

平成26年度放射線基礎セミナー 若手研究者等によるショートプレゼン テーション 優秀賞紹介

(2014年7月9、10日開催 日本アイソトープ協会 理工学部会、ライフサイエンス部会主催)

レーザー共鳴イオン化質量分析を用いた 微粒子中の核物質同位体分析法の開発



能任 琢真

Noto Takuma

(名古屋大学大学院 工学研究科)

1 はじめに

核物質使用の世界的な広がりに対し、兵器転用の防止や未申告活動の発見のため、IAEAの保障措置における環境試料分析が重要な役割を果たしている¹⁾。中でも、査察対象施設の壁や床を専用の布で拭きとって得られた微粒子(スワイプ試料)の分析では、微量なものでは粒形1 μm未満の微粒子に含まれる核物質(U, Pu)の同位体比を測定する。こうした微量かつ長半減期である放射性同位体の分析では、質量分析法を用いた原子の数の上げによる手法が一般に適用されており、現在、表面熱電離質量分析(TIMMS)や二次イオン質量分析(SIMS)が用いられている。しかし、迅速かつ正確な分析を行うため、試料操作の容易さや、質量数が等しいほかの核種や分子による同重体干渉の除去が重要な課題である。

そこで、本研究ではレーザー共鳴イオン化質量分析法(Resonance Ionization Mass Spectrometry: RIMS²⁾)を用いた微粒子中核物質の同位体比分析法の開発を行っている。RIMSは試料を単原子化し、原子の励起エネルギーに相当する波長を持った光子を照射することで、元素選

択的に共鳴励起・イオン化し、生成されたイオンを検出器で数え上げる。このため、原理的に化学的前処理を必要とせず同重体干渉を回避することができる。さらに、試料の単原子化にイオンスパッタリング³⁾やレーザーアブレーション⁴⁾を用いることで、微粒子試料の選択を容易にすることができる。

2 微粒子中核物質分析へのRIMSの適用検討

RIMSを微粒子中核物質の分析に適用するに当たり、IAEAが要求する確度を有している必要がある。特に、安定同位体の存在しないウラン・超ウラン核種の測定では、既知の同位体比から質量差別効果を推定する内部補正法等の適用が困難であり、核種によらない補正法が必要である。そこで本研究は、測定時のイオン計数や検出効率の変動が、レーザーの出力・波長・照射タイミングや、実験室の温度・気圧といったシステムの複数のパラメーターの変動の影響によるものとし、それらのパラメーターをイオンの測定と同時に記録し、相関を解析することで補正を行う逐次補正法を開発した^{5,6)}。シス

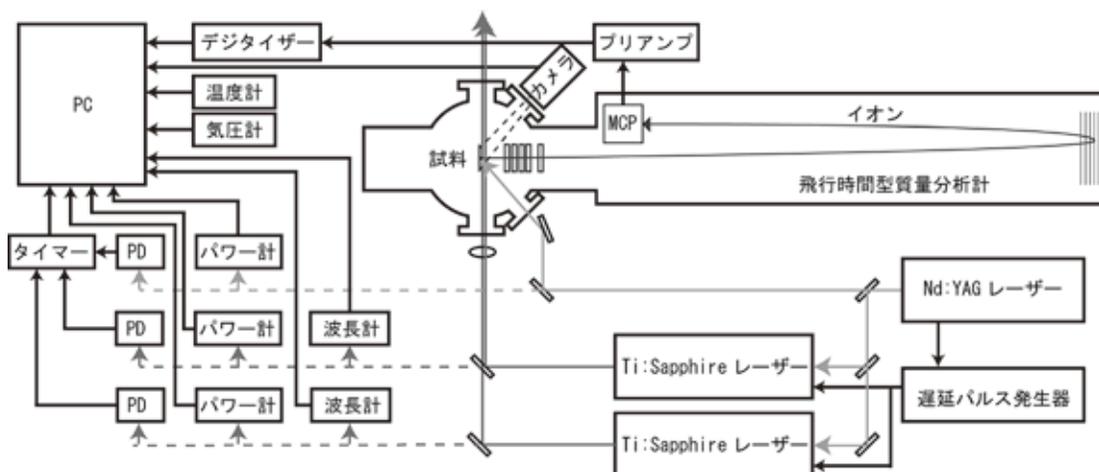


図 逐次補正法適用のための RIMS システム概要図 (PD : フォトダイオード, MCP : マイクロチャンネルプレート)

