

2025年度量子医科学研究所
HIMAC 利用研究成果報告書
(発表会用暫定版)

I. 生物

2025 Annual Report of the
Research Project with Heavy Ions
at QST-HIMAC

2026年6月
June, 2026

国立研究開発法人 量子科学技術研究開発機構
量子医科学研究所

National Institute of Radiological Sciences National Institutes for
Quantum and Radiological Science and Technology
9-1 Anagawa 4-chome, Inage-ku, Chiba 263-8555, JAPAN

2026年5月22日

HIMAC 利用研究成果報告書（発表会用暫定版）について

- これは HIMAC 利用研究成果報告書の草稿で、発表会の配布資料(ダウンロード版)をかねています。
- 掲載順序は、まず班毎に分け、次にプログラムの発表順に並べています。但し、掲載されたプログラム（右上に日付あり）以降の変更は反映されていません。
- 都合により開催後日発表になった課題については最後に課題番号順に掲載しています。
- 第一分冊が生物、第二分冊が物理・工学です。
- 各分冊の初めに目次があり、ページ数が掲載されています。目次のタイトルは、課題のタイトルのままですので、報告のタイトルと違っている場合もあります。課題番号は一致しています。
- 課題番号から掲載ページ数を調べるには、各分冊の最後にある索引をご利用下さい。

研究報告書最終版について

- 研究成果は、暫定版では課題毎に掲載されていますが、最終版では巻末にまとめて表示します。
- 送付いただいた原稿の一部で、
 - 電子ファイル大幅に乱れておりプリントと一致しない、
 - 課題番号等の記載が間違っている、
 - 図が表示できない、といった問題点がありました。訂正可能な間違いはこちらで修正いたしました。今回の草稿で修正ミスが発見された場合、6月26日（金）までにご連絡いただければ、最終版で訂正を行います。ただし、原稿の全面的な差し替えは、原則、お断りします。

「2025年度HIMAC利用研究成果発表会日程表（案）」

日時：2026年6月1日（月）～6月2日（火）

開催方式 Web開催

日付	6月1日(月曜日)	6月2日(火曜日)
時間	生物	物理・工学
	挨拶、9:50 - 10:00	挨拶、9:50 - 10:00
10:00	課題番号 001-404	A 治療
	10:00 - 10:50	10:00 - 10:40
	休憩	休憩
11:00	課題番号 105-111	B 放射線と化学反応
	11:00 - 11:50	10:50 - 11:30
		休憩
12:00	昼休み	C 加速器ビーム利用の新展開
	11:50 - 12:50	11:40 - 12:30
13:00	課題番号 401-407	昼休み
	12:50 - 13:30	
	コーヒーブレイク	D 様々な検出器の開発 I
14:00	課題番号 302-405	13:30 - 14:10
	14:00 - 14:50	休憩
15:00	休憩	E 様々な検出器の開発 II
	課題番号 501-503	14:20 - 15:00
16:00	15:00 - 15:30	休憩
		F 宇宙観測の為の測定器
17:00		15:10 - 15:50
		休憩
		G 原子核の研究と検出器の開発
		16:00 - 16:40

「2025年度HIMAC利用研究成果発表会プログラム（案）、生物班」

日時： 2026年6月1日（月）9時50分～15時30分（予定）
 場所： Web会議

6月1日（月） June 1 (Mon)

9:50 - 10:00 開会の挨拶

	口頭発表	報告書 ページ
課題番号 001-404		
10:00 - 10:10	セッション準備（座長：小久保年章）	
10:10 - 10:20	25HJ001 稲庭拓 新規重粒子線治療の実現に向けた臨床前動物実験 Preclinical in-vivo experiments for developments of novel heavy-ion radiotherapy	3
10:20 - 10:30	25HJ102 下川卓志 高LET粒子線による放射線抵抗性脳腫瘍の治療を目指した基礎研究 High-LET Radiation for Radioresistant Glioma Therapy: A Basic Research Investigation	7
10:30 - 10:40	25HJ103 舟山知夫 三次元培養した伴侶動物がん細胞の放射線感受性解析 Radiation Sensitivity Analysis of 3D Cultured Cancer Cells from Companion Animals	11
10:40 - 10:50	25HJ404 島田幹男 組織オルガノイドにおける重粒子線の生物効果比の評価 Evaluation of the biological effect ratio of heavy-ion beams in tissue organoids	14
10:50 - 11:00	休憩	
課題番号 105-111		
11:00 - 11:10	セッション準備（座長：平山亮一）	
11:10 - 11:20	25HJ105 佐井星 難治性癌に対する重粒子線照射と薬剤併用による基礎研究 Basic research on heavy ion beam irradiation and drug combination for refractory cancer	17
11:20 - 11:30	25HJ108 高草木洋一 超偏極 ¹³ C-MRIを用いた重粒子線照射による腫瘍内代謝変化の評価 Evaluation of effect of heavy ion irradiation on tumor metabolism by using hyperpolarized ¹³ C-MRI	21
11:30 - 11:40	25HJ110 高橋豊 重粒子線が誘導する免疫応答の解明と免疫治療との併用効果の検討 Elucidation of immune responses induced by heavy ion irradiation and evaluation of its combination with immunotherapy	23
11:40 - 11:50	25HJ111 武島嗣英 光子線と重粒子線の抗腫瘍免疫応答の比較 Comparison of Antitumor Immune Responses Induced by Photon and Carbon Ion Radiotherapy	26
11:50 - 12:50	昼休み	
課題番号 401-407		
12:50 - 13:00	セッション準備（座長：日裏剛基）	
13:00 - 13:10	25HJ407 平山亮一 低酸素細胞に関する粒子線基礎生物研究 Basic biological research on hypoxic cells using particle beams	28

13:10 – 13:20	25HJ401	余語克紀	重粒子線誘発のDNA損傷を指標としたがん治療線量の修飾薬剤の探索 DNA Damage-Based Dose Modifiers for Heavy-Ion Therapy	31
13:20 – 13:30	25HJ201	網野真理	「重粒子線を用いた根治的不整脈治療の開発」 — 心臓放射線照射による心不全の新規治療開発に向けた基礎的研究 — Basic research for the development of new treatment of heart failure by cardiac irradiation	34
13:30 – 13:40	25HJ202	若月優	重粒子線による高精度量子メス治療（マイクロサージェリー）技術開発と適応拡大に関する研究 Research for development of microsurgery by high-precision carbon-ion radiotherapy	37
13:40 – 14:00			コーヒーブレイク	
		課題番号 302-405		
14:00 – 14:10			セッション準備（座長：笠井清美）	
14:10 – 14:20	25HJ302	森田明典	細胞死制御剤による粒子線防護効果のマウス個体レベルでの検討 Evaluation of cell death regulatory agents for protecting particle beam-irradiated mice	40
14:20 – 14:30	25HJ303	間宮大晴	ブラッグピーク近傍の重粒子イオンによる致死DNA損傷誘発メカニズムの解明 Understanding the mechanisms of lethal DNA damage induced by heavy ions near the Bragg peak	43
14:30 – 14:40	25HJ403	中野敏彰	重粒子線照射により生じるDNA損傷と細胞死の相関の解明 細胞死経路の制御によるがん治療の最適化 Heavy-ion radiation-induced DNA damage dictates cell death pathways: Toward optimized cancer therapy through cell death modulation	46
14:40 – 14:50	25HJ405	Takata Kei-ichi	高LET誘発DNA損傷の修復過程におけるPOLQ活性の追跡 Tracking POLQ activity during repair of high-LET-induced DNA damage	49
14:50 – 15:00			休憩	
		課題番号 501-503		
15:00 – 15:10			セッション準備（座長：小西輝昭）	
15:10 – 15:20	25HJ501	下川卓志	イオンビームによる微生物・植物への変異導入を利用した 基礎研究プラットフォームの構築 Development of a Fundamental Research Platform Based on Ion Beam Mutagenesis	52
15:20 – 15:30	25HJ503	藤田知道	コケ植物胞子体の宇宙放射線耐性限界の調査およびDNA修復・放射線耐性の分子機構の研究 Study on the Upper Limits of Cosmic Radiation Tolerance and Molecular Mechanisms of DNA Repair and Radiation Tolerance in Moss Sporophytes	56

※一課題の発表時間は7分、討議3分を予定

開催期間中に発表できない課題
成果発表会後日に録画発表

25HJ104	関原和正	治療抵抗性がんに対する重粒子線治療の新展開：薬物療法との併用効果と腸内細菌叢の役割の解明 New Developments in Carbon Ion Radiotherapy for Treatment-Resistant Cancers: Elucidating the Combined Effects with Systemic Anticancer Therapy and the Role of the Gut Microbiota.	61
25HJ106	Ebner Daniel Keith	Advanced multiomic analysis of DNA Damage, Metabolic, and Immunotherapeutic Inhibitors with Heavy-Ion Radiotherapy	64
25HJ107	Tinganeli Walter	The CANTO Project (Circulating cANcer cells and meTastases fOrmation)	67
25HJ112	小嶋光明	重粒子線すだれ状照射による抗腫瘍効果と正常組織障害軽減効果に関する基礎研究 Basic biological research on the antitumor effect and the reduction of normal tissue damage by special fractionated heavy particle beam irradiation	70
25HJ203	Prezado Yolanda	Heavy ion minibeam radiation therapy: safety and efficacy studies	73
25HJ402	PORCEL Erika	Radioamplification effect of nanoparticles study on 3D cell models	76
25HJ408	松尾陽一郎	粒子線によるDNA損傷と突然変異誘発機構の分子レベルでの解析 Molecular analysis of ion beam-induced DNA damage and mutations.	79

2026/5/22

「2025年度HIMAC利用研究成果発表会プログラム（案）、物理・工学班」

日時： 2026年6月2日（火）9時50分～16時40分（予定）

場所： Web開催

6月2日（火） June 2 (Thu)

時間	セッション	内容	報告書 ページ
9:50 - 10:00		開会の挨拶	
		口頭発表 治療	
10:00 - 10:40	セッションA	(座長：田中創大) セッション準備	
25HH001	坂間誠	重粒子線治療照射法に関する総合的研究 General Study on Heavy Charged Particle Irradiation System for HIMAC Clinical Trial	85
25HH008	寅松千枝	重粒子線照射野イメージングのためのOpenPET装置開発 に関する研究 Development of OpenPET for Irradiation Field Imaging in Carbon Ion Therapy	88
25HH033	山口充孝	二次電子制動放射線計測による粒子線イメージング手 法の開発 Development of Particle Beam Imaging Method Using Secondary Electron Bremsstrahlung Measurement	93
10:40 - 10:50		休憩	
10:50 - 11:30	セッションB	放射線と化学反応 (座長：松葉俊哉) セッション準備	
25HH022	Kim Sunghwan	Calibrations of Advanced Particle dosimeter and Spectrometer for Heavy Ions in Space Radiation	96
25HH013	上野恵美	炭素線照射した脂質中に生成するフリーラジカルの定 量とその反応進行過程の解析 Quantification of Free Radicals Generated in Lipids by Carbon-Ion Irradiation and Analysis of Their Reaction Kinetics	99
25HH019	小林正規	超音波エコーを利用した水中における重粒子線飛跡可 視化の研究 Example of Report on the Research Project with Heavy Ions at NIRS-HIMAC	101
11:30 - 11:40		休息	
11:40 - 12:30	セッションC	加速器ビーム利用の新展開 (座長：北村尚) セッション準備	
25HH002	新藤浩之	Society5.0に向けた革新的耐宇宙線デバイス技術の開 発 Development of Innovative Radiation-Hardened Device Technologies toward Society 5.0	104
25HH004	小林憲正	重粒子線照射による模擬宇宙環境下での有機物の生成 とその変成 Formation and alteration of organic compounds in possible space environments by heavy ion bombardment	106

25HH012	牧野高紘	炭化ケイ素パワー半導体のイオン誘起過渡応答測定 Single Event Transient Pulse Measurement on SiC Power Devices	109
25HH024	小林和淑	放射線環境下で発生する電圧変動を活用したデバイスモデルパラメータ最適化手法の構築 Development of a Device Model Parameter Optimization Method Utilizing Voltage Fluctuations in Radiation Environments	110
12:30 - 13:30		昼休み	
13:30 - 14:10		セッションD	
		様々な検出器の開発I (座長：片桐健) セッション準備	
25HH031	Vladimir Pan	In field and Out of Field Dose Profile from Therapeutic Hadron Therapy Beams at HIMAC facility	112
25HH003	山内知也	高感度飛跡検出器開発を目指したイオントラック構造と応答特性に関する基礎データ集の確立 Fundamental data collection on ion track structure and response characteristics for the development of high-sensitivity track detectors.	118
25HH005	寺沢和洋	位置有感比例計数管の重イオンに対する応答 Response of a position-sensitive tissue-equivalent proportional chamber to heavy ions	121
14:10 - 14:20		休息	
14:20 - 15:00		セッションE	
		様々な検出器の開発II (座長：古場裕介) セッション準備	
25HH006	中竜大	超微粒子原子核乾板によるナノスケールの放射線飛跡検出器の高度化と展開 Research and Development of Super-fine Grained Nuclear Emulsions as Nano-scale Tracking Device	124
25HH014	石川正純	BaTiO ₃ 強誘電体を用いた線量測定におけるLET依存性の検証 Evaluation of LET dependence in dosimetry with BaTiO ₃ ferroelectrics	127
25HH028	榊泰直	重粒子線による輝尽性蛍光体検出器および蛍光体検出器のLET依存性に関する研究 Example of Report on the Research Project with Heavy Ions at NIRS-HIMAC	130
15:00 - 15:10		休息	
15:10 - 15:50		セッションF	
		宇宙観測の為の測定器 (座長：福田茂一) セッション準備	
25HH011	Ploc Ondrej	Novel Dosimetry System for Mixed Radiation Fields in Aerospace Applications	133
25HH020	Karel Marsalek	Human Space Exploration - The Radiation risks and novel new detector developments	137

25HH027	Park Inchun	気象衛星ひまわり後継機搭載用宇宙放射線計測装置の 開発と評価 Development and Performance Evaluation of Space Radiation Monitor for the Himawari-10 Satellite	140
15:50 – 16:00		休憩	
16:00 – 16:40		セッションG	
		原子核の研究と検出器の開発 (座長：高田栄一) セッション準備	
25HH009	森口哲朗	反応断面積測定に向けた固体重水素標的の開発 Development of Solid Deuterium Target for Reaction Cross Section Measurements	142
25HH015	大田晋輔	ガスアクティブ標的による核物質の物性研究 Study of matter property of the nucleonic system using gaseous active target	147
25HH029	三原基嗣	動的核偏極法による不安定核の磁気双極子モーメント 測定 Measurement of Magnetic Dipole Moments of Unstable Nuclei by Means of Dynamic Nuclear Polarization	152

・ 講演時間は講演7分+質疑応答3分

開催期間中に発表できない課題 成果発表会後日に録画発表

25HH007	George Stuart P	Measurement of Isotopic Light Ion Cross Sections with a Nuclear Fragment Spectrometer	157
25HH010	RAFFY Quentin	Dose-rate effects with accelerated ions: Experimental investigation and Simulation of water and biomolecules radiolysis	162
25HH016	Benton Eric R	Atmospheric Ionizing Radiation Detector Development	165
25HH018	今井伸明	重イオン位置感応型検出器の開発 Development of a Heavy-Ion Position-Sensitive Detector	168
25HH030	安部勇輝	レーザーイオン加速によるGeV級イオンビーム生成の実 証に向けた 高エネルギーイオン診断法の開発 High-energy ion diagnostics for demonstrating GeV-scale ion beam generation by laser-driven ion acceleration	171

生 物 班

Biology

新規重粒子線治療の実現に向けた臨床前動物実験
Preclinical in-vivo experiments for developments of novel heavy-ion radiotherapy
(25HJ001)

稲庭 拓、下川卓志、日浦 剛基、水島康太、増田孝充、笠松幸生、田中創大、佐野太陽、鈴木沙彩、
岩田佳之、石川仁

T. Inaniwa, T. Shimokawa, G. Hiura, K. Mizushima, T. Masuda, K. Kasamatsu, S. Tanaka, T. Sano, S. Suzuki, Y
Iwata, H. Ishikawa

Abstract

At the National Institute for Quantum Science and Technology (QST), heavy-ion therapy with carbon ions (CiRT) has been applied for various tumor sites, and promising clinical results have been obtained for many of these tumor sites. Besides these clinical treatments, many technological developments have been achieved such as a respiratory gating, pencil beam scanning, and superconducting rotating gantry. For further developments of heavy-ion therapy, a multi-ion therapy (MIT) has been investigated as part of a “Quantum Scalpel” research project. In the MIT, two or more ion species of He, C, O, and Ne ions will be delivered in one treatment session. In addition to the MIT, some new treatment methods with heavy ions have been proposed, such as FLASH, micro surgery (MS), spatially fractionated radiotherapy (SFRT), and ARC therapy. Before the clinical implementation of these methods, in-vivo animal experiments are essential to investigate their clinical efficacy and safety. In this study, preclinical in-vivo experiments of new treatment methods will be conducted using an actual treatment machine.

1 研究の目的とバックグラウンド

QST では、中期計画課題である量子メス研究開発プロジェクトの一環としてマルチイオン治療法の開発が進められている。そこでは炭素線以外に、ヘリウム線、酸素線、ネオン線などこれまでに経験のない新たな核種を治療用ビームとして用いる計画である。また、それ以外にも、FLASH 重粒子線治療法、重粒子線マイクロサージェリー、重粒子線グリッド照射、重粒子線アーク照射など、重粒子線を用いた新たな高精度治療法の研究開発が進められている。本研究課題では、新たな高精度重粒子線治療の実現に向けて、非臨床試験として、マウス・ラット等の小型の実験動物に対する臨床機を用いた重粒子線照射実験を実施し、それらの治療法の有効性と安全性などの評価を行うことを目的とする。

2 昨年度までに得られている結果

本研究は、2022 年度からの研究課題である。2022 年度は、ヘリウム線、炭素線、酸素線、ネオン線を用いた動物実験に向けて、照射システ

ム・機器の開発、治療計画ソフトウェアの開発 [1]、臨床 RBE モデルの考案、線源データ測定、照射野の作成、線量分布検証等を行った。2023 年度は、マルチイオン治療法の有効性を確認するべく、下肢にマウス由来の扁平上皮癌 (SCCVII) を移植したマウスに対してヘリウム線、炭素線、酸素線、ネオン線を局所照射し、腫瘍増殖抑制効果を観測した。この実験により、考案した臨床 RBE モデルがマルチイオン線の腫瘍制御効果を表す指標として機能すること、4 つ全ての核種が腫瘍制御に有効であることを示した。2024 年度は、マウスの腹部 (腸管死) に対してヘリウム線、炭素線、酸素線、ネオン線を照射する実験を行い、腸管死をエンドポイントとしてマルチイオン治療法の安全性を確認した (図 1)。また、重粒子線 FLASH 治療について、その障害軽減効果を確認するためマウスの腹部に対する超高線量率炭素線照射実験を行った。更に、重粒子線グリッド照射についても、障害軽減効果を確認するための照射実験を行った。

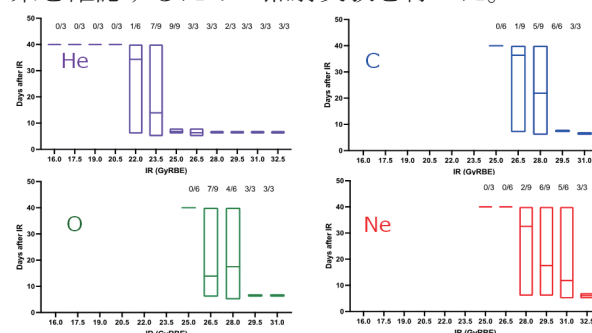


図 1 ヘリウム線、炭素線、酸素線、ネオン線の拡大照射野をマウスの腹部に照射したときの、40 日目までのマウスの生残に数 (照射日からの経過日数)。

3 今年度の研究成果

今年度は、ヘリウム線、炭素線、酸素線、ネオン線を用いたマルチイオン治療法の安全性を確認するべく、マウスの下肢 (皮膚障害) および胸部 (肺線維化) に対して 4 つの核種を照射する実験を行った。また、重粒子線 FLASH 治療について、その障害軽減効果を確認するためマウスの肺、皮膚に対する超高線量率炭素線照射実験を行った。更に、重粒子線グリッド照射については抗腫瘍効果を測定する実験を行った。なお、全ての動物照射実験は、保健所や QST 病院各所との協議に基づき、新治療研究棟治療室

E 内 iso-center 付近の一部領域 (2×4 m²) を臨時の動物実験室とし、手順書に従って実施した。

3.1 マルチイオン照射 (皮膚障害)

マルチイオン治療法の安全性を確認するため、ヘリウム線、炭素線、酸素線、ネオン線 (18~42 Gy (RBE)) の拡大照射野を健常マウスの下肢に照射し、皮膚障害の程度をグレード 0~4 でスコアリングして評価する照射実験を実施した。照射後 25 日目における障害グレードを照射線量の関数として調べた (図 2)。照射線量が増えるところある線量を境に急激に障害グレードが高まること分かる。炭素線、酸素線、ネオン線では 32.5 ± 1.5 Gy (RBE) で急激に障害グレードが高まる。一方で、ヘリウム線では 27.5 Gy (RBE) 程度で障害が高まり、他の 3 核種に比べて低い値となった。炭素線、酸素線、ネオン線に対して、考案した臨床 RBE モデルがマルチイオン線の皮膚障害をエンドポイントとする正常組織障害を表す指標として機能することが示された。一方で、ヘリウム線では正常組織障害を過小評価することが明らかになった。

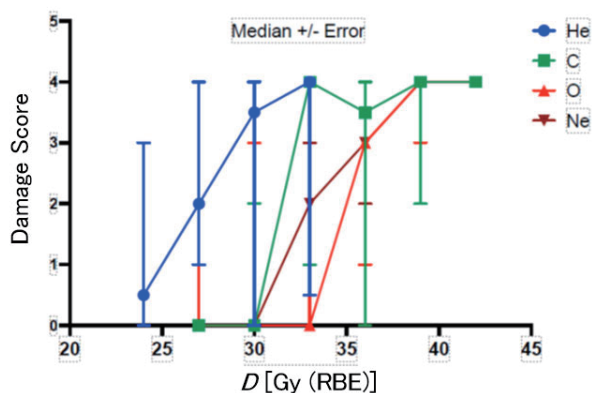


図 2 ヘリウム線、炭素線、酸素線、ネオン線の拡大照射野をマウスの下肢に照射したときの、25 日目時点でのマウスの皮膚障害の程度と照射線量の関係。

3.2 重粒子線 FLASH

陽子線や電子線を用いた超高線量率照射における正常組織防護効果がマウスを用いた実験で報告されている。昨年度我々は炭素線でもこの効果が見られるか確認するためにマウスの腸管に対する照射実験を実施した。結果として防護効果は見られなかった。この成果は原著論文として発表した [2]。今年度は引き続きマウスを用いて肺、皮膚に対する炭素線超高線量率照射を実施し、異なるエンドポイントにおいて FLASH 効果がどのように作用するかを検証した。照射は腸管実験 [2] と同様に実施し、線量率は照射野平均で FLASH が約 110 Gy/s、通常照射で約 0.3 Gy/s とした。図 3 左に肺照射から 224 日後のマウスの生存率、図 3 右に皮膚照射から 40 日以内で grade 4 の皮膚障害が発生したマウスの割合を示す。いずれのエンドポイントにおいても FLASH 照射において障害が低減することが確認

されたが、その程度は皮膚障害の方が大きかった。これらのデータは FLASH 効果が見られなかった腸管実験とほぼ同じビーム条件で取得しており、FLASH 効果の組織依存性を浮き彫りにした。今後更に詳細な解析を実施する予定である。

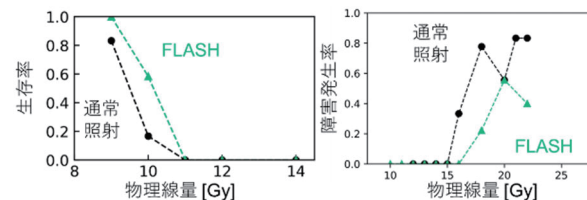


図 3 (左) 肺照射後のマウスの生存率比較。(右) 皮膚障害が発生したマウスの割合。

3.3 重粒子線グリッド照射

局所的な高線量投与は免疫系を活性化することが報告されている。炭素線による不均一な GRID 照射野を形成し、SCCVII への抗腫瘍効果を検証した。照射野内の平均線量を同等に設定した場合、GRID 照射は矩形 (CONV) 照射に比べて抗腫瘍効果が劣っていた (図 4 左)。抗 PD-1 併用により各群の腫瘍増大は有意に抑制されたが、その増強比は両群で同等であった (図 4 右)。以上より、本照射条件においては GRID 照射による特異的な免疫応答の増強効果や CONV 照射に対する優位性は認められなかった。来年度は異なる線量と腫瘍の種類について評価する。

