

# 単色 X 線とナノ粒子を組み合わせた新しいがん治療 技術の開発にむけて



玉野井冬彦<sup>\*1</sup> Tamanoi Fuyuhiko



松本光太郎<sup>\*1</sup> Matsumoto Kotaro



齋藤 寛之<sup>\*2</sup> Saitoh Hiroyuki



城 鮎美<sup>\*2</sup> Shiro Ayumi

## 1 はじめに

ナノテクノロジーの発展により様々な新規ナノ材 料が開発されてきた。特にナノ粒子は直径40~ 400 nm のサイズの微小粒子であり様々な物質をが ん細胞に効率よく取り込ませ細胞核の近傍に集める ことに有効である<sup>10</sup>。一方,近年の放射線治療の進 展により,がん治療のためにX線,陽子線,中性 子線等を用いた量子ビーム治療技術が開発されてき た。私たちは最近,ナノ粒子を用いてGd(ガドリ ニウム)をがん細胞のかたまりに取り込ませ、単色 X線で照射することによりがんのかたまりを効率よ く殺傷できることを示した<sup>20</sup>。この仕事はナノテク ノロジーの研究と量子ビームの研究の融合により初 めて可能になった試みである。本稿ではこの実験の 概要,背景を説明し,将来への展望を議論したい。

# 2 単色 X 線とオージェ効果

#### 2.1. 単色 X 線

放射線治療で一般的に用いられる X 線は白色 X 線 と呼ばれ、様々なエネルギーの X 線が混ざった状 態である。白色光は、可視光領域の電磁波で説明す ると、太陽光等文字どおり白色に見える光に対応す る。どのようなエネルギーを持つ X 線が、どのく らいの強度を持って白色 X 線に含まれているのか は、エネルギープロファイルを見ることで分かる。 本稿で紹介する実験を行った大型放射光施設 SPring-8の(国研)量子科学技術研究開発機構専用 ビームライン BL14B1の偏向電磁石光源から発生する X線のエネルギープロファイルを図1Aに示したが, このビームラインでは10~100 keVの範囲でX線 の明るさがほとんど変化しない,すなわち,各エネ ルギーの単色X線をほぼ等しい明るさで含む白色 X線を発生させ,照射・計測の実験に使用すること が可能である。

白色 X線に対して、特定のエネルギーの X線の みから構成される X 線を単色 X 線と呼ぶ<sup>3)</sup>。単色 光とは、可視光領域の電磁波で再び説明すると、赤 や青等の単一色の光のみを含む光に対応する。X線 領域のエネルギーを有する電磁波に対しては物質の 屈折率がほぼ1であるため,可視光で行われるよう なプリズムの原理を使った単色化を行うことはでき ない。そこで白色 X 線を単色化する際には、X 線 の回折現象を利用する。筆者らの研究では2枚のシ リコン単結晶からの回折 X 線を取り出すことで単 色 X 線を得た。単色化された X 線のエネルギープ ロファイルの模式図を図1Bに示す。実験に用いた 単色 X 線は通常, 無機物の物性研究のための計測 に用いられるもので、非常に鋭いエネルギープロ ファイル ( $\Delta E/E \sim 10^4, E$ は単色 X 線のエネルギー) を有する。

X線と物質の相互作用の大きさは、物質が同じで あれば、X線のエネルギーによって決まる。X線の







図2 オージェ電子によるがん殺傷効果の模式図

単色 X 線を Gd ナノ粒子に照射し、細胞への影響が大きいオージェ電子によりがん細胞を殺傷する。正常細胞中は透過力が高い 単色 X 線が透過し、飛程が短いオージェ電子はがん細胞以外の細胞には届かないと期待できる

エネルギーが高いほど物質との相互作用が小さくなり,その結果として透過能が増加する。したがって, 白色 X 線を物質に照射した場合は,低エネルギー の X 線は物質の表面で吸収され,高エネルギーの X 線は物質の内部まで透過する。白色 X 線による がん治療においては,低エネルギーの X 線が体表 の正常細胞にダメージを与えてしまう,等の問題を 引き起こす。ここで,もしがん細胞のみを効果的に 殺傷できる単色の X 線が存在し,かつ,その X 線 のエネルギーが十分に高ければ,体表や体内の X 線 透過パス中の正常細胞に与えるダメージをできるだ け少なくしたがん治療が可能になる。透過力の高い 単色 X 線が効率良くがん細胞にダメージを与えら れるように工夫を施すことが重要である。

