

論文の内容の要旨

論文題目 四次元放射線化学療法に向けた薬品送達システムの研究

氏名 水野 和恵

1. はじめに

現在、日本人の3人に1人が癌で死亡しており、抗癌剤と放射線を組み合わせた化学放射線療法が効果の高い治療法として注目されている。しかし正常組織への薬剤分布と被曝により、副作用も同時に増強されてしまうため、患者への負担が大きい。

本問題の解決法として最も有力視しているのが、薬剤送達システムとピンポイント放射線の組み合わせである。放射線のダメージを集中させることに加え、増感作用をもつような薬剤を使用することで、正常組織への被曝を抑え、腫瘍部のみに効率よく物理エネルギーを導入することが可能だと考えられる。近年では、薬剤を高い機能性を持たせたキャリアに内包し、腫瘍組織へ特異的に集積させる「薬物送達システム(Drug Delivery System)」が飛躍的に進展おり、これを利用した抗癌剤が臨床試験段階に入っている。本研究では、放射線療法との併用に適した **DDS 薬剤の選定、DDS 薬剤の体内動態解明、治療スケジュールによる抗腫瘍効果の評価**を行った。特に放射光蛍光 X 線分析は、DDS 薬剤の血管浸透性や集積を定量的に評価できるため、キャリアの設計にフィードバックが可能で、創薬にも貢献できるという点で意義がある。

また、薬剤だけでなく放射線照射に関しても高い標的指向性が求められる。ピンポイントビームや強度変調放射線治療(IMRT)により線量を集中させることが可能だが、照射位置の正確な制御が不可欠である。体幹部の照射の位置精度で一番問題となるのは、呼吸に伴う腫瘍や臓器の動きである。呼吸位相に合わせた照射や、4次元 CT(4DCT)を利用した腫瘍軌道の取得等が試みられているが、それらの精度を検証するためのツールが普及していないため、計算結果のみを信頼して治療計画を立てているのが現状である。そこで、4次元放射線治療(4DRT)の検証用として、**患者の腫瘍の動きを3方向で模擬することが可能な動体ファントムを開発した**(図1)。

2. DDS 薬剤と放射線の併用療法

2.1 白金製剤含有高分子ミセル

放射線と併用する薬剤の候補として、シスプラチンを含む高分子ミセル(図2)に着目した。シスプラチン(CDDP)は、既に臨床で広く用いられている抗癌剤であり、X線治療に対して増感作用があることが知られている。高分子ミセルは血中滞留性が1~2日間と長く、低い腎毒性と高い腫瘍集積性が確認されている。

2.2 併用に向けて解決すべき問題

白金製剤は臨床で化学放射線療法に広く用いられており、多くの先行研究において、投与後 1 時間以内に放射線を照射するのが最適と報告されている。しかし高分子ミセルは、臓器への集積特性が従来の白金製剤と異なるため、最適な照射タイミングも異なると考えられる。治療スケジュールを最適化するには、薬剤の体内動態を把握する必要がある。組織レベルでの集積性は誘導結合プラズマ質量分析等を用いて調べられてきたが、白金錯体に蛍光ラベルを直接付加することが困難であることから、細部における分布は明らかになっていなかった。そこで、薬剤に白金が含まれていることに着目し、蛍光 X 線分析により体内動態を評価した。プローブビームの種類により、感度や分解能に差があるため、組織内分布を放射光蛍光 X 線分析(SR-XRF)で、細胞内分布を Particle Induced X-ray Emission (PIXE) を用いて測定した。実験内容と得られた成果を図 3 にまとめた。

2.3 SR-XRFを用いた組織内分布評価

2.3.1 腫瘍における分布

図4はBxPc-3(ヒト膵臓癌細胞)を移植したマウスに、ダッハプラチンミセルを投与し、24時間後に回収した腫瘍切片のSR-XRF分析の結果である。腫瘍切片全体の元素分布を調べ、癌細胞巣(巣の周囲は血管(Fe)、内部は癌細胞(K)により形成される)を特定した。膵臓癌は繊維質が多いのが特徴で、血管から放出された薬剤が内部に届きにくく、低酸素状態であるため化学放射線療法において大きな障壁となっている。癌細胞巣の周囲において、巣周囲の白金の濃度分布を調べたところ、白金と鉄がほぼ同じ濃度分布を示していることから、ミセルが血管壁を透過し、拡散によって癌細胞巣内部に浸透したと考えられる。

