

放射光の医学利用

早稲田大学理工学術院・総合研究所 理工学研究所 篠原邦夫

Medical and biological applications of synchrotron radiation are briefly surveyed excluding crystallography, non-crystalline diffraction analysis, and X-ray fluorescence analysis. The subjects include X-ray microscopy, high-resolution imaging with contrast medium, phase contrast imaging, and radiation therapy. X-ray microscopy has been developed to the level of practical use and will present fruitful results in the near future in biology, which may not be revealed by other microscopic methods. Phase contrast imaging is another field of science, which development is accelerated with synchrotron radiation. A new modality of radiation therapy may be grown using synchrotron radiation, though it is still in the stage of biological study at present.

Key words: synchrotron radiation, X-ray microscopy, angiography, phase contrast, micro-planar beam radiation therapy

1. はじめに

X線 (≤ 1 MeV) が物質中を透過する際の物質との相互作用には、弾性散乱、非弾性散乱 (コンプトン散乱) および光電吸収がある。弾性散乱では、そのエネルギーと一定の位相関係を保存した形で光子の方向が変わる。したがって物質中を透過した X 線は、光電吸収、コンプトン散乱による減弱と、回折・散乱による方向変化を伴う。X 線は、物質透過後のこの変化から、物質内の相互作用の情報を読み出す手段として利用するものであり、そのために種々の工夫がなされている (図 1)。

放射光は、高強度、高輝度、高指向性の X 線源であ

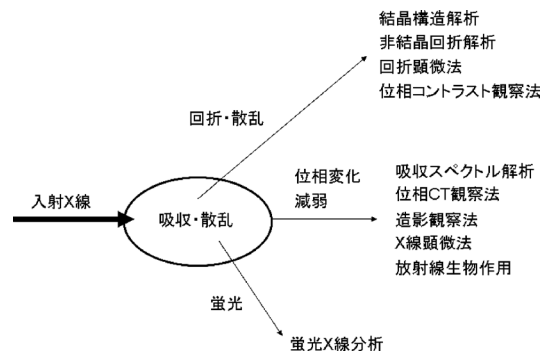


図 1 放射線と物質との相互作用と医・生物学に利用されている主な解析法

る。X線源という意味では医学における利用も従来の利用の延長線上にありその高度化したものと位置づけられる部分が多いが、放射光の利用で実現可能になった部分も少なくない。一方、放射光特有の利用法も開発され始めている。すなわち放射光は高強度の単色光、高指向性・可干渉性、および高線量マイクロビーム X 線源としての特徴があり、その特徴を生かした利用法に興味を持たれている。手法的には構造の解析と照射効果に分けられる (図 1)。構造の解析には、原子・分子レベルの結晶構造解析・蛍光 X 線分析、分子・組織レベルの非結晶回折解析、分子・細胞レベルの X 線顕微鏡観察、組織・個体レベルの高解像イメージング・放射線診断があり、照射効果には、放射線の生物作用の解析と放射線治療があるが、放射線診断・治療に関しては基礎研究のレベルと考えてよい。

X線結晶構造解析は、試料を結晶化してその周期構造による回折強度を検出し、また強度の高い光源を利用してデータ取得時間を短縮し、原子レベルにおける分子構造を解明する手段として確立した。この考え方は結晶でなくとも規則性のある構造であれば利用可能である。生体組織内には、筋肉、コラーゲンなど周期構造を持つ

Synchrotron Radiation in Medical Science
Kunio SHINOHARA (Advanced Research Institute for Science and Engineering, Waseda University)
〒169-8555 東京都新宿区大久保 3-4-1
早稲田大学理工学術院・総合研究所 理工学研究所
TEL: 03-5286-3093, E-mail: kshino-wsd@aoni.waseda.jp

構成要素がある。このような構造の周期、分布等、あるいは結晶性でない分子集合体におけるある種の規則性についても X 線の回折を利用して解析することができる。

原子・分子の平均的な構造や定量を主な対象とする結晶構造解析、非結晶回折ならびに蛍光 X 線分析はすでに普及しよく知られた利用法なので、本稿では個々の細胞・組織・個体レベルを対象とする、X 線顕微鏡、放射線診断の基礎となる高解像度イメージング、放射線治療の基礎（照射効果）に焦点を絞って具体的な事例もとに利用者の視点からの概観を試みたい。

2. X 線顕微鏡

X 線で透視拡大観察をする、という手法はレントゲンによる X 線発見直後から提案されている。その一般的な方法は、密着法（転写法）と投影拡大法であった。その後微細加工技術の発達により、高精度の光学素子が開発され、光学素子を利用して集光拡大する軟 X 線顕微鏡が開発された。この開発にはドイツの Schmahl（ゲッチンゲン大学）らとアメリカの Kirz（ニューヨーク州立大学）らの寄与が大きい。Schmahl らは結像型の顕微鏡、Kirz らは走査型の顕微鏡を放射光光源で実用化した。X 線顕微鏡は X 線を集光拡大して顕微鏡観察するもので、光学顕微鏡、電子顕微鏡と相補的な技術であり、高分解能観察のためには高密度の単色高強度光源を必要とし、放射光の特徴を活用する重要な手法の一つである。