システムの概要を図に示す。ここでは、原子化にレーザーアブレーションを、共鳴励起・イオン化用の波長可変レーザーに高繰り返し率かつ安定動作する Ti:Sapphire レーザーを、同位体の弁別に飛行時間型質量分析計を用いている。

補正法の事前検討として、ドイツのマインツ大学の RIMS 装置 RISIKO を用い、Ti:Sapphire レーザー 2 台で 2 色のレーザー光を入射させて Yb 試料を共鳴励起・イオン化させ、磁場セクター型質量分析計で同位体を弁別して測定を行った。同位体比の測定値と真値（天然同位体比）の差異は最大で 7% であったが、レーザーパルスのエネルギーと照射タイミングで補正したところ、測定値を 0.3% 程度補正できることが示された⁵⁾。これを基に、本研究室が所有する飛行時間型質量分析計からなる RIMS 装置により、Ti:Sapphire レーザー 1 台で Ti の共鳴励起・イオン化と検出を行い、イオン計数補正と検出効率補正により、差異が最大 11% だった測定結果を 2% 未満に抑えることが示された⁶⁾。効率的なイオン化には複数本のレーザー照射が必要のため、補正法の改良が必要であるが、IAEA が要求する確度が、 $^{239}\text{Pu}/^{240}\text{Pu}$ で 10% であり、本補正法は原理的に核種に依存しないことから、核物質分析への適用が期待できる。

また、微粒子試料の測定においては、システムの持つ収率が低い場合、十分な計数が得られるまでに試料が尽きてしまう可能性があるため、収率も重要なパラメーターとなる。一例として、アルゴン国立研究所の RIMS 装置 CHARISMA では収率 ~2% を報告している^{3,7)}。一方で TIMS や SIMS の収率はそれぞれ ~1%、~3% 程度であるため⁸⁾、RIMS を用いることでほぼ同程度の精度・感度を持った微粒子試料分析が期待できる。

3 まとめと今後の課題

RIMS を用いた保障措置環境試料分析における微粒子中核物質の分析のために、システムのパラメーターを補正に用いる逐次補正法の開発を行った。この補正法により、要求確度を満たした分析が可能になると考えられる。また、収率の点からも微粒子中核物質分析への RIMS の適用が期待できる。今後は補正法の改良を進めるとともに、ウランに対する実証実験を行う予定である。

【謝辞】

本研究は JSPS 特別研究員奨励費 24・4488 及び科研費基盤研究 C (26420868) の助成を受け

たものです。また、本研究を遂行するに当たり名古屋大学 井口哲夫博士・河原林順博士・富田英生博士、マインツ大学 Klaus Wendt 博士のご協力・ご支援をいただきました。ここに深く感謝いたします。

参考文献

- 1) Donohue, D., IAEA-CN-184/159 (2010)
- 2) Kramer, S.D., *et al.*, *Radiocarbon*, **22**, 428-434 (1980)
- 3) Savina, M.R., *et al.*, *Geochim. Cosmochim. Acta*, **67**, 3215-3225 (2003)
- 4) Watanabe, K. and Iguchi, T., *J. Nucl. Sci. Tech.*, **39**, 312-315 (2002)
- 5) Noto, T., *et al.*, *Hyperfine Interact.*, **216**, 47-51 (2013)
- 6) Noto, T., *et al.*, (to be submitted)
- 7) Amari, S., *AIP Conf. Proc.*, **1269**, 27-34 (2010)
- 8) Ranebo, Y., *et al.*, *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **24**, 277-287 (2009)

悪性黒色腫での放射線惹起 DNA 損傷修復における ATP 受容体及び TRP チャンネルの関与



西野 圭祐

Nishino Keisuke

(東京理科大学大学院 薬学研究科)