### 2.2. オージェ効果により単色 X 線のがん殺傷力を 増幅する

基底状態の元素にX線や電子線を照射すると, 一定の確率で内殻電子が励起され,内殻に正孔が生 じる。正孔に外殻から電子が遷移するが,そのとき に発生する余剰なエネルギーを受け取って放出され る電子をオージェ電子と呼ぶ<sup>4)</sup>。本稿で取り扱う Gdのオージェ電子(KLLオージェ電子)は約 33 keVの運動エネルギーを持つ。励起光は内殻を 励起するのに必要なエネルギーを持つ必要があり, 例えば Gdから K 殻の励起によりオージェ電子を放 出させる場合,K 吸収端のエネルギーである 50.24 keV よりエネルギーが大きい励起光が必要で ある。Gd等の高Z元素に単色X線をあてて放出さ れた電子は細胞の殺傷力が高い。オージェ電子は吸 収端直上の単一のエネルギーを持つX線の照射に よって効率的に発生させることができる。そこで



図 3 Gd 含有 MSN の TEM 画像を左に示した。Gd 含有ナノ粒子(Gd-MSN)は MSN を表面修飾し, Gd を結合させた。エネルギー分散型 X 線分析(EDX), ICP により Gd の結合を確認している

Gd 等の高 Z 元素をあらかじめがん細胞にデリバ リーしておいて単色 X 線を照射するとがん細胞を 殺すことができる。この原理を図2に示した。また 放出された電子は飛距離が短いので、細胞の殺傷を がん細胞だけに限定して周りの正常細胞への影響を 最小限にすることができる。

### 3 がんスフェロイドを用いたオージェ効果実験

#### 3.1. がんスフェロイド

上に述べたオージェ効果によるがん細胞の殺傷効 果を調べるために筆者らはがんスフェロイドの系を 用いた。がんのモデル系としてはがん細胞の培養と マウスを使ったがん移植モデルが使われてきた。し かしながら、最近、がんの特徴を維持したモデルと してがんスフェロイドモデルが使われてくるように なってきた<sup>5</sup>。がん細胞を増殖するときに細胞が付 着しないように表面加工した特別な培養容器を使う とがん細胞が集まり三次元のかたまりを作る。この 方法でスフェロイドを形成すると 0.3 mm × 0.3 mm の球状のかたまりができる。通常の細胞培養ででき る二次元の細胞に比べがんスフェロイドは実際のが んに似ており、抗がん剤に対する感受性も二次元の 細胞と異なる。更に間質細胞、免疫細胞、細胞外マ トリックス等を加えれば、実際のがんに非常に類似 したがんオルガノイドというかたまりを作ることが できる。また患者のがん細胞を用いてがんスフェロ イドを作り患者由来のがんスフェロイドを形成する こともできる。

#### 3.2. Gd 含有ナノ粒子とがんスフェロイドへの取込み

がんスフェロイドに Gd をまんべんなく分布させ

るために私たちはメソポーラスシリカナノ粒子 (MSN)を用いた。MSN は均一な高品質のナノ材 料であり、効率よくがん細胞に取り込まれること、 またがんへの蓄積能が高いこと等の特徴を有してい るので、がん治療におけるデリバリーシステムとし て注目されている<sup>®</sup>。筆者らは Gd 等の高 Z 元素を 効率的かつ高濃度でがん細胞に運ぶために Gd 含有 ナノ粒子を合成した。図3ではゾルゲル法という方 法で合成した MSN ナノ粒子を示したが、この粒子 は直径が約100nmであり、多数の孔が開いた構造 をしている。ハチの巣やスイスチーズのような形状 である。筆者らは更に表面の電荷を調整して溶液中 での分散性を高めた。また MSN の挙動を追跡する ために Rhodamine-B を用いて標識した。Gd を含有 させるためには表面にアミンを修飾し MSN の表面 や小孔内の壁にガドペンテト酸を結合させた。