医・生物学における利用はその細胞観察における特徴にある。細胞の機能はその構造に大きく依存している。したがってその機能発現状態における構造をそのまま観察することは重要な情報を提供する。このような観察技術に光学顕微鏡がある。可視の蛍光標識技術の進歩により、細胞の機能を観察する光学顕微鏡技術の進歩には目覚ましいものがあるが、光学顕微鏡ではその物理的な分解能の制約のため、細胞内構造の高解像度解析には電子顕微鏡による情報が必須となる。ところが電子顕微鏡では細胞全体をそのまま観察することは難しく、薄い切片による情報から解析することになる。言い換えると、細胞機能の場すなわち機能発現状態の全体的な細胞構造のその場観察と解析を光学顕微鏡に依存しているが、光学顕微鏡ではその分解能が不十分で、例えば染色体繊維、微小管といった機能単位として重要な構造ならびにその周囲の構造との関係を直接に観察することが難しい、というのが現状である。一方 X 線顕微鏡の特徴は、電子顕微鏡よりも透過性が高く（厚い試料の観察が可能で）、光学顕微鏡よりも高分解能の観察が可能な点にある。す

なわち生理機能と細胞内微細構造との関係を三次元的に理解するための新しい観察手段となる要素を十分に備えている。また、蛍光 X 線分析と併用して元素の分布を観察すること、吸収スペクトルと併用して分子の分布を観察することも可能である。歴史的には、生物学への応用を目的として吸収コントラストによる軟 X 線顕微鏡の開発が進み、その後位相コントラスト法の開発、硬 X 線領域の顕微鏡の開発へと発展している。さらに近年は、光源のコヒーレンスを活用した回折顕微法に注目が集まっている。

X 線顕微鏡装置は、反射あるいは回折を利用した集光光学素子の進歩により、近年軟 X 線で 15 nm、硬 X 線で 50 nm より高い分解能が達成されている。顕微鏡の方式としては、光学顕微鏡と同様の方式の結像型と、集光したマイクロビーム上を試料が移動する走査型がある¹⁾。走査型は蛍光 X 線分析・吸収スペクトル解析にも利用され、分析型顕微鏡として普及している。軟 X 線顕微鏡は細胞レベルの厚さ（10 μm 程度）の透視観察が可能で、生理的な機能発現構造体（細胞）をそのまま観察対象とすることができる。硬 X 線顕微鏡の場合には、一般的により厚い構造体を観察対象とするが、硬 X 線顕微鏡で生物細胞のような主に軽元素で構成されている試料を観察する場合には位相コントラストを利用する。なお結像型の軟 X 線顕微鏡で凍結細胞試料の CT 再構成による 3 次元観察例が報告されている^{2)~4)}。

光源に可干渉性光源を要求する顕微法も開発が進んでいる。よく知られているのは、ホログラフィー^{5), 6)}であるが、XFEL のようなコヒーレント光源の開発とともに、参照波を用いるフーリエ変換型ホログラフィーの手法に進歩が見られる^{6)~9)}。この手法による生物試料の観察に期待したい。一方回折顕微法は、参照波を必要とせず、ビーム外に散乱される X 線のスペックル情報をもとに画像を再構成する手法である。生物観察例としては、大腸菌と酵母の観察例が報告されている^{10), 11)}。また、この方式を走査型にして広い視野を観察する手法¹²⁾も開発されたが、生物観察はこれからである。なお、ホログラフィーも回折顕微法も光源のコヒーレンスを要求するのみで集光光学素子を必ずしも必要とせず、顕微法の高分解能化が容易と考えられ興味深い。

以上のように顕微鏡法の進歩により、軟 X 線、硬 X 線それぞれを利用する多くの手法が開発された。生物観察にどの手法を利用するかは、使用目的に応じて使い分ければよいが、X 線による生物試料の観察という点における基本的な特徴はいずれも同じなので、ここでは利用例がもっとも検討されている軟 X 線顕微鏡によ

る観察例を中心に紹介したい。

軟 X 線顕微鏡は、光学顕微鏡よりも高い分解能（物理的分解能 ≤ 15 nm）を達成¹³⁾し、電子顕微鏡よりも高い透過性により、細胞全体を透視観察することが可能で、光学顕微鏡と電子顕微鏡の谷間を埋める観察技術である。その特徴の生物観察における検証は、まず密着顕微鏡法でなされた。すなわち試料そのもののコントラストで、10 nm の解像度の観察が可能であることが、ヒト染色体繊維の構成単位であるヌクレオソーム（無染色；固定剤使用なし）の観察により示された¹⁴⁾。さらに、水中における無固定無染色の染色体繊維構造が同様に観察できることがレーザープラズマ X 線による単一パルス (300 ps) 露光で確認された¹⁵⁾。以上の結果は、軟 X 線顕微鏡を利用すれば、細胞内の染色体繊維構造を高解像度で観察できることを示唆している。（この例は、密着法のため、細胞のような厚い試料の高解像度観察には適していない。）なお、結像型顕微鏡による染色体の観察も報告されている¹⁶⁾が、期待通りの結果とはなっていない。その理由は、おそらく①細胞のような厚い試料の 2 次元透視観察では像の重なりが大きく観察結果の解釈が難しい点と、②露光時間の関係から水溶液中の試料のブラウン運動による揺らぎの影響があり十分な分解能が得られなかったため、であろう。この前者の問題解決には、近年になって開発された CT 法による凍結試料の 3 次元観察^{2), 3)}が有効であろう。2 次元透過像と CT 再構成によるスライス像を比較すれば、2 次元透過観察像がいかに不十分であるかを知ることができる^{2), 3)}。また目的とする分子を金属で標識する技術も活用されるようになり¹⁷⁾、軟 X 線顕微鏡の実質的な価値が期待できるようになった。特に細胞全体を 3 次元的に再構成画像として取得する CT 法の実現は、光学顕微鏡よりも高解像度で電子顕微鏡では難しい細胞全体像の解析を可能とする新しい手法として、その特徴が明確に位置づけられる。