本手法を用いて、白金の集積濃度を、薬剤を投与してからの時間と、血管からの距離をパラメータとして取得することを試みた。図 5 は B16-F10(マウス黒色腫)細胞を移植したマウスに CDDP とシスプラチンミセルを投与し、1, 4, 24 時間後の切片を観察し、血管断面から外側に向けて点分析を行った結果である。CDDP は投与して 1 時間後には既に血管周囲に均一に分布しており、時間経過に伴い減少した。シスプラチンミセルは投与 1 時間後では血管内に留まっており、その後、血管から離れた領域での濃度が徐々に上昇する傾向が見られた。

2.3.2 腎臓における分布

白金製剤の投与量の制約となる最も大きな要因は急性腎毒性である。白金製剤含有高分子ミセルの腎毒性が低いことが分かっていたが、その機構は明らかにされていなかった。CDDPとシスプラチンミセルを投与したマウスの腎臓切片のSR-XRFイメージングを行ったところ、分布に大きな違いが見られた。図6, 7はそれぞれの薬剤投与4時間後の広域・局部微細イメージングである。CDDPは腎盂に高い濃度で集積しており、速やかに尿へ排出されている。また、皮質層内では白金が均一に分布しており、毛細血管や尿管から漏れ出し一様に広がっていると考えられる。一方、シスプラチンミセルは腎盂への集積が少なく、糸球体周囲では、網目状の分布が観察され

た。ミセルが糸球体でろ過されず毛細血管内に留まっている、もしくは一部がろ過されたものの尿細管の壁面に留まっていると考えられる。

2.4 PIXEを用いた細胞内取込み評価

2.4.1 コンベンショナルPIXE分析

Chinese Hamster ovary (CHO)細胞を同濃度のCDDPとシスプラチンミセルを含む培地で24時間処理して、放射線医学総合研究所のコンベンショナルPIXEで分析したところ、10倍近くの差があった。ミセル化された状態では細胞内へ取り込まれにくいと考えられる。そこで、予めシスプラチンミセルと培地とを混合して、異なる崩壊度合いのシスプラチンミセルを用意し、CHO細胞を24時間処理したところ、混合時間(崩壊度合い)に応じて取込み量が変化した。CDDP単体の取込み特性と、崩壊定数から計算した予想とよく一致していることから、大多数は崩壊したミセルから放出されたCDDPが作用していると思われる。

2.4.2 マイクロビームスキヤニングPIXE分析

白金製剤の抗腫瘍効果は、DNAと結合し、複製を妨げることにあって発揮される。したがって、細胞内に入っただけでは不十分であり、細胞核に取り込まなければならない。本研究では2mMのシスプラチンミセルで6時間処理したPK-1(ヒト膵臓癌)細胞内の白金分布を、東北大学のマイクロビームスキヤニングPIXE(μ -PIXE)を用いて測定した(図8)。カリウムやリンが多く含まれる細胞核の領域に、白金も分布していることが確認された。しかし、この条件では薬剤濃度が高すぎて、SR-XRFで観察された腫瘍内の白金濃度を再現できていない。そこで、照射時間やビームサイズを最適化し、100 μ Mのダッハプラチンミセルで24時間処理したHT29(ヒト大腸癌)細胞のマッピングを行った。その結果、非常にシグナル数が少ないものの、細胞核内に白金が分布しており、薬剤が届いていることが確認された。

これらの蛍光X線分析の結果から、薬剤が癌細胞に到達するまでの時間と量を概算することができる。更に、放射線を照射した際の細胞毒性の結果を併せることで、最も効果の高い治療スケジュールを考案できると考えている。

3. 動体ファントムの開発

3.1 動体ファントムと市販の装置の問題点

4DRT技術を検証するためには、再現性よく患者の腫瘍の動きを模擬できる動体ファントムが必要である。市販品は、非常に高価で、ターゲットの動きや範囲に制限があり、国内ではほとんど普及していない。近い将来、肺や横隔膜付近のIMRTが開始されると予想されており、汎用性の高い動体ファントムが求められている。

