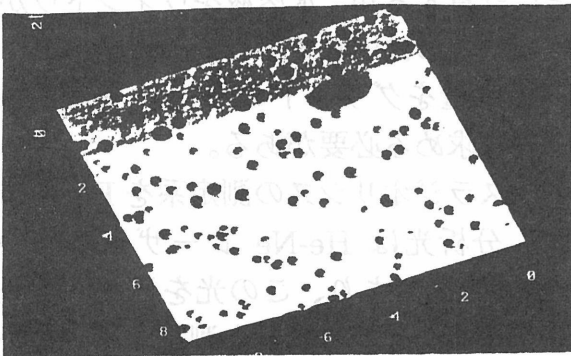


図1. AFM像15分(視野 $10 \times 10 \mu\text{m}^2$)

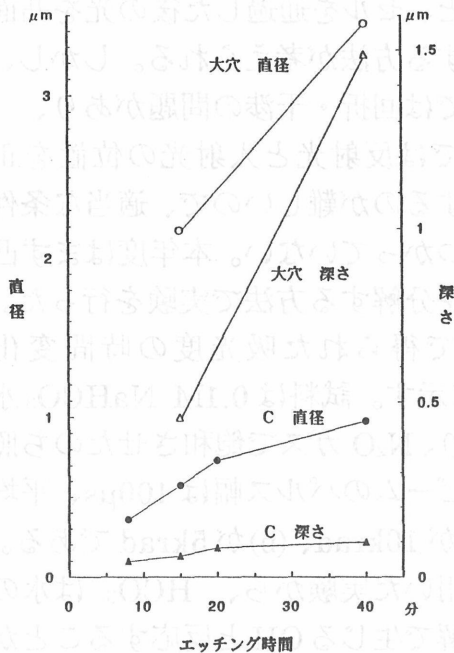


図2. エッチング時間による痕跡の変化

観察

エッチング後の資料を光学顕微鏡にて観察した結果を表1に示す。光学顕微鏡の限界である1500倍をもってしても炭素粒子痕(C)はかろうじて観察できるが形状を分析するのは不可能である。その他、出現確立は非常に低いが、大きな痕跡(大穴)が観察された。これはまだ同定するに至っていないが、非照射資料には観察されないので、照射に基づくものである。

同一の資料をAFMにて観察し(図1)、痕跡の大きさと深さをまとめ図2に示す。

ブラッグピーク付近

第2組の資料は、非照射コントロールと共に、同一溶液にて6分間エッチングした。AFMで観察した様子を図3に示す。飛跡の径が後方に行くに従いだんだん大きくなっている様子が見える。これから推測するとブラッグピークは最後方資料より後に位置した。現在定量的解析中である。

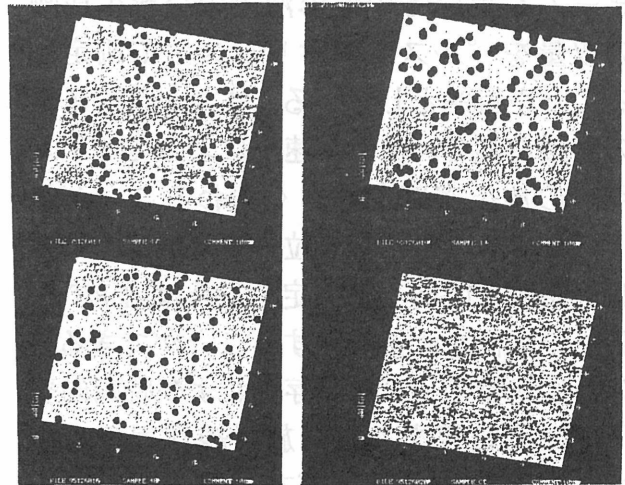


図3. ブラッグピーク付近のAFM像6分
左上: 最後部より2枚前、左下: その次、
右上: その次(最後部)、右下: 非照射。

まとめ

1. CR-39に135MeV/nのCの飛跡をごく短い(数分)エッチング時間で原子間力顕微鏡(AFM)にて微細に解析できる可能性を実験的に示した。

2. 本法では100粒子/ $10 \times 10 \mu\text{m}^2$ 程度の高密度な粒子の打込みの観察ができることを明らかにした。

3. LETの校正や再現性の確認などがなされれば、資料を実際の患者中に入れ、治療条件での微細な照射分布の測定という、今までにない手段となりうる。

重粒子線の生物作用に関する化学的基礎研究

(6P-022)