分析型の顕微観察には走査型顕微鏡が使われている。この場合には分子の X 線吸収特性を利用する。原子の吸収端近傍にはその吸収スペクトルに微細構造が見られる。これはその原子を構成要素とする分子の化学構造によるもので、この吸収微細構造の解析により分子・原子の状態を解析することができる。この例として、走査型軟 X 線顕微鏡による炭素の吸収端付近の XANES (X-ray absorption near edge structure) スペクトルをもとに染色体¹⁸⁾あるいは精子¹⁹⁾内の DNA とタンパク質の存在状態を画像上で識別した例がある。走査型軟 X 線顕微鏡は化合物の分子構造と原子の定量評価が可能であり、応用範囲が広い。例えば、顕微観察ではないが、

PMMA (polymethylmethacrylate) の微小部分の X 線損傷により、C=O 結合が切れるが、液体窒素温度下では、酸素がその場にとどまるのに対し、室温では酸素が消失するといったことも検出できる²⁰⁾。また金属原子の観察には走査型の硬 X 線顕微鏡による蛍光 X 線分析が活用されている^{21)~23)}。

そのほかの特徴的な観察例としては、結像型顕微鏡によるヒト精子の観察例²⁴⁾を紹介したい。この例では、水溶液中の精子を（固定も染色もせずに）直接顕微鏡観察し、光学顕微鏡では気づかれなかった液胞構造があることを見いだした。この構造は光学顕微鏡でも十分観察できるサイズのものであったが、コントラスト生成機構の違いにより軟 X 線で容易に観察されたものが、光学顕微鏡では見落とされていたものと思われる。

以上のように、X 線顕微鏡は光学顕微鏡と電子顕微鏡に相補的な新しい顕微鏡としての地位をほぼ確立したといえよう。

3. 放射線診断の基礎となる高解像度画像解析

より高次の構造体の観察・解析には、造影剤と単色 X 線による画像解析法、単色 X 線 CT 観察法、位相コントラスト画像解析法などが放射光利用による精度の高い画像解析法、あるいは新規に開発された画像解析法である。すなわち造影剤利用の観察および単色 X 線 CT では従来の方法で問題となるビームハードニングの問題がなく、高い光源強度とともに高解像度定量解析を実現している。一方位相コントラストイメージングは試料の位相特性を利用した画像検出法で、これまで余り利用されていなかった X 線の光学特性を利用している。

3.1 高解像度造影撮像

ヨウ素などの造影剤を利用し、その K 吸収端よりやや高いエネルギーの単色 X 線を利用して造影剤による高いコントラストの画像を取得する。またその吸収端を狭む二つのエネルギーによる画像の差分を取り、造影剤の定量的解析、造影剤による選択的画像の描出が可能となる。高強度線源の利用により高速撮像が可能になると同時に高解像度の画像取得も可能であるが、高解像度画像取得の場合には所要線量が高く、生体観察の場合には被ばくの影響に十分に配慮する必要がある。心血管造影^{25), 26)}、100 μm 以下の腫瘍の新生血管^{27), 28)}、50~100 μm 冠動脈微小血管²⁹⁾、気管支造影^{30), 31)}などの例があるが、ここでは、もっとも研究された心血管造影の場合について少し詳しく紹介したい。

心血管の狭窄部位を診断する現行の診断法として選択造影法がある。放射光の利用は、被検者の負担を軽減す

ることが目的であり、静脈に造影剤（ヨード剤）を投与して冠動脈を診断する方法として開発され、Line scan法³²⁾と2次元画像法³³⁾がある。

Line scan法では、ヨウ素のK吸収端を挟む二つのエネルギーの単色X線を二つの方向から同時に露光してそれぞれの透過X線の強度分布を記録し、その二つの画像の差分を取ることでヨウ素の吸収画像（すなわち血管の画像）とする。幅13 cm、高さ0.5 cmの指向性の高いビーム上を患者が上下に移動する形で露光するが、現状は1 lineの露光に0.8 ms、全体の1枚の画像の取得に250 msかかる（分解能：1 mm以下）。この方法の特徴は、①二つのエネルギーの同一場所における撮影を同時に行うことで差分が容易、②lineで透過情報を取得しているので被検者による散乱光の影響が少ない、③隣の画像との時間差が0.8 msで被検体の動きの影響が少ない、などである。2次元画像法では、散乱光による画質の低下という欠点はあるが、全体像を4 msで取得でき、動画像の取得が可能である。この場合エネルギー差分画像とするには工夫がいるが、現在はヨウ素のK吸収端よりやや高いエネルギーの単色X線による取得画像で診断している。line scan法^{25), 32)}、2次元画像法³³⁾のいずれの場合にも目標分解能は1 mm以下を達成。エネルギー差分法はline scan法で実現している。