1 はじめに

現在、日本における死亡率はがんによるものが最も多い。そのため、がん治療がより発展することは非常に重要なことである。日本では、がんの治療法として主に外科的手術が用いられてきたが、術後の QOL の低下などが懸念されるため、非侵襲的な放射線治療が今日注目されている。

しかし、本法はがん細胞特有の放射線抵抗性により高線量での治療が余儀なくされており、その結果として正常組織への放射線障害が生じてしまうという問題点がある。そこで、がん細胞の放射線感受性をあげることで、低い線量の治療が求められている。

2 目的

細胞内でエネルギー供与体として知られているアデノシン-3-リン酸 (ATP) は、機械的刺激

や放射線刺激など様々な刺激により細胞外へと放出されると、細胞間情報伝達物質として働くことが明らかとなっている。細胞外へ放出された ATP は細胞表面上のプリン受容体を活性化することが知られている。プリン受容体には、アデノシンに親和性の高い P1 受容体と ATP などに親和性の高い P2 受容体が存在する。このうち P2 受容体には、2つのサブファミリーがあり、1つは2回膜貫通型のイオンチャンネル内在型 P2X 受容体、ほかの1つは7回膜貫通型の G タンパク共役型 P2Y 受容体である。P2X 受容体には1~7までのサブタイプ、P2Y 受容体には1~14までのサブタイプが存在する。

これまでに当研究室では、肺がん細胞において、放射線照射後に ATP などのヌクレオチドが細胞外へと放出され、P2Y6 及び P2Y12 受容体が活性化されることで DNA 損傷修復反応が促進されていることを報告している。

また、TRP チャンネルは温度、機械刺激、浸透圧、痛み、酸・塩基、酸化ストレスや刺激性化学物質など細胞内外の様々かつ複合的な刺激によって活性化される。そのため細胞内外の環境変化を感知し、細胞内シグナルに変換するセンサーであることで注目されている。TRP チャンネルは6つのサブファミリーに分類されるが、その中でも transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV1) 及び transient receptor potential melastatin type 2 (TRPM2) チャンネルも DNA 損傷修復反応に関与することも既に報告している。

しかし、近年発生率が増加傾向にあり、強い放射線抵抗性を持つメラノーマでは、これらの関与が明らかとなっていない。そこでマウスメラノーマ細胞である B16 を用いて、 γ 線照射後の DNA 損傷修復機構における ATP 受容体 (P2 受容体) や TRP チャンネルの関与を検討した。また、これらの機構における各阻害薬を用いて修復を抑えることで、放射線殺がん効果の増強作用を検討した。

3 結果

電離放射線を細胞に照射すると、DNA 鎖が損傷され、ataxia telangiectasia mutated kinase (ATM) 活性化による γ H2AX 形成と p53-binding protein 1 (53BP1) 集積などの DNA 損傷修復反応が惹起される。そこで γ 線照射後の DNA 損傷修復の指標として、これらの focus 形成を蛍光免疫染色法によって検討した。その結果、focus 形成は 2.0 Gy γ 線照射 0.5 時間後において最も顕著に観察され、また線量依存的に増加した。次に、メラノーマ細胞においても DNA の損傷修復機構に P2 受容体や TRP チャンネルが関与するかを検討するために P2Y6 受容

体阻害薬として MRS2578, P2Y12 受容体阻害薬として Clopidogrel, TRPV1 チャンネル阻害薬として Capsazepine, TRPM2 チャンネル阻害薬として DPQ を用いて同様の実験を行った。その結果 ATM 活性化, γ H2AX 形成, 53BP1 集積