吉田陽一^a、田川精一^a、勝村庸介^b、広石大介^b、堂前雅史^b、千歳範壽^b、
貝塚洋志^b、古澤孝弘^b、柴田裕美^c、村上健^d、曾我文宣^d、山口寛^d
(^a阪大産研、^b東大工、^c東大原総セ、^d放医研重粒子)

1. 研究の目的及び年次計画

水溶液に対する放射線の効果は放射線化学だけでなく、工学、生物学、医学の分野の基礎研究としても重要なテーマである。現在までに、 γ 線や電子線など低LETの放射線については、 e_{aq}^- 、H、OHなどの水の分解生成物の収量及び反応が様々な条件で調べられてきた。しかし、重粒子線についての研究は少なく、しかもほとんどが酸性溶液を対象としている。そこで、本研究グループでは、HIMACの重イオンビームを用いて中性溶液中での分解生成物の収量をパルスラジオリシス法で測定することを目的としている。また、重粒子線の特徴として、粒子の速度によってエネルギーの放出密度が大きく変わることが挙げられる。このため、粒子の飛跡に沿って微小領域に区切って測定を行えば、LETと収量の関係を直接決定することができる。分解生成物のLET依存性および時間的変化の測定結果をもとに放射線作用のメカニズムを検討するのが本研究の目指すところである。

2. 今年度の研究経過及び成果

本年度はまず測定システムを製作した。利用するビームは中エネルギービーム照射室の24MeV He²⁺粒子であり、Fig.1に示す照射ポートに導入する。水溶液の照射では、試料をウィンドウから隔離したセルに入れるのが一般的であるが、24MeV He²⁺粒子の飛程は水中で約500 μ mと非常に短い。そのため、本研究では、ウィンドウに直接試料が触れるようにセルを設計

した。そして、試料の出し入れのためにフローシステムを組み、遠隔操作で交換できるようにした。ウィンドウは厚さ10 μ mのハーバー箔であるが、平面性を維持するために裏側をグリッドメッシュで支えている。また、水を用いるので加速器保護のためにダクト内に隔膜を設け、隔膜とウィンドウの間は、別系統で常時排気するようにした。

吸収線量は粒子のエネルギーと電流をもとに計算するが、水溶液をウィンドウから絶縁するのは困難である。したがって、電流の総量をグリッドの形状から補正して線量を求める必要がある。

パルスラジオリシスの測定系をFig.2に示す。分析光はHe-Neレーザーからの633nmの光であり、この光をビームに垂直な方向に通して吸収量を測定する。粒子の飛跡方向に沿った微小領域への分割の方法としては分析光をスリットで細くする方法と、セルを通過した後の光を凸面鏡で拡大する方法が考えられる。しかし、スリットでは回折・干渉の問題があり、一方、凸面鏡では反射光と入射光の位置を正確に把握するのが難しいので、適当な条件はまだ見つかっていない。本年度はまず凸面鏡で光を分解する方法で実験を行った。

実験で得られた吸光度の時間変化をFig.3に示す。試料は0.1M NaHCO₃水溶液であり、N₂Oガスで飽和させたのち照射した。ビームのパルス幅は100 μ s、平均線量は(a)が16krad、(b)が5kradである。電子線を用いた実験から、HCO₃⁻は水の放射線分解で生じるOHと反応することが知