3.2 新型動体ファントムの構造

本研究では人体模型と3軸制御ユニットから成る動体ファントム(図9)を開発した。人体模型

は成人日本男性の CT データを元にし、内部に円筒状の肺空洞をもつ形状である。胴体には電子密度が人体に近く安価な樹脂を採用し、骨はインクジェット方式により石膏で作製した。3 軸制御ユニットはターゲットを保持する棒を動かすためのステージユニット、および制御用マイコンボードから成る。ターゲットはアクリル製の球で、X 線フィルムもしくはピンポイント線量計の取り付けが可能である。ターゲットは肺空洞内の任意の場所で、3cm/秒以下の速度で、ユーザーが用意した入力データに基づいて動作する。正弦波を再現した動作試験では、AP 方向の位置誤差が 0.01mm、100 回の時間の遅れが 3/100 秒であった。位置・時間の双方で 4DRT の検証用として十分な精度を有する。

3.3 東大病院での実証試験

4DCT 装置を用いて、市販の動体ファントムと比較したところ、市販品の誤差が最大 4mm であったのに対し、開発したファントムの誤差はスライス厚の範囲に収まった。また、この試験の過程で、取得データを治療計画装置に転送する際の不具合(画像取得時間とデータフォルダ名が一致しない)を発見し、院内のシステム改善に貢献した。

図 10 は患者の腫瘍と同じ動作をさせ、6MV の X 線で 0°から 1 門照射した際の、ターゲット中心面の線量分布である。ターゲット周囲の正常組織に過剰に照射されており、開発した動体ファントムは、患者個々の動きに対するマージン(ITV)の検証にも有用であるといえる。

4. 結論

深部癌治療の副作用を低減し、高い治療効果を得るために、放射線療法と DDS 薬剤との併用の最適化、および 4DRT の検証ツールの開発を行った。DDS 薬剤との併用では、白金製剤含有高分子ミセルの体内動態を評価するため、マイクロビームを用いた測定手法を確立した。また、腫瘍や正常組織の呼吸性移動を考慮した 4DRT の研究・検証用として、高精度な胸部動体ファントムを作製し、有用性を評価した。