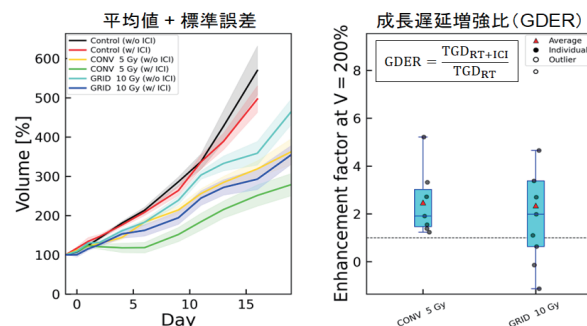


図 4 GRID 照射と CONV 照射に対する (左) 腫瘍体積の経時変化、(右) 抗 PD-1 投与による免疫増強比

4 まとめ

本年度は、マルチイオン治療の有効性と安全性を検証するため、ヘリウム線、炭素線、酸素線、ネオン線を用いた動物実験を行った。また、重粒子線 FLASH 治療法および重粒子線グリッド照射法の有効性を検証するための動物実験を開始した。来年度も、マルチイオン治療法を代表とする新規重粒子線治療法の有効性と安全性を確認するための動物実験を基本とした研究開発を継続する計画である。

参考文献

[1] T. Inaniwa, et al., *Phys. Med. Biol.* **65** 045005 2020.
 [2] K. Kasamatsu, et al., *Med. Phys.* **52**, e70139, 2025

a. QST

研究成果一覧
(25HJ001)

(原著論文等)

- Ikawa H., Shinoto M., Koto M., Masuda T., Inaniwa T., Takiyama H., Isozaki T., Yamada S., Ishikawa H.: Dose-averaged LET escalation with multi-ion therapy for head and neck cancers: a phase I study protocol for a prospective, open-label, single-arm, single-centre trial (MULTI-ION-HN-I). *BMJ Open* **15** e098151 (2025).
- Inaniwa T., Sakama M., Lee S. H., Nakaji T., Kanematsu N., Tran T. H., Rosenfeld A.: Evaluation of diamond and silicon detectors for linear energy transfer measurements of therapeutic helium, carbon, oxygen, and neon ion beams. *Physics in Medicine and Biology* **70** 235029 (2025).
- Masuda T., Koto M., Ikawa H., Takei H., Aoki K., Nakaji T., Kasamatsu K., Inaniwa T.: Design of multi-ion therapy for head and neck cancers using carbon-, oxygen-, and neon-ion beams: potential efficacy against tumor hypoxia. *Physics in Medicine and Biology* **70** 085003 (2025).
- Kasamatsu K., Shimokawa T., Masuda T., Tsuruoka C., Morioka T., Imaoka T., Sato S., Suzuki S., Mizushima K., Tanaka S., Kokubo T., Inaniwa T.: Ultra-high dose rate carbon-ion irradiation does not preferentially spare normal tissue in the gastrointestinal tract. *Medical Physics* **52** e70139 (2025).
- Takei H., Imai R., Masuda T., Aoki K., Nakaji T., Nomura Y., Inomata A., Suzuki Y., Inaniwa T.: Possibility of increasing linear energy transfer in multi-ion radiotherapy for bone and soft tissue sarcomas. *Medical Physics* **52** e18097 (2025).
- Masuda T., Ikawa H., Shinoto M., Koto M., Kasamatsu K., Nomura Y., Kanematsu N., Inaniwa T.: Robustness of LETd-optimized multi-ion therapy against range and setup uncertainties: evaluation and enhancement with carbon-, oxygen-, and neon-ion beams. *Physics in Medicine and Biology* **71** 035016 (2026).

(Proceedings 等)

(学会及び研究会口頭発表等)

- 稲庭拓：マルチイオン治療の物理技術，第34回日本がん転移学会学術集会・総会，日本がん転移学会 2025-6-19. (招待講演)
- 稲庭拓：治療：マルチイオン，第129回日本医学物理学会学術大会，日本医学

物理学会, 2025-04-12. (招待講演)

- 稲庭拓: 粒子線 FLASH の実現に向けた技術開発の現状, 第 52 回放射線による制癌シンポジウム, 日本放射線腫瘍学会生物部会学術大会, 2024-05-18. (招待講演)
- T. Inaniwa: Multi-Ion Therapy, Mayo Clinic Particle Therapy Grand Rounds 2025, Mayo Clinic, 2025-10-24. (Invited lecture)
- T. Inaniwa: Potential of LET optimization in proton therapy, PTCOG62, PTCOG, 2024-06-13. (Invited lecture)

(その他)

(学位論文)

高 LET 粒子線による放射線抵抗性脳腫瘍の治療を目指した基礎研究

High-LET Radiation for Radioresistant Glioma Therapy:

A Basic Research Investigation (25HJ102)

下川卓志^{1,4}、鈴木沙彩¹、佐野太陽¹、住吉晃²、森岡孝満³、謝琳⁴、大山廣太郎⁵、笠松幸生¹、
増田孝充¹、稲庭拓¹

T. Shimokawa¹, S. Suzuki¹, T. Sano¹, A. Sumiyoshi², T. Morioka³, L. Xie⁴, K. Oyama⁵,
K. Kasamatsu¹, T. Masuda¹, T. Inaniwa¹

Abstract

Currently, irradiation methods are rapidly developing due to advances in the technology. To provide safe treatments, it is essential to acquire biological data corresponding to the new irradiation methods. Particularly, biological verification of the high-LET region near or above 100 keV/ μm , which will be actively used in the future by LET painting irradiation, is an urgent task.

In this study, we aim to overcome brain tumors (gliomas) that exhibit high resistance to conventional radiation therapy by next-generation heavy-ion therapy, particularly LET painting. To achieve this, we are investigating the biological effects specific to high-LET radiation, evaluating treatment efficacy, and elucidating the mechanisms underlying glioma radiation resistance. This fiscal year, we conducted new investigations on 10 human glioma cell lines and observed the long-term effects of irradiation on the normal brain.

QSTが目指す「がん死ゼロ」のためには、次世代に向けた「量子がん治療」技術の開発と実現が急務となっており、機器の開発を含め多様なアプローチが現在進められている。その中で、治療成績の向上に向けた改良計画の一つとして、局所制御率のさらなる向上と正常組織障害の低減を目的とした、マルチイオン照射などによる linear energy transfer (LET) 分布の改善が検討されている。現在の治療においては照射標的内の線量分布を軸に計算されているが、量研機構稲庭らを中心に IMPACT (Intensity Modulated composite PArticle Therapy, LET 分布を考慮した照射方法) が研究されており、すでに臨床試験も始まっている。この IMPACT では、腫瘍内の LET が 50 keV/ μm から 100 keV/ μm に上昇すると計算されおり、今以上の治療効果が期待できる。しかし、従来の治療および生物実験でのマウスモデルでの照射で用いられている SOBP 中心の LET は 50 keV/ μm 程度であり、in vitro の実験でも 70-80 keV/ μm が主流である。その LET では RBE はまだ最高値ではなく、OER も下がっていない。一方で、IMPACT での LET 100 keV/ μm 照射では RBE はほぼピーク値となり、OER も 2 程度まで下がるため、これまでと同じ生物

1. 研究の目的とバックグラウンド

応答とはならない可能性が考えられる。LET分布を向上させた条件における生物学的効果(抗腫瘍効果、正常組織への影響)や、LETの高低による生体内での抗腫瘍免疫応答の差異に関する研究は、生物照射室の技術的な制限や、実臨床では対象とされない高いLETであったことから、非常に限定的である。今後、より効果的な治療が見込まれるこの領域のLETでの照射が増えることが予想されることから、効果的かつ安全に臨床応用するために、この高LET粒子線特有の生物応答とその利用法を明らかにしていくことは喫緊の課題である。

本研究では、次世代重粒子線治療、特にLET paintingの実施による腫瘍に照射される高LET(>80keV/um)を利用して、従来の放射線治療に対して高い抵抗性を示す脳腫瘍(Glioma)の克服を目指し、高LET特有の生物効果の解明、治療効果の評価、安全な治療法の開発を行う。さらにグリオーマ特有の放射線に対する高い抵抗性のメカニズム解明および正常脳への高LET粒子線の影響について解析を進める。

2. 昨年度までに得られている結果

脳腫瘍モデルとして使用するがん細胞株U87MG, 9L, GS9L, CT2AについてLETと放射線感受性の検討を行い、これらのがん細胞が低LET放射線に対して非常に放射線抵抗性であることを示した。さらに3Dモデルではさらに抵抗性になること、同一がん細胞の下肢移植モデルと同所(脳)移植モデルで比較した場合では同所移植において顕著に抵抗性になるこ

とを確認した。加えて、MRI解析で生着した腫瘍の消失を9LおよびCT-2Aで確認した。また照射後1ヶ月の段階で正常脳にMRI解析でも、行動でも異常が認められないことを確認した。さらに2D培養においては線量ならびに線質依存的に増殖が抑制されること、一方で、3D(spheroid)培養したGliomaはX線での増殖抑制はほとんど認められず、また2Dに比べ弱い線質効果しか認められないことを示した。

3. 照射対象物の種類と数、照射ビームの種類

前期2回(Fe 500MeV/u, C 290MeV/u 各1回)、後期3回(Fe 500MeV/u 1回, C 290MeV/u 2回)の照射時間を配分された。ただし前期の炭素イオン線の照射は装置側の事情により、キャンセルとなった。脳腫瘍由来の培養細胞を2Dおよび3Dで培養し、線量・線質を変えて照射を行った。

4. 今年度の解析結果のまとめ

結果1: 培養環境間の比較

グリオーマ細胞の高LET粒子線に対する応答が培養環境により大きく異なることがこの課題の研究により示唆されている。そこでヒト由来のグリオーマ細胞10株を追加し、2Dおよび3D培養下で線量・線質依存性について解析を行った。以前の解析で最も放射線抵抗性であった9L細胞に加え、今回の解析でspheroidの形成状態が良かった細胞を選出し、照射後の遺伝子発現変動を解析した。

結果2: がん細胞同所移植モデルによる評価

寛解マウスの長期観察において、異常行動や死亡例が当初認められなかったため、C57BL/6J マウスの正常脳に Fe 50Gy 照射し、長期影響について検討を行った。昨年 Ar50Gy 照射したマウスは半年で異常行動を起こし死亡したが、Fe 照射マウスは一過性の体重減少などが認められたが、その後体重は回復し、Ar 照射泥状が認められた半年を経過しても行動異常などは認められなかった。しかし、その後 Ar とは異なるタイミングで異常行動が認められ、死亡した。

-
1. 量研機構・量医研・物理工学部
 2. 量研機構・量医研・分子イメージング診断治療研究部
 3. 量研機構・放医研・放射線影響研究部
 4. 量研機構・量医研・先進核医学基盤研究部
 5. 量研機構・高崎研・先端機能材料研究部

25HJ102 研究成果一覧

論文:

1. L Ma, Y Li, Y Sakamoto, L Xie, S Suzuki, Y Yoshida, L Sui, G Guo, J Wen, W Ren, K Kakimi, K Osada, A Takahashi and T Shimokawa. **Optimal radiation dose to induce an abscopal effect by combining carbon-ion radiotherapy and anti-CTLA4 antibody.** Neoplasia;60:101099, 2025.

総説:

1. S Haghdoost, J Thariat, I Toma-Dasu, B Frey, C Rodriguez-Lafrasse, S Valable, C Laurent, D Stefan, F Chevalier, A Facoetti, I Dokic, T Shimokawa, P Fossati, W Tinganelli, C Rochais, et al. **Radiobiology Contributions and Perspectives in Hadron Therapy, With a Focus on Carbon Ions: Report From the Workshop Hadron Therapy for Life, Caen, March 2025.** Int J Part Ther;19:101289, 2026.

招待発表:

1. 下川 卓志. **次世代重粒子線がん治療の確立を目指して.** 日本量子医科学会第5回学術大会, 2025年11月

学会及び研究会発表:

1. 下川 卓志, 鈴木 沙彩, 小林 亜利紗, 増田 孝充, 笠松 幸生, 稲庭 拓. **Glioma細胞株の環境依存的放射線抵抗性メカニズムの解析.** 第48回日本分子生物学会年会, 2025年12月
2. 佐野 太陽, 馬 立秋, 鈴木 沙彩, 小林 亜利紗, 古倉 健嗣, 下川 卓志. **Analysis of the Mechanisms Underlying Diurnal Variation in the Therapeutic Effects of Carbon-Ion Irradiation.** 日本放射線影響学会第68回大会/第6回アジア放射線研究会議, 2025年10月
3. 下川 卓志, 中島 菜花子, 鈴木 沙彩, 小林 亜利紗, 藤田 真由美, 今留 香織, 本村 真理, 今井 礼子. **骨軟部肉腫患者に対する重粒子線治療における予後因子と特異的応答の探索.** 日本量子医科学会第5回学術大会, 2025年11月

三次元培養した伴侶動物がん細胞の放射線感受性解析
Radiation Sensitivity Analysis of 3D Cultured Cancer Cells from Companion Animals
(25HJ103)

舟山知夫^a、鈴木芳代^a、劉翠華^b、相場俊樹^b、坂本裕貴^b、平山亮一^b
T. Funayama^a, M. Suzuki^a, C. Liu^b, T. Aiba^b, Y. Sakamoto^b, R. Hirayama^b

Abstract

We had conducted experiments to measure the radiosensitivity of canine cancer cells cultured in a monolayer using the carbon ion beam at HIMAC. However, there are significant differences in microenvironmental conditions between tumor tissue and cells cultured in 2D flasks. Therefore, we have begun investigating the sensitivity of cells to heavy ions cultured in a 3D environment, which more closely simulates *in vivo* conditions. In these experiments, the cells were embedded in an alginate gel. This makes the cells cultured under conditions closely resembling *in vivo*. We irradiated these samples with a carbon ion beam and measured the effects of the irradiation using a colony formation assay. For fiscal year 2025, we conducted irradiation effect measurements using canine hepatocarcinoma cells, following the canine fibrosarcoma cells used the year before. To expand our understanding of heavy ion cancer therapy for companion animals, we will refine our measurement results and advance experiments using three-dimensional culture samples with other canine cancer cell lines.

1. 研究の目的とバックグラウンド

伴侶動物のがん放射線治療は、比較的規模の大きな動物病院を中心に、リニアックや常用電圧 X 線装置で行われている。伴侶動物では、人と異なり早期発見を目的とした検査の普及が不十分なため、早期に発見し治療すれば放射線で完治させられるがんでも、手遅れになってから見つかる例も多く、放射線ではがん根治が望めないものと誤解されることが少なからずある。

重粒子線がん治療は、人のがん治療において有効な治療法として普及する一方で、その伴侶動物がんへの臨床応用は世界的にも未だ例がない。さらには、伴侶動物の培養細胞を用いた放射線感受性解析研究も、現状では極めて限定的である。

私たちは、かつてイヌ由来の線維肉腫細胞株を QST 高崎研・TIARA の炭素イオンビームで照射し、その放射線感受性を調べる研究を実施した [1]。その後、臨床で用いられる高エネルギー領域を含む広いエネルギー範囲での線質依存性を明らかにするために、HIMAC の炭素線を用いて放射線感受性を測定する実験を 2021 年から行い、培養細胞レベルにおけるイヌがん細胞の放射線感受性を定量的に明らかにしてきた。

この研究では、犬に比較的多く観られるがんのうち、既に培養細胞株が樹立されている、線維肉腫、肝がん、肺がんの細胞に HIMAC の重粒子線を照射し、その生存率をコロニー形成法で測定することで、評価したイヌがん細胞では、炭素線照射が、ヒトがん細胞よりも、効果的に細胞致死に働く可能性を見いだした。しかし、実際のがん組織と、培養フラスコを用いた二次元培養では、細胞の置かれた微小環境の条件に大きな違いがある。そこで、臨床適用に向けてより *in vivo* に近い培養条件での重粒子線感受性の評価を行うため、三次元培養した細胞を対象に重粒子線感受性を評価する研究を 2024 年度から開始した。

2. 昨年度までに得られている結果

2021~2023 年度の 3 年間で、3 種類のイヌ培養がん細胞株の二次元培養試料の炭素線感受性評価実験を行い、SOBP ビームを含めた炭素線照射効果の定量的なデータを取得した。その成果を踏まえ、2024 年度より、*in vivo* に近い培養条件として、アルギン酸ゲルに包埋することで三次元培養したイヌ線維肉腫細胞株 cFS を炭素線モノビーム (290 MeV/u) 及び SOBP 中央条件ビームで照射し、その照射効果をコロニー形成法で測定した。その結果、三次元培養したイヌ線維肉腫細胞では、D₁₀ の値が MONO ビー

ム、SOBP 中央いずれでも二次元培養した試料よりも高くなることを示した。

3. 今年度の研究内容

2025 年度は、アルギン酸ゲル包埋培養したイヌ肝がん細胞 (canine hepatoma, cHC) について、新たに放射線感受性定量実験を開始した。また、cFS 細胞についても反復実験を実施した。

実験では、対数増殖期の細胞を $1 \times 10^7/\text{mL}$ の濃度で 2%アルギン酸/PBS 溶液に懸濁し、 $\sim 10 \mu\text{L}$ のドロップとして塩化カルシウム溶液に滴下することでアルギン酸ゲル中に包埋した。包埋した細胞は 10%血清含有 MEM 培地で 7 日間培養し、照射実験に供した。照射は、アルギン酸包埋培養試料をマイクロチューブに入れ、HIMAC 生物照射ビームラインで炭素線 (290 MeV/u MONO ビーム、および、6cm-SOBP 中央位置) 照射した。照射後、アルギン酸ゲルをクエン酸含有 PBS 溶液で処理すること融解し、懸濁液として回収した細胞を希釈/播種してコロニー形成を行った。形成したコロニーを、固定して染色することで計数し、炭素線に対する三次元培養した細胞の生存率を得た。

4. 今年度の研究成果と解析結果

2025 年度は、配分された 3 回のビームタイムのうち 2 回で、アルギン酸ゲル包埋培養したイヌ肝がん細胞株 cHC の生存率測定を行うことができた。残りの 1 回のビームタイムでは、調製した試料に問題が生じたため、生存率測定結果を得られなかった。

得られた 2 回分の生存率測定結果を平均し、既に得られている二次元培養試料と比較した結果、炭素線 MONO ビーム、SOBP 中央ビームのいずれでも、アルギン酸ゲル包埋培養した cHC 細胞は、二次元培養した細胞よりも炭素線に対して抵抗性を示した (図 1、図 2)。同様の結果は、昨年度実施したイヌ線維肉腫細胞株 cFS においても得られており、これは、包埋培養が細胞周期及び細胞環境における酸素分圧に影響した結果、引き起こされた可能性が示唆される。

以上の結果を踏まえ、次年度の実験では、cHC 細胞の生存率測定実験を反復することで、測定値の精度向上を図るとともに、他

のイヌがん細胞株を用いた三次元培養試料の感受性測定実験を行うことで、伴侶動物への重粒子線がん治療実現に繋がる基盤的データの取得を進めていく。

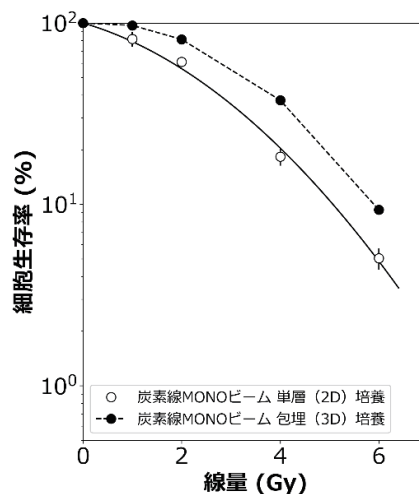


図 1. アルギン酸包埋培養したイヌ肝がん細胞株の炭素線 MONO ビームに対する生存曲線

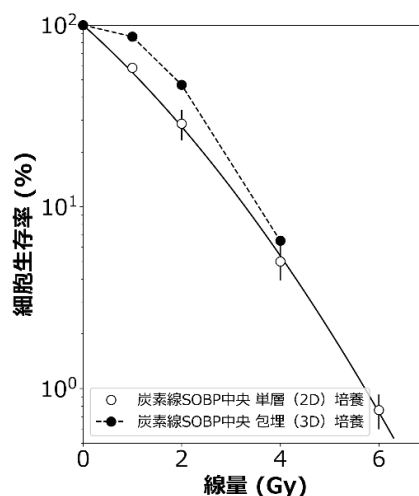


図 2. アルギン酸包埋培養したイヌ肝がん細胞株の炭素線 SOBP 中央ビームに対する生存曲線

参考文献

[1] S. Wada, T. V. Khoa, Y. Kobayashi, T. Funayama, K. Ogihara, S. Ueno and N. Ito, Prediction of cellular radiosensitivity from DNA damage induced by γ -rays and carbon ion irradiation in canine tumor cells, *J. Vet. Med. Sci.*, **2005**, 67, 1091-1097

- a. QST 高崎研 量子バイオ基盤研究部
- b. QST QST 病院 重粒子線治療研究部

研究成果一覧
25HJ103 舟山知夫

無し

組織オルガノイドにおける重粒子線の生物効果比の評価 Evaluation of the biological effect ratio of heavy-ion beams in tissue organoids (25HJ404)

島田幹男^{a,b}、劉 翠華^c、相場俊樹^c、坂本裕貴^c、平山亮一^c

Mkio Shimada^{a,b}, Cuihua Liu^c, Toshiki Aiba^c, Yuki Sakamoto^c, and Ryoichi Hirayama^c

Abstract

The objective of this study is to investigate the effects of heavy-ion radiation using tissue organoids derived from human iPS cells to evaluate the impact of radiation on tissues and organs. We will use cerebral organoids established by the applicant as the tissue organoid model. We will utilize data obtained from cobalt-60 gamma-ray irradiation experiments conducted at Institute of Science Tokyo, where the investigator is affiliated, and compare these results with those from heavy-ion radiation to evaluate the biological effect ratio resulting from differences in radiation quality. While mice have traditionally been used as animal models for evaluating tissues and organs, there has been a growing need to assess tissue responses using model systems derived from human cells due to differences in radiation responses across species. The significance of this research lies in evaluating the effects of radiation on human tissues by analyzing the effects of heavy-ion radiation using tissue organoids derived from human iPS cells.

