



単色X線と金・白金製剤DDSの 癌治療に関する研究

筑波大学医学医療系
脳神経外科
鶴嶋 英夫



放射線と金・白金複合体抗癌剤の組み合わせ治療には**相加的治療効果**がある。

by Richmond RC. et al. Radiat. Res. 1976

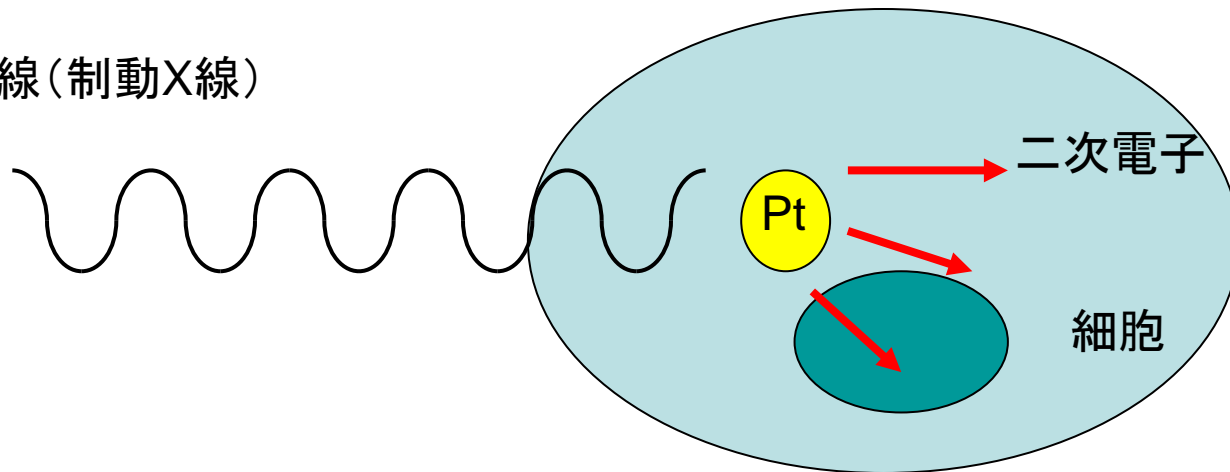
これ以後、基礎研究・臨床研究で放射線療法と白金化合物であるシスプラチン化学療法**の相加的治療効果が報告されてきた。**

by Dewit L. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 1987

この相加的治療効果はシスプラチンが含む**白金に放射線**があたり**二次電子線**が癌細胞内で発生しているためと考えられている。

by Zheng Y. et al. Phys. Rev. Lett. 2008

治療用X線(制動X線)





この相加的効果を強め相乗的にするために

- 1) 白金に対して吸収されやすいエネルギーレベルの**単色X線**を使用する。
現在の治療用X線は広いエネルギーレベルのX線を含んでおり、白金に吸収されるのはその一部だけ
- 2) **active targeting DDS**を使用して癌組織における白金の濃度を上げる。
DDSを使用して癌組織に特異的に金・白金薬剤をデリバリーして、癌組織中の濃度を上げる。

目的

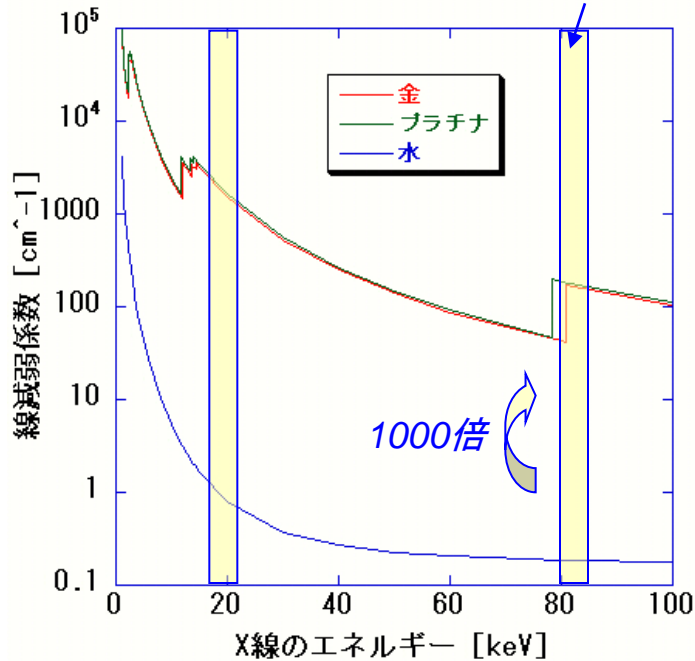
単色X線と**active targeting DDS**を組み合わせることにより、従来にない強力かつ安全で理想的線量分布を持つ放射線・化学複合療法を開発することにある。



金・白金元素とX線との相互作用

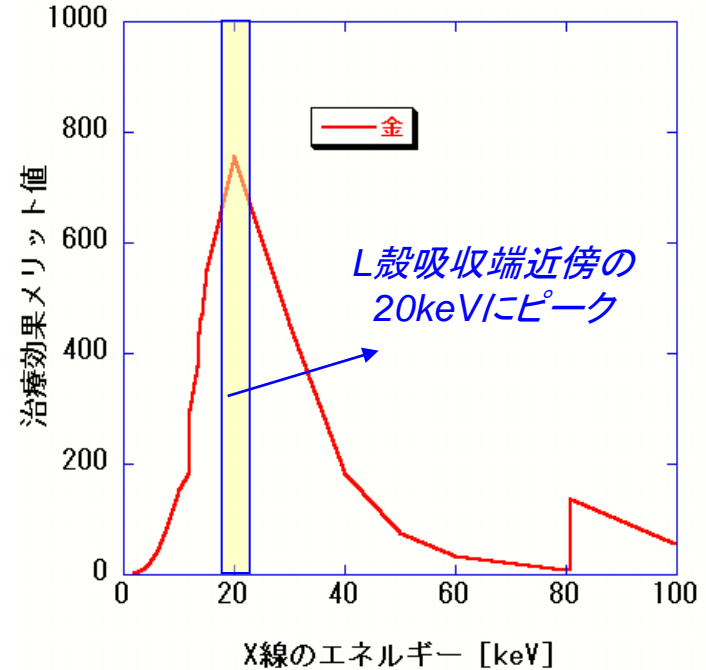
検出

・低侵襲・高コントラストイメージング
K殻吸収端近傍



放射線照射効果

・高吸収・高コントラスト



癌検出には

低侵襲・高いコントラスト

..... K殻吸収端近傍を利用 約80keVの準単色X線が有用

癌治療には

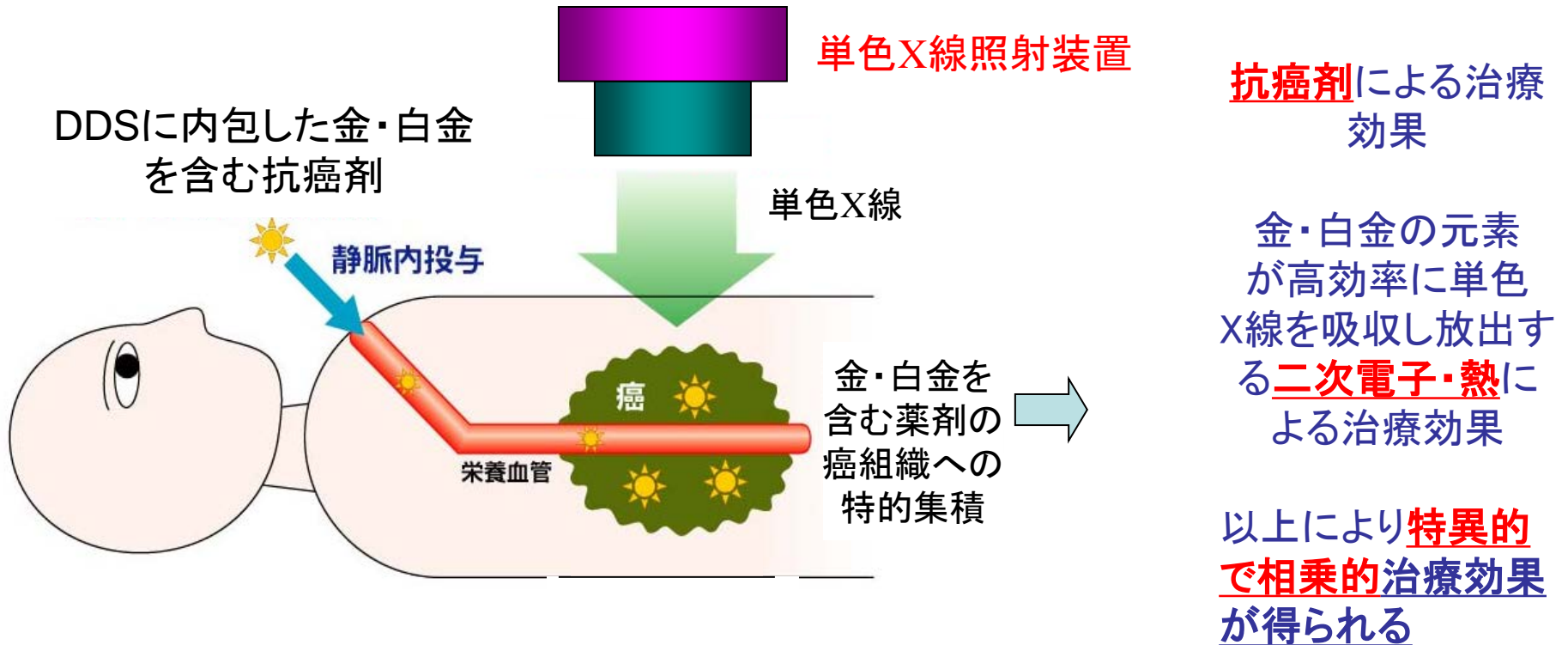
高吸収・高いコントラスト(10 μ m厚での吸収率 \times 水との吸収比)

..... L殻吸収端近傍を利用 約20keVの準単色X線が有用



悪性新生物に対する単色X線療法

- 1) 金・白金の元素又はこれら元素を含む抗癌剤を効果的に腫瘍組織へデリバリーさせるためのactive targeting DDSの研究
- 2) 単色X線照射装置の開発研究





Drug Delivery System (DDS)は『薬の宅配便』

クスリを分解させずに

・・・**プロテクション**

目的部位に送り届け

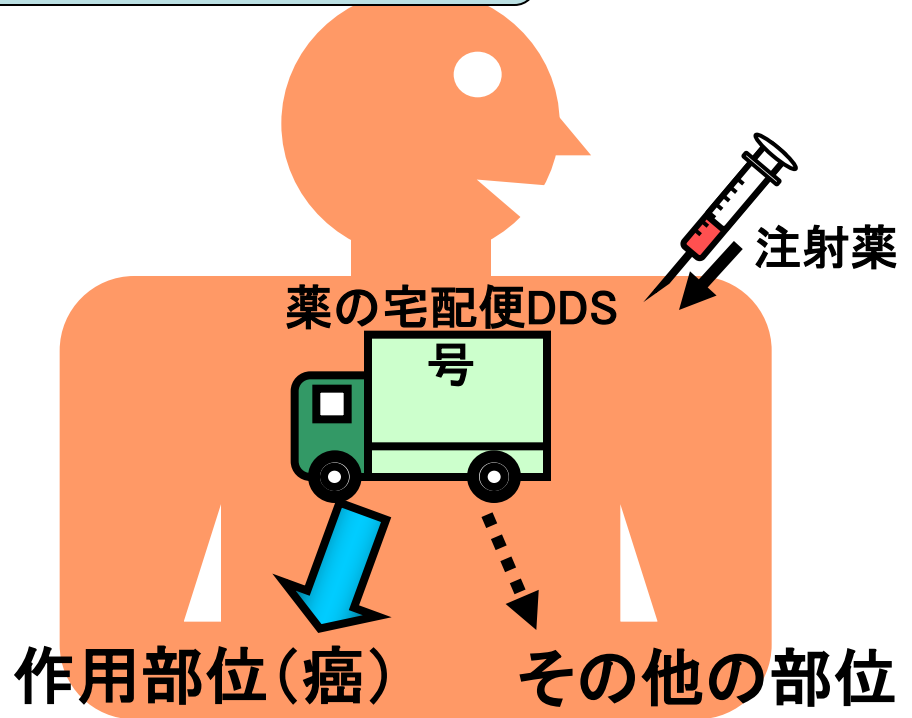
・・・**ターゲティング**

その放出を制御する

・・・**コントロールドリリース**

病巣部に薬物を集積させれば

- ・薬効が上がる。
- ・投与量を減らして副作用を抑えられる。



ターゲティングには

Passive targeting DDS:

