【261】

氏　名（本籍）	遠藤　聖（茨城県）（えんどう　きよし）
学位の種類	博　士（医　学）
学位記番号	博甲第 4093 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審査研究科	人間総合科学研究科
学位論文題目	**マイクロ PIXE を用いた 9L gliosarcoma 細胞における硼素・ガドリニウム元素分布分析の研究**

主　査	筑波大学教授	薬学博士	熊谷嘉人
副　査	筑波大学教授	薬学博士	幸田幸直
副　査	筑波大学助教授	医学博士	徳上公一
副　査	筑波大学講師	博士（医学）	金森章浩

論文の内容の要旨

（目的）

硼素中性子捕捉療法（BNCT）においては，腫瘍細胞周辺あるいは細胞内に中性子捕捉元素である硼素元素が存在してもある程度の効果は期待できるが，最も効率よく腫瘍細胞を破壊するためにはいかに腫瘍細胞内，特に核内に硼素元素が取り込まれるかが鍵である。そしてその詳細については現在まだ解明されていない。本研究の目的はこの中性子捕捉元素である硼素やガドリニウム元素が腫瘍細胞のどこに取り込まれているのか，その micro-distribution を解明することである。

（対象と方法）

腫瘍細胞としては 9L gliosarcoma 培養細胞を用い，これをマイラー膜上に培養，その後ここに任意の濃度・時間で BSH あるいは Gd-BOPTA を投与した。そしてこれらの物質を取り込ませた腫瘍細胞を急速凍結乾燥固定し，出来上がった試料を「マイクロ PIXE」で測定する in vitro 実験を行った。

マイクロ PIXE に装着するためのマイラー膜リングの作成方法と腫瘍細胞のマイラー膜上での培養方法など試料作成方法については，東北大学工学部の手法に従った。本実験では腫瘍細胞として 9L gliosarcoma 培養細胞を，またこれに取り込ませる中性子捕捉物質としては硼素 10 および 157 ガドリニウムを含む BSH, Gd-BOPTA を用いた。

また本実験では試料中のこれら微量元素の micro-distribution を測定する手段としてマイクロ particle induced X-ray emission（PIXE）を用いた。物質にバン・デ・グラーフ加速器やサイクロトロンなどの加速器からの陽子やヘリウムイオンなどのビームを照射すると，その物質固有のエネルギーを持つ X 線（特性 X 線）が発生する。この X 線の発生断面積は非常に大きく，マイクロ PIXE ではこの微量元素からの特性 X 線の測定が可能であり，その特性 X 線のカウント数から物質中に含まれている元素やその量を求めることができる。

（結果）

基礎実験として数回にわたり試料作成および，ガドリニウム濃度の適正化などの探る前段階の実験を数回行った。

細胞を捉えているものとしてはその構成元素から主に，リン（P）や硫黄（S）クロール（CI）等の分布を捉える事でこれを細胞分布として評価し，ガドリニウム（^{157}Gd）元素の分布は直接測定可能である。また硼素 10（^{10}B）については，PIXE で発生する特性 X 線のエネルギーが低いため，これまでの α 線を計測する方法では直接 ^{10}B の測定分析は出来なかった。そこで今回 α 線ではなく γ 線を計測することで初めて分析が可能となり，^{10}B の分布画像を得ることに成功した。

1）^{157}Gd 元素分布の 87％が 9L gliosarcoma 細胞分布に一致して観測された。

2）^{10}B 元素分布はその 70％が 9L gliosarcoma 細胞分布に一致して観測された。

3）投与濃度が高いほど，また暴露時間の長いものほど ^{157}Gd 元素分布と 9L gliosarcoma 細胞分布との一致するものが多くなる傾向が観察された。

（考察）

これまでにも多くの様々な測定方法が試みられてきたが，いずれの研究でも元素の micro-distribution を直接観測，画像化し，腫瘍細胞との関係を明らかにした報告はなかった。

今回本研究で我々は，マイクロ PIXE 装置を用いて 9L gliosarcoma 細胞の形態を捉え，また ^{10}B および ^{157}Gd 元素の micro-distribution を観測する事に成功した。マイクロ PIXE は直径が 1 μm という非常に細いマイクロビームを用いることで高感度で，分解能に優れているため，細胞内の元素分布などを直接測定できる大変有力な技術である。非常に小さな試料・対象物でも一度に多くの元素分析ができるため，生物・医療サンプルなどでの微量元素の局所的な分析にも大変適合していると言える。

加速器を用いるこの高感度分析法 PIXE は，これまでに報告された他の分析方法と比べ以下の特徴を有している。

①１回の測定で試料中に含まれるほとんどの元素を同時に定量分析できる。

②測定はきわめて簡単である。試料を薄膜上に載せて，または試料そのものにビームを直接照射して X 線を測定すればよい。

③数十 μg の少量の試料でも十分分析可能である。

④大気中にビームを取り出すと液体の試料なども直接分析できる。

⑤数 μm のビームスポットを使うことによって，微量元素の試料中での空間分布を μm のスケールで測定することができる。

本実験でマイクロ PIXE はまた，9L gliosarcoma 培養細胞における in vitro では ^{10}B と ^{157}Gd 元素分布は同様に細胞分布に一致して分布する傾向を観測できた。さらに 9L gliosarcoma 培養細胞の分布と ^{157}Gd 分布が一致する部分に関しては，Gd-BOPTA の濃度および暴露時間に比例して観測される ^{157}Gd 元素は増加し，これまでの他の報告と同様の結果が得られた。よってマイクロ PIXE を用いてのホウ素，ガドリニウムなどの micro-disribution を観測・分析することは可能なことが確認され，マイクロ PIXE はこれらの測定に適していることが確認できた。

（結論）

マイクロ PIXE を用いて，9L gliosarcoma 培養細胞の形態，および ^{10}B と ^{157}Gd の細胞内分布を観測・画像化することに成功した。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は，マイクロ PIXE を用いて，培養細胞の形態，および ^{10}B，^{157}Gd の micro-distribution を観測・画像化を検討したものである。特に ^{10}B 元素については，マイクロ PIXE での通常の測定法とは異なる核反応による γ 線を測定する PIGE 法を用いることで初めてこれを直接測定し，その分布を画像化することに成功した。今後もさらに詳細な分析測定をめざし，より効率的な BNCT の臨床応用の一役を担えるよう研究を継続していくことが望まれる。

よって，著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。