1. 研究の目的とバックグラウンド

本研究の目的は放射線の組織および臓器への影響を評価するためにヒト iPS 細胞から樹立した組織オルガノイドを用いて重粒子線の影響を検討する。組織オルガノイドのモデルとして樹立した大脳オルガノイドを用いる。あらかじめ研究代表者所属の東京科学大学においてコバルト 60 由来のガンマ線を照射したデータを取得し、重粒子線と比較することにより線質の違いによる生物効果比を評価する。これまで組織臓器を評価する動物モデルとしてマウスが用いられてきたが、生物種の違いによる放射線応答の相違からヒト細胞由来のモデル系による組織応答の評価が求められてきた。本研究の意義はヒト iPS 細胞由来の組織オルガノイドを用いて重粒子線の影響を解析することにより、ヒト組織に対する放射線影響を評価することである。

2. 昨年度までに得られている結果

本研究は新規申請 1 年目であるが、昨年度まで 3 年継続して研究を実施しており、昨年度までに DMSO を用いた放射線防護効果の検討を iPS 細胞における炭素線照射後の影響を中心体過剰複製と多極性細胞分裂を指標として評価した。その結果、DMSO は iPS 細胞では分化細胞と比較して優位に中心体過剰複製と多極性細胞分裂の頻度が増加することを確認した。

3. 今年度の研究内容

今年度は iPS 細胞由来大脳オルガノイドをモデルとして放射線影響を検討した。重粒子線を用いる前に対照実験として申請者所属の東京科学大学においてコバルト 60 由来のガンマ線に対する影響を検討した。

4. 今年度の研究成果と解析結果

今年度は研究代表者(島田)の所属が東京科学大学(東京)から放射線影響研究所(広島)に変更となったため、HIMAC 施設を用いて十分な実験を実施する時間が取れなかった。そのため主に対照実験として研究代表者前所属の東京科学大において iPS 細胞由来大脳オルガノイドに対するガンマ線を用いた放射線影響の検討を行った。増殖が盛んな 20 日齢の大脳オルガノイドにガンマ線 2Gy を照射し、80 日齢まで培養したところ照射大脳オルガノイドは成長が阻害され、非照射と比較して全体のサイズが小さかった(図 1)。一方でラジカルスカベンジャーである DMSO、あるいはアスコルビン酸を処理した大脳オルガノイドでは成長阻害が緩和され、ガンマ線単体処理よりも全体のサイズが大きかった。20 日齢の大脳オルガノイドに放射線を照射 2 時間後に DNA 損傷の割合をリン酸化 H2AX を指標に観察したところ、細胞増殖が盛んな神経前駆細胞でガンマ線照射したオルガノイドでは非照射より多くの DNA 損傷が観察された(図 2)。また、この DNA 損傷は DMSO やアスコルビン酸処理で緩和された。

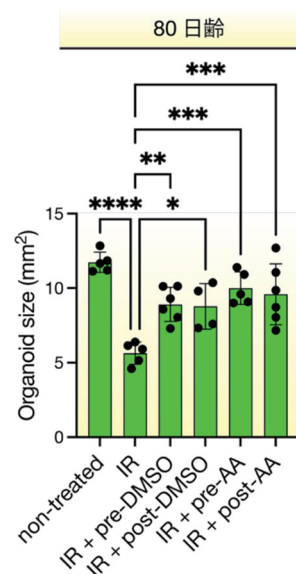


図 1 大脳オルガノイドに対する放射線照射による成長の変化

20 日齢のヒト iPS 細胞由来大脳オルガノイドにガンマ線 2Gy を照射後、80 日齢まで培養し、成長の変化を観察した。非照射と比較して放射線照射したオルガノイドは成長が阻害され、半分程度のサイズにとどまった。一方で、ラジカルスカベンジャーである DMSO、アスコルビン酸を放射線の照射前後で処理すると、放射線による大脳オルガノイドの成長阻害が緩和された。

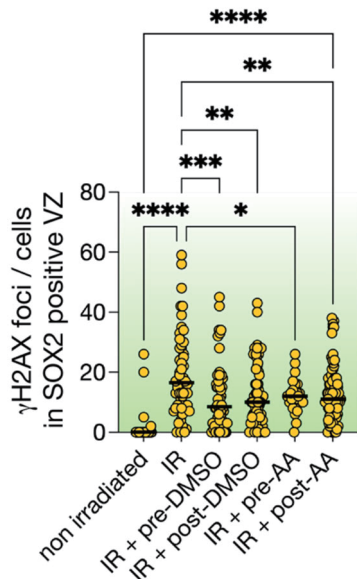


図 2 大脳オルガノイドに対する放射線照射と DNA 損傷

20 日齢のヒト iPS 細胞由来大脳オルガノイドにガンマ線 2Gy を照射 2 時間後に免疫染色により、DNA 損傷の発生を観察した。神経前駆細胞のマーカとして SOX2、DNA 二本鎖切断のマーカとして γH2AX 抗体を用いた。放射線照射後 SOX2 陽性細胞で γH2AX の foci が多く観察された。また放射線照射の前後に DMSO、アスコルビン酸処理により DNA 損傷の発生が緩和された。

今年度は申請代表者の職場の異動により、HIMAC における重粒子線照射実験が十分に実施できなかった。そのために前段階実験としてコバルト 60 由来のガンマ線照射実験で大脳オルガノイドに対する放射線影響の検討を行った。今後新しい職場と QST との共同研究で重粒子照射実験を実施する環境を整備する予定である。

^a 東京科学大・総合研究院・ゼロカーボン研

^b 放影研・分生部

^c QST 病院・重粒子線治療研究部

研究成果一覧

組織オルガノイドにおける重粒子線の生物効果比の評価

Evaluation of the biological effect ratio of heavy-ion beams in tissue organoids

(25HJ404 : 島田幹男)

なし

難治性癌に対する重粒子線照射と薬剤併用による基礎研究 (25HJ105)

Basic research on heavy ion beam irradiation and drug combination for refractory cancer

Sei Sai^{1*}, Eun-Ho Kim², Hyun-Cheol Kang, Yu-Mei Kang, Kei-Ichi Takata, Masao Suzuki

Background & Aims

Translational research on new drug combination therapies is crucial to further improve the effectiveness of heavy ion radiotherapy and expand its indications. KRAS gene mutations are frequently observed in lung cancer, pancreatic cancer, and other cancers. In recent years, molecular targeted drugs targeting KRAS gene mutations have been developed. Furthermore, anticancer drugs such as paclitaxel (PTX), gemcitabine (GEM), have been reported to improve survival rates in lung cancer and pancreatic cancer patients. To more accurately improve the effectiveness of heavy ion radiotherapy, there is a strong need for research and development of combination therapies using molecularly targeted drugs that are specifically effective against the presence or absence of gene mutations. This study aims to elucidate the molecular mechanisms of heavy ion irradiation (IR) alone or in combination with anticancer drugs, or in combination with KRASG12C inhibitor (such as Sotorasib) on lung and pancreatic cancer cells.

This Year's Research Focus

We investigated the cell viability and apoptosis induction (Caspase 3/7 activity) in pancreatic cancer when carbon ion IR is combined with the PTX and

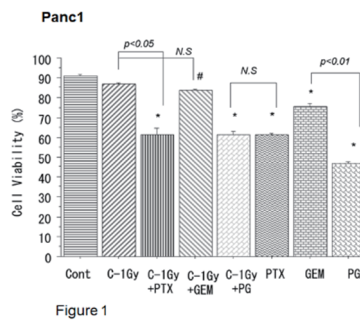


Figure 1

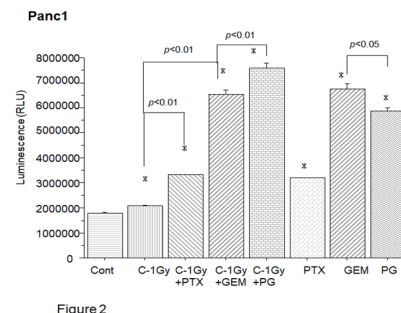


Figure 2

GEM. Furthermore, we investigated changes in cell viability and cell death-related gene expression in lung cancer cells when helium (He) ion IR is combined with the KRAS inhibitor.

Results and Discussions

1) Cell viability of refractory pancreatic cancer cells (PANC1) was measured using the trypan blue staining method (Countess™ 3 FL cell counter, Thermo Fisher Scientific K.K F) after carbon ion irradiation alone or in combination with the anticancer drugs PTX and GEM. Caspase 3/7 activity was measured as a molecular mechanism for inducing cell death using a highly sensitive homogeneous luciferase luminescence method (Promega). The results showed that in Panc1 cells, C-1Gy alone did not alter cell viability, but PTX (100 nM), GEM (100 μM) alone, or in combination with C-1Gy significantly suppressed cell viability. However, no further enhancement of viability suppression was observed with the combined use of C-1Gy, PTX, and GEM (Figure 1 #, $p<0.05$; *, $p<0.01$ compared to Control). As a molecular mechanism of cell death, Caspase 3/7 activity was

measured by luciferase-mediated luminescence intensity (RLU). Significant Caspase 3/7 activity enhancement was induced by C-1Gy, PTX, and GEM alone treatment. The combined treatment of C-1Gy and GEM showed a more pronounced enhancement than the C-1Gy and PTX. The highest Caspase 3/7 activation was observed by combined treatment of C-1Gy, PTX, and GEM (Figure 2).

2) Changes in cell morphology, cell viability, and cell death-related gene expression were

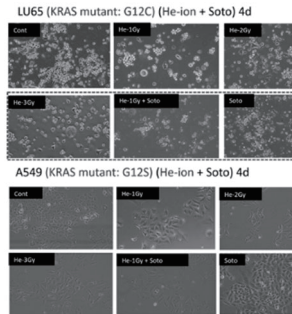


Figure 3

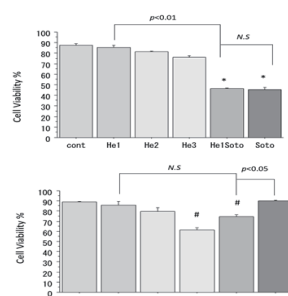


Figure 4

investigated in KRAS-mutated lung cancer cells LU65 (KRASG12C) and A549 (KRASG12S) after treatment with He-ion IR (He 2.4 keV/um) alone or in combination with Sotorasib (1 μM). No significant changes in cell morphology after treatment with He-ion beam IR (He 1, 2, 3 Gy) alone,

were observed in either LU65 or A549 cells.

With treatment with Sotorasib alone or in combination with He 1 Gy and Sotorasib, induced morphological abnormalities and a decrease in cell number in LU65 cells, but not in A549 cells (Figure 3). LU65 cell viability was significantly suppressed by Sotorasib alone or in combination with He 1 Gy, but no change was observed with He-ion beam IR alone, but no change was observed with

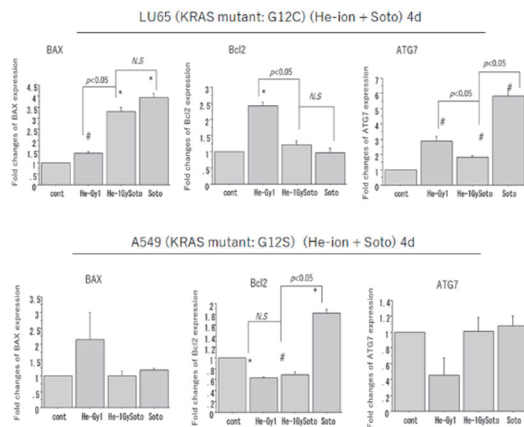


Figure 5

Sotorasib alone or in combination with He 1 Gy. These results suggest that Sotorasib is effective in killing LU65 cells but does not show an enhancing effect when combined with He-ion beam IR. The molecular mechanisms of cell death (apoptosis, autophagy) induction were investigated using Real-time qPCR (LightCycler® 96 System, Roche). In LU65 cells, treatment with He1Gy or Sotorasib alone significantly increased the expression of the apoptosis-related gene BAX, and was further increased by its combined treatment. Furthermore, the expression of the autophagy-related gene ATG7 was also increased by He1Gy, Sotorasib alone, or combined treatment; however, no significant changes in gene expression were observed in A549 cells. (Figure 5).

Summary

Heavy ion IR combined with PTX, GEM, or KRAS inhibitor potentially enhance lung and pancreatic cancer cell -killing effects via apoptosis and autophagy induction.

1, 量研・重粒子 2, Seoul Nat Univ., Korea 3, Taipei Veterans General Hospital 4, Daegu Catholic University, Korea

研究成果一覧 (25HJ105)

[口頭発表]

1. Sai Sei, Eun Ho Kim, Suzuki Masao

Effects of Carbon-Ion Beam Irradiation in Combination with Sorafenib on Hepatocellular Carcinoma Cells

the 68th Annual Meeting of the Japanese Radiation Research Society and the 6th Asian Congress of Radiation Research (JRRS/ACRR2025), 広島大学, 2025-10-25

2. Sai Sei, Eun-Ho Kim, Hyun-Cheol Kang, Yu-Mei Kang, Suzuki Masao, Ishikawa Hitoshi

Basic study of precision heavy ion radiotherapy based on genetic characteristics of pancreatic cancer

51st Annual Meeting of Korean Cancer Association and 5th International Congress of Asian oncology Society, Korean Cancer Association, 2025-07-03

[ポスター発表]

1. Sai Sei, Eun Ho Kim, Suzuki Masao

Lack of XRCC4 Remarkably Enhances Radiosensitivity of Human Colon Cancer Stem Cells

第 54 回 内藤コンファレンス, 内藤記念科学振興財団, 2025-10-08

2. Sai Sei, Yu-Mei Kang, H Hyun-Cheol Kang, Suzuki Masao, Ishikawa Hitoshi

Multi-ion beam irradiation combined with KRASG12C inhibitors effectively destroys KRAS mutant lung cancer cells

第 84 回日本癌学会学術総会, 金沢大学がん進展制御研究所, 2025-09-27

3. 鈴木 雅雄, 舟山 知夫, 鈴木 芳代, 佐井 星

P53-independent bystander effects through cell-to-cell communication between carbon-ion irradiated tumor and non-irradiated normal cells

the 68th Japanese Radiation Research Society and The 6th Asian Congress of Radiation Research, 日本放射線影響学会, 2025-10-25

4. 鈴木 雅雄, 佐井 星

P53-independent bystander effects via secreted factors between carbon-ion irradiated tumor and unirradiated normal cells

第 84 回日本癌学会学術総会, 一般社団法人 日本癌学会, 2025-09-25

5. 鈴木 雅雄, 舟山 知夫, 鈴木 芳代, 佐井 星

炭素イオン照射がん細胞と非照射正常細胞間の液性因子を介した P53 非依存的バイスタンダー効果誘導

第 62 回日本放射線腫瘍学会生物部会学術大会, 公益財団法人日本放射線腫瘍学会, 2025-05-30

[招待発表]

1. Sei Sai

Benefits of cutting-edge carbon ion radiotherapy: insights into biological mechanisms
Harbin Med Univ Cancer Hospital Seminar, Harbin Med Univ Cancer Hospital, 2025-08-17

2. Sei Sai

Advantages of state-of-the-art carbon-ion radiotherapy: Insights into biological mechanisms

Annual Conference of Radiation Oncology Branch of Heilongjiang Medical Association,
Department of Radiation Oncology, Harbin Medical University, 2025-08-16

3. 3. Sei Sai

Benefits of Heavy Ion Radiotherapy: Deep Understanding from Biological Mechanisms

Yonsei University Cancer Seminar, Department of Radiation Oncology, Yonsei University
College of Medicine, 2025-07-04

4. Sei Sai

Advantages of carbon-ion radiotherapy: in-depth understanding from the perspective of radiobiology

Seoul National University Hospital Seminar, Department of Radiation Oncology, Seoul
National University College of Medicine, 2025-07-02

[講義・講演]

1. 佐井 星

Current status and prospects of heavy ion radiotherapy for solid tumors— Bench to Bedside

自治医科大学細菌学部門特別講義, 自治医科大学細菌学部門, 2025-11-12

超偏極 ^{13}C -MRI を用いた重粒子線照射による腫瘍内代謝変化の評価
Evaluation of effect of heavy ion irradiation on tumor metabolism
by using hyperpolarized ^{13}C -MRI
(25HJ108)

高草木洋一^a、齋藤圭太^a、山下晃矢^a、小池歩^a、志牟田宜子^a、松本謙一郎^b、下川卓志^c
Y. Takakusagi^a, K. Saito^a, K. Yamashita^a, A. Koike^a, Y. Shimuta^a,
K. Matsumoto^b, and T. Shimokawa^c

Abstract

We carried out hyperpolarized ^{13}C -MRI with [1- ^{13}C]pyruvate as a probe to evaluate pyruvate metabolism to lactate in SCC VII and B16F10 tumors before and after carbon ion irradiation or X-irradiation. Hyperpolarized [1- ^{13}C]pyruvate was injected intravenously into a tumor-bearing mouse, and ^{13}C chemical shift imaging was conducted. Lactate to pyruvate ratio (Lac/Pyr) was obtained from the ^{13}C chemical shift images to evaluate pyruvate metabolism. The results show the Lac/Pyr was decreased in SCC VII tumor after the carbon ion irradiation compared to that before irradiation, whereas it did not change with X-irradiation. In B16F10, the Lac/Pyr was increased after the X-irradiation, but this increase was suppressed by the carbon ion irradiation. These results suggest that the therapeutic effect of carbon ion irradiation was higher than X-irradiation, and it would be evaluated 1 day after radiotherapy by using hyperpolarized ^{13}C -MRI.

1. 研究の目的とバックグラウンド

本研究の目的は超偏極 ^{13}C -MRI を用いて重粒子線照射による腫瘍の代謝変化と治療効果との関係を明らかにすることである。超偏極法は超偏極装置を用いて ^{13}C 標識化合物の偏極率を極端に高めて NMR シグナルを数万倍に増強できる手法で、超偏極した ^{13}C 標識化合物を生体に投与して MRI で撮像することにより、投与した ^{13}C 標識化合物とその代謝物を *in vivo* でリアルタイムに計測することが可能になる。アメリカやヨーロッパではすでに超偏極 ^{13}C -MRI の臨床試験が進められており、主に ^{13}C 標識ピルビン酸の乳酸への代謝を指標とした癌診断および癌の治療効果評価が行われている。日本ではまだ臨床用の超偏極装置は導入されておらず、非臨床用の超偏極装置も QST を含めて 2 カ所にしかなく、超偏極 ^{13}C -MRI の撮像が可能な施設は限られている。動物実験においてはピルビン酸以外にも様々な ^{13}C 標識プローブが用いられ、腫瘍その他の病態モデル動物の代謝や

治療による代謝の変化が研究されている。申請者らはこの超偏極 ^{13}C -MRI を用い、マウス扁平上皮癌 (SCC) およびヒト結腸線癌 (HT-29) の担癌マウスで X 線照射によりピルビン酸から乳酸への代謝が抑えられることを明らかにし (1)、また、ヒト膵臓癌 3 種 (MiaPaCa2, HS766t, SU.86.86) の担癌マウスで乳酸生成の違いが X 線照射による腫瘍の成長抑制と相関があることを明らかにし (2)、放射線治療の早期診断マーカーとしての可能性を示した。重粒子線照射による腫瘍細胞の代謝変化は、GC-MS を用いた研究で報告されている (3) が、動物の担癌モデルで *in vivo* で研究した例はない。In vivo のレベルで超偏極 ^{13}C -MRI による治療効果判定法としての有用性が認められれば、臨床応用を視野に入れた研究開発への展開が期待される。そこで本研究では、重粒子線照射前後に超偏極 ^{13}C -MRI で計測を行い、重粒子線照射による代謝変化を調べ、X 線照射と重粒子線照射の影響の違いを明らかにする。

2. 今年度の研究内容

今年度は超偏極 ^{13}C -MRI で最も生体応用が進んでいる [1- ^{13}C]ピルビン酸をプローブとして用いた。 1×10^6 個の SCC 細胞とマウスメラノーマ (B16F10) 細胞をそれぞれ C3H マウスと C57BL/6 マウスの右脚皮下に接種して担癌マウスを作成し、接種 8 日後に超偏極 ^{13}C -MRI 撮像を行った。25 mM OX063 ラジカルを溶解させた [1- ^{13}C]ピルビン酸 18 μL を超偏極装置 (SpinAligner, Polarize) を用いて 50~70 分偏極し、3.2 mL のアルカリ性バッファーで溶出して中性の超偏極 ^{13}C ピルビン酸溶液を得た。マウスを 3 T MRI (BioSpec 3T, Bruker) にセットし、T₂ 強調画像を取得した後、80 mM の超偏極 ^{13}C ピルビン酸溶液 310 μL を尾静脈内投与し、 ^{13}C 化学シフト画像を連続で取得した (TR: 82 ms, Flip angle: 5°, Band width: 3236.25 Hz, Number of points: 256, Slice thickness: 10 mm, FOV: 20 \times 25 mm,

Image size: 8×10, Repetition: 15)。

MRI 撮像後、マウスを麻酔して照射用容器に入れて固定し、腫瘍を重粒子線照射した。照射条件は、炭素線、290 MeV、SOBP 60 mm で、10 Gy 照射した。照射翌日、再度超偏極 ^{13}C -MRI 撮像を行い、照射前からの変化を調べた。比較として X 線 10 Gy 照射 (線量率 1.0 – 1.2 Gy/min) したマウスで同様の実験を行った。照射後の MRI 撮像を行った後、一部のマウスは腫瘍のサイズ測定を継続し、その他のマウスでは免疫染色のために腫瘍を摘出した。

3. 今年度の研究成果と解析結果

連続撮像した ^{13}C 化学シフト画像データより、 ^{13}C ピルビン酸と ^{13}C 乳酸のシグナル強度の時間変化を求め、その時間変化曲線の area under the curve (AUC) の画像を作成した (図 1)。この画像より、腫瘍内の乳酸/ピルビン酸比を求め、ピルビン酸から乳酸への代謝の指標とした。SCC では炭素線照射前後で、Lac/Pyr が 0.79 ± 0.01 から 0.71 ± 0.05 に有意に低下した ($p < 0.05$, $n = 4$)。一方、B16F10 では照射前後で有意な差は見られなかった ($n = 5$)。比較として行った X 線 10 Gy 照射群では、SCC VII 担癌においては有意な変化は見られず ($n = 5$)、B16F10 では 0.41 ± 0.06 から 0.49 ± 0.07 に有意に上昇した ($p < 0.05$, $n = 5$)。この Lac/Pyr の上昇は B16F10 において X 線照射の治

療効果がない、または低いことを示唆しており、炭素線照射では Lac/Pyr の上昇が抑えられていることから生育遅延効果があると考えられる。実際に B16F10 では炭素線照射で腫瘍の生育が抑制されたのに対し、X 線照射では抑制されなかった。SCC VII においても炭素線照射により腫瘍の生育が抑制された。これらの結果は、X 線照射に比べて炭素線照射の治療効果が高いことを、炭素線照射 1 日後の超偏極 ^{13}C -MRI によって迅速に評価できることを示唆しており、超偏極 ^{13}C -MRI の炭素線照射治療効果の早期判定手法としての可能性が示された。

参考文献

- (1) Saito K, Matsumoto S, Takakusagi Y, et al., Clin Can Res, 21, 5073-5081, 2015
- (2) Matsumoto S, Kishimoto S, Saito K et al., Cancer Res, 78, 3783-3792, 2018
- (3) Osu N, Makinoshima H, Oike T, et al., Anticancer Research, 41, 6023-6029, 2021

- a. 量子生命研量子生命スピン
- b. 放医研放射線規制
- c. 量子医科学研物理工学

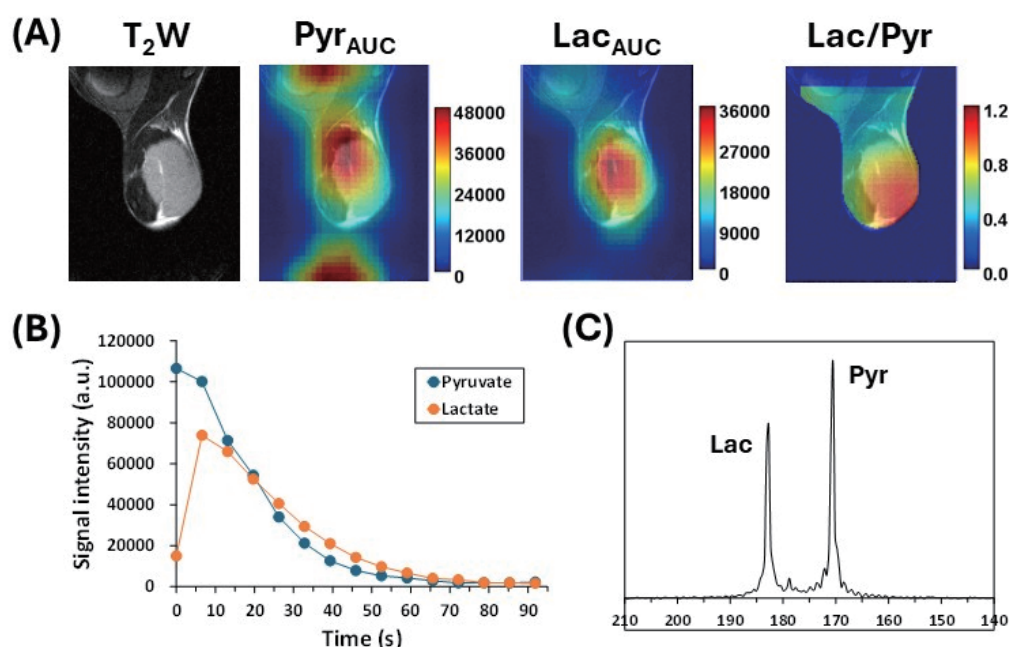


図1 [1- ^{13}C]ピルビン酸をプローブとした超偏極 ^{13}C -MRI。(A) SCCの T_2 強調画像、 ^{13}C ピルビン酸、 ^{13}C 乳酸、乳酸/ピルビン酸比の画像。(B)超偏極した[1- ^{13}C]ピルビン酸を投与した後の腫瘍内の ^{13}C ピルビン酸・ ^{13}C 乳酸シグナルの時間変化。(C)腫瘍内平均 ^{13}C スペクトル。

重粒子線が誘導する免疫応答の解明と免疫治療との併用効果の検討
 Elucidation of immune responses induced by heavy ion irradiation and evaluation of its
 combination with immunotherapy (25HJ110)

高橋 豊^a、勝木翔平^a、奥内絢香^a、丁源健^b、
 津田珠琳^a、皆巳和賢^a、武島嗣英^c、小川和彦^b

Y. Takahashi^a, S. Katsuki^a, A Okuuchi^a, Ding Yuanjian^b,
 Shuri Tsuda^a, K. Minami^a, T Takeshima^c, K. Ogawa^b, M.

Abstract

Radiation-induced abscopal effects have been explored to enhance systemic antitumor immunity, particularly in combination with immune checkpoint inhibitors (ICIs). In this study, we examined the immunological responses associated with carbon ion (C-ion) irradiation combined with anti-CTLA-4 antibody (C4) using pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) and osteosarcoma mouse models. In the PDAC model, fractionated C-ion irradiation at intermediate dose level (2.1 Gy × 3) with C4 was associated with the induction of abscopal effects, which were diminished following CD8+ T cell depletion. Flow cytometric analyses suggested increases in the CTL/Treg ratio and changes in macrophage polarization toward a higher M1/M2 ratio after treatment. RNA sequencing and gene set enrichment analysis indicated modulation of several immune-related pathways, including inflammatory and interferon-related responses, in both irradiated and unirradiated tumors. A gene related to myogenesis was among those upregulated in the combination group and showed a potential association with prognosis in PDAC based on TCGA data. In an orthotopic osteosarcoma model, the combination treatment was associated with local tumor control and possible abscopal responses, accompanied by changes in immune cell populations, including antigen-presenting cells and lymphocyte subsets. These observations suggest that C-ion irradiation combined with anti-CTLA-4 therapy may influence the tumor immune microenvironment and contribute to systemic immune responses, although further investigation is required to clarify the underlying mechanisms.