病巣血管の透過性亢進など物理的作用によりDDS粒子を病巣部に集積させる。数倍~10倍の集積

——現在実用化されつつある

Active targeting DDS:

分子の親和性を利用して積極的にDDS粒子を病巣に集積させる。

in vivoにおける成功例は少ない。50倍以上の集積
——次世代DDSとして研究中

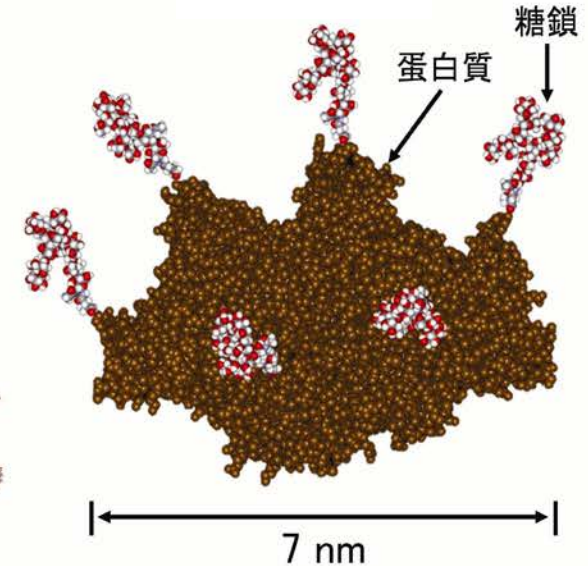
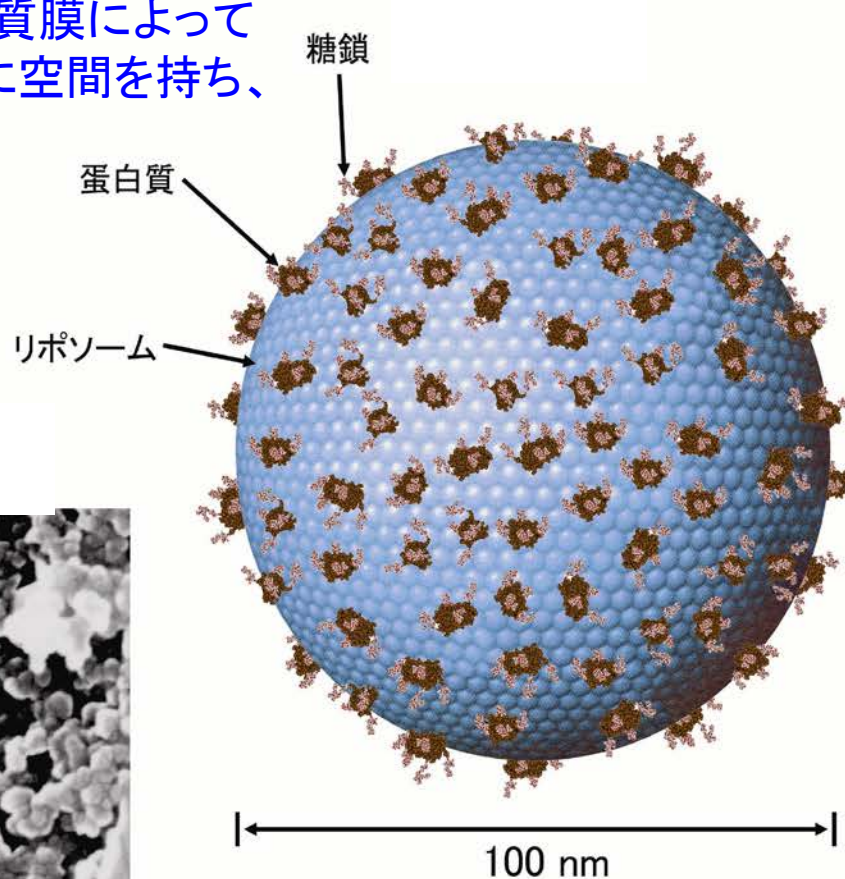
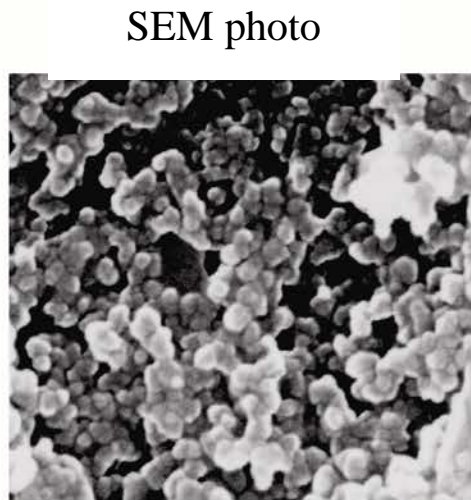


Active targeting機能を持つ糖鎖修飾リポソーム

糖鎖修飾リポソームの構造

リポソーム: 二重脂質膜によって作られる球で内部に空間を持ち、薬物を内包できる。

サイズ: 100nm



糖鎖はレクチン蛋白質と特異的親和性を持っている。体内でレクチン蛋白質が発現した部位に粒子を集積させることができる。

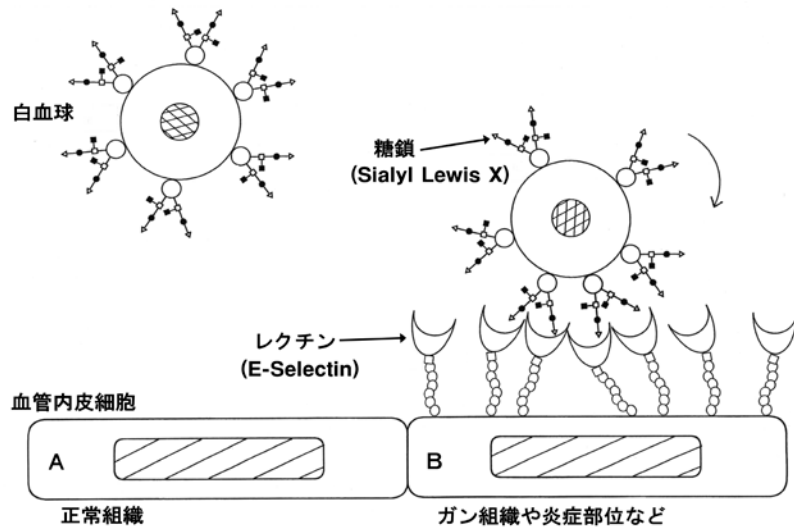


糖鎖とレクチン蛋白質の親和性は体内で既に機能している。

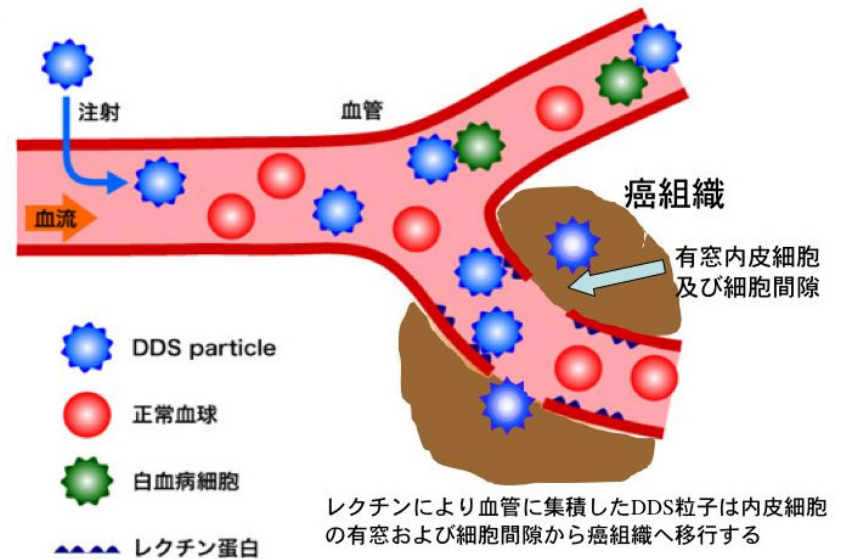
白血球の炎症組織、癌組織への集積である。

産総研DDSは白血球と同様に炎症や癌により血管内皮細胞に発現したレクチン蛋白質を糖鎖が認識し、結合する。DDS粒子は血管内皮に集積し、血管内皮細胞の緩んだ細胞間隙及び内皮細胞の有窓部から組織中へ移動すると思われる。