HASYLABでは総勢376人を対象とした診断法としての有用性に関する調査研究を完了した²⁵⁾。その結果、患者の負担を軽減することにおいては非常に有効であったがすべての冠動脈を一度に診断することは難しく、初期の目的であったスクリーニングに利用するにはまだ工夫が必要と判断された。一方、治療後の患者の追跡診断には有効であることが明らかにされたが、その目的のためには病院施設の一部としての位置づけが要求され、現在の放射光施設では、規模・コストの面で問題が残る。

なお従来の方法では観察できない太さの血管の状態を調べる微小血管造影観察法には、その生理機能の解析の一助となる²⁹⁾という利点があり、腫瘍の新生血管^{27), 28)}のほかに、犬の脳、腸組織、脾臓、ラットの脚などの多くの観察例^{34)~37)}がある。

3.2 高分解能単色X線CT

この手法は種々のX線観察法に利用可能で、厚い試料の内部構造のように2次元投影では十分な識別が難しい場合の情報の取得に価値が高い。例えば前述のようにX線顕微鏡と組み合わせると、細胞内の高解像度観察が可能となる。また、後に紹介する干渉計による位相コントラスト画像についてもCT観察でその威力を発揮する。放射光の場合のCT観察は、線源の移動ではなく

観察対象の回転で対応する。したがって放射光の利用研究としては、対象を回転した場合の問題（回転による対象内の位置精度など）を考慮してもなお観察の価値が高い場合に利用可能である。その意味で病理標本あるいは小動物の3次元構築の解析には威力を発揮する。小動物の場合の放射光単色X線CTは、任意の解像度で（被ばく量を問題にしない場合には高い解像度で）生体機能を非侵襲的に定量解析する手段として優れている^{38), 39)}。単色X線CTは技術的にすでに十分に開発され、応用段階にある一般的な手法である。例えば骨のマイクロCTでは、ミクロンレベルの3次元構造の解析とともに定量的解析を実現している^{40), 41)}。

3.3 位相コントラスト画像解析

位相コントラストは試料の位相特性を利用した検出法で、従来の吸収特性を利用した検出法とは異なる原理に基づく。生体の主な構成元素である軽元素の場合に、元素の位相シフト相互作用断面積と吸収相互作用断面積を比較すると、低エネルギーの軟X線領域ではその差は大きくないが、硬X線領域では、その比が1,000倍にも達する。言い換えると、硬X線領域では吸収断面積が大きく減少するのに対し、位相シフト相互作用断面積の低下は小さく、位相シフトを検出するほうがはるかに高感度である⁴²⁾。位相コントラスト法はこれまで生物観察にほとんど利用されていなかったX線のこの光学特性を利用しており、放射光の高強度・高指向性という特徴を活用した観察法である。その手法には回折強調法と干渉計測法がある。画像解析上もっとも感度の高い方法は干渉計測法であるが、その観察の容易さなどの点で回折強調法による検出例が多い。

3.3.1 回折強調法 X線は試料内における微妙な屈折率の差で方向を変える。回折強調法はこの微妙な方向変化を検出し、構造観察に利用する方法である。検出する方式には、大きく分けて、試料と検出器の距離の調節によるもの^{43), 44)}と、回折光の検出に結晶を利用するもの^{45), 46)}とがある。前者は試料と検出器の距離を離して回折光の投影位置が検出器の分解能より大きな変化となるようにして検出する方法であり、後者は試料を透過したX線の回折角を結晶への入射角によって解析する方法である。

試料と検出器の距離を離す方法の場合には、微小X線源からの発散光あるいは平行ビーム内に撮像対象を置く。対象と検出器の距離を離して検出器を置き、試料透過後のX線の強度分布を2次元画像として取得する。撮像対象の直後に検出器を置いた場合は、吸収コントラストの画像となり、距離を離すことによって、試料内で

屈折（回折）した X 線が試料と相互作用せずに直進した X 線と重なる形で強調されて検出される。この検出法の場合には吸収による強度分布も重なった画像となる。なお検出器-試料間の距離を変えた数点の画像をとり、位相情報を解析する方法もある⁴⁷⁾。

結晶を利用する方法の場合には、単色の平行ビーム内に撮像対象を置き、透過後の X 線の角度変化をアナライザー結晶で検出する。平行ビームがそのまま反射（Bragg 型）あるいは透過（Laue 型）するアナライザー結晶の角度を基準とし、試料内における屈折率の差で生じた X 線の回折方向の変化をその位置からの角度変化として検出し、2 次元投影画像とする。なお、アナライザー結晶を基準位置に置いた場合には、回折光を除いた全く相互作用をしなかった透過光だけの画像となる。