1. 研究の目的とバックグラウンド

放射線が非照射領域に対しても抗腫瘍効果を引き起こすアブスコパル効果は、免疫チェックポイント阻害剤(ICI) と併用することで高率に誘導されることが報告されてきた(Victor, et al. Nature, 2015)。私たちも重粒子線の適応となる骨肉腫に対して、2種類のICIとX線、および炭素線との併用により、アブスコパル効果を増強し、遠隔転移の抑制、生存の延長に寄与することを明らかにしてきた (Takahashi Y, et al, PLoS One, 2017, Takahashi Y, et al. Oncotarget, 2019)。その後、私たちは1種類のICIに絞った骨肉腫マウスモデルにおいても、局所腫瘍を根絶するレベルの大線量照射が単回、寡分割照射にかかわらずアブスコパル効果が誘導され、腫瘍免疫環境の抗腫瘍性への転換、自然免疫を惹起する転換、type I Interferon 経路を介した自然免疫応答が惹起される

ことを明らかにしてきた(Takahashi Y, et al. PLoS One, 2017, Takenaka W, Takahashi Y, et al. Cancers. 2020)。

さらに、私たちは従来ICI 不応性である膵管癌マウスモデルにおいて、光子線は高線量の局所照射でのみアブスコパル効果が得られるのに対し、炭素線ではより低い線量でも寡分割照射とICIの1種である抗CTLA-4抗体(C4)併用で有意なアブスコパル効果が得られることを示す結果を得ている

(Yamamoto J et al. Cancers 2022)。また、フローサイトメトリーにより、腫瘍内の免疫環境が光子線照射後と炭素線照射後では大きく異なることを示唆する結果を得た。特に細胞傷害性T細胞(CTL)の増加、制御性T細胞(Treg)の減少がみられた。また、アブスコパル効果が得られた2.1 Gy x 3 fx + C4において、どの遺伝子群が関与しているかをRNAシーケンスにより評価してきた。

一方、私たちは、より臨床病態を反映した骨肉腫同所移植モデルを確立し、光子線の寡分割照射により樹状細胞やCTLの増加が認められる一方で、Tregも増加するなど、免疫活性化と抑制が共存する複雑な腫瘍免疫微小環境が形成されることを示唆する結果を得ている。

以上の結果を受け、炭素線での検討を進めているところである。

表 1. これまでに得られている膵管癌マウスモデルにおける局所及びアブスコパル効果の解析結果並びに非照射腫瘍における免疫微小環境の解析概要

	治療群	局所効果	アブスコパル効果	非照射腫瘍内免疫環境
炭素線	C4			基準
	4.1 Gy x 3回 + C4	◎	○	CTL: ↑↑ CTL/Treg : ↑
	8.2 Gy + C4	○	○	CTL: → CTL/Treg : ↑↑
	2.1 Gy x 3回 + C4	○	○	CTL: ↑ CTL/Treg : ↑
	5.1 Gy + C4	○	△	CTL: → CTL/Treg : →

1. 今年度の照射実験

前期は RNA シーケンスの解析を行うためにマシンタイムを取得せず、後期に3日連続の照射の機会をいただき、以下の検討を行った。

① 膵管癌マウスモデルを用いた検討

マウス膵管癌細胞 (Pan02) を C57BL/6 マウスの両脚皮下に移植し、片脚に高線量単回 (8.2 Gy) 及び寡分割照射 (4.1 Gy x 3 回)、並びに中線量の単回 (5.1 Gy) 及び寡分割照射 (2.1 Gy x 3 回) を照射した。また、最初の照射日及びその3日後、6日後に C4 を投与した。治療終了後にフローサイトメトリーでこれまでみていなかったマクロファージの解析を行った。また、CD8+ T 細胞の depletion 抗体を投与し、アブスコパル効果が消失するかどうかを検討した。並行して、RNA シーケンスにより C4 群に対し 2.1Gy + C4 群で著増している遺伝子のうち大きく変化している遺伝子の予後情報を公共データベース The Cancer Genome Atlas (TCGA)を用いて解析した。

② 骨肉腫同所移植モデルを用いた検討

マウス骨肉腫細胞 (LM8) を C3H マウスの片側下腿骨中に同所移植し、反対側の脚に皮下移植をした。同所移植側の脚だけに、3日連続の寡分割照射 (4 Gy x 3 回) を行った。C4 併用群は、これまでと同様に C4 を初回照射時に最初の投与を行い、以降3日おきに合計3回投与した。同所移植腫瘍及び非照射皮下腫瘍の体積を追跡した。また、フローサイトメトリーでマクロファージ、抗原提示細胞、CTL、Treg の解析を行った。さらに、RNA シーケンスを行い、C4 群と併用群で異なる遺伝子群について詳細に検討した。

いずれも 290 MeV 炭素線を用い、SOBP 中心にマウスの腫瘍前面を配置して照射した。

2. 今年度の研究成果と解析結果

今年度の実験により以下のような知見を得た。

① 膵管癌マウスモデルを用いた検討

- 寡分割照射により、腫瘍抑制性の M1 マクロファージと腫瘍促進性の M2 マクロファージとの比(M1/M2 比)が高値を示した。また、昨年度までに得られた寡分割照射により CTL/Treg 比の上昇と合わせて考えると、寡分割により腫瘍免疫環境は抗腫瘍性に再構築されている可能性が示唆されている。
- 実際に、CD8+ T 細胞を depletion した結果、2.1 Gy x 3 + C4 で得られていたアブスコパル効果が消失していることが確認され、CD8+ T 細胞の関与が示唆された。
- RNA シーケンスによる Gene Set Enrichment Analysis (GSEA)において、C4 単独に対し 2.1 Gy +C4 炭素線寡分割照射により、照射腫瘍・非照射腫瘍の双方で腫瘍免疫応答を惹起させる関連遺伝子群が上昇していた (表 2)。そのうち、Myogenesis に関連するある遺伝子 A が、2.1 Gy x 3 + C4 で C4 単独群と比べて著増しており (図 1)、この遺伝子を公共データベース TCGA を利用して解析したところ、膵癌特異的

に予後に影響している因子であることがわかった。しかし、この遺伝子とがんとのかかわりはほとんど分かっておらず、現在、この遺伝子 A の過剰発現株及びノックアウト細胞の樹立に着手している。さらに、個別遺伝子をみても、2.1 Gy x 3 + C4 で C4 単独群と比べて NK 細胞、細胞傷害性 T 細胞、M1 マクロファージ、抗腫瘍性サイトカイン、抗原提示に関する遺伝子の増加が確認され、フローサイトメトリーでも一部確認されている。一方で、逆に腫瘍促進性の腫瘍免疫環境や因子が誘導されることも明らかになりつつある。このことは、これまで私たちは代表的な ICI と炭素線照射の併用に着目してきたが、炭素線照射後の経時的に標的となりえる因子が異なる可能性を示唆しており、今後検討を進める予定である。

② 骨肉腫同所移植モデルを用いた検討

- 同所移植腫瘍において、炭素線照射により著明な抗腫瘍効果が、対側非照射皮下腫瘍でもアブスコパル効果がみられた。
- フローサイトメトリーにより、4 Gy x 3 + C4 治療で、C4 単独に比べ、CD103+樹状細胞上に発現する MHC-II 抗原提示に重要な役割を果たす CD74 が増加していた。
- RNA シーケンスの single-sample Gene Set Enrichment Analysis により、併用群では、CD8+T 細胞、NK 細胞、樹状細胞、M1 マクロファージのスコアが他の群と比較して高く、Treg は低スコアを維持していた。

以上より、炭素線と C4 の併用は抗腫瘍性に腫瘍内微小環境を再構築する可能性が示唆された。

表 2. Gene Set Enrichment analysis (GSEA)の結果。2.1Gy x 3+C4 vs C4 でも異なる遺伝子群の Top5。

Irradiated tumors	Unirradiated tumors
Myogenesis	Myogenesis
KRAS_SIGNALING_DN	INFLAMMATORY_RESPONSE
ALLOGRAFT_REJECTION	INTERFERON_GAMMA_RESPONSE
OXIDATIVE_PHOSPHORYLATION	MYC_TARGETS_V1
INFLAMMATORY_RESPONSE	IL6_JAK_STAT3_SIGNALING

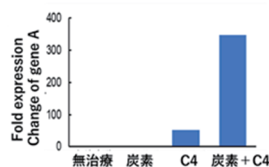


図 1. 遺伝子 A の発現量の変化

- 大阪大学大学院医学系研究科 生体物理工学講座
- 大阪大学大学院医学系研究科 放射線治療学教室
- QST 病院 重粒子線治療研究

25HJ110 研究業績一覧

(査読付き原著論文)

1. Ayaka Okuuchi, Shohei Katsuki, Kazumasa Minami, Wataru Takenaka, Shotaro Tatekawa, Keisuke Tamari, Yoriko Ibuki, Yoshinosuke Hamada, Masahiko Koizumi, Kazuhiko Ogawa, Yutaka Takahashi, Triple Combination Therapy using Hyperthermia, Radiation, and Immune Checkpoint Inhibitor Enhances Local and Abscopal Effects in Murine Pancreatic Cancer Model, NanoBiomedicine, 17(1), 1-8, 2025

(学会及び研究会口頭又はポスター発表等)

1. 奥内絢香, 勝木翔平, 皆巳和賢, 津田朱琳, 武島嗣英, 村上智哉, 武中渉, 立川章太郎, 玉利慶介, 小泉雅彦, 小川和彦, 高橋豊、アブスコパル効果は中線量炭素イオン線の分割照射と抗 CTLA-4 抗体の併用によって誘導される、日本がん転移学会学術集会・総会、兵庫、令和7年6月19日(口頭発表)
2. 奥内絢香, 勝木翔平, 皆巳和賢, 津田朱琳, 武島嗣英, 村上智哉, 武中渉, 立川章太郎, 玉利慶介, 小泉雅彦, 小川和彦, 高橋豊、中線量炭素イオン線寡分割照射と抗 CTLA-4 抗体の併用による腫瘍微小環境の変化の検討、日本放射線腫瘍学会第38回学術大会、東京、令和7年11月27日(ポスター発表、優秀演題賞受賞)
3. 奥内絢香, 勝木翔平, 津田朱琳, 皆巳和賢, 武島嗣英, 丁源健, 村上智哉, 山口穂乃香, 武中渉, 立川章太郎, 玉利慶介, 小泉雅彦, 小川和彦, 高橋豊、中線量炭素イオン線寡分割照射と抗 CTLA-4 抗体の併用による腫瘍微小環境の変化の検討、第3回がんプロ研究シンポジウム、大阪、令和8年2月7日(ポスター発表、ポスター部門優秀演題賞受賞)
4. (招待口演) 勝木翔平. アブスコパル効果誘導を目指した放射線免疫療法の最適化. 2025年 第1回 医療放射線技術研究会. 2025年7月12日
5. 勝木翔平. アブスコパル効果誘導を目指した放射線治療法の解明. 第27回横断的腫瘍フォーラム. 2025年7月29日

(その他：総説)

なし

(学位論文)

なし

光子線と重粒子線の抗腫瘍免疫応答の比較
Comparison of Antitumor Immune Responses Induced
by Photon and Carbon Ion Radiotherapy

(25HJ111)

武島 嗣英^a

T. Takeshima^a

Abstract

Radiotherapy suppresses tumor growth through direct cytotoxicity and induction of antitumor immune responses. We previously showed that carbon-ion (C-ion) irradiation depends more on CD8⁺ T cells than X-ray irradiation. In our prior BBRC study, we derived an *in vivo* RBE of 1.24 based on tumor growth delay in B16F10-OVA tumor-bearing mice. In this study, we examined whether this dose ratio yields comparable tumor growth across different dose levels. Tumors were irradiated with X-rays (5, 8, or 10 Gy) or corresponding C-ion doses (4.03, 6.45, or 8.06 Gy), and tumor growth was monitored over time. At 8 Gy-equivalent doses, tumor growth patterns varied across independent experiments and did not consistently match between modalities. At 5 Gy- and 10 Gy-equivalent doses, tumor growth responses also differed between X-rays and C-ions. These results indicate that tumor growth-based RBE depends on dose and experimental conditions and does not provide a consistent equivalence across dose levels. This finding highlights the need for dose-specific evaluation of tumor growth before comparing immune responses between radiation modalities.

1. 研究の目的とバックグラウンド

放射線治療は DNA 損傷による死細胞体の増加に加え、免疫反応を介して腫瘍増殖抑制に関与する。申請者はこれまでに、炭素イオン線照射が X 線照射と比較して CD8 陽性 T 細胞への依存度が高いことを示した。

この比較は、腫瘍体積変化が同程度となる線量条件を前提としている。申請者の先行研究 (BBRC 2024) では、B16F10-OVA 担癌マウスの腫瘍増殖遅延に基づき、X 線と炭素イオン線の *in vivo* RBE を 1.24 と算出した。この値は免疫反応そのものを指標として算出した RBE ではなく、腫瘍体積変化に基づく RBE である。

しかし、腫瘍増殖抑制は線量に依存して変化するため、単一の線量比で異なる線質を比較する方法には限界がある。本研究では、先行研究で導出した RBE=1.24 に基づく線量設定を再検証し、腫瘍増殖抑制の一致条件が線量によって変化するかを明らかにする。

2. 昨年度までに得られている結果

B16F10-OVA 担癌マウスを用いた解析で、X 線および炭素イオン線照射後の腫瘍増殖曲線を比較した。さらに、抗 CD8 抗体投与により CD8 陽性 T 細胞を除去した条件で同様の解析を行った。

その結果、両線質とも CD8 陽性 T 細胞の存在下で腫瘍増殖が抑制された。炭素イオン線照射群では、CD8 陽性 T 細胞除去による腫瘍増殖の促進が X 線照射群より大きく、炭素イオン線照射では CD8 陽性 T 細胞の寄与が大きいことを示した。

この比較は、腫瘍体積変化が同程度となる線量条件を前提として行った。先行研究 (BBRC 2024) では、腫瘍が一定体積に到達するまでの日数を指標として X 線と炭素イオン線を比較し、腫瘍増殖遅延に基づく *in vivo* RBE として 1.24 を算出した。

3. 照射対象物の種類と数、照射ビームの種類

照射対象は、C57BL/6 マウスに移植したマウス肺がん細胞株 B16-OVA 由来の腫瘍塊である。この細胞株はモデル抗原である卵白アルブミン (OVA) を発現しており、がん特異的免疫応答の解析に適している。照射には 290 MeV/n の炭素イオン線 (SOBP 6 cm) を使用した。

4. 今年度の研究成果と解析結果

まず、RBE=1.24 に基づく 1 点の線量として、X 線 8 Gy と炭素イオン線 6.45 Gy を比較した。B16F10-OVA 担癌マウスに照射し、独立した 3 回の実験で腫瘍体積の推移を評価した。その結果、各実験で両群の腫瘍体積の推移は完全には一致せず、X 線群と炭素イオン線群の腫瘍体積の大小関係は実験ごとに異なった (Fig. 1)。

次に、線量を変えて、X 線 5 Gy と炭素イオン線 4.03 Gy、X 線 10 Gy と炭素イオン線 8.06 Gy を比較した (Fig. 2)。各条件につき 1 回の実験を行った。X 線 5 Gy と炭素イオン線 4.03 Gy では、照射後後期に X 線群で腫瘍体積が大きく、炭素イオン線群で腫瘍体積の増加が抑えられた。X 線 10 Gy と炭素イオン線 8.06 Gy では、両群の腫瘍体積の推移は全

期間を通して近い値を示した。

以上の結果から、RBE=1.24 は特定の実験条件では X 線と炭素イオン線の腫瘍体積変化を近づけるが、その関係は線量および実験ごとに変動した。したがって、RBE=1.24 の有効性を否定するのではなく、その適用範囲を明確にする必要がある。

本結果は、X 線と炭素イオン線の生体内反応を比較する際、単一の RBE 値だけで線量を定めるのではなく、各線量で腫瘍体積変化を確認した上で免疫反応を解析する必要性を示す。

今後は、腫瘍体積変化に近い条件を各線量で個別に設定し、その条件で CD8 陽性 T 細胞の関与を評価する。具体的には、抗 CD8 抗体を用いた CD8 陽性 T 細胞除去実験を各線量で実施し、腫瘍体積変化への寄与を比較する。また、腫瘍組織を回収し、CD8 陽性 T 細胞の存在数および腫瘍内分布をフローサイトメトリーおよび組織解析で評価する。これにより、同程度の腫瘍体積変化が得られる条件であっても、線質によって免疫反応の関与が異なるかを明らかにする。

a QST 病院 重粒子線治療研究部

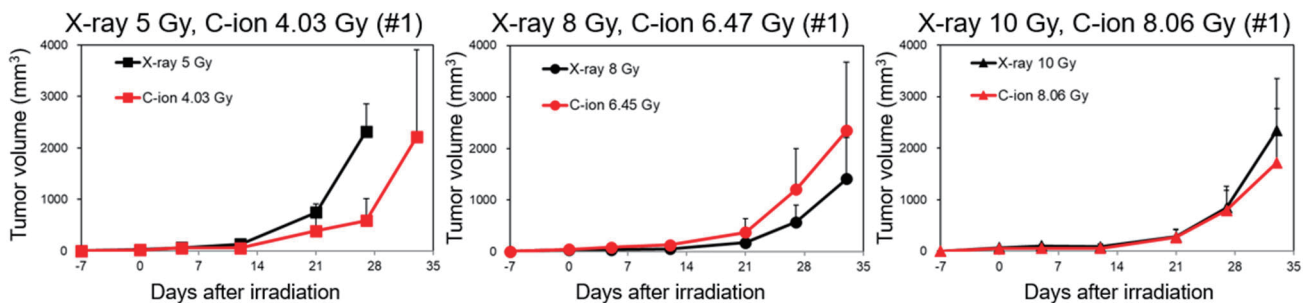


Fig. 1. RBE=1.24 に基づく X 線 8 Gy と炭素イオン線 6.45 Gy 照射後の腫瘍体積の推移 (独立 3 実験)。

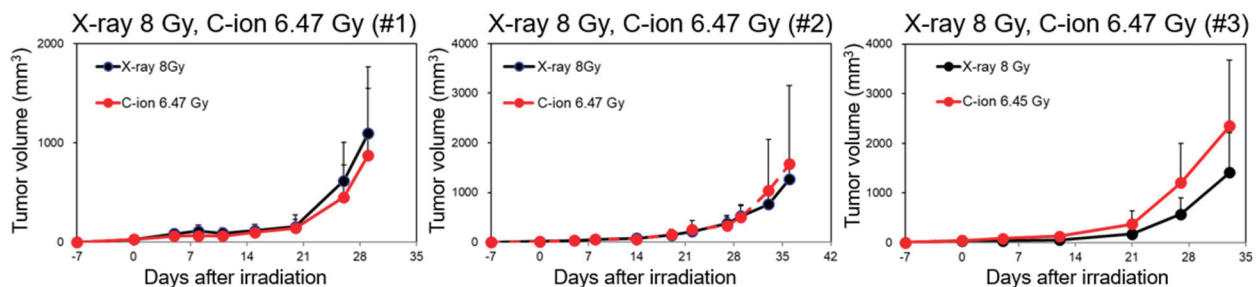


Fig. 2. RBE=1.24 に基づく複数線量 (X 線 5、8、10 Gy と炭素イオン線 4.03、6.45、8.06 Gy) 照射後の腫瘍体積の推移。

低酸素細胞に関する粒子線基礎生物研究
Basic biological research on hypoxic cells using particle beams
(25HJ407)

平山亮一^a、岡部凜^{a,b}、劉 翠華^a、坂本裕貴^a、相場俊樹^a、實川佳那^{a,c}、
土居主尚^a、長谷川純崇^a

Ryoichi Hirayama^a, Rin Okabe^{a,b}, Cuihua Liu^a, Yuki Sakamoto^a, Toshiki Aiba^a, Kana Jitsukawa^{a,c},
Kazutaka Doi^a, Sumitaka Hasegawa^a

Abstract

We have analyzed the biological effects of heavy ion beams in mammalian cultured cells under oxygen and anoxic conditions, classified by radiation actions (direct and indirect actions), and clarified the mechanism of the large RBE (relative biological effectiveness) and small OER (oxygen enhancement ratio) of heavy ion beams from the perspectives of radiation chemistry and biology, using CHO cells.

This year, we investigated the biological effects of oxic and hypoxic conditions following various types of radiation exposure. Our initial focus was on changes in intracellular ATP levels. Hypoxic cells were irradiated, and ATP was extracted 40 hours after irradiation. After irradiation, the cells were cultured under either normoxic (air; 21% O₂) or hypoxic (0% O₂) conditions.

For X-ray irradiation, no dose-dependent changes in ATP levels were observed, and the oxygen environment during post-irradiation culture had no measurable effect. In contrast, high-LET heavy-ion irradiation resulted in increased ATP levels in a dose-dependent manner. Furthermore, cells cultured under normoxic condition exhibited higher intracellular ATP levels than those cultured under hypoxic condition.