白血球の場合

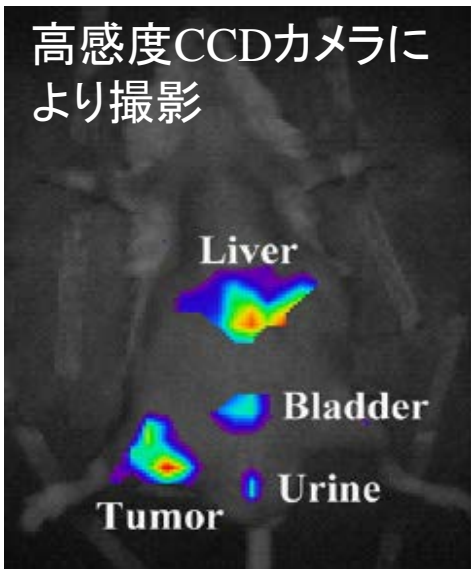


産総研DDSの場合

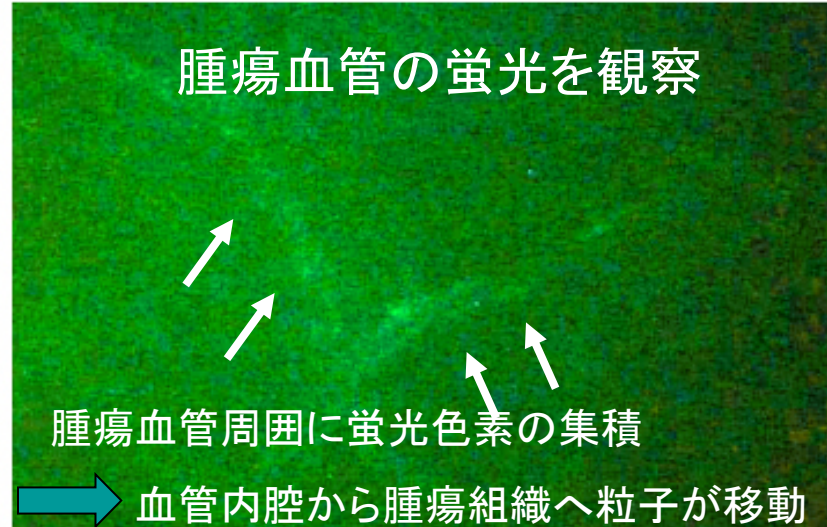
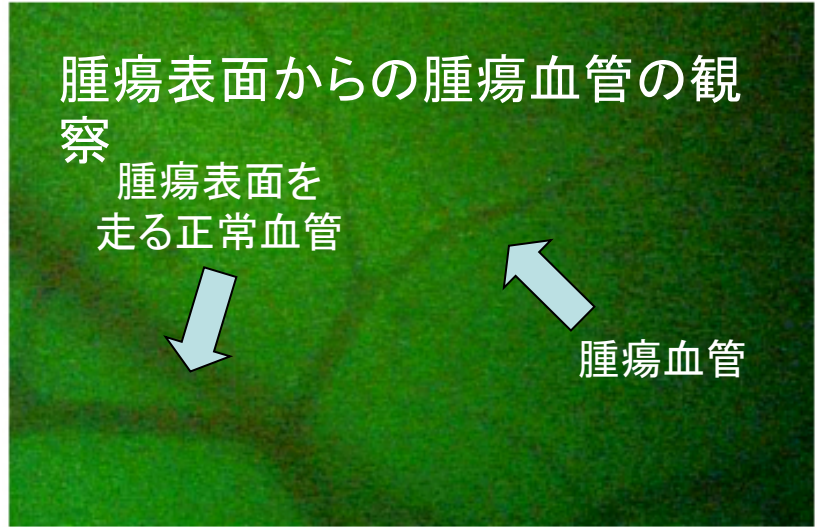
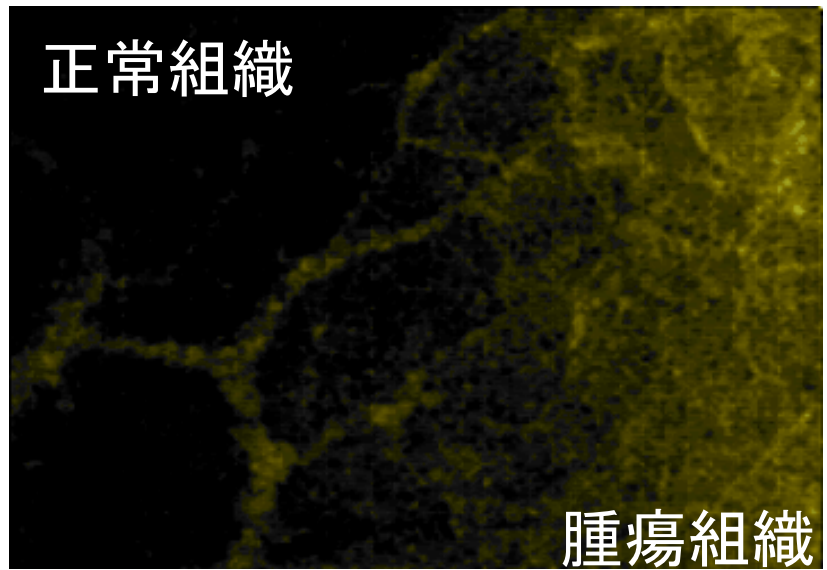




癌移植マウスでの癌組織へのDDS粒子の集積



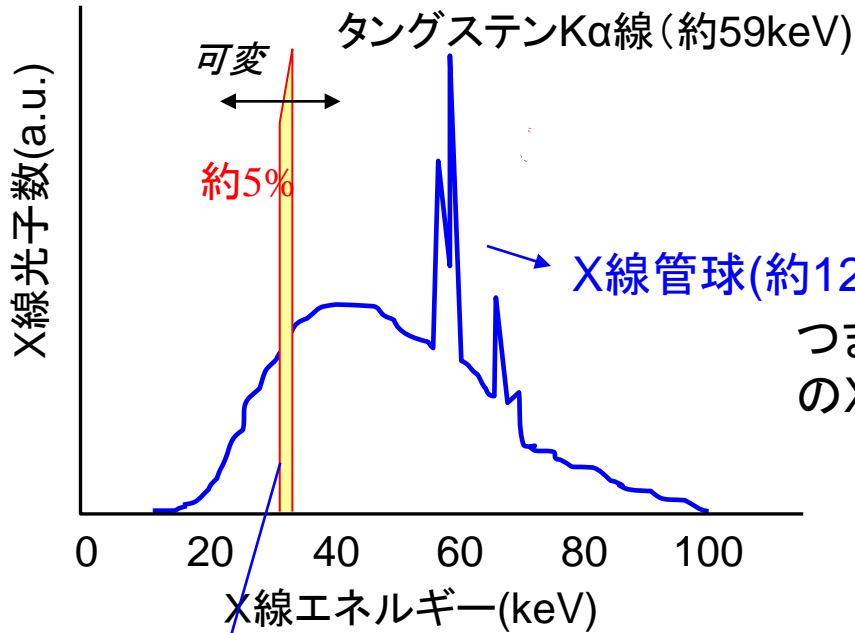
糖鎖修飾リポソームに蛍光色素を内包し、担癌マウスへ静脈注射した。



⇒ **本提案により金コロイド・シスプラチン等を癌細胞に集積させるDDSの開発を行う**



レーザーコンプトン散乱による準単色X線

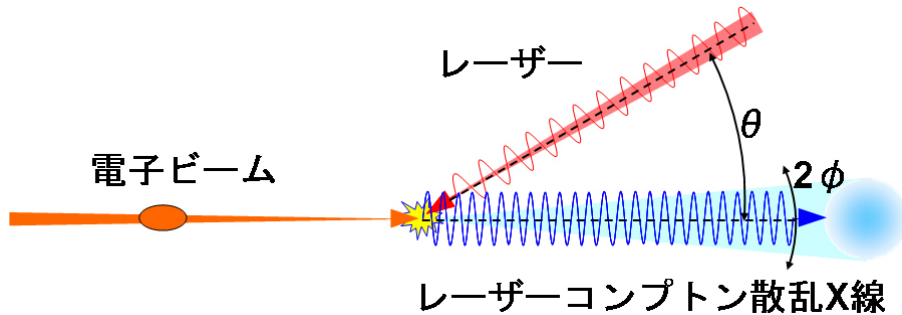


X線管球のカーブに各エネルギーにおける吸収率を乗じたものの総和がLineacなどによる放射線療法の治療線量になっている。

つまり金・白金元素と相互作用をおこす20keVのX線は**従来線源では全体の数%しかない**

レーザーコンプトン散乱準単色X線

電子ビームとレーザーとの相互作用によりX線を生成

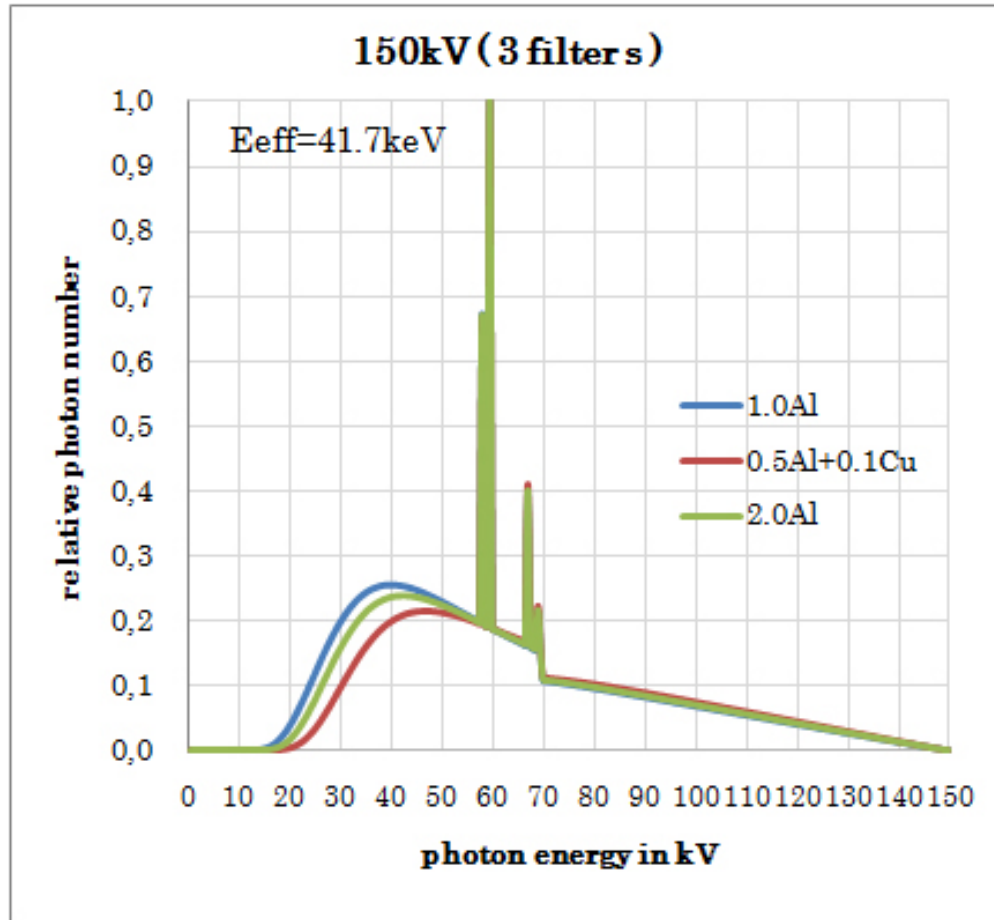


Spring8等の放射光施設は
大規模すぎる

レーザーコンプトンを用いれば
準単色・波長可変・小型X線源が可能



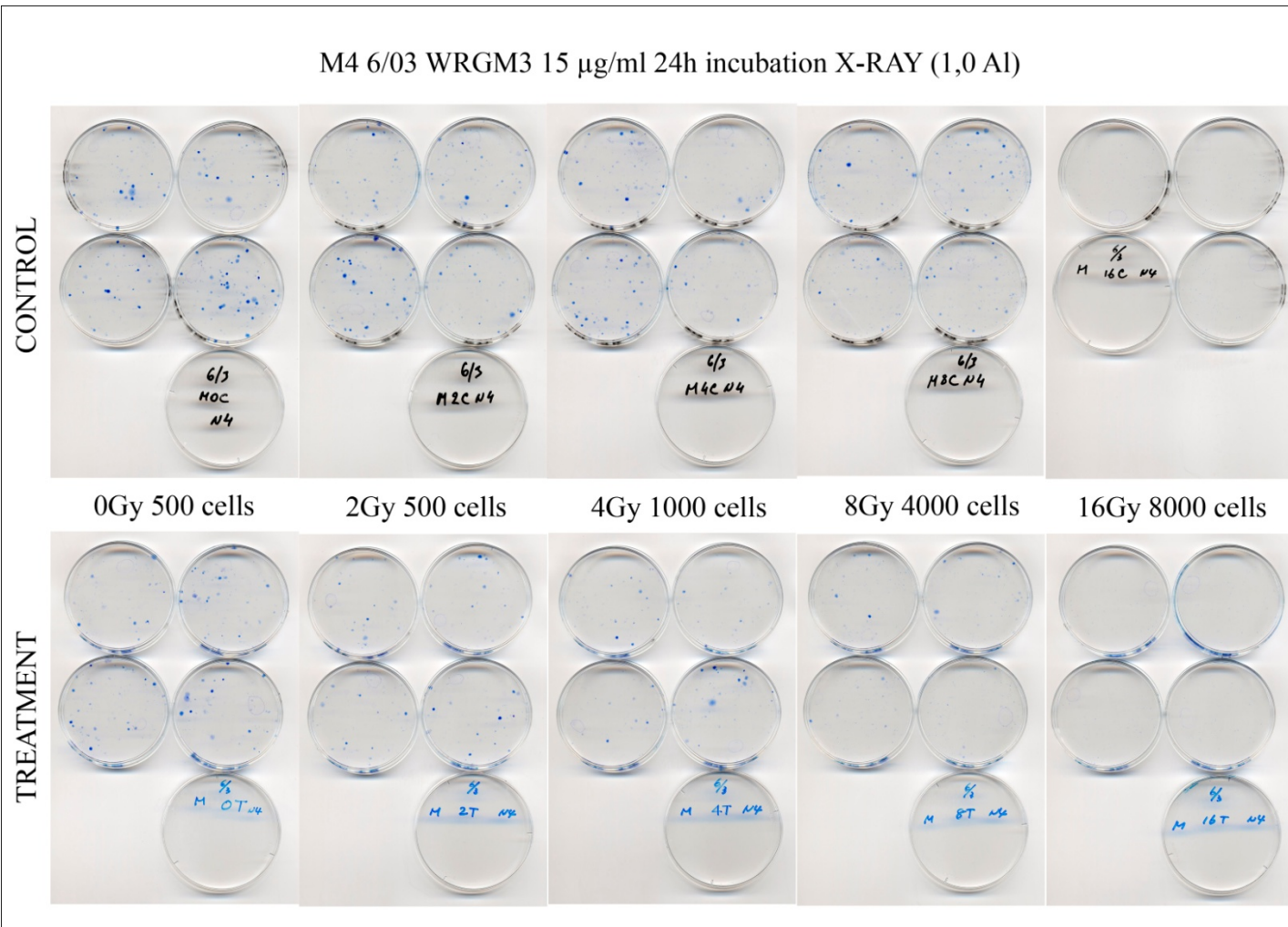
Filters for X-ray tube



With the adjustment of the correct filter for X-rays (in our case it was **1,0 mm Aluminum filter**) it was possible to achieve best results in colony forming assays using U251 glioma cells and WRHGM3 (8nm) gold nano-particles with the initial concentration of 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ in the medium.