前者を、屈折強調法（REI: refraction enhanced imaging）、後者を回折強調法（DEI: diffraction enhanced imaging）と区別して表現している場合、あるいは、前者を propagation-based method、後者を analyzer-based method と表現している場合もある。いずれも試料境界あるいは試料内における屈折率の変化による X 線の位相シフトをその方向変化として高感度に検出するもので、検出方式の違いから二つの異なった表現法が使われている。回折強調法の利用例は、非常に多いが、ここでは、医療に近い観察例として、乳がん組織と骨の関節軟骨の観察例を取り上げる。

乳がんの場合には腫瘍と正常組織の境界における密度差による屈折で光路が変わることを利用する。病理標本と乳房全体組織標本の位相コントラスト観察がなされ、従来法と比較して、高いコントラストおよび解像度による観察が可能であることが確認された^{48)~52)}。また、被ばく線量の低減が可能であることも指摘されている。すなわち X 線管球のターゲットとフィルターの組み合わせで、できるだけ線源を最適化し、従来の方法による吸収画像を放射光の単色 X 線の場合と比較し、分解能・ノイズでは同等であったが画質（コントラスト）は放射光が優れており、被ばく線量は放射光のほうが少ないという結果が報告されている⁴⁹⁾。したがって位相情報を利用した画像は、従来法と同程度の吸収線量で画質の向上があり、DEI による画像では従来法に比べ、8~33 倍高いコントラストを得た⁵¹⁾が、この画質の向上は浸潤性のがんの診断精度を向上し、これまで見落としていた情報を取得する可能性が高い。なお DEI による画像取得の場合は 20 keV 前後よりも高いエネルギーで利用可能で、50 keV でファントムの撮像を試みたところ、従来法と同程度あるいはそれ以下の線量で同等以上の画質お

よびコントラストが得られ、そのときの平均線量が 0.17 mGy（従来法：1.5~2.0 mGy）であった⁵²⁾。以上のように乳房組織の検討結果は、線量が低減される点、および微細な構造情報をより詳細に提供するという意味で、位相コントラストの利用が有効と思われる。

骨の観察はその微細構造から元素分析まで多様な解析があるが、診断目的の構造観察には位相コントラスト法によって関節軟骨の異常を検出する試みがある。軟骨および他の軟組織は X 線による吸収コントラストがつきにくく、位相コントラスト法により軟骨の検出ができる点が放射光の特徴と指摘されている。膝と足首の関節の軟骨を DEI で観察し、従来の吸収コントラストによる X 線像では観察が難しかった軟骨の像を取得できた⁵³⁾。さらに DEI 画像上でコントラスト不均一な部分が、全体像および組織像で識別できる軟骨変性部位に相当することを見いだした。試料としては、死後 24 時間以内の人の足首の距骨関節、あるいは膝と足首の関節を用いたが、膝の関節の場合、皮膚を除くすべての構造を保持した状態で観察した。その結果、全体の軟骨の欠損を回折強調法で観察できること、およびこの欠損が早期から識別できること、が明らかとなった。なお今回の画像取得に要した被ばく線量は従来法による観察と同程度で、18 keV の X 線の場合 3 mSv、30 keV の X 線の場合 1 mSv、という結果であった⁵³⁾。

3.3.2 干渉計測法 光源を二つに分け、その一つの光路に試料を置き、試料透過による位相変化をもう一方の X 線と干渉させて検出する。この方法では、試料透過後の位相シフトそのものを検出し CT 法によって試料内の位相シフト相互作用断面積を求めており、位相変化のみによる感度の高いコントラストの画像が得られる^{54), 55)}。非常に感度の高い方法で、肝組織中の腫瘍部分^{54), 56)}、アルツハイマー病に関係する脳組織内のアミロイドプラーク⁵⁷⁾、動脈硬化プラーク内構造⁵⁸⁾などを描出し解析することが可能となっている。なお感度はやや落ちるが、微分干渉を計測するタルボ型干渉計による方法の開発も進んでいる^{59), 60)}。

4. 放射線治療の基礎

X 線の生物損傷作用を利用する放射線治療においても、放射光の単色光源を利用する試みと高強度・高指向性を利用する試みが検討され、いずれも担がん動物の延命効果を期待できる結果が示されている⁶¹⁾。単色光源を利用する方法としては、①ある種の元素を何らかの方法で腫瘍細胞周辺に集積させ、その元素の高い吸収特性と 2 次的に放射される X 線ならびに光電子による腫瘍細

胞への上乗せの照射効果を期待する方法、と②腫瘍細胞内に集積させ、X線吸収プラスその吸収によって誘起される2次放射線による腫瘍細胞への線量集中を期待する方法がある。一方、高強度・高指向性を利用するものとしては、微小平板ビーム放射線療法が試みられている。微小平板ビーム放射線療法の場合には、線量集中ではなくスタレ状の線量分布とし、平行な平板状の微小線幅X線ビームの束を患部に照射する方式で、そのビーム幅が数十マイクロン、ビーム間隔が数百マイクロンといった精度の高いビームを利用する。この場合に患部の動きなどによる影響を排除して線量分布の精度を確保するためには高強度光源が要求される。いずれも、放射光の単色X線源としての利用、あるいは高強度・高指向性の特性を活用した新しい治療法である。特に後者はこれまでの概念とは異なる治療法になっており、その作用機構にも不明な点が多い。