1. 研究の目的とバックグラウンド

研究代表者はこれまで、有酸素・無酸素条件下における哺乳動物培養細胞の重粒子線生物効果を、放射線作用別(直接作用・間接作用)に解析してきた。また、DNA 修復欠損細胞を用いた研究により、重粒子線が示す大きな RBE(生物学的効果比)や小さな OER(酸素増感比)のメカニズムについて、放射線化学的および放射線生物学的観点から明らかにしてきた。生物効果は LET に依存して変化するが、同一 LET であっても粒子種の違いにより生物効果が異なることが報告されており、その解析も進めている。

これらの知見を踏まえ、前課題では扱っていなかった新たな低酸素環境に関する課題に取り組み、放射線照射後の酸素環境が生物応答に及ぼす影響をさらに解明する予定である。

2. 昨年度までに得られている結果

これまで、低酸素ガスを用いて急性低酸素環境を作成し、その条件下で重粒子線照射を行った際の CHO 細胞における初期 DSB 量、照射 5 時間後の残存 DSB 量、微小核形成頻度、さらに細胞生存率を評価してきた。その結果、放射線照射時に酸素が存在する場

合には、酸素効果(酸素による放射線増感効果)により、初期 DSB 量、修復後の残存 DSB 量、微小核形成頻度、細胞感受性がいずれも増加する傾向があることを明らかにした。

また、慢性低酸素環境における重粒子線の生物応答を明らかにするため、1%酸素濃度下で照射 2 日前から細胞培養を開始し、照射直前に大気環境(21%酸素)へ酸素濃度を戻したうえで、炭素線照射(14 keV/μm)を行った。その結果、大気環境下で培養・照射した場合と比較しても、細胞生存率曲線の形状はほぼ一致していた。このことから、2 日間の慢性低酸素ストレスを受けた培養細胞であっても、照射直前に細胞内酸素濃度を大気レベルに回復させれば、炭素線照射において慢性低酸素特異的な細胞感受性は示されないことが明らかとなった。

放射線照射後の培養酸素環境を変化させることで、照射時の酸素濃度や線量が同じであっても、生物効果が大きく変化するを明らかにした。具体的には、低酸素環境(0%酸素)で X 線照射を行い、その後大気環境(21%酸素)へ戻した群と、照射後も低酸素環境(0%酸素)で培養を継続した群について微小核形成を比較したところ、いずれの培養条件でも線量依存的な微小核形成頻度に差は認められなかった。一方、高 LET の鉄線照射(200 keV/μm)では、照射後に大気環境下で培養した群の方が、低酸素環境で培養を継続した群よりも明らかに高い微小核形成頻度を示した。この傾向はアルゴン線(90 keV/μm)を用いた実験でも同様に観察され、高 LET 放射線に特有の生物応答であると考えられる。

これらの結果を総合すると、

- 1) 照射時に存在する酸素は低 LET 放射線の生物効果を増大させる一方で、
- 2) 照射後の再酸素化は高 LET 放射線の生物効果を増強する、

というように、LET の違いによって酸素が与える放射線生物効果の様式が全く異なることが明らかとなった。

これは、放射線線質と生物効果に対する酸素の役割が、時間経過とともに複雑に変化することを示唆している。

3. 今年度の研究成果と解析結果

本課題は今年度が 1 年目にあたり、放射線照射後の培養酸素環境の違いに着目し、細胞内 ATP 量の変化を LET 依存的に解析した。照射後の酸素の影響を評

価するため、放射線照射はすべて低酸素環境(0%酸素)に置換した CHO 細胞を用いて実施した。照射線種として X 線、炭素線(14 keV/μm)、アルゴン線(90 keV/μm)、鉄線(200 keV/μm)を用いた。

照射後、サンプルを 2 群に分け、1 つは大気環境下で培養する群[H-O]、もう 1 つは低酸素環境を維持したまま培養する群[H-H]とし、40 時間後に細胞を回収して細胞内 ATP 量を定量した(図 1)。

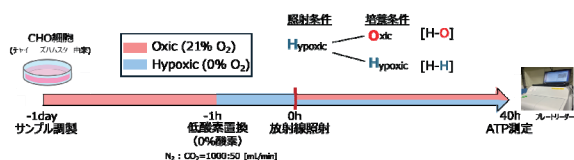


図 1 低酸素実験の流れ

X 線照射では、線量を 3、6、18 Gy と増加させると細胞内 ATP 量はわずかに増加する傾向を示したものの、統計的な有意差は認められなかった。

照射後の酸素濃度を変えて培養を行った群同士を比較しても有意な違いは現れなかった。炭素線照射では線量増加に伴う ATP 量の増加は有意に観察されなかったが、12 および 18 Gy 照射の点で、低酸素下培養[H-H]に比べ、大気下培養[H-O]の方が ATP 量の有意な増加がわかった。アルゴン照射や鉄線照射では非照射サンプルに比べ、照射サンプルでは有意に ATP 量が増加しており、低酸素下培養[H-H]に比べ明らかに大気下培養[H-O]では ATP 量が増加していることがわかった。これらの結果をまとめると、LET が増加するに従って細胞内 ATP 量は線量依存的に増加し、さらに酸素依存性が強くなることがわかった。今後は、低酸素下培養で LET 依存的に増加した微小核形成頻度と ATP 量の関連性について調査する予定である。

-
- a. 量子科学技術研究開発機構(QST)
 - b. 東邦大学(Toho Univ.)
 - c. 東海大学(Tokai Univ.)

研究成果一覧
25HJ407 平山亮一

(1) 原著論文

(2) 国際研究集会などの Proceedings

(3) 学会及び研究会の口頭発表、ポスター発表

(口頭発表)

1. 岡部凜、相場俊樹、坂本裕貴、劉翠華、土居主尚、實川佳那、後藤勝、平山亮一：細胞内 ATP 動態における高 LET 放射線特異的効果の解明：培養酸素環境に着目した生物影響評価、第 26 回菅原・大西記念癌治療増感シンポジウム、神戸、2026.01.30
2. 平山亮一、劉翠華、實川佳那、岡部凜、土居主尚、坂本裕貴、相場俊樹、長谷川純崇：放射線作用に着目した新規放射線治療へのアプローチ、第 5 回日本量子医科学会、福岡、2025.11.15
3. 岡部凜、平山亮一、相場俊樹、坂本裕貴、劉翠華、實川佳那、後藤勝：X 線照射後の ATP 量に対する酸素環境および DNA 二本鎖切断修復経路の影響、第 62 回アイソトープ・放射線研究発表会、東京、2025.07.07
4. 平山亮一：放射線初期過程に基づく生物研究、日本放射線影響学会令和 7 年度キャッチアップセミナー、東京、2025.06.14 (招待講演)

(ポスター発表)

1. Ryoichi Hirayama, Atsushi Ito, Yu Sanada, Yoshitaka Matsumoto, Cuihua Liu, Jitsukawa Kana, Rin Okabe, Yuki Sakamoto, Toshiki Aiba, Miho Noguchi, Kazutaka Doi, Sumitaka Hasegawa: Relationship between radiation actions of heavy-ions and relative biological effectiveness (RBE) for cell killing、日本放射線影響学会第 68 回大会、広島、2025.10.25
2. Cuihua Liu, Hirokazu Hirakawa, Ryoichi Hirayama: Hypoxia conditions reduced the frequency of homologous recombination in RaDR mouse kidney primary culture cells irradiated by x-rays or carbon ions、日本放射線影響学会第 68 回大会、広島、2025.10.25
3. Rin Okabe, Toshiki Aiba, Yuki Sakamoto, Cuihua Liu, Kana Jitsukawa, Masaru Goto, Ryoichi Hirayama: Effects of radiation quality and oxygen environment in cell culture on intracellular ATP levels after irradiation、日本放射線影響学会第 68 回大会、広島、2025.10.25

(4) その他 (解説、単行本など) 、

(5) 学位論文 (博士論文、修士論文、卒業研究)

重粒子線誘発の DNA 損傷を指標としたがん治療線量の修飾薬剤の探索 (25HJ401)

DNA Damage-Based Dose Modifiers for Heavy-Ion Therapy (25HJ401)

余語克紀^a、劉翠華^b、相場俊樹^b、坂本裕貴^b、平山亮一^b
K. Yogo^a, C. Liu^b, T. Aiba^b, Y. Sakamoto^b, R. Hirayama^b

Abstract

D-methionine (D-Met), a dextrorotatory isoform of the amino acid L-methionine (L-Met), can prevent oral mucositis and salivary hypofunction in mice exposed to radiation. With the aim of identifying dose-modifying agents for heavy-ion therapy, the authors have investigated the effects of selected amino acids and amino acid derivatives which might have radioprotective functions against therapeutic carbon ions. In the present study, we evaluated representative candidates including selenomethionine (SeMet), a selenium (Se) analogue of methionine. Radiation is known to cause injury to normal tissue by triggering DNA damage in cells. Thus, this study investigated whether candidate agents modulate radiation-induced events at the DNA level. We selected plasmid DNA assays to examine this effect in vitro, as these assays are highly sensitive and allow easy detection of DNA damage. Samples of supercoiled pBR322 plasmid DNA mixed with SeMet were prepared and irradiated with a Bragg peak beam of carbon ions (~290 MeV/u) with a 6 cm spread. DNA strand breaks were detected by the change in the form of the plasmid and were subsequently quantified by agarose gel electrophoresis. We found that SeMet yielded approximately equivalent protection from carbon-ion-induced DNA damage as L-Met. These findings suggest that SeMet is a promising candidate as a dose-modifying agent in heavy-ion therapy.

1. 研究の目的とバックグラウンド

放射線治療は、高齢化が進むわが国のがん治療で有効であり、照射技術の高精度化とともに高線量を投与できるようになった。しかし、腫瘍への投与線量は、いぜん正常組織への障害が限界となり、治療効果は必ずしも十分でなく、臨床使用に耐えうる正常組織の放射線防護剤の開発が待たれる。我々は副作用の少ない放射線防護剤としてアミノ酸が有用ではないかと考えた。

とくに D-メチオニンは低 LET 放射線照射または白金含有抗癌剤による治療の過程で正常組織に生じる粘膜炎・聴器障害などの予防または軽減効

果が報告されている。さらに、D-メチオニンが重粒子線照射によって発症するマウスの口腔粘膜・唾液腺障害に対して有効な放射線防護効果を示すとの報告がある。しかし、放射線防護効果の作用機序は不明であり、先行研究(18J413 課題)では、重粒子線誘発の DNA 損傷に対する D-メチオニンの保護効果の検討を行った。本研究では、さらに研究を発展させ、重粒子線誘発の DNA 損傷を指標として、治療線量を修飾可能な薬剤の探索を目的とする。

2. 昨年度までに得られている結果

昨年度から、メチオニンの誘導体であるセレノメチオニン(SeMet)に着目し、予備実験を始めた。セレノメチオニンは、メチオニンの側鎖にある硫黄(S)の代わりにセレンウム(Se)を持つメチオニンである。天然由来のアミノ酸であり抗酸化作用を示す。

放射線保護効果を、重粒子線による DNA 分子の切断能力の違いとして定量化し、比較した。プラスミド DNA と SeMet を混合したバッファー溶液を 0.5ml エッペンチューブに封入して重粒子線照射を行った。効果判定は、放射線によるプラスミド DNA の form 変化を DNA 電気泳動により分離し定量化して行った。DNA 二本鎖切断(DSB)は直線状、一本鎖切断(SSB)は開いた環状、切断なしは超らせん状 DNA のバンドとなるため、照射前後のそれぞれの割合を算出した。

重粒子線を照射したプラスミド DNA の電気泳動パターンは、SeMet の添加あり/なしで変化した。線量増加とともに超らせん状 DNA の割合が減り、DNA 一本鎖損傷が増加したが、SeMet の添加で抑えられた。また、線量増加とともに直線状 DNA の割合が増え、DNA 二本鎖損傷が増加したが、SeMet の添加で同様に抑えられた。同様の結果は、PBS 溶液中でも再現した。

DSB および SSB に対する protection factor の結果から、SeMet は、Met と同程度の放射線防護効果を示した。重粒子線誘発の DNA 損傷に対して、セレノメチオニンの保護効果は、メチオニンと同程度であり、有望な放射線防護剤の候補と考えられる。

3. 今年度の研究内容

本年度は、SeMet の放射線保護効果のデータを

固めるため、n(データ数)を増やす追加実験を行った。

照射条件は、HIMAC: 290MeV/u, 6cm-SOBP Middle, LET 50keV/ μ m で実施した。バッファー溶液は、10 mM Tris, pH 7.5, 1 mM EDTA (TE)、および、リン酸緩衝溶液(PBS, pH 7.5)を用いた。SeMet 濃度は、TE の場合;17 mM、PBS の場合;0.17 mM とした。

照射線量に対して、超らせん状 DNA の割合の変化、および直線状 DNA の割合の変化のグラフを作成した。

4. 今年度の研究成果と解析結果

昨年度と同じ条件で実験を行ったところ、データの再現性を確認ができた。またデータ数の追加を行うことで、実験結果にエラーバーを追加した。線量増加とともに超らせん状 DNA の割合が減り、DNA 一本鎖損傷が増加したが、SeMet の添加で抑えられた(Fig.1 上)。また、線量増加とともに直線状 DNA の割合が増え、DNA 二本鎖損傷が増

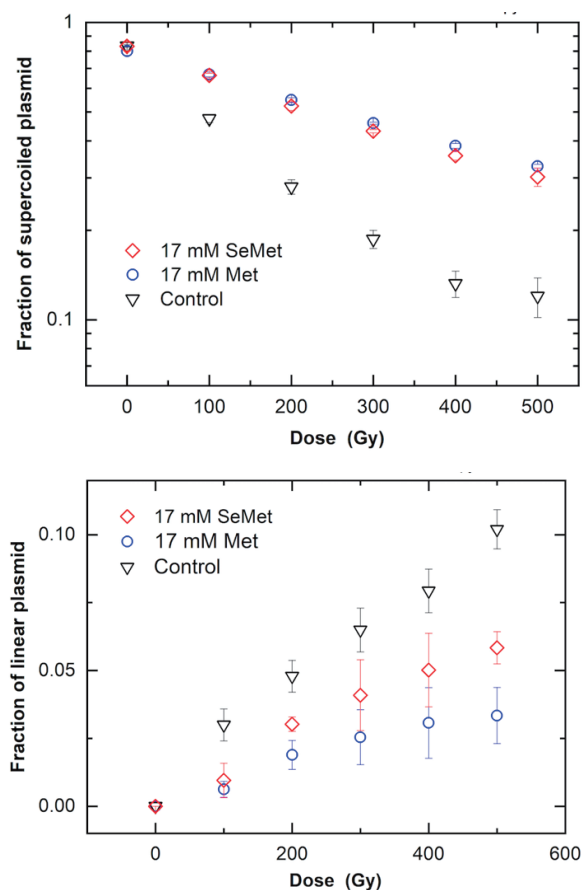


Figure 1. Damage yields for plasmid DNA irradiated in the presence of selenomethionine (SeMet) in TE buffer. Upper panel: Loss of supercoiled plasmid as a function of radiation dose. Lower panel: Increase in linear plasmid as a function of radiation dose.

加したが、SeMet の添加で同様に抑えられた(Fig.

1 下)。同様の結果は、PBS 溶液中でも得られた(Fig.2)。

重粒子線誘発の DNA 損傷に対して、セレノメチオニンの保護効果は、メチオニンよりも小さいものの、有望な線量修飾薬剤(dose modifier)の有望な候補と考えられる。

5. まとめ

今年度は、メチオニン誘導体であるセレノメチオニンの放射線保護効果のデータを固める実験を行った。重粒子線誘発の DNA 損傷に対して、セレノメチオニンの保護効果はメチオニンよりも小さいものの、線量修飾薬剤(dose modifier)の有望な候補と考えられる。

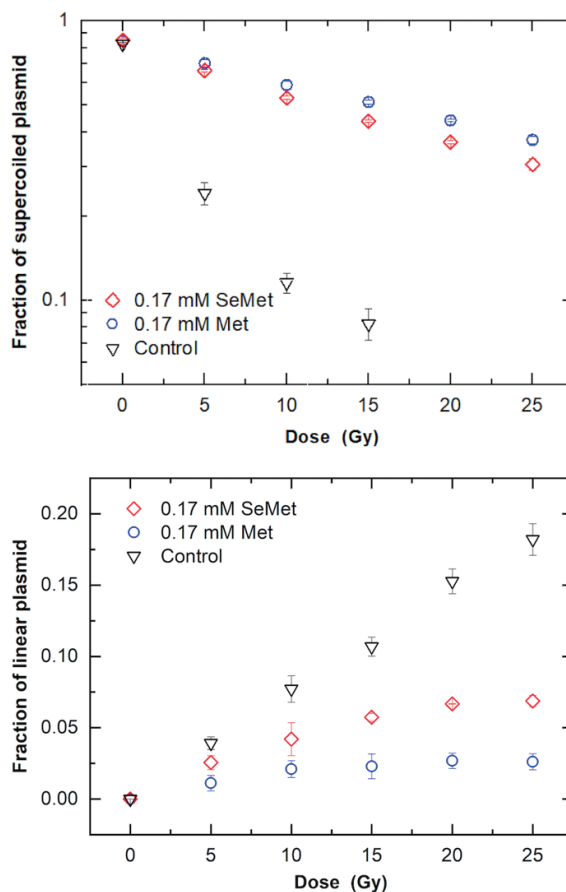


Figure 2. Damage yields for plasmid DNA irradiated in the presence of selenomethionine (SeMet) in PBS buffer. Upper panel: Loss of supercoiled plasmid as a function of radiation dose. Lower panel: Increase in linear plasmid as a function of radiation dose.

- a. 名古屋大学大学院医学系研究科
- b. 量子科学技術研究開発機構 QST 病院 重粒子線治療研究部

研究成果一覧

重粒子線誘発の DNA 損傷を指標としたがん治療線量の修飾薬剤の探索
(25HJ401, 余語克紀)

なし

「重粒子線を用いた根治的不整脈治療の開発」
— 心臓放射線照射による心不全の新規治療開発に向けた基礎的研究 —
Basic research for the development of new treatment of heart failure by cardiac irradiation
(25HJ201)

網野真理^{1,2}, 下川卓志³, 中林渉¹, 河邊昇⁴, 田中幸恵⁴, 吉岡公一郎¹
Mari Amino^{1,2}, Takashi Shimokawa³, Wataru Nakabashi¹, Noboru Kawabe⁴, Sachie Tanaka⁴, Kiocihiro Yoshioka¹

Abstract

Background) Cardiac stereotactic body radiotherapy (Cardiac-SBRT), adapted from stereotactic radiotherapy used in oncology, is a minimally invasive treatment for refractory ventricular tachycardia. In the acute phase, it exerts antiarrhythmic effects without inducing scar formation and does not impair cardiac function, suggesting a unique mechanism of action.

Aim) In this study, we tested the hypothesis that its therapeutic effects are not due to direct electrophysiological suppression, but rather result from functional substrate modification of the failing heart, leading to stabilization of intercellular coupling.

Results) In a rabbit model of heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF), carbon ion irradiation improved mitochondrial function and restored sympathetic nerve activity, without evidence of increased fibrosis or apoptosis. In a doxorubicin-induced heart failure with reduced ejection fraction (HFrEF) model, irradiation improved left ventricular ejection fraction and reduced late potentials. These changes were accompanied by recovery of connexin 43 (Cx43) and tyrosine hydroxylase (TH) expression, as well as improvements in genes related to electrical coupling, extracellular matrix, and contractile function. Furthermore, in a parallel investigator-initiated clinical study of eight patients, Cardiac-SBRT not only reduced arrhythmic burden but also improved left ventricular synchrony.

Discussion and Conclusion) Collectively, these findings suggest that cardiac radiotherapy induces functional reverse remodeling through multidimensional modulation of electrical coupling, autonomic function, metabolism, and contractility, rather than through tissue destruction. This concept extends the role of Cardiac-SBRT beyond arrhythmia control and highlights its potential application in heart failure therapy.

1. 研究の目的とバックグラウンド

【背景】がんに対する定位放射線治療を利用した心臓放射線治療 (Cardiac-SBRT) は難治性心室頻拍に対する最新の低侵襲治療法である。瘢痕形成による伝導ブロックを伴わずに抗不整脈効果が発揮され、中長期フォローにおいても収縮能低下が認められないことから、その基礎的機序は未解明な部分が多い。

【目的】本研究では、「放射線は電気生理学的抑制作用そのものに起因した抗不整脈作用ではなく、“心不全”という基礎病態に対する機能的な基質修飾が細胞間結合の安定化をもたらす」との仮説を検証する。

2. 昨年度までに得られている結果

今回は本研究 (3 年間) の最終年度であった。昨年度の研究内容は以下である。

【解析 1】ウサギ (NZW) を用いて高コレステロール (HC) 誘発交感神経過剰増生モデル (駆出率保持型心不全: HFpEF 様) を作成し、炭素線 15 Gy による心臓標的単回照射 (THIR) 後に、¹⁸F-FEDAC-PET によりミトコンドリア機能、¹⁸F-FMeNER-d2-PET により交感神経機能を評価した。

【解析 2】ウサギを用いてドキソルビシン (DOX) 誘発心筋障害モデル (収縮能低下型心不全: HFrEF 様) を作成し炭素線照射後に、心エコー、加算平均心電図による生体機能評価および、血液検査と RNA シークエンスによる遺伝子発現解析、元素解析を実施した。いずれのモデルも心筋組織染色 (シリウスレッド [SR], TUNEL, 心筋ギャップ結合 Cx43, 成熟交感神経 TH) による形態評価を行った。

血液検査、心電図検査、心臓超音波検査、遺伝子クラスター解析、組織解析の結果は昨年 の報告書に記載した通りである。

【解析 3】 基礎実験と並行して、Cardiac-SBRT を用いた心室頻拍患者の治療を実施した(特定臨床研究)。

3. 今年度の研究内容

昨年に引き続き同一内容であるが、今回で予定した全てのモデル数を終了した。

対象モデル: 体重 3.0-3.5 kg , 3 か月齢の NZW ウサギ(雄)

(1)病態モデルウサギは ADR の静脈注射 0.15mg/kg を週に 1 回, 連続 5 週投与し、心不全モデルを作成する(北山ラベス)。この病態モデル 8 匹のうち 4 匹を重粒子線棟に搬入し、6 日間順化させる。この間毎日観察し体重測定を一度行う。

(2)セボフルランを吸引させて沈静化し、重粒子線照射(THIR)終了までその状態を維持する。

(3)固定台に包帯で仰臥位固定し、照射台にセットアップする。(10~20 分)

(4)炭素線 15Gy(5Gy/min)で胸部から心臓局所に照射する。照射部位以外は真鍮製のコリメーターで遮蔽する。

(5)照射後ケージにて安静側臥位とする。

(6)照射数日後、東海大へ搬出する。

(7)同時期に病態モデルウサギの非照射群(ADR 群)4 匹を東海大学へ直接搬入。

【解析項目】

- 血液検査、心電図、心臓超音波、の経時的評価(照射前、照射後 7 日, 1 か月, 3 か月, 4 か月)。
- 4 か月後の時点で心臓サクリファイシ、免疫染色として、シリウスレッドによる線維化の定量、コネキシン 40/43 (Cx40、Cx43) および交感神経マーカー (growth-associated protein-43: GAP43, tyrosine hydroxylase: TH) を施行する。
- 心筋組織を用いた RNA 解析を実施し、放射線特異的な心筋遺伝子の変化を同定する。

4. 今年度の研究成果と解析結果

【解析 1】 うさぎ HC+THIR 群では¹⁸F-FEDAC 集積分布の生理的分散が軽度回復し、ミトコンドリア機能の部分的改善が示唆された。¹⁸F-FMeNER-PET では交感神経活動の回復と TH 染色による病的神経の再神経支配が確認された(*Heart Rhythm* 2025)。SR 染色および TUNEL 染色では THIR による線維化やアポトーシス増悪

を示唆する所見は乏しかった。

【解析 2】 DOX 群は Control 群と比較して駆出率低下および遅延電位の増悪を認めたが、DOX+THIR 群では両指標の部分的改善が観察された。Cx43 および TH 免疫染色は DOX 群で低値を示したが、THIR 群では回復が得られた。遺伝子発現解析では、DOX 群で電気結合(GJA1)、細胞外基質(COL1A1, THBS4, ACTA2)、収縮(MYH7)関連遺伝子が低下し、THIR は回復方向への変化を誘導した。

【解析 3】 国内最多の 8 症例を実施し、日本循環器学会総会の Late breaking session にて結果を開示し論文発表に至った(*Circ J* 2026 in press)。放射線による抗不整脈効果以外の副次効果として、左室同期性の回復例を認めた。

【考察】

上記結果から炭素線照射は組織破壊によって異常な電気回路を遮断するのではなく、“電気結合、自律神経、代謝、収縮機能”の幅広い領域にまたがる多軸的な機能の基質修飾を介して心機能の再均衡化(functional reverse remodeling)を誘導する可能性がある。本作用は病的心筋における治療効果と、過剰なリモデリングに対する抑制的变化としての双方向性の生理調整機序を示し、心臓放射線治療の新たな概念的基盤を提供する。不整脈治療に留まらず心不全治療への新規応用の可能性を示唆した。

今後の予定

【解析 4】 高崎 QST の協力を得て、心筋オルガノイドを用いた抗腫瘍 / リモデリング関連遺伝子(p58-p21)への修飾を評価している。

- 1) 東海大学循環器内科
- 2) QST 重粒子線治療研究部
- 3) QST 物理工学部・粒子線照射効果研究グループ
- 4) 東海大学生命科学統合支援センター

業績

【論文】

1. Amino M, Shimokawa T, Wakizaka H, Nagai Y, Tsuji AB, Zhang MR, Saito T, Nakabayashi W, Kawabe N, Tanaka S, Kabuki S, Kunieda E, Yoshioka K. Noninvasive imaging reveals cardiac sympathetic reinnervation in pathologic hearts and suppressed norepinephrine transporter function in healthy hearts after carbon ion irradiation in rabbits. *Heart Rhythm*. 2025 Dec;22(12):3277-3288. doi: 10.1016/j.hrthm.2025.06.001. Epub 2025 Jun 6. PMID: 40484161.
2. Shigeto Kabuki, Mari Amino, Etsuo Kunieda, Toshihisa Kuroki, Tsuyoshi Fukuzawa, Akitomo Sugawara, Jun Hashimoto, Akiko Ueda, Ritsushi Kato, Takashi Shimokawa, Shinichiro Mori, Masaru Wakatsuki, Kazuma Iimura, Aika Iijima, Atsuhiko Yagishita, Yuji Ikari, Koichiro Yoshioka. Prospective Clinical Outcomes of Cardiac Stereotactic Body Radiotherapy for Refractory Ventricular Tachycardia: Insights from Dose Distribution in Survivors. *Circ J*. 2026, in press.