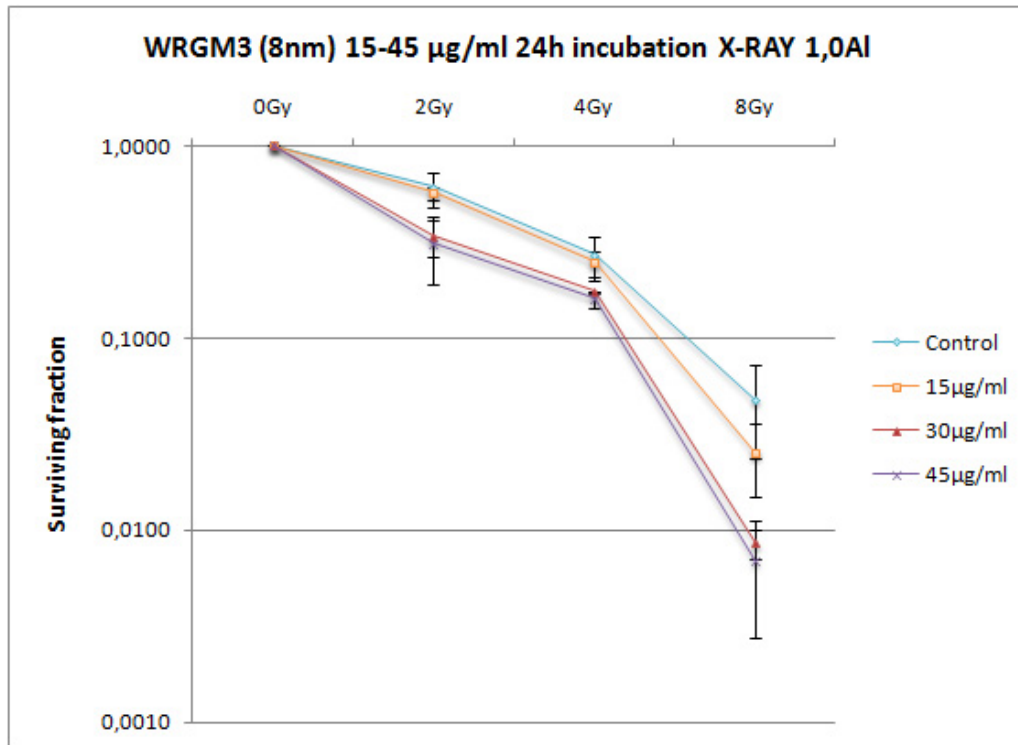
Results with 1,0 mm Al filter



Starting with the first trial using 1,0mm Al filter we could see adequate results of colony formation in all experiments.



Results: colony forming assays using 45 μ g/ml WRGM3 (8nm) particles



Further increase in the concentration of gold didn't show the significant decrease in the survival fraction.

Theoretically, there could be the limit of gold absorption by U251 glioma cells in the given conditions of the experiment.



放射線療法に対する癌細胞の生物学的評価方法

- ・Real time PCRによる遺伝子発現の定量化
放射線照射によって発現亢進する遺伝子(ケモカイン等)を検出、放射線照射効果を評価
- ・EGR-1 promoter-GFP 又は -Luciferase遺伝子導入細胞を用いた評価方法
EGR-1 promoterは放射線によって発生するfree radicalに反応して転写を開始するpromoterである。この評価方法ではfree radicalの量に従ってGFPやLuciferaseが産生され、細胞内で検出できる。
- ・細胞生存率による細胞傷害性評価
MTT assay、CVによる放射線照射後の生存細胞数の評価
- ・colony forming assayによる細胞viabilityの評価
- ・apoptosis誘導性に関する評価
- ・癌細胞移植動物を用いた治療効果の評価

引用 : Tsurushima H et al. Cancer Lett 2007, 246: 318-323.

Tsurushima H et al. Cancer Gene Ther 2007, 14(8): 706-716.

Tsurushima H et al. Int J Radiation Oncology Biol Phys 2008, 71(2): 517-525.



これまでの同類の研究報告

Biston MC. Et al. Cure of Fisher rats bearing radioresistant F98 glioma treated with *cis*-platinum and irradiated with monochromatic synchrotron X-rays. *Cancer Res* 2004; 64: 2317-2323

Rousseau J. et al. Enhanced survival and cure of F98 glioma-bearing rats following intracerebral delivery of carboplatin in combination with photon irradiation. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 5195-5201

Adam JF. Et al. Heavy element enhanced synchrotron stereotactic radiotherapy as a promising brain tumour treatment. *Physica Medica*. 2008; 24: 92-97



次世代Drug Delivery System (DDS) の臨床応用への研究



白血病への糖鎖修飾リポソームの効果

50% 阻害抗癌剤
濃度 (uM)

抗癌剤との共培養時間

1時間

抗癌剤
リポ+抗癌剤
糖鎖リポ+抗癌剤

測定不能
556 ± 33.5
128 ± 23

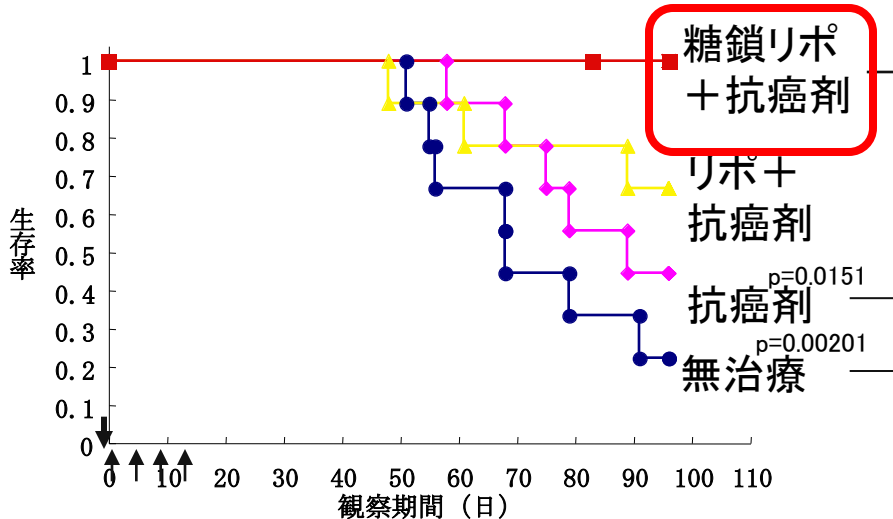
糖鎖が付いて
いれば抗癌剤
の有効濃度を
1/4まで減量で
きる

共培養時間:15分

抗癌剤のみ

リポ+抗癌剤

糖鎖リポ+抗癌剤



ヒト白血病細胞を重症免疫不全マウスに移植し、動物モデルを作製。これに従来の抗癌剤の1/3量を使用して治療し、生存曲線を確認した。

糖鎖リポ+抗癌剤
では死亡例0

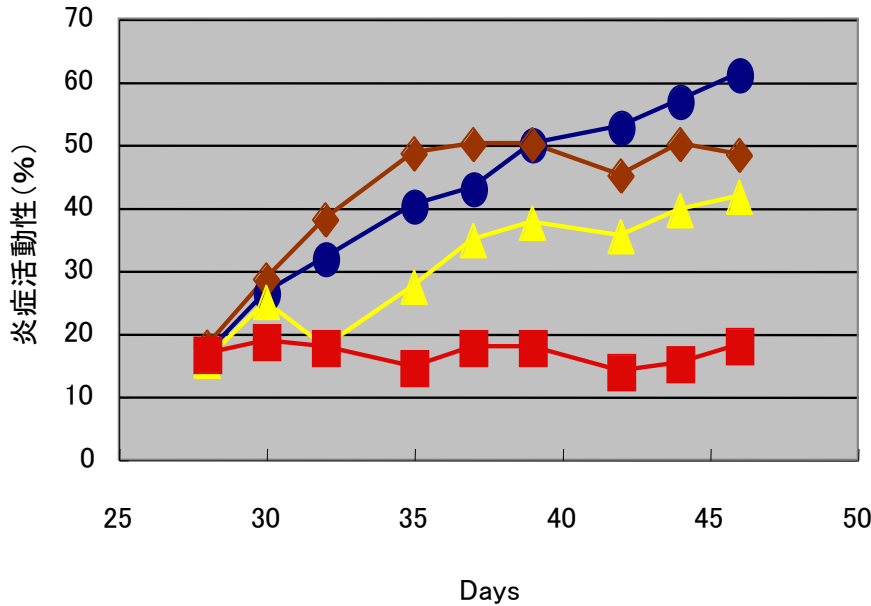
糖鎖修飾リポソームは少量の抗癌剤で白血病を治療できる可能性がある。

抗癌剤が蛍光を持っており、蛍光強度が抗癌剤の取り込みを示す。



糖鎖修飾リポソームによるリウマチ治療

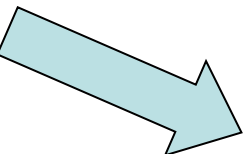
リウマチ性関節炎の治療(週2回静脈注射)



炎症所見
増悪群



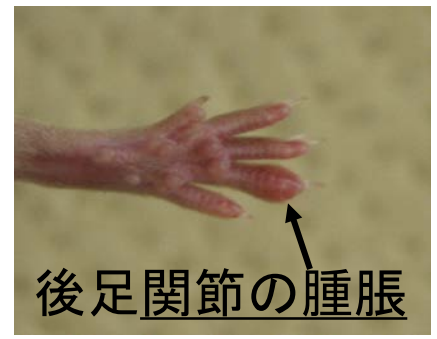
- 無治療
- ◆ ステロイド 100ug/回
- ▲ リポ+ステロイド 10ug/回
- 糖鎖リポ+ステロイド 10ug/回



治療奏効群



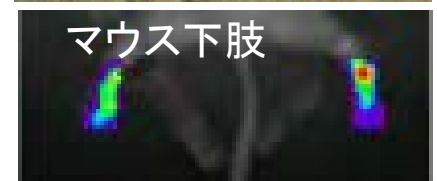
前足全体の腫脹



後足関節の腫脹



炎症所見無



マウス下肢

蛍光色素を搭載したDDS粒子が関節炎に集積

炎症を抑制するために必要な**抗炎症薬剤の量**

ステロイド: Pred 500ug/回	糖鎖リポ+Pred 10ug/回	1/50量
サイトカイン: IL-4, 500ng/回	糖鎖リポ+IL-4, 1ng/回	1/500量
(生理活性蛋白) IL-10 100ng/回	糖鎖リポ+IL-10, 1ng/回	1/100量