4.1 単色X線源による照射増強作用を利用した治療法

現在検討されている方法は、①血管造影剤を利用してその主成分元素（例えばヨウ素）の吸収効率が高いエネルギーの単色X線を照射して細胞外から腫瘍付近の照射線量を増加させる方法、と②腫瘍細胞内のDNAに特定元素を含む化合物（例えばヨウ素を含むチミン類似化合物のヨードデオキシウリジン、プラチナを含む抗がん剤のシスプラチンなど）を取り込ませて、単色X線による腫瘍細胞の吸収線量プラス2次的に放射される放射線の上乗せの作用を利用する方法である。いずれも腫瘍部位に局所的に線量増強させる点では同じだが、前者は飛程の比較的長い2次放射線の細胞外からの照射で致死増感作用を期待するのに対し、後者は、細胞内に2次放射線を発生させ、その作用の上乗せによる致死増感作用を期待している。なお上述のBencokovaらの論文⁶¹⁾では、両者の方法を総称してphotoactivationという表現をとっているが、古くは後者が光子活性化療法(photon activation therapy)と呼ばれていたもので、誤解のないように注意していただきたい。

この致死増感機構について、後者の場合には細胞内DNAにおける内殻励起なので、原理的には非常に飛程が短く粒子線相当の毒性を持つオージェ電子群の作用が期待できる。すなわち腫瘍に特定元素を取り込ませ、そのK吸収端よりやや高いエネルギーの単色X線を照射してその元素のK殻に光電吸収による電子の空孔を作り、オージェ効果を誘発し、そのとき放出される多数のオージェ電子群の細胞内DNAへの作用による高い細胞毒性を利用する、という方法で、がん治療の方法の一つ

として古くから提案されていた。1970年代後半にこの考えが出され、1980年代にはヨードデオキシウリジン(IUdR)と単色X線の組み合わせで理論的考察⁶²⁾および細胞レベルにおける実験的検討がなされ、その結果は期待するほど大きな利得ではないという結論になっていた⁶³⁾が、ごく最近になって、抗がん剤シスプラチン(CDDP)とPtのK殻吸収エネルギー(78.39 keV)付近の単色X線照射で、担がん動物の延命効果という判定法で大きな治療効果が出るという報告が出た⁶⁴⁾。このとき、同じ条件による細胞実験で、DNA損傷の増加にはK吸収端を挟む二つのエネルギーのX線(78.8 keV, 78.0 keV)によるエネルギー依存性が見られた⁶⁴⁾、⁶⁵⁾が、細胞死の検討ではエネルギー依存性が見られていない⁶⁶⁾ので、この延命効果がオージェ効果誘発によるものかどうかについてはさらに検討を要する。少なくともPt化合物の抗がん剤とそのK殻吸収エネルギー付近の単色X線の相乗作用による治療成績の向上という意味では、その機構も含めて今後の検討課題と思われる。

4.2 微小平板ビーム放射線療法

腫瘍の放射線治療の課題は、正常組織の損傷を最小限にして腫瘍組織を破壊する方法の開発にある。上記単色X線源の場合には、いかにして正常組織への照射を減らし、腫瘍への線量集中を高めるかという点に特徴があるが、微小平板ビーム放射線療法の場合には、腫瘍領域全面にビーム幅数十 μm 、ビーム間隔数百 μm のスタレ状のビームを照射すると、ビーム中心部における一回線量625 Gyでも皮膚にはほとんど放射線障害が残らず、担がん動物に延命効果が見られる⁶⁷⁾という現象に特徴がある。その機構はまだ明らかではないが、正常組織の放射線耐性が従来の方々に比べて格段に高い点が注目され、腫瘍が消滅する機構は不明であるが、生物学的にも治療手法としてもこれまでの概念とは異なる新しい現象と思われ、興味深い。

この方法のヒントは1950年代後半の研究にあった。当時宇宙線の影響を調べる目的で、22 MeVの重水素をマウス脳に照射し照射24日後のビームの通過位置における脳実質細胞の欠損で評価したところ、1 mm幅のビームでは、 ≥ 140 Gyで脳組織が破壊されたのに対し、ビーム幅を25 μm とするとその閾値が4,000 Gyであった⁶⁸⁾。この正常組織の耐性はX線でも確認され⁶⁹⁾、Slatkinらがこの現象を放射光によるがん治療に応用できるのではないかと1992年に提案した⁷⁰⁾。1995年にはSlatkinらによって正常組織への影響が調べられ、ビーム幅20 μm 、高さ4 mm、ビーム間隔(中点間距離)200 μm 、照射ビーム数3本または20本、X線エ

エネルギー 32~126 keV, 照射強度 310~650 Gy/s, 照射線量は1回線量の in-beam 皮膚線量で 312~10,000 Gy, の検討の結果, 10,000 Gy で初めてラット脳組織の壊死が観察されること, 312 Gy および 625 Gy では細胞消失もなく全く正常と変わらないことを明らかにした⁷¹⁾.