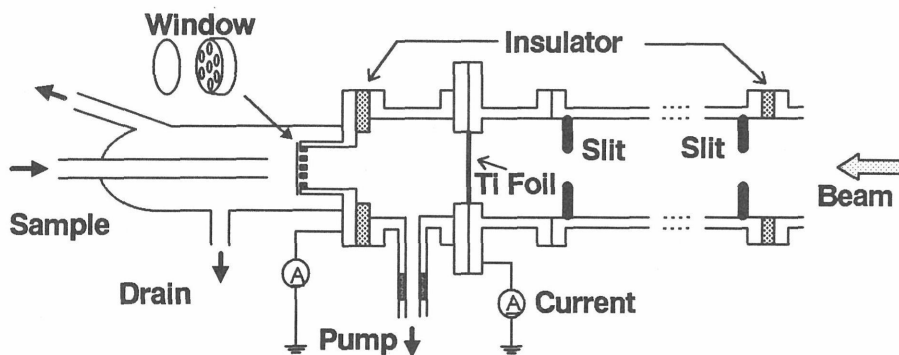


Fig.1. Experimental system.

られている。

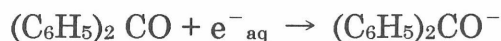


また、 N_2O 飽和溶液では



の反応が起こるので、水和電子も CO_3^{2-} の生成に寄与している。この CO_3^{2-} は 633nm に $\epsilon = 1500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ の吸収をもつので Fig.3 は CO_3^{2-} の濃度変化を表すと考えられる。よって、これから e_{aq}^- 及び OH^- の収量が求められるのである。図から、分解生成物の収量と線量の比例関係が確認できる。また、 CO_3^{2-} は 2 次反応で減衰することが知られているが、Fig.3(a)の方が減衰時間が短いことから、定性的に確認することができた。

試料としては、別に 1mM ベンゾフェノン($\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{CO}$ 、1M t-BuOH、1mM NaOH 水溶液で照射を行った。この溶液では



の反応で生じたラジカルアニオンが 633nm の光を吸収する。したがって、こ

の測定から水和電子の収量を求められる。

以上のように本年度の研究により、信号が得られるシステムを組むことができた。しかし、微小領域への分割方法をはじめ、線量

評価の方法、分析光の位置を一定に保つ方法など、実験システムとして最適とは言えない状況にある。現在、来年度に向けて、照射セルを中心に装置を改良する方向で検討している。

3. 参考文献

R.H.Schuler and J.A.LaVerne, p.69-78 in "New Trends and Developments in Radiation Chemistry", IAEA-TECDOC-527(1989)

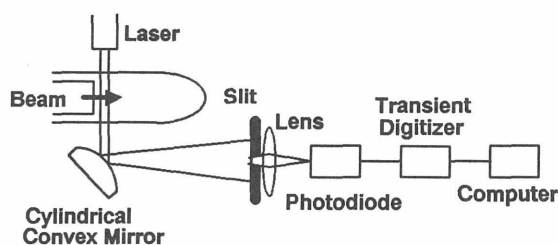


Fig.2. A schematic diagram of ion beam pulse radiolysis.

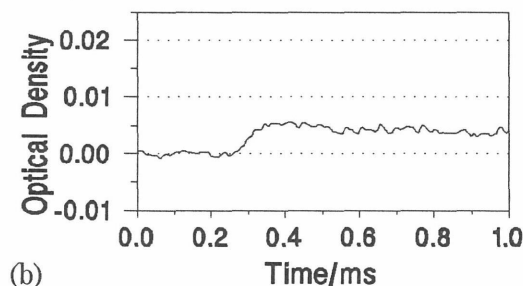
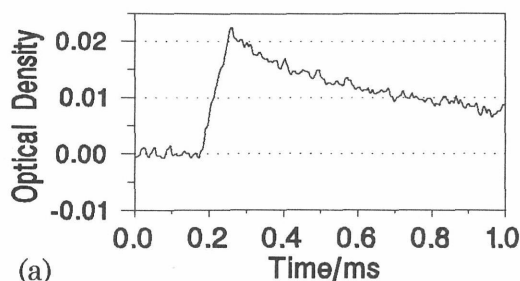


Fig.3. Timeprofile observed in 0.1M NaHCO_3 solution saturated with N_2O .(a)16krad,(b)5krad.