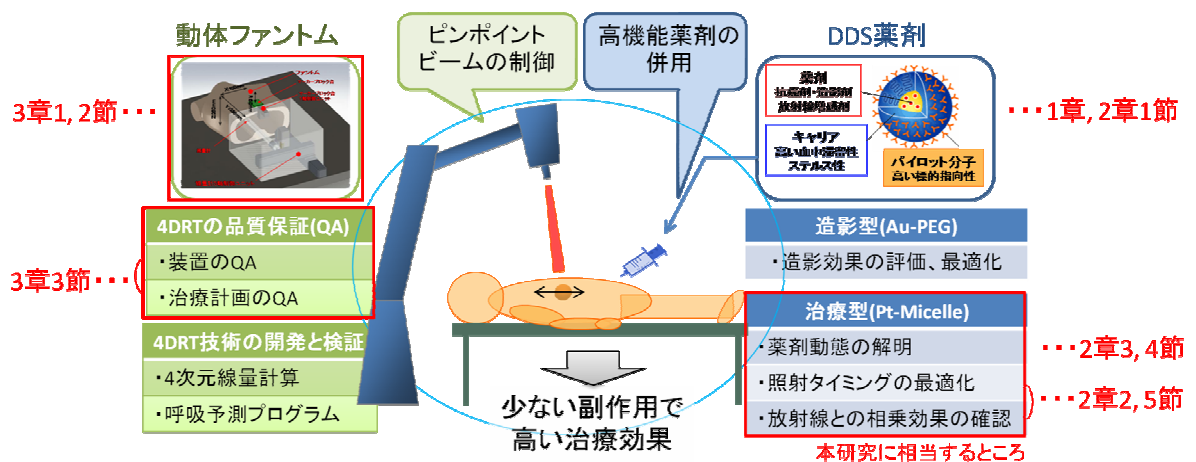


図1 ピンポイント放射線化学療法の全体像と本研究の構成

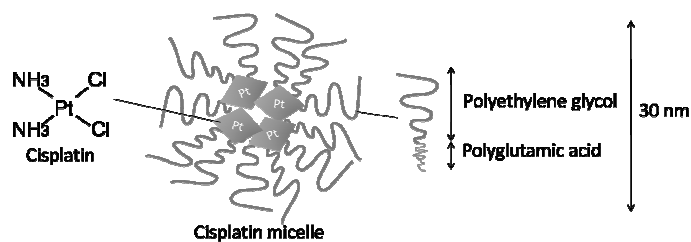


図2 シスプラチンミセルの構造

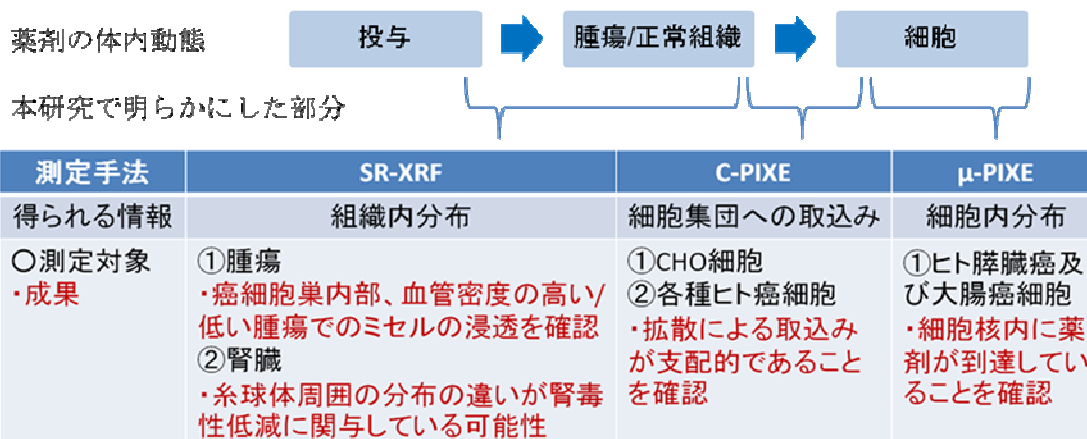