糖鎖修飾リポソームを使用すると炎症を抑制するための薬剤量を激減できることを証明した。



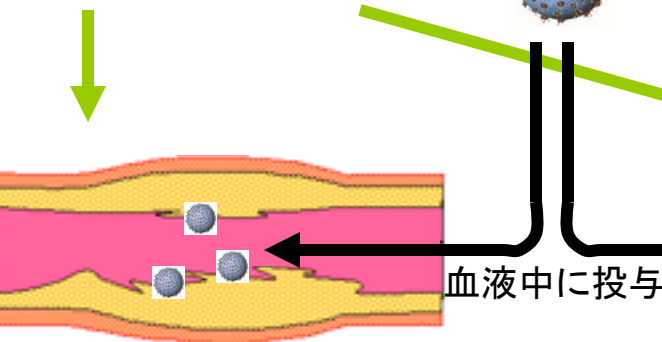
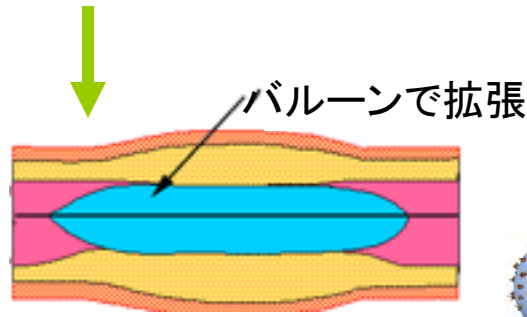
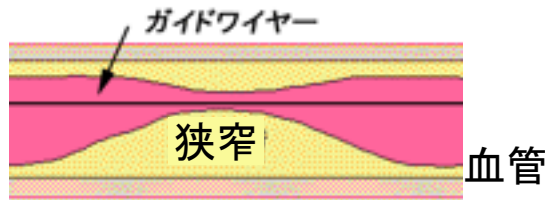
糖鎖修飾リポソームで血管形成術後の血管再狭窄を予防する

死因1位は癌だが、死因2位は心筋梗塞、3位も脳梗塞

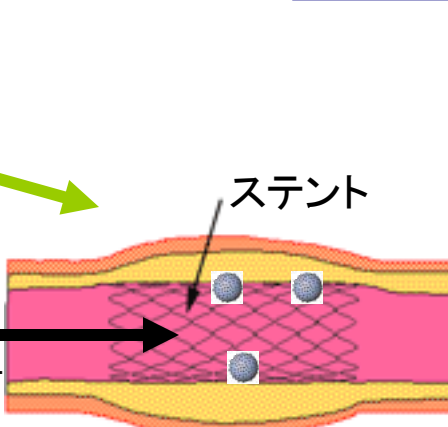
虚血性疾患の総数は(2位と3位の合計)は1位の癌に匹敵する
に脳血管疾患は高齢者の寝たきりの最大の原因

特

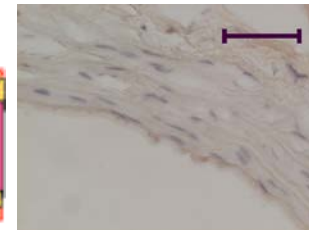
動脈硬化 → **血管狭窄** → **虚血性疾患**
血管狭窄をバルーンで**拡張(血管形成術)**するが、
血管の細胞が増殖し**再狭窄(50%)**が起きる。



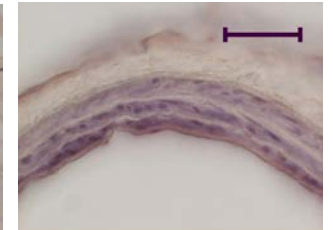
糖鎖修飾リポソーム 血液中に投与すると血管形成術(拡張)部位に発現しているレクチン蛋白質を認識して**特異的に集積**する。リポソームに狭窄予防薬を搭載すれば**再狭窄を予防**できる。



正常血管壁
レクチン(-)



拡張血管壁
レクチン(+)
(茶発色)





ラット頸動脈拡張モデルを用いて糖鎖修飾リポソームの狭窄予防効果を確認

糖鎖リポ+狭窄予防剤投与群
修飾なしリポ+狭窄予防剤投与群
狭窄予防剤投与群
生理食塩水投与群の4群で
比較した。(n=7)

糖鎖リポ+
狭窄予防剤

リポ+
狭窄予防剤

狭窄予防剤

生理食塩水

結論: 糖鎖修飾リポソームは
血管拡張部に特異的集積を示
し、狭窄を予防した。

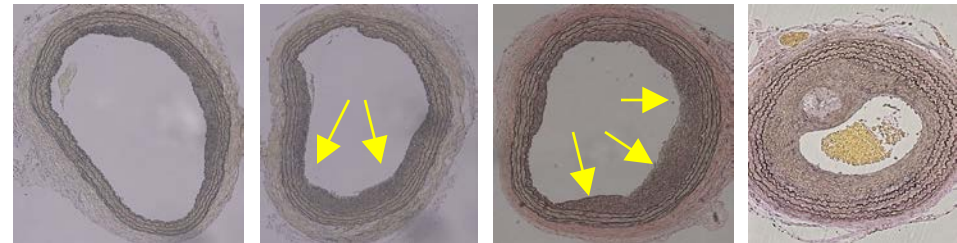
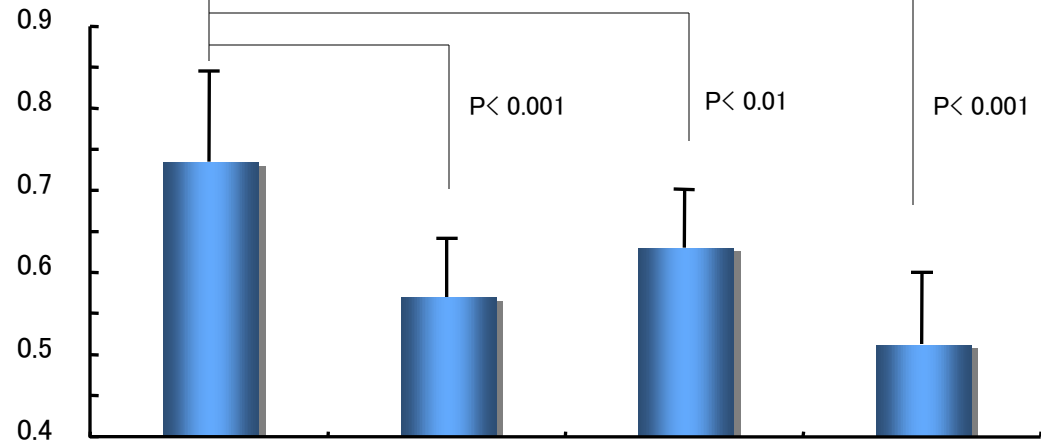
特異的集積により狭窄予
防薬の効果を従来研究の
10~100倍増強した。

また現在狭窄予防に使用
されている**ステント技術**
の全ての問題点を克服で
きる可能性がある。

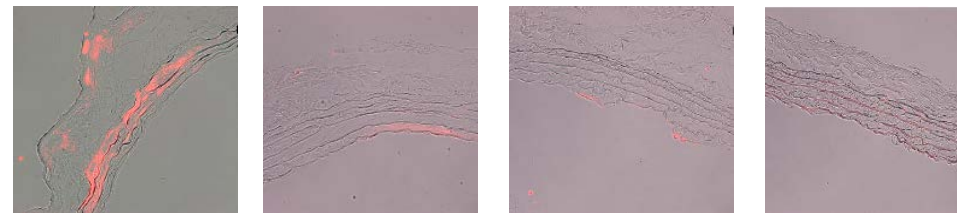
血管断面上の
狭窄(黄矢印)

血管壁への
狭窄予防薬剤
集積(蛍光)

血管内腔残存率



狭窄(一) 軽度狭窄 軽度狭窄 強度狭窄



強度蛍光 軽度蛍光 軽度蛍光 蛍光(一)



可視不能な体内植え込み型医療機器の リアルタイム可視化装置の開発

筑波大学医学医療系脳神経外科

鶴嶋英夫、中居康展、中村和弘、伊藤嘉朗、佐藤允之、松村明

高エネルギー加速器研究機構物質構造科学研究所

兵藤一行

産業技術総合研究所計測フロンティア研究部門

黒田隆之助

筑波大学医学医療系循環器外科

松下昌之助

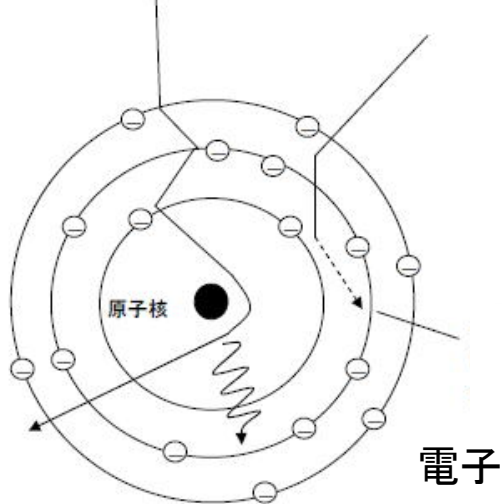


放射光の特性 1)直進性 2)単色化

X線の波長は1 pm ~ 10 nm

回折限界から言えば解像度は波長の 1/2 程度

制動X線：従来型X線源



入射電子
熱に変換される

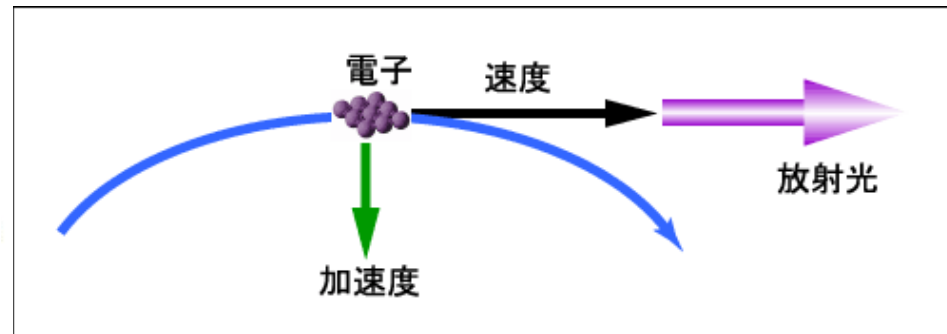
入射電子の一部
制動放射でX線を出す

電子線を金属などに照射してX線を発生

日本最古のX線管球は1915年東芝製

散乱線が多い 白色光

放射光：未来の線源？



荷電粒子を磁場で曲げると接線方向に

電磁波(光)が発生

強い方向性(散乱線が少ない)