この結果を踏まえて担がん動物の治療研究が始まった。まずは Laissue らによって1方向1回または直交2門1方向各1回照射の微小平板ビーム治療の検討がなされ, 周囲の正常組織が耐えられる線量で, ラットの頭蓋内悪性脳腫瘍が選択的に消滅し, 延命効果があることが明らかにされた⁶⁷⁾。この研究結果がきっかけで多くの検討がなされるようになり, 現在ではこのような微小平板ビーム照射に対する正常組織の放射線耐性が十分に高いことが種々の動物組織で明らかにされた^{71)~74)}。また担がん動物の延命効果を確認するデータも徐々に蓄積され^{67), 75)~78)}, 脳外科の専門誌の総説⁷⁹⁾にも紹介されるようになった。

このような照射方法をとるとなぜ正常組織の回復が大きく, 腫瘍との放射線作用の選択性が増大するのか, その機構については今後の課題であるが, どうやら現象的には事実のようである。まだ動物実験の段階で, 実際の治療への道りは遠いが, これまでとは全く発想の異なる治療法なので, そこに存在する生物学を含めて興味深いものがある。

5. おわりに

放射光の医学利用は幅広い分野に普及しており, 十分にカバーしきれないことを恐れつつトピック的に拾い出し, 紹介を試みた。なお興味を持たれた方は, 少し古くなったがよくまとめられた総説が2003年に出されている⁸⁰⁾ので, 参考にされたい。また, 最近の活動としては, 高輝度光科学研究センター (JASRI/SPring-8) において, 医学利用支援プログラムとして, メディカルバイオトリアルユースが平成18年度より実施されている。その平成18年度, 19年度の成果報告書が出されているので, これも最近の状況を知る手がかりの一つとなるであろう。

参考文献

- 1) J. Kirz, C. Jacobsen, and M. Howells, *Quarterly Rev. Biophys.*, **28**, 33 (1995).
- 2) D. Weiß, *et al.*, *Ultramicroscopy*, **84**, 185 (2000).
- 3) C. A. Larabell and M. A. Le Gros, *Mol. Biol. Cell*, **15**, 957 (2004).
- 4) D. Y. Parkinson, *et al.*, *J. Struct. Biol.*, **162**, 380 (2008).
- 5) M. Howells, *et al.*, *Science*, **238**, 514 (1987).
- 6) I. McNulty, *et al.*, *Science*, **256**, 1009 (1992).
- 7) S. Eisebitt, *et al.*, *Nature*, **432**, 885 (2004).
- 8) W. F. Schlotter, *et al.*, *Appl. Phys. Lett.*, **89**, 163112 (2006).
- 9) W. F. Schlotter, *et al.*, *Optics Lett.*, **32**, 3110 (2007).
- 10) J. Miao, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 110 (2003).
- 11) D. Shapiro, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 15343 (2005).
- 12) P. Thibault, *et al.*, *Science*, **321**, 379 (2008).
- 13) W. Chao, *et al.*, *Nature*, **435**, 1210 (2005).
- 14) K. Shinohara, *et al.*, *J. Microsc.*, **158**, 335 (1990).
- 15) Y. Kinjo, *et al.*, *J. Microsc.*, **176**, 63 (1994).
- 16) O. Methe, *et al.*, *J. Microsc.*, **188**, 125 (1997).
- 17) W. Miye-Ilse, *et al.*, *J. Microsc.*, **201**, 395 (2001).
- 18) H. Ade, *et al.*, *Science*, **258**, 972 (1992).
- 19) X. Zhang, *et al.*, *J. Struct. Biol.*, **116**, 335 (1996).
- 20) T. Beetz and C. Jacobsen, *J. Synchrotron Rad.*, **10**, 280 (2002).
- 21) M. Shimura, *et al.*, *Cancer Res.*, **65**, 4998 (2005).
- 22) L. Finney, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 2247 (2007).
- 23) B. S. Twining, *et al.*, *J. Eukaryot. Microbiol.*, **55**, 151 (2008).
- 24) J. Abraham-Peskir, *et al.*, *Med. Sci. Res.*, **26**, 663 (1998).
- 25) W.-R. Dix, *et al.*, *J. Synchrotron Rad.*, **10**, 219 (2003).
- 26) B. Bertrand, *et al.*, *Eur. Heart J.*, **26**, 1284 (2005).
- 27) T. Sekka, *et al.*, *J. Synchrotron Rad.*, **7**, 361 (2000).
- 28) T. Yamashita, *Invest. Radiol.*, **36**, 713 (2001).
- 29) S. Matsushita, *et al.*, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. A*, **548**, 94 (2005).
- 30) J. C. Giacomini, *et al.*, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. A*, **406**, 473 (1998).
- 31) S. Bayat, *et al.*, *Phys. Med. Biol.*, **46**, 3287 (2001).
- 32) W.-R. Dix, *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, **63**, 159 (1995).
- 33) S. Ohtsuka, *et al.*, *Br. J. Radiol.*, **72**, 24 (1999).
- 34) H. Mori, *et al.*, *Radiol.*, **201**, 173 (1996).
- 35) H. Mori, *et al.*, *Am. J. Physiol.*, **276**, H429 (1999).
- 36) E. Tanaka, *et al.*, *Am. J. Neuroradiol.*, **20**, 801