【学会発表】

① 心電学関連春季大会

「VT 放射線治療のターゲット決定における心電図の役割」

吉岡公一郎 2025 年 4 月 26 日

② 第 11 回日本心筋症研究会

「肥大型心筋症のエレクトリカルストームに対する最終戦略:体外放射線治療」

網野真理 2025 年 5 月 10 日

③ 第 10 回日本心血管協会(JCVA)学術集会

International Session 「Management of tachyarrhythmias: from basics to clinical practice」

網野真理 2025 年 6 月 28 日

④ 第 24 回神奈川循環器フォーラム

「体外放射線治療による難治性心室頻拍管理の新たな治療パラダイム」

網野真理 2025 年 7 月 12 日

⑤ 第 49 回 成人先天性心疾患カンファレンス

「不整脈に対する体外放射線治療の適応について再考する」

網野真理 2025 年 8 月 7 日

⑥ 第 71 回日本不整脈心電学会学術大会 特別企画(Short Lecture5)

新しい VT 治療: サイバーナイフとライナックを用いた体外放射線照射

「心不全心における交感神経機能に着目した抗不整脈メカニズム」

網野真理 2025 年 11 月 14 日

⑦ The 38th Annual Meeting of the Japanese Society for Radiation Oncology.

A prospective study of thoracic radiation therapy-related cardiac dysfunction in cancer patients.

Mari Amino 2025 年 11 月 29 日

⑧ 第 90 回日本循環器学会 late breaking session

Cardiac Stereotactic Body Radiotherapy as a Novel Treatment for Refractory Ventricular Tachycardia: Promise and Limitations

Mari Amino 2026 年 3 月 20 日

重粒子線による高精度量子メス治療(マイクロサージェリー)技術開発と適応拡大に関する研究
Research for development of microsurgery by high-precision carbon-ion radiotherapy
(25HJ202)

若月優、平山亮一、南本敬史、下條雅文、南久松文晴、田島英朗、Akram Mohammadi、Han Gyu Kang、赤松剛、脇坂秀克、米内俊祐、武居秀行、坂間誠

Masaru Wakatsuki, Ryoichi Hirayama, Takafumi Minamimoto, Masafumi Shimojo, Takeharu Minamihisamatsu, Hideaki Tashima, Akram Mohammadi, Han Gyu Kang, Go Akamatsu, Hidekatsu Wakizaka, Shunsuke Yonai, Hideyuki Takei, Makoto Sakama

Abstract

This study investigated localized carbon-ion irradiation to the rat hippocampus using a custom fixation device that enables precise positional control. In January 2025, rats received carbon-ion irradiation targeted to the hippocampal region, followed by MRI at 2.5 weeks and 3 months post-irradiation. While no remarkable changes were observed at 2.5 weeks, T2-weighted MRI at 3 months revealed high-signal regions that closely corresponded to the planned target volume and to areas of high uptake on PET images obtained immediately after irradiation. Histopathological examination using HE staining demonstrated neuronal fiber loss in regions that matched the MRI high-signal areas, confirming localized tissue damage induced by carbon-ion exposure.

In February 2026, a second experiment was conducted with modified beam geometry to irradiate both the incident-side and contralateral hippocampi. PET imaging immediately after irradiation confirmed successful dose delivery to the contralateral hippocampus. Longitudinal MRI and histopathological evaluations are ongoing to assess temporal progression of tissue alterations.

These findings demonstrate the feasibility of precise hippocampal irradiation in rats and highlight delayed but spatially specific structural alterations following carbon-ion exposure. The established platform will support future studies on dose-response relationships and biological mechanisms underlying heavy-ion-induced brain changes.

1. 研究の目的とバックグラウンド

炭素イオン線治療は、X線よりも線量集中性、生物効果が高く、安全性、有効性の高いがん放射線治療として開発されてきた。2003年から先進医療制度として研究が行われ、これまでに8

疾患が保険収載されているが、統一治療方針に定められた適応以外の疾患に対する適応拡大は見込まれないため、更なる基礎・臨床研究が必要である。

近年、非腫瘍性疾患である脳機能性疾患に対するX線や γ 線を用いた定位放射線治療による破壊術が臨床応用されている。これらの治療では、がん疾患と比べて長期予後が期待されることと同時に高線量の照射が必要なことから、安全性と有効性の両面で炭素イオン線を用いる意義は高いと考えられる。また、微小な標的に対する炭素イオン線の定位照射技術が確立すれば、脳機能性疾患の原因を探索する新たな手段にもなり得る。

本研究は、炭素イオン線によるマイクロサージェリー技術を開発し、以下の研究を主なテーマとして進めている。1) 線量シミュレーションによるインシリコ研究、2) 高精度照合、線量測定技術の開発と生物試料を用いた検証実験、3) てんかん発生モデルを用いた基礎実験と最新の核医学画像による効果判定、を行うことで本研究の有効性を明確化させる。

2. 昨年度までに得られている結果

2-1 照射ポート設計、線量評価：微小照射野の深部線量分布及び側方線量分布を測定する手法を開発すると共に、ラット照射で使用する2mm コリメータを用いた照射場の開発を行った。また、照射方法の検討を行うことにより線量率を2-4 Gy/分から80 Gy/分に改善し、高線量照射実験を実現させた。また位置決め可能な特殊な固定具を開発し、ラットに固定具を埋め込むことにより、照射前にCT及びMRI画像を撮影することにより、照射位置を特定する照射方法を開発した。この照射方法を用いて、海馬に限定した炭素イオン線照射が可能となった。

2-2 線量評価：最適な小照射野炭素イオン線の作成条件を探るため、1mm コリメータを作成し線量分布測定を行った。2mm コリメータを使用した場合と比較して線量率が30%ほど低下し、ビームのエントランスに対するピーク位置の線量比は20%ほど低下した。1mm コリメータでは十分な線量確保が難しく、2mm コリメータが小

照射野の形成に最適であることが分かった。また、生物実験において線量設定のために必要な情報として、2 mm コリメータ使用時の miniBF の厚さと線量率の関係を調べた。

2-3 PET 撮像：ラットの脳へ2 mm 径にコリメートした炭素イオン線を 150 Gy 照射したのち、ラットを PET 装置のベッドへ移動して 30 分間オフライン PET 測定を実施した。照射ビームの軌跡に陽電子放出核種が生成されている様子を描出することに成功した。また、生体内で生成された陽電子放出核種は洗い出し効果によって全身の血管をめぐり広がるため、ラットの全身像が薄く描出されることから、別途撮影した CT や MRI 画像との位置合わせを容易に行うことができた。その結果、計画通り脳を中心位置でビームが停止していることを確認した。

2-4 細胞照射：前年度に引き続き、ヒト皮膚線維芽細胞を一樣に培養したスライドチェンバーの円内に 150, 300 Gy を照射し、DSB マーカーの発現を経時的に測定した。照射領域内では DSB マーカーの発現が観察され、照射 1 週間後でも細胞死は観察されず、DSB マーカーの発現は維持されていた。また照射された細胞が大きく移動することは確認されなかった。

3. 今年度の研究内容

2025 年 1 月に位置決め可能な特殊な固定装置を利用した海馬に限局したラット脳への炭素イオン線照射実験を施行した。照射されたラットを照射後 2.5 週、3 か月の時点で MRI 画像を行い、画像上の脳組織の信号変化を観察した。さらにラットを解剖し、HE 染色にて照射されたラット脳の病理学的変化を観察した。2026 年 2 月には、同様の固定具を利用した海馬への照射実験を施行した。照射方法を若干変更し、入射側と体側の海馬をターゲットとした炭素イオン線照射を実行した。

4. 今年度の研究成果と解析結果

2025 年 1 月に照射したラットの脳の MRI 撮影ならびに病理解剖した脳組織の HE 染色を施行した。照射後 2.5 週で撮影した MRI ではほとんど変化がなかったが 3 か月時点で撮影した MRI-T2 強調画像では、照射計画画像でターゲットとした領域及び、照射直後に撮像した PET 画像で高集積を認めた領域にほぼ一致して領域に高信号が認められた (図 1)。

また解剖した脳組織の HE 染色では照射された部位で MRI-T2 強調画像で高信号であった領域に一致して神経線維の脱落が認められた (図 2)。

2026 年 2 月の実験では、前回の照射結果を参考に入射側と反対側の海馬をターゲットとした

照射実験が施行された。照射直後に PET 撮像を行い体側海馬に照射されていることが確認された (図 3)。今後 MRI 撮影、病理組織の変化を確認していく予定としている。

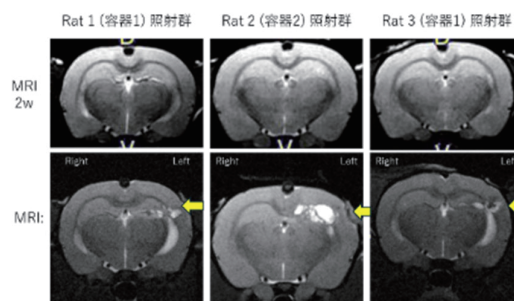


図 1 照射後 2.5 週で撮影した MRI 画像

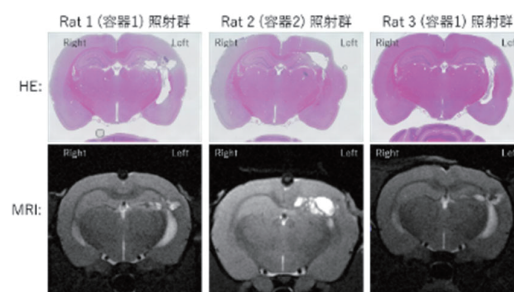


図 2 ラット頭部の組織染色と MRI 画像

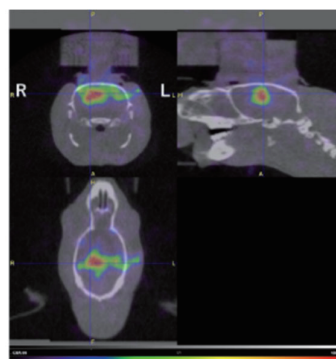


図 3 照射直後の PET 画像

QST

研究成果一覧
25HJ202 若月優

無し

細胞死制御剤による粒子線防護効果のマウス個体レベルでの検討 Evaluation of cell death regulatory agents for protecting particle beam-irradiated mice (25HJ302)

森田明典^a、王冰^b、勝部孝則^b、下川卓志^b、丸山耕一^b、西山祐一^a
Akinori Morita^a, Bing Wang^b, Takanori Katsube^b, Masahiro Murakami^b,
Takashi Shimokawa^b, Kouichi Maruyama^b, Yuichi Nishiyama^a

^aTokushima University, ^bNational Institutes for Quantum Science and Technology

Abstract

The rectum is a critical organ of risk that limits the prescribed dose in radiation therapy of the abdominal and pelvic regions; therefore, this study aimed to investigate the protective effects of 5-CHQ and its derivatives in mice subjected to carbon-ion abdominal irradiation focused on the rectum. To identify irradiation conditions that induce acute rectal damage, we investigated the slit width from the mouse anus toward the tail-head direction under high-dose carbon-ion abdominal irradiation. ICR mice showed extremely high resistance to rectum-focused slit irradiation, and almost no lethal effects were observed. Therefore, when the slit width was increased to 2.6 cm, all mice died at 28 Gy. Using this setting, the protective activity of 5CHQ and its derivatives was evaluated based on 30-day survival rates in mice. The results showed that the groups administered these compounds died earlier than the vehicle-treated group, indicating a sensitizing effect.

1. 研究の目的とバックグラウンド

粒子線治療を始めとする高精度放射線療法の進展は目覚ましく、線量集中性の向上によって高い治療効果が得られるようになった。しかしながら、高精度放射線治療が普及しつつある現在も依然として正常組織障害が処方線量の限界、すなわち耐容線量を決めている。

研究代表者らは、p53 標的創薬研究を推進し、p53 活性を制御することで正常組織の耐容線量を高めるいくつかの放射線防護剤を発見した。粒子線細胞死については、85 keV/μm 以上の高 LET 放射線では p53 依存性を示さないことが固形腫瘍由来培養細胞を用いて明らかにされているが、急性応答において感受性組織となる骨髄や腸管の放射線高感受性を再現できる適切な培養細胞系はなく、マウス個体の生存率および組織解析が最も適切な防護活性評価方法となる。また、放射線による骨髄死では p53 は細胞死促進因子として、腸死では p53 は細胞死抵抗性因子として機能することが知られていた (*Science* 327, 593-596, 2010)。

本研究では、骨髄死に有効な「p53 阻害剤」としてオルトバナジン酸ナトリウム (バナデート) を、また、腸死に有効な「p53 調節剤」として放射線抵抗性に関わる p53 標的遺伝子を上方制御する 5-クロロ-8-キノリノール (5CHQ) を主たる検討化合物として用い、粒子線に対するこれらの化合物の有効性を検討する (参考文献 1, 2)。

2. これまでに得られている結果

これまでに、炭素線 (14 keV/μm) および鉄線 (189 keV/μm) 全身照射実験において、バナデート投与群において有意に骨髄死を防ぐ効果を示す結果が得られ、鉄線のような 85 keV/μm を超える高 LET 放射線でも細胞死制御剤による防護が有効であると結論した。一方、5CHQ 投与群は図 1 に示したように炭素線腸障害に対して有効性を示したが、鉄線腸障害に対する防護効果は認められなかった (参考文献 3)。

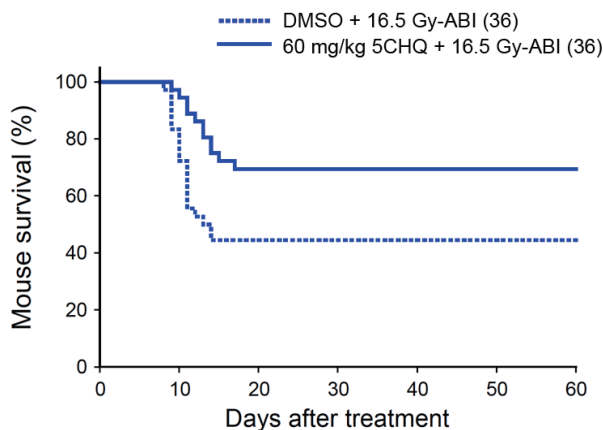


図 1 5CHQ による炭素線腹部照射マウス防護効果

8 週齢の野生型 ICR マウスを用いた (括弧内は匹数)。5CHQ は、照射 1 時間前に 60 mg/kg 腹腔内投与した。腸死相当線量の炭素線として小腸にフォーカスしてスリット幅 2 cm で 16.5 Gy を腹部照射したマウスでは、溶媒投与群で 44%、5CHQ 投与群で 70% 生存し、5CHQ 投与マウスの方が溶媒投与群より有意に高い生存率を示した ($p < 0.02$)。

3. HJ302 の研究結果と解析結果

X 線による消化管セグメント解析により、骨盤領域の放射線治療を模したマウス後半身照射 (caudal half-body irradiation; CHBI) 試験では、放射線治療のリスク臓器である直腸の障害が最も顕著となることが明らかとなった (Int. J. Mol. Sci. 25, 11252, 2024)。また、直腸は腹部および骨盤領域の放射線治療において処方線量を制限する重要なリスク臓器であることから、HJ302 研究においては、直腸にフォーカスした炭素線腹部照射マウスの 5CHQ およびその誘導体の防護効果について検討することとした。

急性直腸障害が誘導される照射条件を見出すため、高線量炭素線腹部照射におけるスリット幅の検討を行った。一昨年度は、マウス肛門から尾頭方向にスリット幅 1 cm および 1.5 cm 設定で高線量炭素線照射実験を実施したが、32 Gy 照射でも十分な急性直腸障害を誘導することができなかった。

今年度は、I 期スリット幅 2 cm 設定にて、25, 28, 31, 34 Gy を照射した結果、30 日生存率はそれぞれ 6/6, 6/6, 6/6, 5/6 匹生存と極めて高い耐性を示し、ほとんど致死的效果が得られなかった。

II 期ではスリット幅を 2.6 cm 設定に拡大し、各群 6 匹で 28, 32, 36, 40 Gy を照射した結果、照射 11 日後までに全群のマウスが死亡した。

次に、このスリット設定を用いて各化合物の有効性をマウス個体の 30 日生存率を指標として評価した結果、化合物投与群は全て死亡し、増感傾向を示した (図 2)。これらの結果は、小腸主体の炭素線障害と大腸主体の下部腸管炭素線障害のメカニズムの差異によるものと考えられた。

腸管にフォーカスしてスリット幅 2.6 cm で炭素線を照射した。溶媒投与群では 22 Gy 照射で 33%、28 Gy 照射で 17% 生存したが、50 mg/kg 5CHQ 投与群や 10 mg/kg 5CHQ 誘導体投与群は全て死亡した。

参考文献

1. A. Morita, *et al. Cancer Res.* 70, 257-265, 2010.
2. A. Morita, *et al. Mol. Cancer Ther.* 17, 432-442, 2018.
3. A. Morita, *et al. Front. Public Health* 8, 601124, 2020.

-
- a. 徳島大学
 - b. 国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構

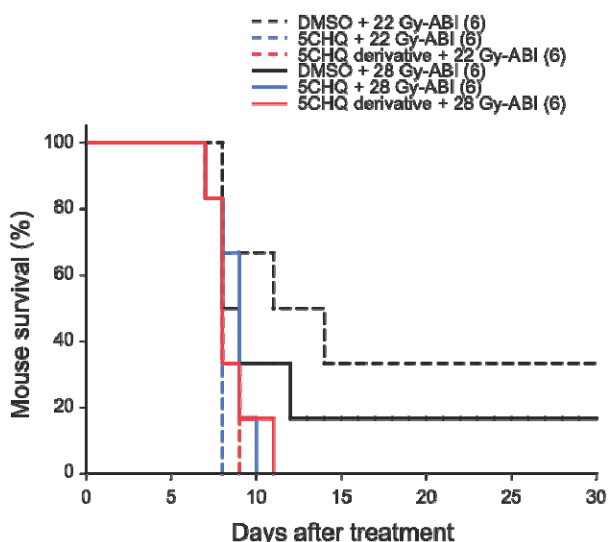


図 2 炭素線下部腸管照射マウス防護効果

8 週齢の野生型 ICR マウスを用いた (括弧内は匹数)。化合物は照射 1 時間前に投与した。下部

研究成果一覧

学術論文：
2025 年度の発表なし

国際学会発表：
2025 年度の発表なし

国内学会発表：
2025 年度の発表なし

ブラッグピーク近傍の重粒子イオンによる致死 DNA 損傷誘発メカニズムの解明

Understanding the mechanisms of lethal DNA damage induced by heavy ions near the Bragg peak (25HJ303)

間宮大晴^{a,b}、Tengku Ahbrizal Tengku Ahmad^c、Narongchai Autsavapromporn^d

田中泉^b、楠本多聞^e、平山亮一^f、小平聡^e、栗田和好^a、小西輝昭^{a,b}

T. Mamiya^{a,b}, TA. Tengku Ahmad^c, N. Autsavapromporn^d,

I. Tanaka^b, T. Kusumoto^e, R. Hirayama^f, S. Kodaira^e, K. Kurita^a, T. Konishi^{a,b}

Abstract

Cell inactivation induced by heavy ions near the Bragg peak is mainly caused by DNA damage, resulting from ions and secondary electrons. The spatial distribution of energy deposition formed by ions and secondary electrons is known as the ion track structure. Therefore, our study aimed is to clarify the correlation between ion track structure and cell inactivation using HIMAC-MEXP course. MIA PaCa-2 cells were exposed to either 3.4 MeV H ions, 0.9 MeV/u He ions, 2.8 MeV/u C ions or 2.7 MeV/u Ne ions. Initially, to determine the number of DSB induction, R , we quantified the amount of DNA fragmentation using pulse-field gel electrophoresis. Next, to determine the inactivation cross section, σ , we measured the survival rate using colony formation assay. Finally, we compared the ion track structure parameter z^2/β^2 with R and σ , respectively. We found that R was proportional to z^2/β^2 , but σ was not. These results indicate that the induction of cell inactivation depends on different parameters of the ion track structure from those for DNA damage.

1. 研究の目的とバックグラウンド

ブラッグピーク近傍の重粒子イオンが誘発する細胞致死は、イオンとイオンによって生成される二次電子による DNA 損傷が主因である。イオンと二次電子が形成する空間的なエネルギー付与分布は、イオントラック構造と呼ばれる。ブラッグピーク近傍の重粒子イオンを照射する際、高エネルギーの重粒子イオンを減速材でエネルギー損失させると、核破碎反応によって多

くの軽二次粒子が生成される。軽二次粒子が混在したビームでは、イオントラック構造に対する細胞致死効果の解析には適さない。そこで、軽二次粒子の混在が非常に少ないブラッグピーク近傍の重粒子イオンが照射可能な HIMAC 中エネルギービーム (MEXP) コースに構築されている生物照射システムを用いることで、イオントラック構造依存的な細胞致死効果を測定できると考えた[1]。

以上より、本研究では、HIMAC-MEXP コースに導入されるブラッグピーク近傍の重粒子イオンを用いて、イオントラック構造と細胞致死効果の関係を明らかにすることを目的とする。

2. 前年度までに得られている結果

前年度は、MEXP コースに導入される 6 MeV/u の He イオン、C イオン、Ne イオンのビームタイムを配分していただいた。HIMAC-MEXP では、ビーム取り出し窓と細胞容器との間の空気層を吸収体としてエネルギー損失させ、0.9 MeV/u と 1.5 MeV/u He イオン、2.8 MeV/u C イオン、2.7 MeV/u Ne に調整した。これらのイオンをヒトすい臓がん MIA PaCa-2 細胞に照射した。

イオントラックあたりに誘発される DSB 数を算出するため、パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法でイオンによって断片化された DNA のサイズとその量を測定した。また、イオントラックあたりの細胞致死効果の指標となる致死の作用断面積 σ を算出するため、コロニー形成法を用いて、生存率曲線を取得した。

3. 今年度の研究内容

イオントラック構造は、イオンの価数とエネルギーに依存して変化する。価数が生物効果に及ぼす影響を評価するため、価数が最も小さく、他のイオン種の基準となる H イオンをはじめとして、He イオン、C イオン、Ne イオンを配分いただいた。ビーム取り出し窓と細胞容器との間の空気層を吸収体としてエネルギー損失させ、3.4 MeV H イオン、0.9 MeV/u He イオン、2.8 MeV/u C イオン、2.7 MeV/u Ne に調整した。これらのイオンを MIA PaCa-2 細胞に照射した。PFGE 法を用いて、断片化 DNA サイズとその量を測定した。取得した照射フルエンスに対する断片化 DNA 量に Random Breakage モデルを適用することで、1 イオンあたりの DSB 誘発数 R を算出した。また、コロニー形成法を用いて、生存率曲線を取得した。取得した生存率曲線に対して、細胞生存率を SF 、照射フルエンスを F とし、 $SF = \exp(-\sigma F)$ でフィッティングすることで、致死の作用断面積 σ を算出した。イオントラック構造の形成には、イオンが物質中を移動する際の価数 z^* とイオンの光との相対速度 β の関数 z^{*2}/β^2 が深く関わるため、取得した R と σ をそれぞれ z^{*2}/β^2 で比較した。

4. 今年度の研究成果と解析結果

DSB 誘発数 R を z^{*2}/β^2 に対してプロットし、図 1 に示した。ブラッグピーク近傍での R は z^{*2}/β^2 に比例した (図 1)。また、致死の作用断面積 σ を z^{*2}/β^2 に対してプロットし、図 2 に示した。ブラッグピーク近傍での σ は、 z^{*2}/β^2 に比例せず、イオン種ごとに独立した比例関係を示した (図 2)。これらの結果から、ブラッグピーク近傍での細胞致死は、DNA 損傷と異なるイオントラック構造のパラメータにも依存して誘発されることが示唆された。今後、細胞致死がイオントラック構造のどのような要素に強く依存するのかを明らかにすることで、多様なイオン種を用いた重粒子線がん治療 (マルチイオン治療) の治療計画高度化につながると考えられる。

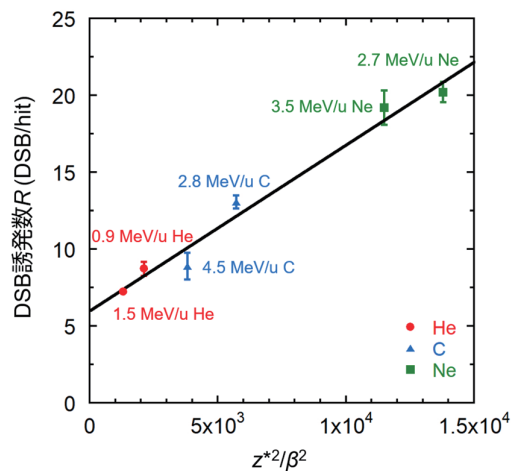


図 1. z^{*2}/β^2 に対する DSB 誘発数 R

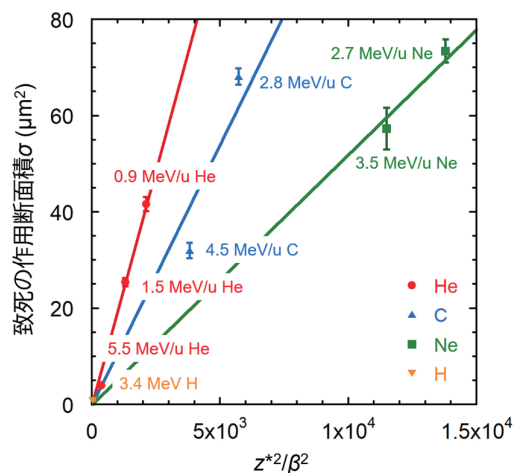


図 2. z^{*2}/β^2 に対する致死の作用断面積 σ

参考文献

[1] T Konishi et al., *Rev. of Sci. Instr.*, 2005.