図3 蛍光X線分析により得られた、白金製剤含有高分子ミセルの体内動態に関する成果のまとめ

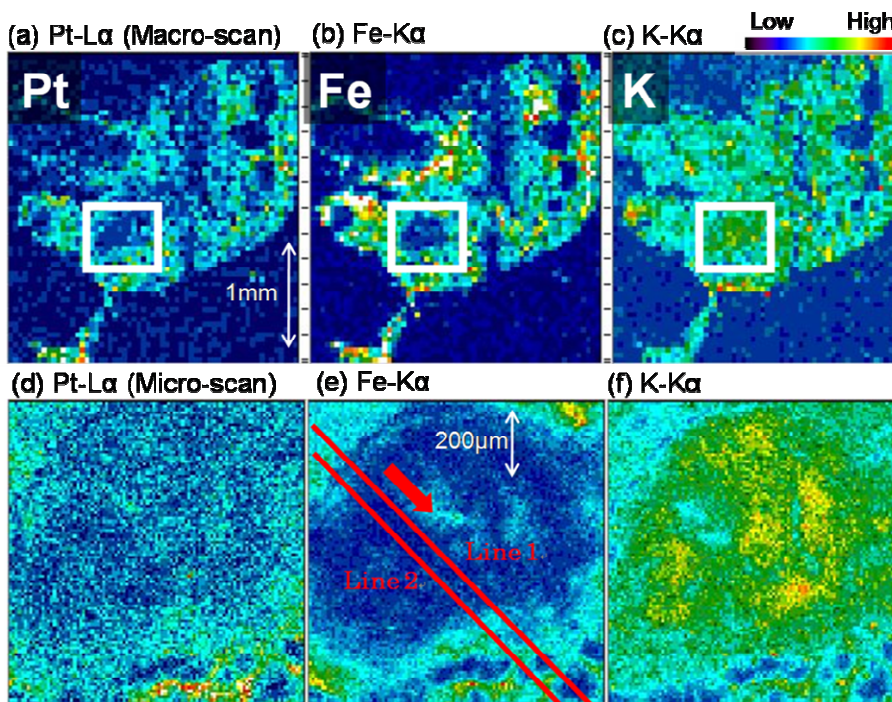


図4 腫瘍切片の(a)(b)(c)広域と、(d)(e)(f)局所微細SR-XRFイメージング

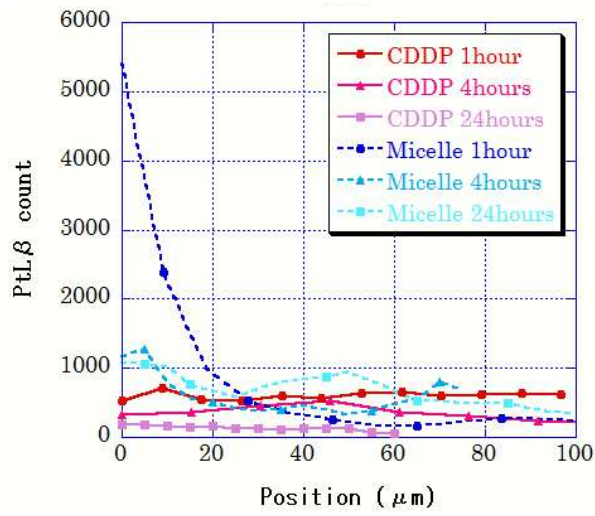


図5 血管からの距離に対する白金の量(相対値)