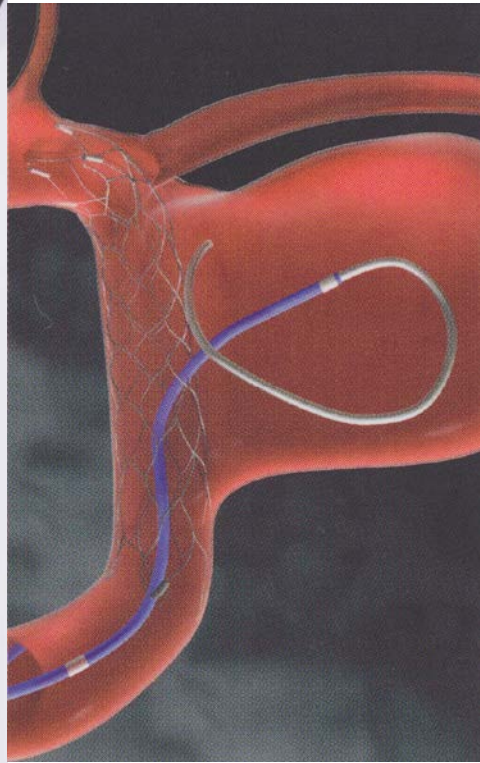
単色化が容易



脳神経外科領域におけるステントの利点と弱点

ステントを設置してから動脈瘤を塞栓する。
ステントにより人為的に仮設の血管内腔をつくる。

塞栓コイルが安定して**どんな動脈瘤でも塞栓**できる。



脳動脈瘤は手術しなくても、治療できる時代になってきた。

しかし

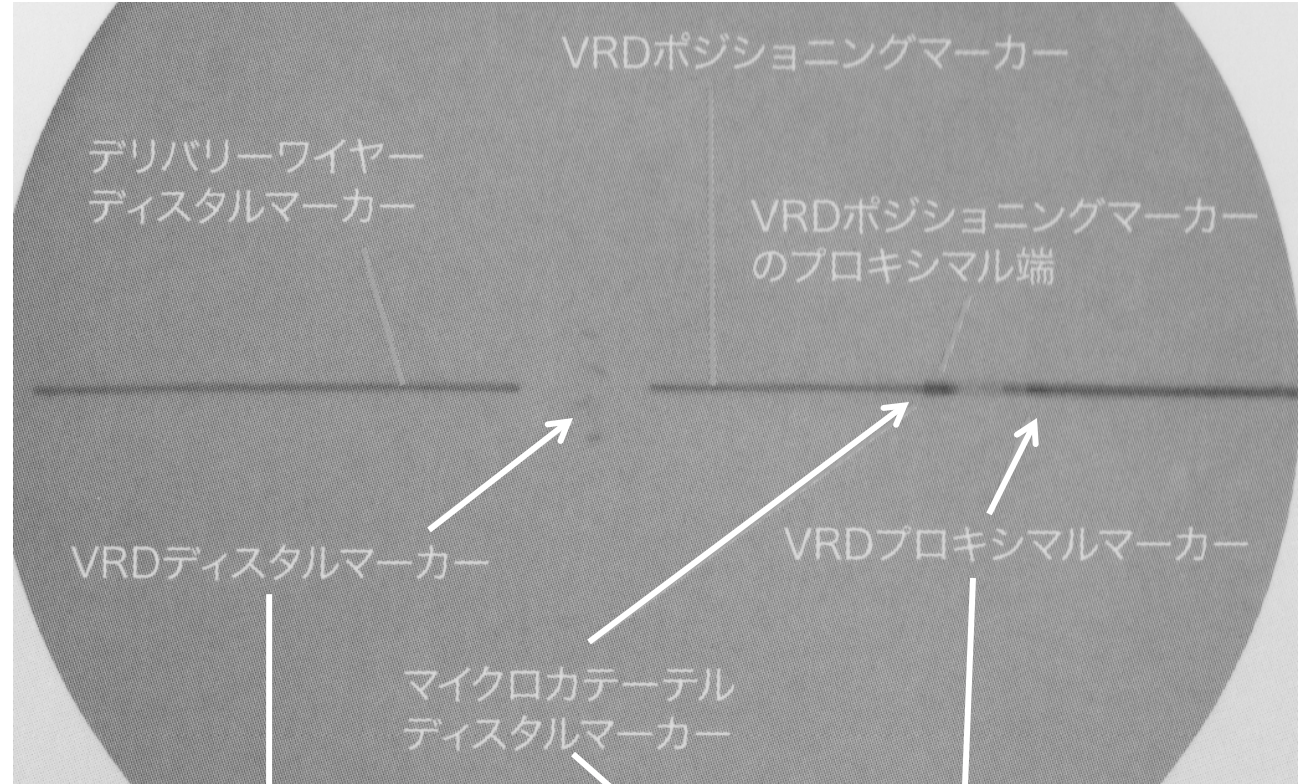
ステントが操作時に見えない！
金属構造物を極めて繊細に作っているため

リアルタイムで操作が見えた方が安全性・確実性は高まる。

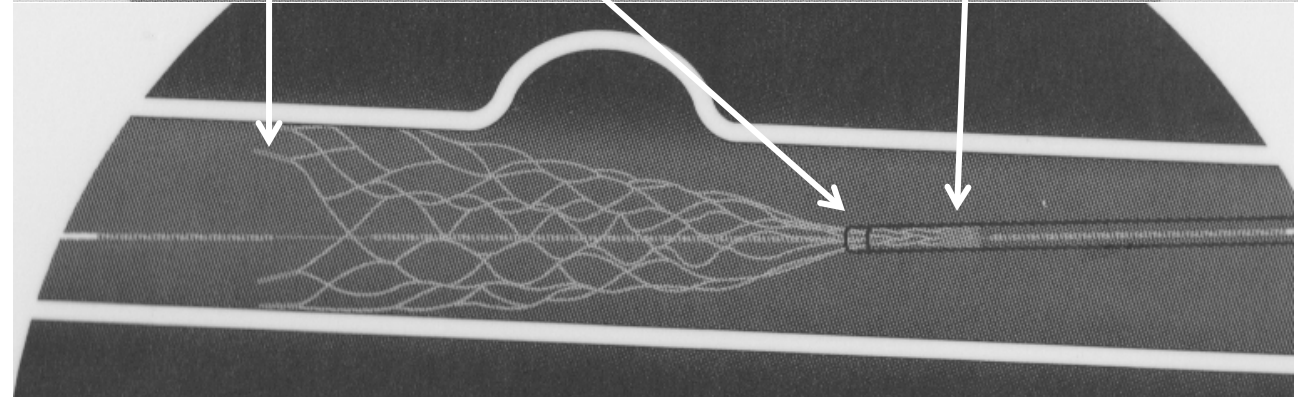


可視化不能なステント

通常のX線画像での
ステントの見え方



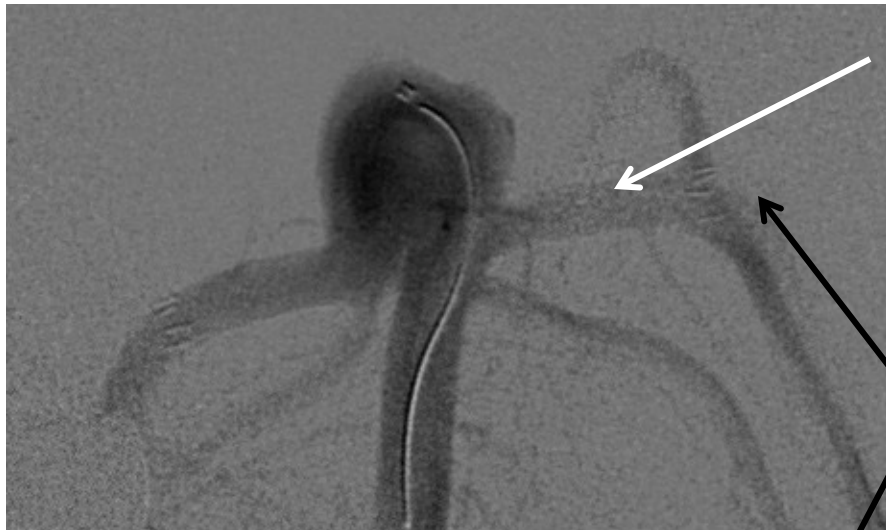
上記画像の模式図



VRD: vascular reconstruction device



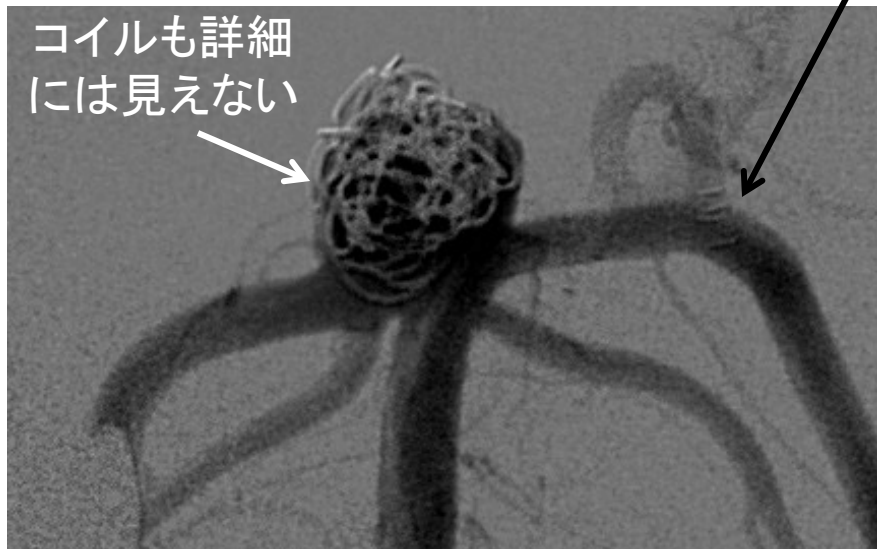
通常の血管造影でのステントの撮影状況



ここにステントがあるはず



ステントのマーカ―



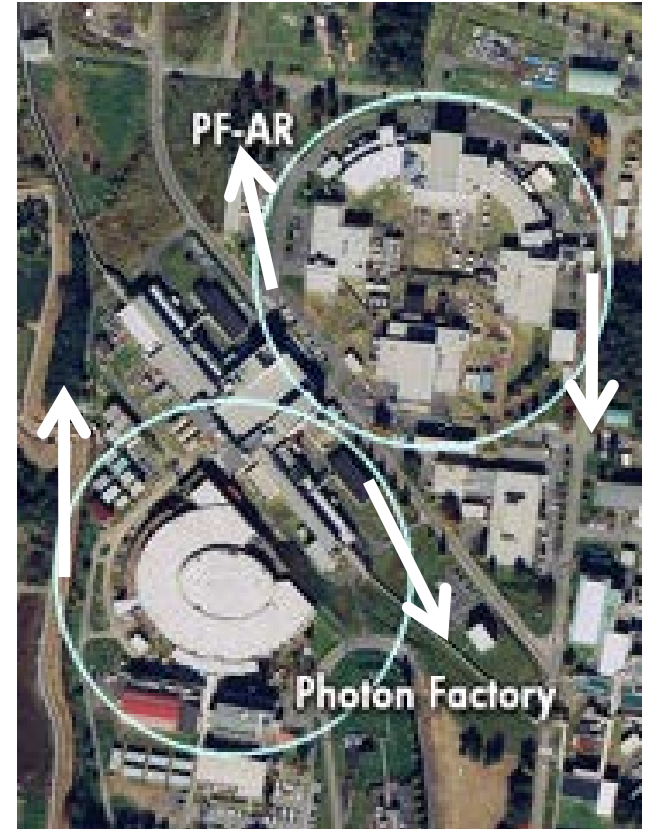
コイルも詳細には見えない

通常の血管造影では