- 立教大学大学院・理学研究科 (Graduate School of Science, Rikkyo University)
- QST・体内除染研究グループ (Internal Decoporation Research Group, QST)
- マレーシア原子力庁 (Malaysian Nuclear Agency)
- チェンマイ大学・医学部 (Department of Radiology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University)
- QST・放射線計測グループ (Radiation Measurement Group, QST)
- QST・生物物理研究グループ (Biophysics Group, QST)

ブラッグピーク近傍の重粒子イオンによる致死的 DNA 損傷誘発メカニズムの解明

Understanding the mechanisms of lethal DNA damage induced by heavy ions near the Bragg peak

(25HJ303)

研究成果一覧

(学会及び研究会口頭発表等)

1. **間宮大晴**、Tengku Ahbrizal Tengku Ahmad、Narongchai Autsavapromporn、楠本多聞、平山亮一、小平聡、栗田和好、小西輝昭、重粒子イオントラック構造による細胞致死誘発要因の解明、第 62 回日本放射線腫瘍学会生物部会学術大会、2025-05-30

重粒子線照射により生じる DNA 損傷と細胞死の相関の解明
細胞死経路の制御によるがん治療の最適化
(25HJ403)

Heavy-ion radiation-induced DNA damage dictates cell death pathways:
Toward optimized cancer therapy through cell death modulation
(25HJ403)

中野敏彰^a, 香崎正宙^b, 廣本武史^c, 坂本裕貴^d, 相場俊樹^d, 劉翠華^d, 平山亮一^d
^aToshiaki Nakano, ^bMasaoki Kohzaki, ^cTakeshi Hiromoto, ^dYuki Sakamoto, ^dToshiki Aiba,
^dCuihua Liu, ^dRyoichi Hirayama

Abstract

This study aimed to clarify the relationship between the qualitative features of DNA damage induced by high-linear energy transfer (high-LET) radiation and the selection of cell death pathways. In particular, we focused on whether complex DNA damage generated by carbon-ion irradiation is associated with non-apoptotic cell death mechanisms. Human lymphoblastoid TK6 cells were used as a model system. In this fiscal year, we compared cell death modalities following X-ray and carbon-ion irradiation, with particular attention to apoptosis and necroptosis. These analyses were conducted to evaluate potential differences in cell death responses depending on radiation quality. Furthermore, we are investigating the generation of cytosolic DNA following radiation-induced DNA damage and its potential link to innate immune activation. Preliminary findings suggest the possible involvement of the cGAS-STING signaling pathway. Taken together, these findings suggest that the qualitative nature of DNA damage induced by high-LET radiation may influence cellular responses, including cell death pathways. This study provides fundamental insights into radiation-induced cellular responses and their potential implications for radiotherapy.

1. 研究の目的とバックグラウンド

放射線によって誘導される DNA 損傷は、その量だけでなく質（複雑性やクラスター化の程度）によって生物学的影響が大きく異なることが知られている。特に、高 LET 放射線である炭素イオン線は、空間的に近接した複雑な DNA 損傷（クラスター損傷）を高頻度に誘導し、低 LET 放射線（X 線）と比較して修復が困難であることが報告されている。このような損傷の質的違いは、細胞の生存やゲノム安定性に加え、その後の細胞応答に大きな影響を与えると考えられる。

これまでに、低 LET 放射線では主としてアポトーシスが誘導されるのに対し、高 LET 放射線ではネクロ

プトーシスなどの非アポトーシス性細胞死が関与する可能性が示唆されている。しかしながら、DNA 損傷の複雑性と細胞死経路の選択との関係については、十分に体系的な理解には至っておらず、どの段階で細胞死の運命が決定されるのかについても明確ではない。また、近年の研究から、細胞死経路は単一の固定されたものではなく、条件に応じて変化し得る「可塑性」を有することが示唆されており、放射線応答においても同様の現象が存在する可能性が考えられる。さらに、DNA 損傷に伴い核内 DNA が細胞質へ漏出し、それが cGAS-STING 経路によって感知されることで、自然免疫応答や炎症反応が誘導されることが報告されている。このような細胞質 DNA の生成は、DNA 損傷と細胞死を結びつける重要な分子基盤である可能性があり、細胞死様式の違いが免疫応答の質にも影響を与えることが示唆されている。しかしながら、高 LET 放射線により誘導される DNA 損傷がどのように細胞質 DNA の生成や免疫シグナルに結びつくかについては、未だ十分に解明されていない。

そこで本研究では、高 LET 放射線によって誘導される DNA 損傷の質的特徴に着目し、それが細胞死経路の選択およびその制御可能性にどのように関与するかを明らかにすることを目的とする。特に、ネクロプトーシスの実行分子を標的とした阻害剤を用いた介入実験により、細胞死経路の可塑性を検証するとともに、DNA 損傷に伴う細胞質 DNA の生成および cGAS-STING 経路の関与について包括的に解析を行う。本研究により、放射線の線質に依存した細胞応答の分子機構の理解を深め、放射線治療における細胞死制御および免疫応答誘導の新たな知見を得ることが期待される。

2. 昨年度までに得られている結果

これまでの研究において、放射線の線質の違いが細胞死様式に影響を与える可能性について基礎的な検討を行ってきた。ヒトリンパ球由来 TK6 細胞を用いた予備的な解析の結果、低 LET 放射線である X 線照射後には主としてアポトーシスが誘導されるのに対し、高 LET 放射線である炭素イオン線照射後には、アポトーシスとは異なる細胞死様式が関与する可能性が示唆された。しかしながら、これらの細胞死様

式の違いについては、観察条件や評価方法の影響を受ける可能性もあり、定量的かつ統一的な評価には至っていない。さらに、細胞死関連タンパク質の発現解析において、炭素線照射後にネクロプトーシスに関連するシグナル分子の活性化が認められる傾向が観察されたものの、データ数や再現性の点で十分な検証には至っておらず、細胞死経路の分子機構を明確に結論づける段階には至っていない。また、これらの細胞死経路が単一の経路に固定されたものではなく、特定の条件下で変化し得る可能性については理論的には考えられるものの、実験的な裏付けは十分ではなかった。加えて、DNA 損傷に伴う細胞内応答として、核外への DNA の移行（細胞質 DNA の出現）についても観察を試みたが、その存在や頻度、さらには放射線の線質との関連について明確な傾向を示すには至らなかった。これらの現象が細胞死経路や免疫応答と関連する可能性は考えられるものの、分子レベルでの機構やシグナル伝達経路については未解明であり、解析手法の確立も含めて今後の課題として残されている。

以上のように、昨年度までの検討は主として実験系の立ち上げおよび基礎的な現象の把握に留まっており、放射線の線質に依存した DNA 損傷の質的違いが細胞死経路の選択に関与する可能性が示唆された段階である。その一方で、細胞死経路の決定機構やその制御可能性、さらに DNA 損傷と免疫応答との関連については十分な理解には至っておらず、これらを体系的に解明することが重要な課題として位置付けられていた。

3. 今年度の研究内容

本年度は、昨年度に構築した実験系を基盤として、放射線の線質依存的な細胞応答の違いをより体系的に評価することを目的とし、X 線および炭素イオン線照射後の細胞死様式および関連分子の解析を実施した。特に、照射後の時間経過に伴う細胞応答の変化に着目し、細胞死の進行過程を多角的に把握することを試みた。照射実験は、ヒトリンパ球由来 TK6 細胞を主なモデルとして実施し、複数の線量条件および照射後の経時的変化を考慮して解析を行った。細胞死様式の評価においては、アポトーシスおよびネクロプトーシスの指標に着目し、フローサイトメトリーによる定量的解析と、細胞死関連タンパク質の発現解析を組み合わせることで、異なる細胞死経路の関与を包括的に評価した。さらに、ネクロプトーシスの実行分子に着目し、その阻害剤を用いた介入実験を行うことで、放射線照射後に誘導される細胞死経路の変化および可塑性について検討した。これにより、細胞死経路が固定されたものではなく、条件に応じて変化し得るかどうかを評価する実験系の確立を進めた。加えて、DNA 損傷に伴う細胞内動態の変化を明らかにするため、核外への DNA の移行（細胞質 DNA）の観察および定量を試みた。観察手

法としては蛍光染色法を中心に用い、細胞内における DNA の局在変化を評価した。また、これに関連して自然免疫応答との関係を検討する目的で、cGAS-STING シグナル経路に関わる分子の発現および活性化についても解析を進めた。本年度は、これらの解析を通じて、放射線の線質の違いが細胞死経路および細胞内シグナルに与える影響について基礎的なデータの蓄積を進めるとともに、今後の詳細な分子機構解析に向けた実験基盤の整備を行った。

4. 今年度の研究成果と解析結果

本年度の研究により、放射線の線質の違いが細胞死様式に影響を与える可能性について、基礎的な知見が得られた。特に、X 線と炭素イオン線の比較において、細胞死経路に差異が生じ得ることが示唆され、放射線による生物学的応答が DNA 損傷の質的特徴に依存する可能性が改めて認識された。また、照射後の経時的変化を踏まえた解析から、これらの細胞応答が時間依存的に変化する可能性も示唆された。さらに、ネクロプトーシスに関連する分子に着目した解析により、細胞死経路が単一の経路に固定されるのではなく、条件に応じて変化し得る可能性が示唆された。特に、阻害剤を用いた介入により細胞死様式に変化が生じる傾向が観察され、放射線誘導細胞死における制御可能性の存在が示唆された。これらの結果は、細胞死の決定が上流の DNA 損傷のみによって一義的に規定されるのではなく、下流のシグナルにおいて修飾され得る可能性を示唆するものである。さらに、DNA 損傷に伴う細胞内応答として、核由来 DNA の細胞質への移行に関する解析を進めた結果、放射線照射後に細胞内局在の変化が生じる可能性が示唆された。このような細胞質 DNA の出現は、cGAS-STING 経路を介した自然免疫応答の活性化と関連することが考えられ、放射線による細胞死と免疫応答の関連を理解する上で重要な現象である可能性がある。

以上より、本年度の研究により、高 LET 放射線による DNA 損傷の質的特徴が細胞死経路および細胞内シグナルに影響を与える可能性が示唆され、放射線生物学的応答の理解に向けた基盤的な進展が得られた。本研究で得られた知見は、放射線による細胞死制御および免疫応答誘導の理解に資するものであり、今後はこれらの現象の分子機構の解明および定量的評価を進めることが課題である。

affiliation : a, 量研機構 関西光, b 産業医科大学 c, 量研機構 量子生命 d, 量研機構 QST 病院

(Proceedings 等)

1.

原子間力顕微鏡を用いた DNA 損傷の可視化 (高 LET 放射線によるクラスター損傷の生成とその修復経路の特定)

中野敏彰, 赤松憲, 鹿園直哉

Isotope News (展望) 802(12) 2025 年 12 月

学会発表

(学会及び研究会ポスター発表等)

1. Investigation of Clustered DNA Damage and Its Repair in Human TK6 Cells

Toshiaki Nakano, Ken Akamatu, Naoya Shikazono,

広島国際会議場

日本放射線影響学会第68回大会/第6回アジア放射線研究会議(JRRS/ACRR2025) 合同大会 2025 年 10 月 26 日

2. X線または高 LET Fe イオンビームに曝露された TK6 細胞における、原子間力顕微鏡 (AFM) を用いたクラスター DNA 損傷の直接可視化

中野敏彰, 赤松憲, 鹿園直哉,

石川県金沢市, 石川県立音楽堂, ホテル日光金沢, ANA クラウンプラザホテル金沢
第 84 回日本癌学会学術総会 2025 年 9 月 26 日

高 LET 誘発 DNA 損傷の修復過程における POLQ 活性の追跡

Tracking POLQ activity during repair of high-LET-induced DNA damage

(25HJ405)

高田慶一^{ab}、佐井星^c、イ グニル^{ab}、サン ユービン^a

Kei-ichi Takata^{ab}, Sei Sai^c, Geunil Yi^{ab}, Yubin Sung^a

Abstract

Repair-pathway choice after DNA double-strand breaks governs genome stability and therapy response. Direct genomic readouts of pathway use are needed. Because POLQ repairs complex lesions typical of high-linear energy transfer (LET) radiation, we predicted a POLQ footprint after high-LET. We performed whole-genome sequencing of irradiated human cells lacking non-homologous end-joining (NHEJ), POLQ-mediated end-joining (TMEJ) or homologous recombination. The POLQ footprint is dominated by long (>200 bp) deletions with 2–6 bp microhomology. NHEJ loss drives accumulation of these long, microhomology-flanked deletions, whereas TMEJ loss markedly diminishes them. Prioritizing long deletions provides a LET-aware readout of POLQ engagement and an assay of POLQ dependence, establishing mutational signatures as functional biomarkers of end-joining choice.

Research objectives and background

DNA double-strand breaks (DSBs), including those induced by cancer therapies, are among the most lethal forms of DNA damage. Unrepaired DSBs trigger cell death, whereas misrepaired breaks generate deletions, insertions, and translocations—hallmarks of genomic instability in cancer. Understanding how cells either succumb to DSBs or survive at the cost of genomic instability is critical for advancing cancer treatment and prevention.

Cells repair DSBs primarily through three pathways: non-homologous end-joining (NHEJ), DNA polymerase θ -mediated end-joining (TMEJ), and homologous recombination (HR). Manipulating these pathways can enhance the efficacy of DSB-inducing therapies such as radiotherapy. HR-deficient cancers often rely on TMEJ, making DNA polymerase θ (POLQ) inhibition an attractive therapeutic approach. However, although POLQ is frequently upregulated in cancers, its expression does not consistently correlate with POLQ-associated mutational signatures, indicating that expression alone is not a reliable predictor of therapeutic response, underscoring the need for direct measures of pathway activity.

Mutational signatures offer such a readout, since mutations are permanently fixed during repair. We previously showed that POLQ is critical for repairing complex DSBs induced by heavy-ion irradiation, suggesting that POLQ footprint may preferentially accumulate under these conditions. Among ionizing radiation (IR) types, heavy charged particles such as carbon (C) ions have a high linear energy transfer (LET), releasing energy over a short range known as the Bragg peak. When precisely targeted to tumors, high-LET radiation delivers potent DNA damage while sparing surrounding tissues, in contrast to low-LET radiation such as X- or γ -rays. High-LET radiation induces disproportionately complex DSBs, which are accompanied by nearby base damage (e.g., apurinic/apyrimidinic sites or thymine glycol), making them more cytotoxic per dose than the “cleaner” DSBs. Because base damage adjacent to DSBs impairs direct end-joining, repair often requires resection to remove proximal damage. We previously showed that TMEJ, a resection-dependent pathway, is critical for processing complex DSBs. POLQ, the key mediator of TMEJ, combines translesion DNA synthesis (TLS) across damaged bases with microhomology-mediated end-joining (MMEJ). These activities enable POLQ to bypass base lesions during MMEJ, facilitating the repair of complex DSBs in vitro. Consistently, POLQ-deficient human cells are hypersensitive to high-LET radiation(1).

Given the unique role of POLQ in repairing complex DSBs, it could be a promising target to increase the radiosensitivity of cancer cells in high LET therapy. This therapeutic approach could be particularly effective for cancers that rely on POLQ activity to process high LET-induced DSBs. Since POLQ introduces mutations during end-joining(2), we hypothesize that POLQ activity could be monitored by detecting specific mutation patterns or signatures generated by POLQ following high LET irradiation. Identifying these mutation patterns or signatures may serve as a valuable diagnostic tool for pinpointing cancers that are highly responsive to high LET radiation therapy upon POLQ inhibition.

1. Previous research results

End-joining of high LET-induced DSBs in NHEJ, TMEJ, and HR-deficient backgrounds

We directly monitored end-joining activity by examining chromatid breaks. To achieve this, we treated the cell samples with colcemid to arrest them in the G₂/M phase immediately following irradiation with 2 Gy C-ions. The samples were then incubated for 3h, fixed, and their chromosomes were analyzed. The number of chromatid breaks detected in metaphase spreads was significantly higher in POLQ^{-/-} and LIG4^{-/-} cells compared to WT cells (Fig. 1), averaging 4.4, 6.2, 8.5, 7.0 and 8.7 in WT, POLQ^{-/-} #1, POLQ^{-/-} #2, LIG4^{-/-} #1, LIG4^{-/-} #2, respectively. In contrast, we observed similar numbers of chromatid breaks in WT and HR-deficient cells, and siBRCA2 did not affect the number of chromatid breaks in POLQ^{-/-} cells. These findings indicate that TMEJ and NHEJ, rather than HR, contribute to reducing DNA breaks following C-ion irradiation in human cells. HR-deficient cells were hypersensitive to high-LET radiation; however, this hypersensitivity was not accompanied by an increase in chromatid breaks. This suggests that HR likely plays a critical role in resolving one-ended DSBs that form during replication as a result of high-LET-induced DNA damage.

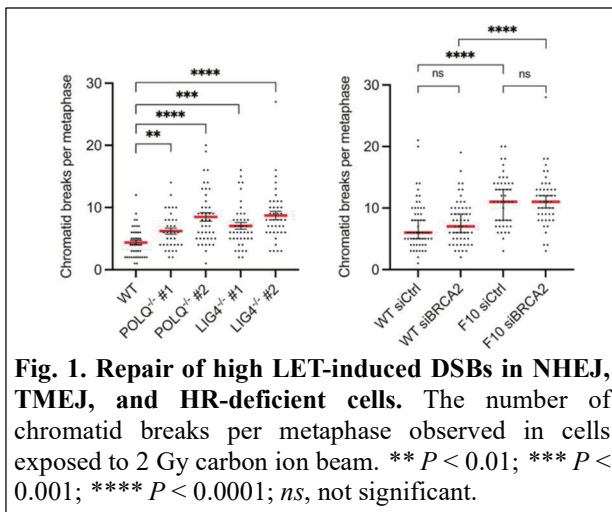


Fig. 1. Repair of high LET-induced DSBs in NHEJ, TMEJ, and HR-deficient cells. The number of chromatid breaks per metaphase observed in cells exposed to 2 Gy carbon ion beam. ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; **** $P < 0.0001$; ns, not significant.

Patterns of low and high LET radiation-induced mutations in human cells deficient in different DSB repair pathways

We irradiated the WT and DSB repair-deficient cells, isolating at least 3 clones per cell line for WGS analysis. Heatmap analysis resolved two dominant classes: short (≤ 20 bp) and long (> 200 bp) deletions. In LIG4^{-/-} cells, where TMEJ remains active, deletions flanked by 2–6 bp of microhomology were markedly enriched after both X-ray and C-ion irradiation, with a stronger effect after C-ions (Fig. 2). These 2–6 bp microhomology events occurred predominantly among long deletions > 200 bp (Fig. 2). These events are consistent with TMEJ-mutagenesis, since TMEJ typically utilizes 2–6 bp microhomology for end-joining. Conversely, short deletions with 0–1 bp microhomology (NHEJ-

mutagenesis) were reduced in LIG4^{-/-} cells.

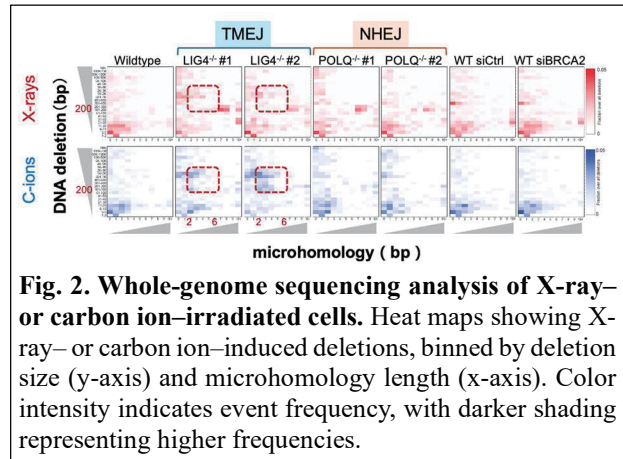


Fig. 2. Whole-genome sequencing analysis of X-ray- or carbon ion-irradiated cells. Heat maps showing X-ray- or carbon ion-induced deletions, binned by deletion size (y-axis) and microhomology length (x-axis). Color intensity indicates event frequency, with darker shading representing higher frequencies.

2. Research plans for this year

Objective 1 tests whether the POLQ-associated mutation signature enriched in NHEJ-deficient cells can be suppressed by inhibiting POLQ. Objective 2 examines a mechanistic model in which POLQ competes with APE1 at high-LET-induced complex DSBs, promoting end joining before AP-site processing; this will be tested using siAPE1 and biochemical assays with purified APE1. Objective 3 evaluates the therapeutic potential of POLQ inhibition in KRAS-mutant cancers, where excess R-loops drive DSB formation, by testing whether POLQ inhibitors enhance sensitivity to heavy-ion radiation. Together, these aims define POLQ as both a mechanistic driver and a therapeutic target.

3. Research results and discussion

We successfully identified a POLQ-associated mutational signature following carbon-ion irradiation. This mutation signature-based approach will enable us to monitor POLQ activity and gain deeper insight into its role in the repair of high-LET radiation-induced DNA damage. A manuscript describing these findings has been completed and is currently under revision. We plan to perform the additional experiments requested by the reviewers and to apply this analytical pipeline to quantitatively assess POLQ activity, as well as to evaluate its potential as a biomarker of target engagement and therapeutic response.

References

- 1.G. Yi *et al.*, DNA polymerase theta-mediated repair of high LET radiation-induced complex DNA double-strand breaks. *Nucleic Acids Res* **51**, 2257-2269 (2023).
- 2.T. Hwang *et al.*, Defining the mutation signatures of DNA polymerase theta in cancer genomes. *NAR Cancer* **2**, zcaa017 (2020).

^a. Institute for Basic Science

^b. Ulsan National Institute of Science and Technology

^c. QST hospital

Research achievements for 2025 year

(1) Publications

1. Detection of Chromatid Break and Micronucleus Formation Induced by Low- and High-LET Irradiation. **Geunil Yi, Takata K. Methods Molecular Biology** 2933, 43-50 (2025).
2. Measurement of DNA Polymerase and Microhomology-Mediated End-Joining Activities by Gel Electrophoresis and smFRET Techniques. **Yubin Sung, Chanwoo Kim, Hajin Kim, Kei-ichi Takata. Methods Molecular Biology** 2933, 51-67 (2025).