Gd 含有ナノ粒子をがんスフェロイドに加えると、 ナノ粒子はがんスフェロイドの深部にまで取り込ま れ、がんスフェロイド全体に分布する。この実験で は緑の蛍光タンパク GFP を発現している卵巣がん 細胞を用いてがんスフェロイドを作成したのでス フェロイドは緑の蛍光を示す。Rhodamine-B で標識 した赤い蛍光のナノ粒子を加えるとスフェロイド全 体が赤くなるのが分かる(図4)。スフェロイド全 体にナノ粒子が分布している点は、更に共焦点顕微 鏡を用いた解析で確かめた。スフェロイドを構成す るがん細胞についてみるとナノ粒子はこれらの細胞 に取り込まれ DNA が内在する細胞核の近傍に蓄積 される。この理由は生体を構成する細胞はエンドサ イトーシス"と呼ばれる細胞外から物質を取り込む 機構を有しており、筆者らが用いた Gd 含有ナノ粒 子は卵巣がん細胞のエンドサイトーシス機構を介し



図4 GFP 発現がん細胞から作ったがんスフェロイドに Rhodamine-B 蛍光標識した Gd-MSN をインキュベートする と Gd-MSN がまんべんなく取り込まれる。更にがん細胞の 中を見ると Gd-MSN が細胞核のすぐ外に局在しているのが 分かる。細胞核は青色の蛍光で示した

て細胞内へと取り込まれるからである。図4の右側 に示したパネルに見られるようにGd含有ナノ粒子 は青い蛍光で示した細胞核のすぐ外に集まってい る。このことは,GdをDNAの近くにGdを局所的 に高濃度で局在させることができたことを意味して いる。

#### 3.3. がんスフィロイドの照射実験

Gd 含有ナノ粒子を加えたがんスフィロイドの単 色 X 線照射実験は SPring-8 BL14B1 にて実施した。 照射実験に用いた光学系の略式図を図5Aに示す。 BL14B1の偏向電磁石光源で発生した白色 X 線を 2 枚 のシリコン単結晶 311 面で単色化し、約1mm× 1 mm のビームサイズに成型した後に試料に照射し た。この研究ではオージェ電子を発生させるために、 Gd K 吸収端より高いエネルギーの単色 X 線を照射 する必要があるため、X線のエネルギーを正確に決 定する必要がある。照射実験の前にあらかじめ標準 試料である Gd 箔の吸収プロファイルを2台のイオ ンチャンバーを用いて測定して X 線のエネルギー 較正を行った。入射X線を試料に照射するためには、 専用の試料台と自動ステージからなる照射システム を構築する必要があった。このステージを XYZ の 3軸を有する自動ステージ上に固定し、ステージを 使って照射位置にチューブを移動することで、24個 の試料に対して自動で照射実験を行うことが可能と なる。ビーム照射位置の確認は、あらかじめX線 の光路と一致するように調整したレーザーと顕微鏡 からなる光学観察システムと、透過X線の2次元 像を観察する CCD カメラを用いて行った。



図 5 単色 X 線照射によるがんスフェロイド破壊効果 A:照射実験の光学系の略式図。B: がんスフェロイドは 50.25 keV の単 色 X 線により破壊されるが、50.0 keV では影響を受けない

Gd を含有したナノ粒子を取り込ませたがんス フェロイドに単色 X 線を1時間照射し,照射の効 果を明らかにするために照射後の細胞を 2~3 日間 培養し GFP 蛍光観察した結果を図 5B に示す。照射 X線のエネルギーによる違いを確認するために Gd の吸収端直上である E=50.25 keV と吸収端よりも わずかにエネルギーの低い E=50.0 keV の X 線を照 射し、結果を比較した。図 5B から明らかなように、 Gd K 吸収端直上の単色 X 線 (50.25 keV) を Gd 含 有ナノ粒子を取り込ませたがんスフェロイドに照射 したとき,がんスフェロイドが破壊された。一方, 図には示されていないが. Gd を含まないナノ粒子 をがんスフェロイドを用いた場合には影響がみられ なかったので,照射した単色 X 線そのものにはが ん細胞を殺傷する効果は少ないことが分かる。また Gdを含むがん細胞でも、GdのK吸収端よりもわ ずかに低いエネルギーの単色 X 線(50.0 keV)を照 射した場合には、スフェロイドへの影響がないこと も明らかになった。今回のがん殺傷効果はK殻電 子を励起する過程により引き起こされていることを 明確に示す結果である。また.K 殻電子の励起によっ ては蛍光 X 線も発生するが、このとき発生する蛍 光X線は最もエネルギーが高いもので48.7 keVであ る。50.0 keV の単色 X 線のみではがん細胞に影響を 与えないことからも、今回観察されたがん殺傷効果 には蛍光 X 線は関与しておらず、オージェ電子が 重要な役割を果たしていると結論づけられる。がん スフェロイドへの影響のメカニズムについては DNA の切断の様式を含め今後の研究が必要である。