ステントのマーカ―もやっと見える程度
コイルも細部までは見えない

医師は推測して操作している



高エネルギー加速器研究機構

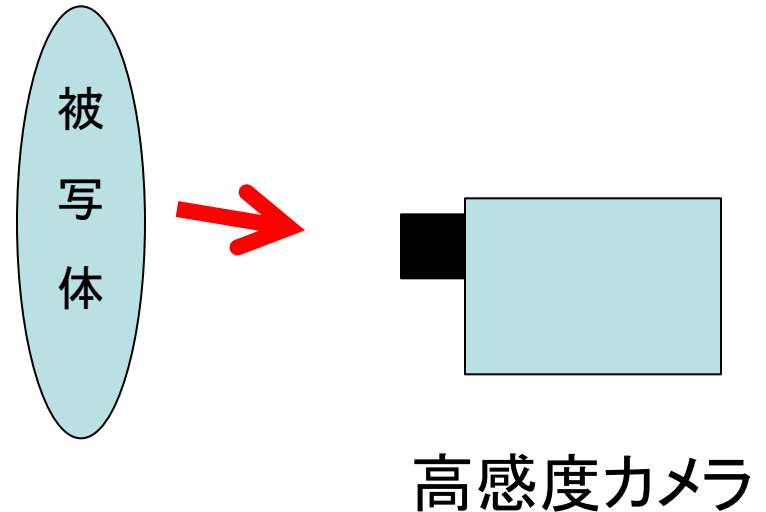
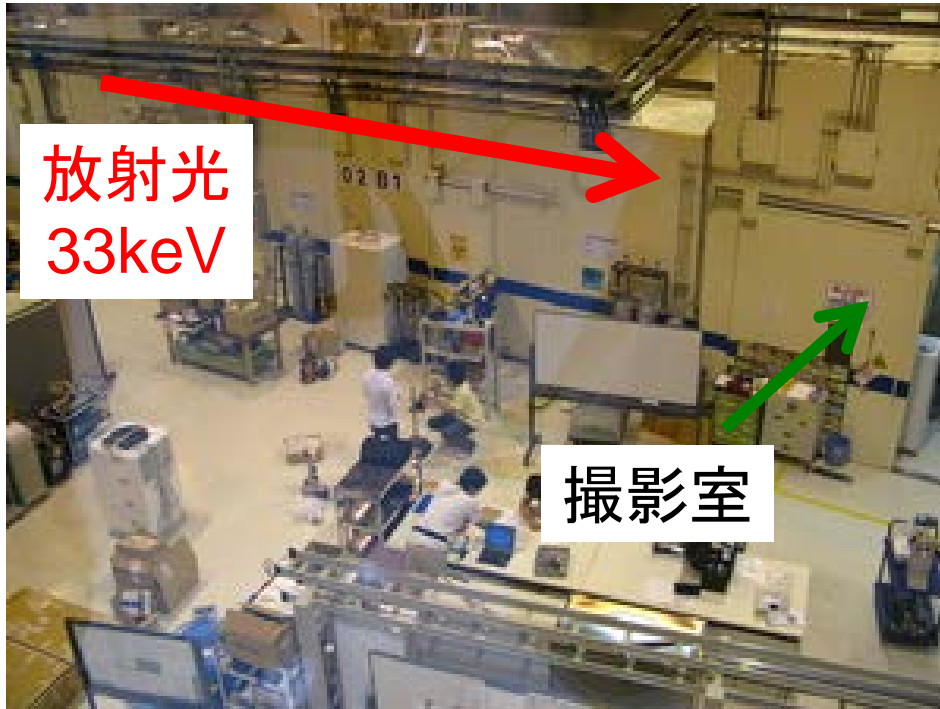


サイクロトロン



放射光によるステント・コイルの撮影方法

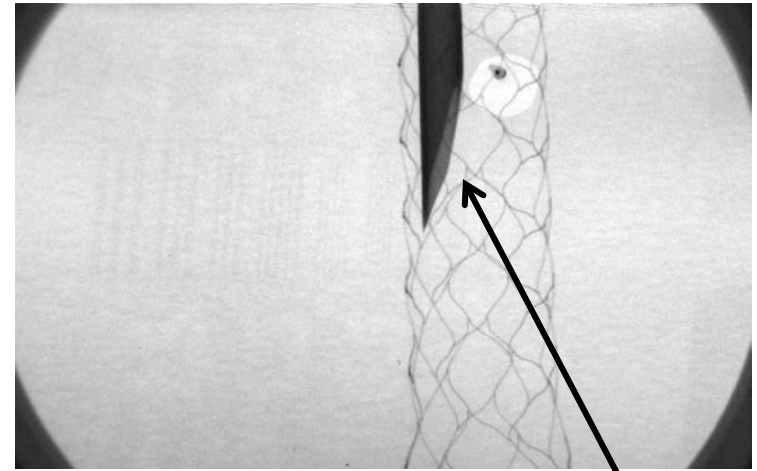
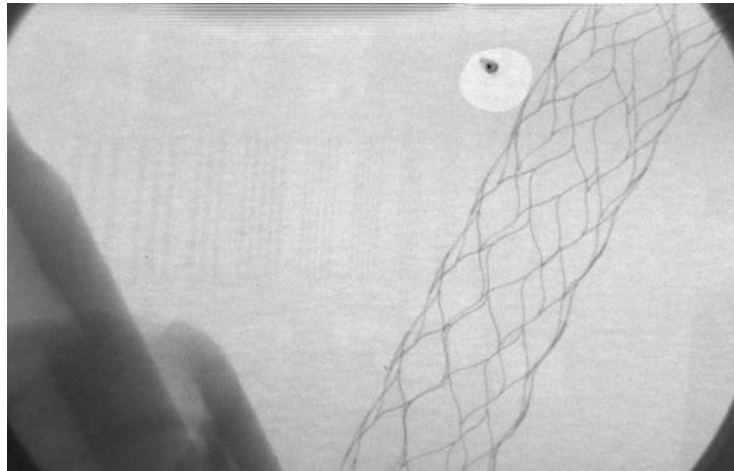
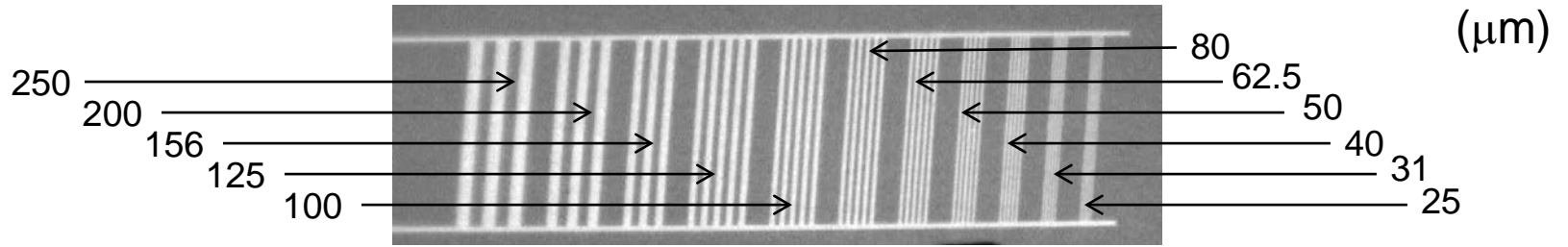
高エネルギー加速器研究機構
放射光科学研究施設にて施行



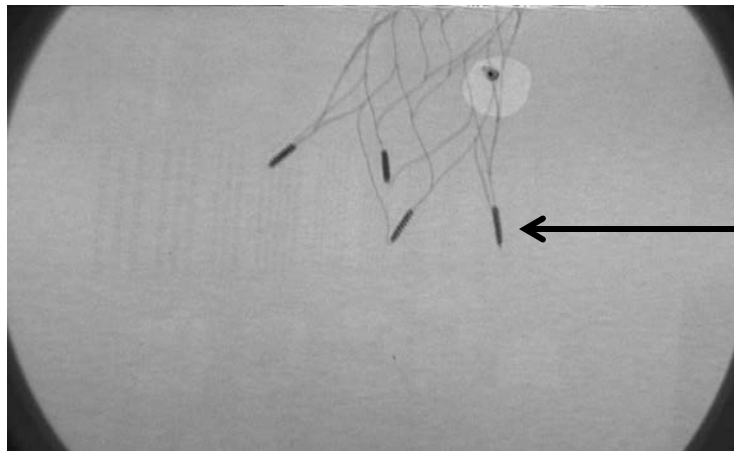
カメラ: 浜フォト製のHARP管を使用したNHKエンジニアリングサービス開発によるもの
通常カメラの約200倍の感度
リアルタイムで観察可能



放射光によるステントの撮影 (33keV)



18G針
針を透かしてステントの
ストラットが見える



ステントのマーカ

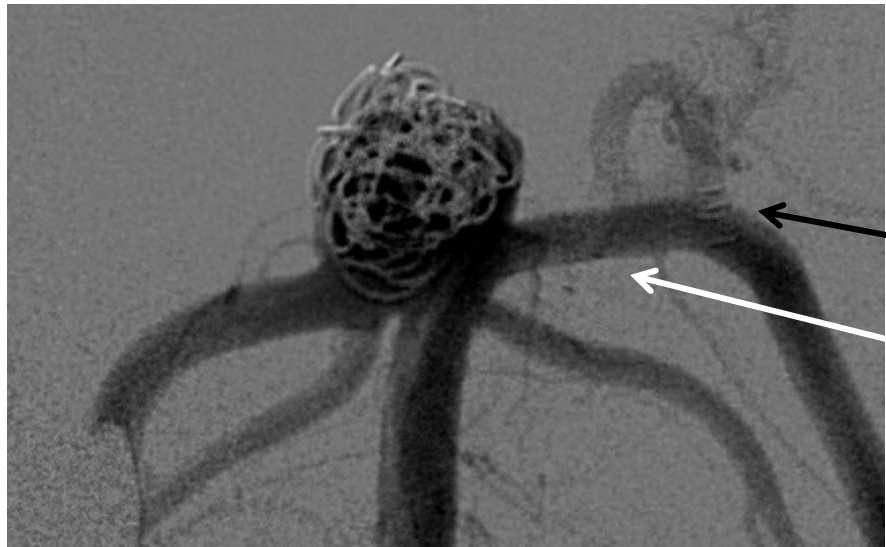
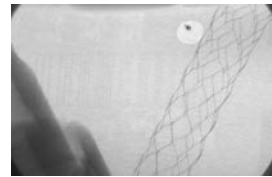
これらの画像は全てリアルタイム
の透視として観察できる