- (1999).
- 37) S. Takeshita, *et al.*, *Circulation*, **95**, 805 (1997).
- 38) T. Sera, K. Uesugi, and N. Yagi, *Respir. Physiol. Neurobiol.*, **147**, 51 (2005).
- 39) T. Sera, *et al.*, *Respir. Physiol. Neurobiol.*, **156**, 304 (2007).
- 40) F. Peyrin, *et al.*, *Cell. Mol. Biol.*, **46**, 1089 (2000).
- 41) S. Nuzzo, *et al.*, *J. Bone Miner. Res.* **17**, 1372 (2002).
- 42) 百生敦 In「極限状態を見る放射光アナリシス」(尾嶋正治編), 日本分光学会測定法シリーズ 40, 学会出版センター, (2002), pp.35-47.
- 43) S. W. Wilkins, *et al.*, *Nature*, **384**, 335 (1996).
- 44) F. Alfelli, *et al.*, *Phys. Med. Biol.*, **43**, 2845 (1998).
- 45) D. Chapman, *et al.*, *Phys. Med. Biol.*, **42**, 2015 (1997).
- 46) R. A. Lewis, *et al.*, *Br. J. Radiol.*, **76**, 301 (2003).
- 47) P. Cloetens, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 14626 (2006).
- 48) F. Arfelli, *et al.*, *Radiol.*, **215**, 286 (2000).
- 49) R. Moeckli, *et al.*, *Phys. Med. Biol.*, **45**, 3509 (2000).
- 50) E. D. Pisano, *et al.*, *Radiol.*, **214**, 895 (2000).
- 51) M. O. Hasnah, *et al.*, *Med. Phys.*, **29**, 2216 (2002).
- 52) A. Bravin, S. Fiedler, and W. C. Thomlinson, *Proc. SPIE*, **4682**, 167 (2002).
- 53) J. Mollenhauer, *Osteoarthritis Cartilage*, **10**, 163 (2002).
- 54) A. Momose, *et al.*, *Nature Med.*, **2**, 473 (1996).
- 55) A. Momose, *Optics Express*, **11**, 2303 (2003).
- 56) T. Takeda, *et al.*, *Radiol.*, **214**, 298 (2000).
- 57) K. Noda-Saita, *et al.*, *Neuroscience*, **138**, 1205 (2006).
- 58) M. Shinohara, *et al.*, *Am. J. Physiol: Heart and Circulatory Physiol.* **294**, H1094 (2008).
- 59) A. Momose, *et al.*, *Jpn. J. Appl. Phys.*, **42**, L866 (2003).
- 60) A. Momose, *et al.*, *Jpn. J. Appl. Phys.*, **45**, 5254 (2006).
- 61) Z. Bencokova, J. Balosso, and N. Foray, *J. Synchrotron Radiat.*, **15**, 74 (2008).
- 62) R. G. Fairchild, A. B. Brill, and K. V. Ettinger, *Invest. Radiol.*, **17**, 407 (1982).
- 63) 篠原邦夫, 化学工業, **49**, 570 (1998).
- 64) M.-C. Biston, *et al.*, *Cancer Res.*, **64**, 2317 (2004).
- 65) S. Corde, *et al.*, *Cancer Res.*, **63**, 3221 (2003).
- 66) S. Corde, *et al.*, *Radiat. Res.*, **158**, 763 (2002).
- 67) J. A. Laissue, *et al.*, *Int. J. Cancer*, **78**, 654 (1998).
- 68) W. Zeman, H. J. Curtis, and C. P. Baker, *Radiat. Res.*, **15**, 496 (1961).
- 69) W. E. Straile and H. B. Chase, *Radiat. Res.*, **18**, 65 (1963).
- 70) D. N. Slatkin, *et al.*, *Med. Phys.*, **19**, 1395 (1992).
- 71) D. N. Slatkin, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**, 8783 (1995).
- 72) J. A. Laissue, *et al.*, *Proc. SPIE*, **3770**, 38 (1999).
- 73) F. A. Dilmanian, *et al.*, *Cell. Mol. Biol.*, **47**, 485 (2001).
- 74) J. A. Laissue, *et al.*, *Proc. SPIE*, **4508**, 65 (2001).
- 75) F. A. Dilmanian, *et al.*, *Neuro-Oncol.*, **4**, 26 (2002).
- 76) F. A. Dilmanian, *et al.*, *Radiat. Res.*, **159**, 632 (2003).
- 77) H. M. Smilowitz, *et al.*, *J. Neuro-Oncol.*, **78**, 135 (2006).
- 78) M. Miura, *et al.*, *Br. J. Radiol.*, **79**, 71 (2006).
- 79) D. J. Hoh, *et al.*, *Neurosurgery*, **61**, 1111 (2007).
- 80) P. Suortti and W. Thomlinson, *Phys. Med. Biol.*, **48**, R1 (2003).

〈著者の略歴〉

篠原邦夫：昭和 41 年 早稲田大学第一理工学部応用物理学科卒業（工学士），同大学院理工学研究科修士課程修了（理学修士），東京大学大学院医学系研究科博士課程修了（医学博士），放射線医学総合研究所研究員，神戸大学医学部助教授，東京都臨床医学総合研究所室長，東京大学大学院医学系研究科・医学部教授，高輝度光科学研究センター特別研究員を経て，現在早稲田大学客員教授。専門：放射線生物学，X 線顕微鏡の開発と生物応用など。