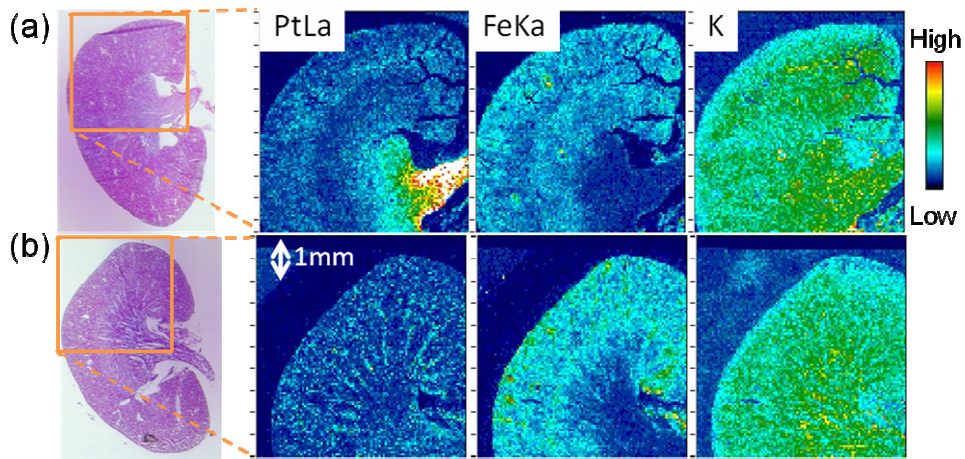


図6 (a)CDDPと(b)シスプラチンミセルの投与4時間後の腎切片のHE染色と、SR-XRF広域イメージング

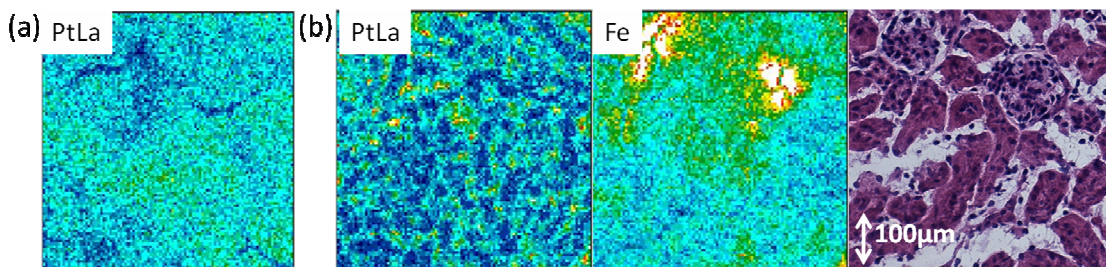


図7 (a)CDDPと(b)シスプラチンミセルの投与1時間後の腎皮質層の局所微細イメージング

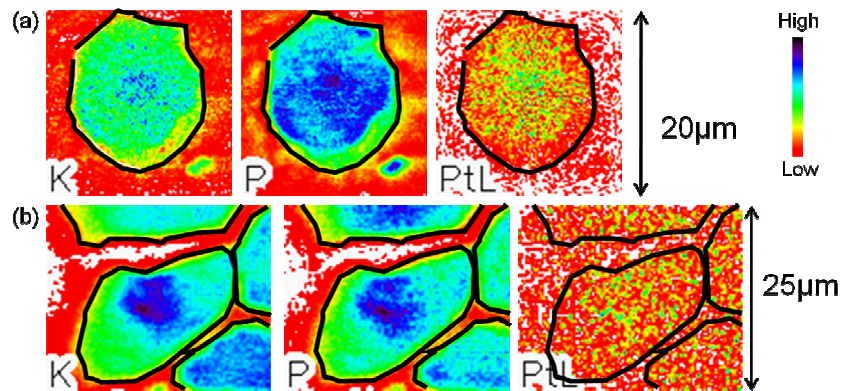


図8 (a)GDDPと(b)シスプラチンミセルで処理したPK-1細胞の元素マップ

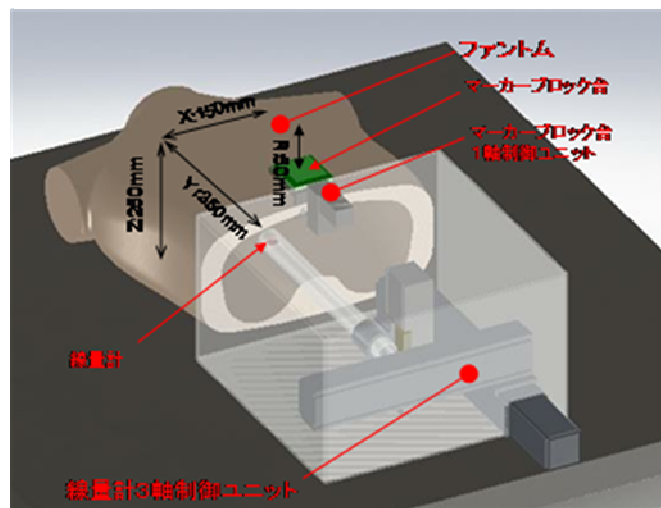


図9 開発した動体ファントムの模式図

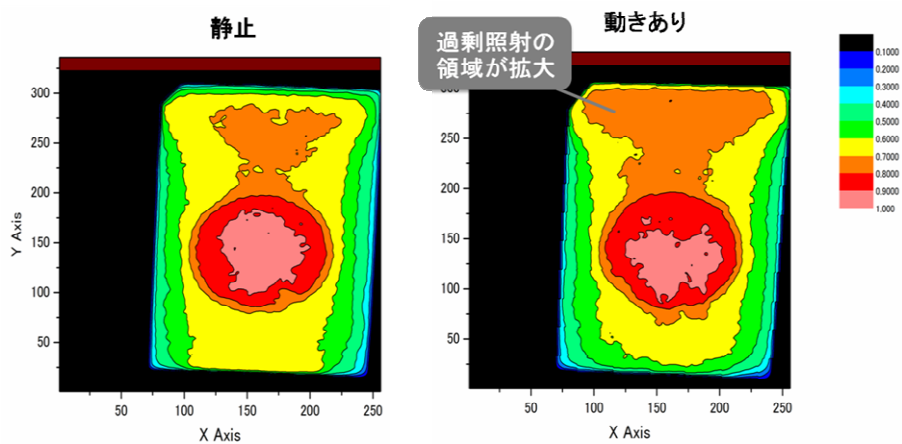


図10 (左)静止させた場合と(右)患者の腫瘍の動きを元に動作させた場合のターゲット周囲の線量分布