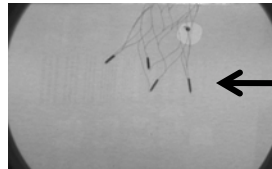
通常の血管造影でのステントの撮影状況



← ステントのマーカ



← ステントのマーカ
ここにステントがあるはず



← ステントのマーカ

通常の血管造影では
ステントのマーカもやっと見える程度



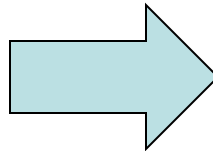
病院設置型線源の開発



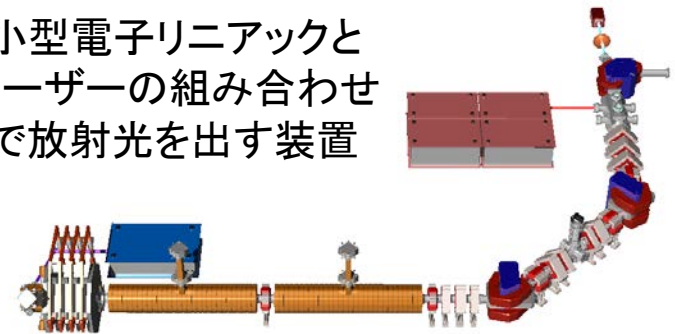
現在の血管撮影装置



産業技術総合研究所における線源のコンパクト化を目指した研究



小型電子リニアックと
レーザーの組み合わせ
で放射光を出す装置



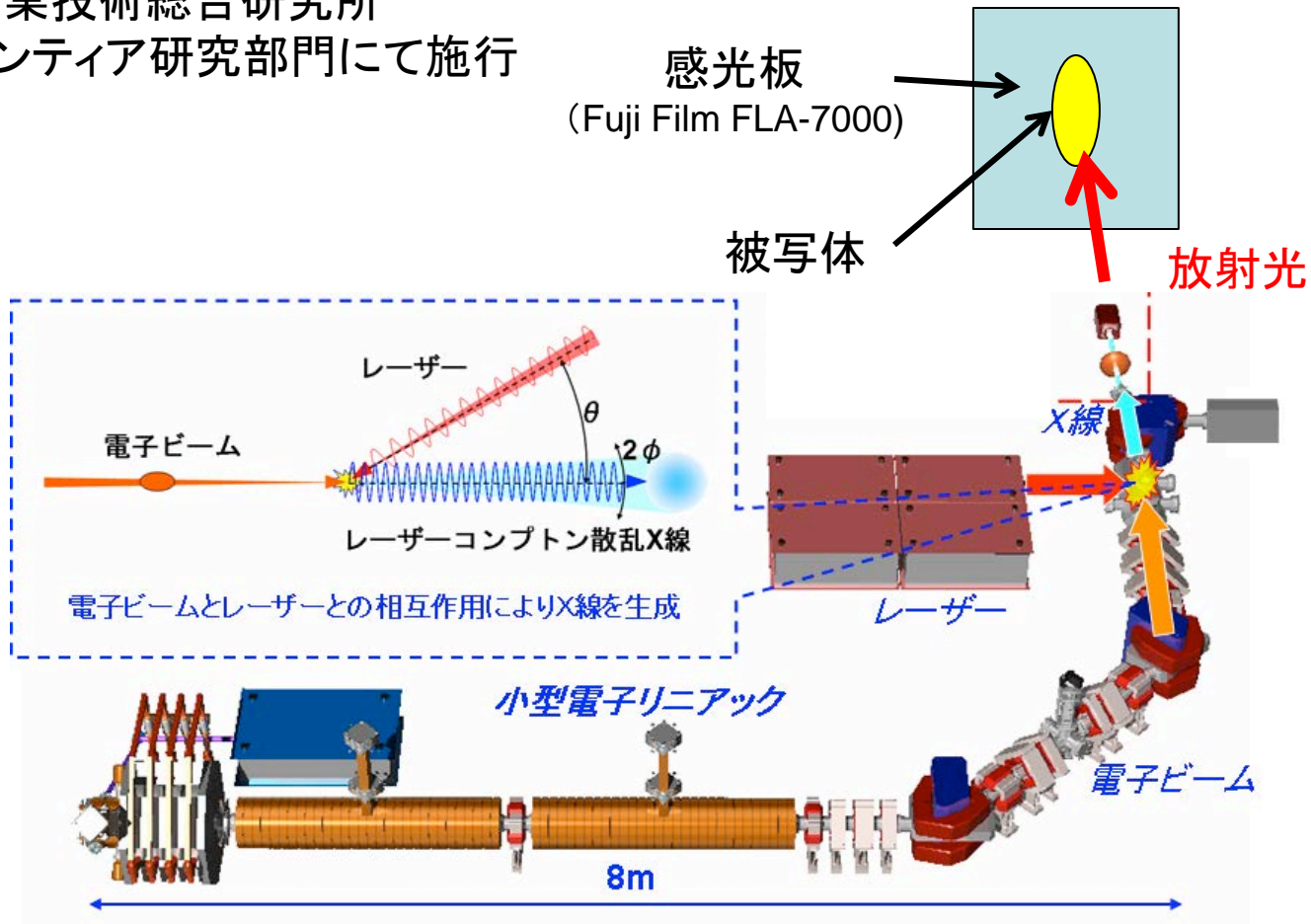
KEK photon factory 又は Spring-8

レーザーコンプトン散乱準単色X線源



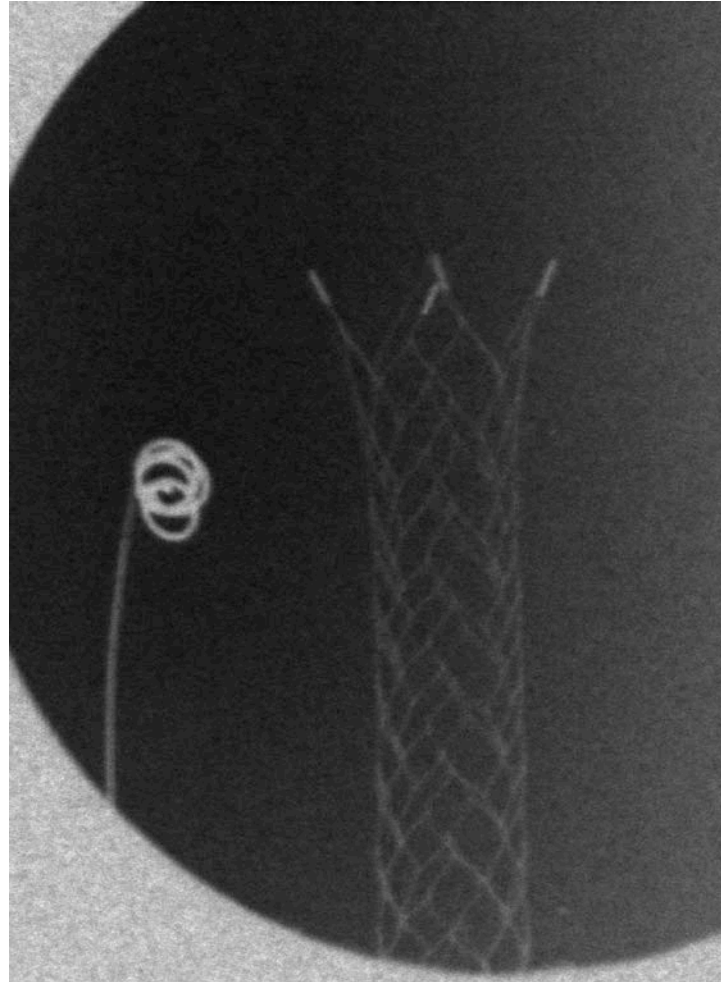
レーザーコンプトン散乱準単色X線源を用いた ステント・コイルの撮影方法

産業技術総合研究所
計測フロンティア研究部門にて施行





コンパクト放射光線源でステント・コイルを撮影(静止画像)



コイルの一次コイルは
可視化できなかった

しかし

感光板1ピクセル:25 μ m

一次コイル:20~25 μ m

なので感光板の限界

によって見えなかった

可能性がある

ステントのストラットは
可視化できた

コンパクト放射光線源のポテンシャルを示す事ができた。



高感度カメラの効用

血管内手術による被爆線量

脳動脈瘤塞栓術による被爆線量 ———— 平均2.6 Gy (最大5.4 Gy)
 — 過性初期紅斑 ———— 11 / 17例中
 — 過性脱毛 ———— 3 / 17例中

Japanese Society of Radiological Technology Suppl より

ハイビジョンでの夜間緊急報道等に威力を発揮 超高感度ハイビジョンハンディカメラ

スーパーHARP撮像管*を世界に先駆けて開発し、いろいろな番組制作に活用してきました。今回、より一層の感度向上と信頼性改善を図った実用型の新スーパーHARP撮像管を開発し、これを用いた超高感度ハイビジョンカメラを実現しました。超高感度・CCDカメラの約50倍の高感度を持っています。

- HARP: High-gain Avalanche-Rushing
- amorphous Photoconductor



NHK放送技術研究所ホームページより

被爆線量の軽減



通常の血管造影撮影装置による最小血管は200 ~ 400 μm 弱程度

前出の画像では約25 μm の線を識別することができる解像度であった。

ステントの拡張径は4mm程度でステントストラットは50 μm 以下と思われる。

放射光でなければ
認識できない
大きさ

拡張時で

ステント構造 / ステント拡張時の径 = 1 / 100くらい

モニター上で拡張時ステント径を10cm程度にして、観ているとすれば
ステント構造物は1mmくらいの太さに見えることになる。

おそらく少しのコントラストでも可視化できるので

ステント以外のコイルもよく見える……塞栓状況を詳細に観察できる。

液体塞栓物質などの可視化……液体塞栓物質には金属を混ぜているものもあるが、それらが不要になるかもしれない。

造影剤そのものを変えてしまう可能性もある。



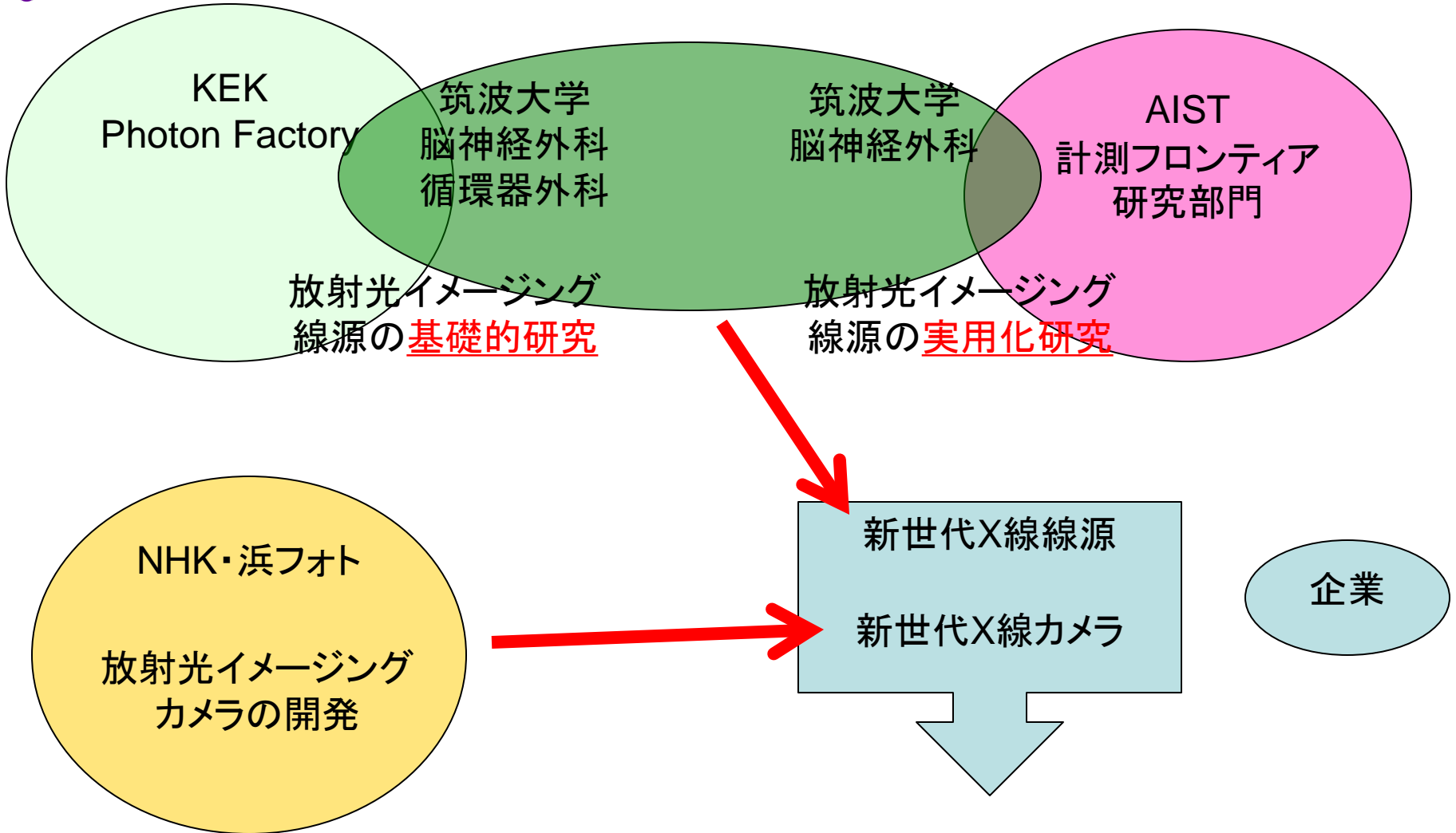
X線源は、この80年くらい全く変化がなかった。

最先端技術で作り出された見えないステントを、
最先端技術で作りだされる新しいX線光源
で可視化する。

新世代血管撮影装置の開発を目指す。

ステントのリアルタイムの可視化は、血管内手術の操作を
より確実でより安全なものにすると思われる。

ハイビジョンテレビと同じ、一度高解像度の画像をみたら元にはもどれない。



新世代血管撮影装置



放射光を用いたイメージングで臨床で求められるものは何か？

「見えないものが見える。」ことの意味とは？

解剖学的な生体構造
血管構造

病理学的な生体構造
癌の異常血管

微細構造の情報は
臨床情報と対比して
その臨床的価値を検討する
必要がある。

生体材料 (Biomaterials)
ステント
塞栓物質

見えないステントのリアルタイムの可視化
狭窄血管や脳動脈瘤閉塞術で血管再建のために用いられる

リアルタイムの可視化は血管内操作の安全性を向上させる？