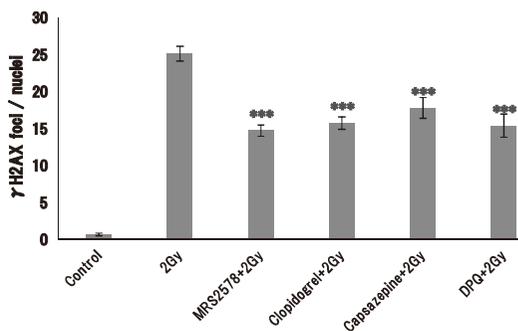


図1 γ 線照射による γ H2AX focus 形成

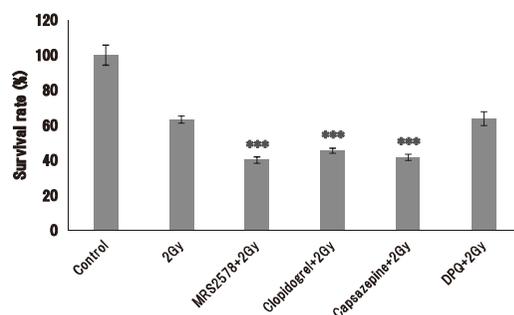


図2 γ 線照射による細胞生存率の変化

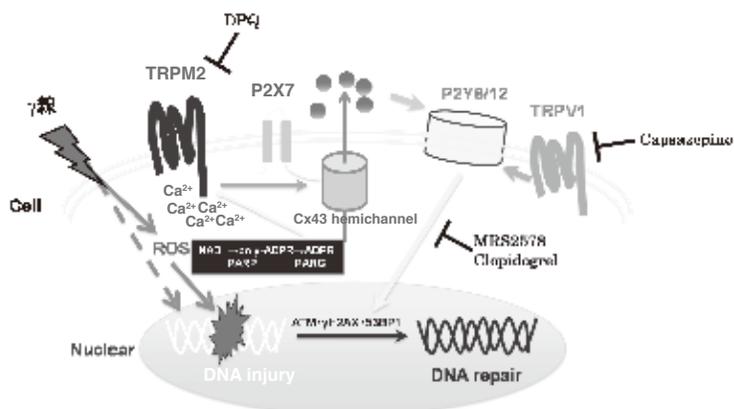


図3 放射線誘発性 DNA 損傷修復機構

は各受容体の阻害薬を前処置しておいた場合に減少することが分かった(図1)。これらより γ 線照射後のDNA損傷はP2Y6, P2Y12受容体やTRPV1, TRPM2チャンネル阻害薬により抑制されることが示唆された。

そこで、DNAの修復を抑えることにより、がん細胞の生存率が減少するのではないかと考え、コロニーアッセイ法を用いて、 γ 線照射による細胞生存率の検討を行ったところ、線量依存的に減少することが分かった。また、コロニーアッセイ法についても同様の阻害薬を用いて検討を行ったところ、 γ 線照射による細胞生存率はP2Y6, P2Y12受容体やTRPV1チャンネル阻害薬前処置によって減少することが確認され

た(図2)。これらの結果より、P2受容体やTRPチャンネルの阻害薬によって、DNA修復を抑えることで放射線殺がん効果の増強が示唆された。

4 考察・展望

メラノーマ細胞において、 γ 線照射後に起こるDNAの損傷修復機構においてP2受容体やTRPチャンネル阻害薬を用いることで、 γ 線による殺がん効果の増強が期待される。また新規放射線治療である、ホウ素中性子捕捉療法(BNCT)による殺がん増強効果についても現在検討中である。

放射線障害の防止に関する法令 概説と要点(改訂10版)

編集・発行 公益社団法人日本アイソトープ協会【2014年3月発行】

A5判・177頁 定価2,000円+税 会員割引価格1,800円+税

放射線障害防止法関係法令の要点を項目ごとにまとめた解説書。2013年4月1日、原子力規制委員会設置法に基づき、放射線障害防止法の施行に関する業務が、文部科学省から原子力規制委員会に移管されたことに伴い、改訂10版では必要な改訂を行うとともに、以前より要望の多かった索引を設け利用者の便宜を図りました。本書は、放射線障害防止法関係法令の概要を正しく理解する手引書として、法令の全体像を俯瞰できるよう企画されており、放射線取扱主任者試験課目の「法令」の学習テキストとしても好適です。法令集とともにご活用ください。



公益社団法人

日本アイソトープ協会

Japan Radioisotope Association

〒113-8941 東京都文京区本駒込2-28-45

TEL (03) 5395-8082 FAX (03) 5395-8053

◆ご注文はインターネットまたはFAXにてお願いいたします。

JRIA BOOK SHOP : <http://www.bookpark.ne.jp/jria>

BookPark サービス : FAX (03) 6674-2252

◆書店でご注文の際は「発売所 丸善出版」とお申し付け下さい。