# 4 がんのオージェ治療

筆者らの研究によりがんのかたまりに Gd を取り 込ませ 50.25 keV の単色 X 線で照射することにより がんのかたまりをバラバラにできることが分かっ た。同様なアプローチは他の高 Z 元素でも可能な はずである。例えば Au を使こともできるが,この 場合はもっと高いエネルギーの単色 X 線 (80.7 keV) を使う必要がある。このように高 Z 元素と単色 X 線 のエネルギーをデザインすることができる。またこ の治療の有効性については動物モデルで検討する必 要がある。MSN ナノ粒子はサイズ,表面の電荷を 調整することにより,高いがん蓄積能を示すことを 考えると今後の展開に期待が持たれる。

### 5 量子ナノ医療の展開

前述したように私たちの研究は量子ビームである 単色 X 線の研究とナノテクノロジーの研究の融合 により生まれた。すなわち異分野の融合により新し い放射線治療の可能性が開かれたと言える。これと は別の組み合わせはいろいろ考えることができる。 例えば、ホウ素中性子補足療法(Boron Neutron Capture Therapy, BNCT)<sup>®</sup>はホウ素(boron-10)と熱 中性子の核反応によって生じるα線を利用したが ん治療方法であり、あらかじめがん周辺に B を集 積させた状態で中性子線をがんに照射する。中性子 線自体は物質との相互作用が小さいため、人体の正 常組織にはあまり大きなダメージを与えることはな い。近年、B を含有したナノ粒子が開発されつつあ る。。またホウ素(boron-11)に陽子線を照射する と3個のα粒子が放出されがん細胞を殺すことが できる<sup>10</sup>。更にカーボンイオンビーム等の重粒子線 を活用することも将来できるかもしれない。このよ うに量子ビームとナノ材料の組み合わせをいろいろ 考えることができ、様々な可能性が開けてくると期 待される。こうした量子ビームの研究とナノ材料の 研究の融合からできてくる新規研究分野を筆者らは 量子ナノ医療研究と呼んでいる。近年、量子という キーワードがいろいろ使われてきている。量子コン ピューターに始まり、バイオ系では量子生命科学と いう研究が進展してきている。更に医療への応用を 目指す研究として量子ナノ医療は今後発展してくる と考えられる。

#### 参考文献

- 1) Maurya, A., et al., Interv Med Appl Sci., 11, 38-54 (2019)
- 2) Matsumoto, K., et al., Sci. Rep., 9, 13275 (2019)
- Lewis, R., et al., Physics in Medicine and Biology., 42, 1213-1243 (1997)
- 4) Auger, P., Surface Science., 48, 1-8 (1975)
- 5) Mehta, G., et al., J Control Release., 164, 192-204 (2012)
- 6) Yanes, R.E., et al., Ther Deliv., 3, 389-404 (2012)
- Patel, S., et al., Advanced Drug Delivery Reviews., 144, 90-111 (2019)
- 8) Suzuki, M., et al., J Radiat Res., 55, 146-153 (2014)
- 9) Barth, R.F., et al., Cancer Commun., **38** (2018)
- 10) Cirrone, G.A.P., et al., Sci Rep., 8, 1141 (2018)

(\*1 京都大学,物質 – 細胞統合システム拠点(iCeMS), \*2 (国研)量子科学技術研究開発機構 関西光科学研 究所)