(2) Proceedings

N/A

(3) Meetings

1. **Kei-ichi Takata.** DNA repair mechanisms affecting sensitivity to high-LET radiation, 2nd Radiation Medical Science Future Innovation Symposium, DIRAMS, Gijan, South Korea 3/2025 (invited)
2. **Kei-ichi Takata.** DNA helicase HELQ facilitates fork reversal in response to leading strand gaps, Keystone meeting, Daejeon, South Korea, 4/2025 (oral presentation)
3. **Kei-ichi Takata.** Targeting DNA Repair Pathways in Cancer: Insights into the functions of DNA Polymerase θ and DNA Helicase HELQ, Ministry of Food and Drug Safety, National Institute of Food and Drug Safety (NIFDS) International Symposium for Cancer Research, Seoul, South Korea 5/2025 (invited)
4. **Kei-ichi Takata.** The Role of DNA Repair in High-LET Radiation Sensitivity: Toward Enhanced Treatment Strategies, The 6th Asian Congress of Radiation Research, Hiroshima, Japan, 10/2025 (invited)

(4) Others

1. **Kei-ichi Takata.** Understanding Cancer Resistance Mechanisms to High-LET Radiation Therapy, Seoul National University Cancer Research Institute Tuesday Seminar, Seoul, South Korea 4/2025 (Seminar)
2. Yerkin Dunbayev, Yen-Ju Chen, Lorenzo Sassi, EunA Lee, Jae Sun Ra, Moonjung Choi, Anirban Mukherjee, Karen M. Vasquez, Vincenzo Costanzo, Peter Chi, and **Kei-ichi Takata.** The DNA helicase HELQ promotes replication fork reversal in coordination with BRCA2- and FANCD2-mediated repair pathways. **Nucleic Acids Res.**, *accepted*.
3. Geunil Yi, Taejoo Hwang, Yubin Sung, Jae Sun Ra, Sei Sai, Semin Lee, and **Kei-ichi Takata.** High-LET radiation reveals a long-deletion signature of DNA polymerase θ -mediated end joining. **Nucleic Acids Res.**, *in revision*.

(5) MS/PhD thesis

1. **Geunil Yi.** Repair of high-LET radiation-induced complex DNA double-strand breaks, 5/2025 (PhD thesis, Advisor: **Kei-ichi Takata**)

イオンビームによる微生物・植物への変異導入を利用した 基礎研究プラットフォームの構築

Development of a Fundamental Research Platform Based on Ion Beam Mutagenesis

25HJ501

下川卓志^a, 西原昌宏^b, 富永晃好^c, 坂本裕一^d, 櫻井健二^e, 長谷純宏^f, 田地野英宏^g, 佐々木伸大^h, 河野徳昭ⁱ, 中村郁子^j

T. Shimokawa^a, M. Nishihara^b, A. Tominaga^c, Y. Sakamoto^d, K. Sakurai^e,

Y. Hase^f, H. Tajino^g, N. Sasaki^h, N. Kawanoⁱ, A. Nakamura^j

Abstract

Most biological research using heavy-ion beams has focused on mammalian cells, primarily for medical applications. In contrast, relatively little is known about the effects of heavy-ion beams on other organisms, such as plants. To better understand the unique biological effects of heavy-ion irradiation, it is essential to investigate its impact across a broader range of organisms.

Building on previous breeding studies, the present project aims to comprehensively collect fundamental data on the biological effects of heavy-ion beams in diverse organisms through collaborative research with biologists from various disciplines. In the current year, eleven collaborative research groups participated in this project, and a total of 103 samples—including seeds, grafts, and microorganisms—were irradiated with heavy-ion beams, and differences in survival rates depending on radiation quality were evaluated.

1. 研究目的とバックグラウンド

重粒子線によるがん治療を目的として建設された HIMAC での研究に限らず、世界的にも重粒子線を用いた生物系基礎研究は医学利用の観点からの研究が多い傾向があり、マウスやラットなどの齧歯類の個体か、ヒトやマウス由来の細胞株が主な解析対象である。そのため、論文ならびに

主要な教科書の内容もその影響を受けて記載される情報は“増殖しているがん細胞”や“放射線高感受性臓器”の放射線応答に偏っている。我々はこれまで4期10年の間、重粒子線を用いた育種/変異導入研究を23グループの各種生物種を専門とする研究者とともに組織的に実施してきた(J501/J507)。動物細胞を用いて得られてきた重粒子線の基盤的な生物学的データは、必ずしも我々が蓄積してきた他の生物種の結果とは一致しなかった。その結果より、我々の得ている重粒子線生物学的情報は医学的利用の観点からは適切なデータであるが、生物学的理解を深める上では不十分なものであるという認識に到った。哺乳動物細胞での実験で蓄積されてきた重粒子線の生物効果に関する知見は、必ずしも同じ炭素生物でDNAを遺伝物質として利用している全ての生命に適応はできない。

そこで本研究は、これまでの課題と同じく育種を引き続き目的の一つとしつつ、植物や微生物など多様な生物種に対する重粒子線の影響に係わる基礎データを広く収集し、生物種または照射時の条件による重粒子線の違いを明らかにし、重粒子線特有の生物作用への理解を深めることを目的としている。

2. 昨年度までに得られている結果

J501として第一期(15J501)では、本課題での実験体制を構築し、9グループが参加し、合計56サンプルに対して~400Gyで照射を行った。第二期(18J501)では、13グループが参加し、合計190サンプルに対し、照射線量を最大600Gyまで増加させて照射した。第三期(21J501)は12グループが参加して195サンプルに対して~600Gyで照射を行った。第四期(24J501)は10グループが参加して48サンプルに対して~600Gyで照射を行った。

3. 今年度の研究内容

前期4回(Fe 500MeV/u x1, Ar500MeV/u x1, Ne400MeV/u x1, C 290MeV/u x1)、後期3回(Fe 500MeV/u x1, Ar500MeV/u x1, C 290MeV/u x1)、計5回の利用時間の配分を受けた。

11名の課題分担者(共著者他)より送られてきた103サンプル(種子類21、苗・培養物11、穂木6、菌・細菌類65)に対し、BF=0で1-600Gyを照射し、返送後、各分担先でその影響について発芽率などを指標に測定、それぞれで目標とする変異株の取得にむけたスクリーニングを行った。

4. 今年度の研究成果と解析結果

本年度も昨年に続きマシンの配分が例年の半分以下となり、その影響が大きかった。そのため、使用する核種を制限し、各参加者より送られてくるサンプルの形状を再検討し、照射野の最大限の利用や大型で時間のかかるサンプルの参加制限などを行う対応をした。一方で学会などでの広報活動やFNCA(アジア原子力協力フォーラム)への協力により、今年度も海外からの参加と新規4グループの参加があった。

今年度照射を行った全ての参加者より解析の進捗と生存率の結果について報告を受けている。植物を対象とした照射実験は6グループにより行われた。秋田県大 櫻井からはラッカセイ、岩手

生工研/福井県大 西原からはリンドウ、静岡大 富永からはストック、FNCA 長谷からはソルガム、コムギ、オオムギ、NIBNの河野からはオタネニンジンについて照射後の作業状況や放射線感受性評価の結果などの中間報告がされた。

微生物を対象とした照射実験は5グループにより行われた。岩手生工研 坂本からはシイタケとウシグソヒトヨタケ、北興化学工業 田地野からは放線菌の感受性に関する報告があった。他3グループからも線質毎の生存率に関する報告がされている。

さらにR06年度以前に照射したサンプルについては、(株)CULTA 中村からイチゴ苗のスクリーニング状況について報告があった。

今年度の大きな成果として、J501の初期より実施してきたリンドウの育種研究により作出された品種がHIMACでの育種による品種登録1号となり、またその一連の研究活動が植物バイオテクノロジー学会の技術賞を受賞した。

a. 量研機構 量医研 物理工学部

b. 福井県立大 生物資源学部/岩手生物工学研究センター 園芸資源研究部

c. 静岡大学 農学部 地域フィールド科学教育研究センター

d. 岩手生物工学研究センター 生物資源研究部

e. 秋田県立大学 生物資源科学部 生物生産科学科

f. QST 高崎量子技術基盤研究所/FNCA

g. 北興化学工業株式会社

h. 大阪公立大学大学院農学研究科

i. 医薬基盤・健康・栄養研究所 薬用植物資源研究センター

j. 株式会社 CULTA

25HJ501 研究成果一覧

原著論文:

1. Nishihara, M., Hirabuchi, A., Abe, A., Shimizu, M., Goto, F., Yoshida, C., Shimokawa, T., Ozawa, S., Naito, A., Nemoto, K. Mutagenesis and production of double-flowered gentian by regeneration from ion-beam irradiated leaves. *Plant Biotechnology* 42:423-429, (2025)
2. 志賀由紘, 富永 晃好, 下川卓志. キャピラリーゲル電気泳動を用いたニホンナシの AFLP マーカー検出技術の開発. *日本 DNA 多型*. 33. 9-15. (2025)

受賞:

1. 日本植物バイオテクノロジー学会 技術賞「分子育種技術を駆使した新奇性の高いリンドウ品種の育成」 西原昌宏、根本圭一郎、小田島雅、高橋亮、下川卓志. 2025年9月

品種登録:

1. リンドウ新品種「Bzc-1 mut1」 りんどう (登録年月日 令和7年11月7日) 小田島雅、小澤傑、佐々木伸大、下川卓志、西原昌宏 登録番号 31404号

プレスリリース:

1. 重イオンビームを活用した効率的なリンドウの育種手法の開発 岩手生工研・量医研 2025年7月18日
2. 日本植物バイオテクノロジー学会「技術賞」の受賞 岩手生工研・岩手農研・福井県大 2025年8月20日

招待講演:

1. 「分子育種技術を駆使した新奇性の高いリンドウ品種の育成」 西原昌宏、根本圭一郎、小田島雅、高橋亮、下川卓志 第42回 日本植物バイオテクノロジー学会(神戸)大会 技術賞受賞講演 2025年9月

学会・研究会:

1. 望月夏海, 下川卓志, 富永晃好, ストックにおけるオーバーキリング現象の実証と突然変異誘発効率の評価, 令和7年園芸学会秋季大会 2025年9月
2. 水田大輝, 平沢一鉄, 芳井健太, 佐々木伸大, 下川卓志, Fe イオンビーム照射がトルコギキョウの発育に及ぼす影響, 農業生産技術管理学会年会 令和7年度大会, 2025年11月
3. 島田理暉, 下川卓志, 磯部祥子, 平川英樹, 中塚貴司, 富永晃好, ガーベラ雄性不稔変異体の組織観察およびトランスクリプトーム解析, 園芸学会令和7年度秋季大会, 2025年9月

4. 松山知樹, 八幡昌紀, 下川卓志, 北村尚, 大野陽子, 稲田美知子, 小田切正人, 守屋繁春, 斎藤徳人, 和田智之, カンキツ量子ビーム照射変異体の育成と後代の形質調査, 令和7年園芸学会秋季大会
2025年9月

学位論文:

修士論文:

1. 望月夏海, 「ストックにおけるオーバーキリング現象に関する研究」静岡大学大学院総合科学技術研究科農学専攻, 2025年度

卒業論文:

1. 畠山清陽「重イオンビーム照射がラッカセイに及ぼす影響」秋田県立大学生物資源科学部生物生産科学科, 2025年度
2. 打江歩実佳「重イオンビームの照射が紫キャベツ培養個体に与える生物影響評価」大阪公立大学農学部, 2025年度
3. 志熊恵二, 「ストックにおける花卉細状化変異体のメカニズム解析および新品種作出に向けた応用」静岡大学農学部, 2025年度

コケ植物孢子体の宇宙放射線耐性限界の調査および
DNA 修復・放射線耐性の分子機構の研究
Study on the Upper Limits of Cosmic Radiation Tolerance and Molecular Mechanisms of
DNA Repair and Radiation Tolerance in Moss Sporophytes
(25HJ503)

藤田知道^a、鶴岡 千鶴^b、坂本 綾子^c、舟山 知夫^c、鈴木 芳代^c
T. Fujita^a, C. Tsuruoka^b, A.N. Sakamoto^c, T. Funayama^c, M. Suzuki^c

Abstract

The advancement of human space exploration requires the development of sustainable, self-circulating systems, where plants play essential roles in environmental formation and resource production. To evaluate plant tolerance to cosmic radiation, this study investigated the effects of high-energy iron ion beam irradiation (Fe ion, HIMAC) on the model moss *Physcomitrium patens* sporophytes. Exposure to 500–2000 Gy revealed a drastic decline in spore germination, with no viable growth observed above 1000 Gy. The estimated relative biological effectiveness (RBE) of Fe ions was approximately sixfold higher than that of gamma radiation. Lower doses (20–500 Gy) showed dose-dependent decreases in germination from 76% to 1%. Chemical treatments targeting some cellular processes suggested that a particular cellular process contributes to heavy ion (Fe ion) resistance in this species. Furthermore, perturbation of another cellular pathway notably reduced germination and caused post germination growth defects, indicating a protective role of certain cellular factors under heavy ion radiation. These findings suggest that *P. patens* exhibits distinct cellular responses to high linear energy transfer radiation, offering insights into plant survivability and bioengineering for extraterrestrial agriculture.

1. 研究の目的とバックグラウンド

近年、人類は月や火星をはじめとする宇宙空間への進出を目指している。こうした宇宙進出や将来的な宇宙定住の実現において、植物は不可欠な存在である。植物は光合成によって生活環境の形成に寄与するだけでなく、食料資源としても利用可能であり、多面的な機能をもつ生物である。さらに、人類が宇宙空間で安定した生活を営むためには、地球からの再補給に依存しない資源循環型の環境を構築する必要がある。すなわち、宇宙農業およびテラフォーミ

ングの実現が求められる。しかし、植物を利用した自己循環型環境をいかに構築すべきか、また植物が宇宙農業やテラフォーミングにどの程度有効に活用できるのかについては、いまだ十分に明らかになっていない。

このような目標を実現するためには、宇宙環境が地球環境とは本質的に異なる複合的な極限ストレス環境であることを前提として検討する必要がある。月、火星、宇宙軌道上の環境では、真空、温度変動、高強度の紫外線、低重力、さらに高エネルギー宇宙放射線などが同時に作用する。特に宇宙放射線は、X線やガンマ線などの電磁波に加え、陽子、中性子、電子、アルファ線、さらには重イオン線を含む複合的な放射線環境を形成しており、生物のDNAに二本鎖切断を引き起こすことで致命的な損傷を与える。しかし、このような宇宙放射線が植物、特に陸上植物として初期に分岐したコケ植物にどのような影響を及ぼすかについての理解は、依然として限定的である。

モデルコケ植物であるヒメツリガネゴケは、遺伝子編集が容易であり、さまざまなストレスに対して高い耐性を示すことが知られている。さらに、ヒメツリガネゴケの孢子体および孢子の構造は、紫外線、極低温、高温などの環境ストレスから内部の孢子を保護する層として機能すると考えられており、これらの構造が放射線環境においても同様の保護機能を果たす可能性が示唆されている [1]。

以上の背景のもと、本研究では、宇宙環境におけるコケ植物の利用可能性評価の前段階として、HIMACの鉄イオン線(Fe ion beam)を用いてヒメツリガネゴケの孢子体に対し複数の線量で照射を行い、その後の孢子発芽率および発芽後の生育傾向を総合的に評価した。これにより、鉄イオン線に対する耐性限界と生存率変動パターンを明らかにすることを目的とした。

2. 昨年度までに得られている結果

本研究は今年度から開始したため、昨年度までに得られた成果はない。

3. 今年度の研究内容

本年度前半の実験では、ヒメツリガネゴケ孢子体に対する高線量の鉄イオン線照射実験を実施した。これまでのヒメツリガネゴケ孢子体に対するガンマ

線照射の結果から、約 3000 Gy で 90%の致死が確認されていた。この結果を基礎として、鉄イオン線の照射線量を設定した。ヒメツリガネゴケに対する鉄イオン線照射に関する先行研究はまだ存在しなかったため、鉄イオン線の RBE (Relative Biological Effectiveness: 生物学的効果比) をガンマ線の約 2 倍と仮定し、最大 2000 Gy の線量範囲 (500、1000、1500、2000 Gy) をヒメツリガネゴケ胞子体に照射し、その後の胞子発芽率を観察した。

後半の実験では、比較的低線量である最大 500 Gy (20、50、100、200、500 Gy) の鉄イオン線をヒメツリガネゴケ胞子体に照射した。これらの線量は、前半の実験結果を踏まえて設定したものである。さらに、試薬 A~E を処理したヒメツリガネゴケ胞子体を用いて鉄イオン線照射を行い、これらについて胞子発芽率および発芽後の生育を観察した。

4. 今年度の研究成果と解析結果

線量 (Gy)	発芽率 (%)
0	99.6
500	4.2
1000	0
1500	0
2000	0

表 1 鉄線照射後発芽率 (1回目)

ヒメツリガネゴケ野生型胞子体の場合、1000 Gy 以上の線量では全く発芽しなくなることがわかった。500 Gy では約 4%の発芽率を示したが (表 1)、発芽後に正常な成長は認められず、数細胞分裂後に分裂および成長が停止する様子が観察された (図 1)。以前の実験結果において、ガンマ線照射時には約 3000 Gy で 5%の発芽率が予想されたこと

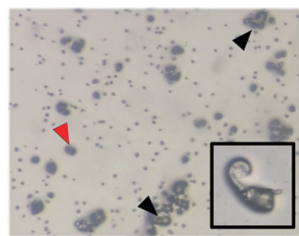


図 1 500Gy 鉄イオン線照射後の胞子の発芽状態。(赤色: 発芽していない胞子、黒色: 発芽後に成長が停止した胞子)

線量 (Gy)	発芽率 (%)
0	89.3
20	75.9
50	52.3
100	39.3
200	10.7
500	1.1

表 2 鉄線照射後発芽率 (2回目)

胞子体では、100 Gy の鉄イオン線照射においても発芽率の有意な低下は認められなかった (表 3)。

一方、試薬 D および試薬 E を処理した胞子体で

ヒメツリガネゴケ野生型の胞子体に鉄イオン線を 500、1000、1500、2000 Gy 照射した後、寒天培地に播種し、胞子体の発芽率を観察した。本研究では、胞子体の発芽率を生存率として取り扱った。

さらに、ヒメツリガネゴケ胞子体に 20、50、100、200、500 Gy を追加照射して発芽率を確認した結果、それぞれ 76%、52%、39%、11%、1% の発芽率となった (表 2)。

次に、試薬 A~E を胞子体に処理した後、鉄イオン線を照射し、発芽率の変化を観察することにより、これらの試薬の放射線耐性への影響を調べた。試薬 A、B、C を処理した胞子体では、100 Gy の鉄イオン線照射においても発芽率の有意な低下は認められなかった (表 3)。

一方、試薬 D および試薬 E を処理した胞子体では、100 Gy において他の群より約 20%以上発芽率が落ちるといった結果が得られた (表 3)。

また、試薬 C、D、E を処理した胞子体では、一部の発芽個体に成長異常が観察された (図 2)。これ

処理	発芽率 (%)
Control	46.9
試薬 A	41.5
試薬 B	53.9
試薬 C	52.7
試薬 D	22.2
試薬 E	30.0

表 3 試薬処理及び鉄線照射後発芽率

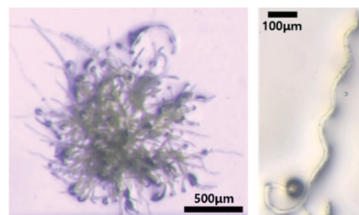


図 2 同一時点における正常成長 (左) と成長異常 (右)

らの結果から、ヒメツリガネゴケの胞子においては、重粒子線 (鉄イオン線) に対する耐性に関して、試薬 D~E の処理により、ある程度の内因性の因子が関与している可能性が示唆された。また、試薬 A~C の標的因子は、胞子や発芽初期のような条件では十分に動員されにくかったと考えられる。

参考文献

[1] Maeng CH, Hiwatashi Y, Nakamura K, Matsuda O, Mita H, Tomita-Yokotani K, Yokobori S, Yamagishi A, Kume A, Fujita T. Extreme environmental tolerance and space survivability of the moss, *Physcomitrium patens*. *iScience*. 2025;28(12):113827.

- 北海道大学 大学院理学研究院 生物科学部門
- 量研・放射線医学研究所
- 量研・高崎量子技術基盤研究所

研究成果一覧

(原著論文等)

該当なし。

(Proceedings 等)

該当なし。

(学会及び研究会口頭発表等)

- CHANGHYUN MAENG, Ayako N. Sakamoto, Chizuru Tsuruoka, Tomoo Funayama, Michiyo Suzuki, Keita Nakamura, Yuji Hiwatashi, Atsushi Kume, Tomomichi Fujita : Plant Survival Under Extreme Radiation for Space Utilization: A Sporophyte-Based Approach、日本植物学会第 89 回大会、福岡、2025.09.
- MAENG CHANGHYUN, 坂本 綾子, 鶴岡 千鶴, 舟山 知夫, 鈴木 芳代, 中村 恵太, 日渡 祐二, 久米 篤, 藤田 知道: コケ植物ヒメツリガネゴケ胞子の放射線耐性解析と宇宙利用への示唆、日本宇宙生物科学会 第 39 回大会、東京、2025.09.

(その他)

該当なし。

(学位論文)

該当なし。

発表会開催日に発表ができない課題

発表会開催後日に録画発表

治療抵抗性がんに対する重粒子線治療の新展開:薬物療法との併用効果と腸内細菌叢の役割の解明

New Developments in Carbon Ion Radiotherapy for Treatment-Resistant Cancers: Elucidating the Combined Effects with Systemic Anticancer Therapy and the Role of the Gut Microbiota. (25HJ104)

関原和正^{a,b}、氷室秀知^c、平山亮一^d、劉翠華^d、相場俊樹^d、坂本裕貴^d、

笹田哲朗^c、星野大輔^a

K. Sekihara^{a,b}, H. Himuro^c, R. Hirayama^d, C. Liu^d, T. Aiba^d, Y. Sakamoto^d,
T. Sasada^c, D. Hoshino^a

Abstract

The goal of this study was twofold: first, to evaluate the efficacy of carbon ion radiotherapy in treating treatment-resistant cancers; and second, to elucidate the underlying molecular and microenvironmental mechanisms. Compared to X-rays and chemotherapy, carbon ion irradiation demonstrated superior antitumor effects in cervical adenocarcinoma and anaplastic thyroid cancer models, particularly under hypoxic conditions and in both in vitro and in vivo systems. Mechanistic analyses revealed that combined treatment with radiation and molecular targeted agents significantly suppressed ERK phosphorylation. Stronger inhibition was observed following carbon ion irradiation, suggesting enhanced regulation of the MAPK pathway. The effects on the PI3K-AKT-mTOR pathway are still being investigated. Additionally, gut microbiota-modified mouse models exhibited enhanced antitumor responses to carbon ion irradiation, suggesting a potential role for microbiota in modulating therapeutic efficacy. Ongoing transcriptomic analyses are being conducted to further clarify these mechanisms. These findings support the potential of combining carbon ion radiotherapy with targeted therapies and microbiota modulation as a promising strategy for overcoming therapeutic resistance in aggressive cancers.

1. 研究の目的とバックグラウンド

1-1.

これまでに、悪性腫瘍に対する放射線治療と分子標的治療薬を含む抗がん剤との併用による放射線増感効果の研究に取り組んできた。しかし子宮頸部腺がん、甲状腺未分化がん、トリプルネガティブ乳がん、膠芽腫等は化学放射線療法に抵抗性を示し、治療困難とされている。その原因として、治療抵抗性を有するがん幹細胞の関与や低酸素などの腫瘍微小環境の影響が考えられる。重粒子線は光子線に抵抗性を示すがん幹細胞や低酸素条件下にあるがん細胞に対しても有効であるとの報告がなされている。そこで本課題では、現在治療困難とされている放射線および抗がん剤に抵抗性を示すがんに対する重粒子線治療の有用性を検証し、各種薬物療法との増感作用を検討するとともに、X線照射と比較することでそれらのがんの放射線耐性分子機構を解明することを目的とした。また治療抵抗性の主因となる腫瘍低

酸素を克服するために、微小気泡および超音波照射と放射線照射を併用する新しい治療戦略についても評価を行うことにした。

1-2.

腸内細菌叢は、各種疾患に関連し、また様々ながん治療の効果に関与していることが判明してきている。特に、抗腫瘍免疫との関連が示唆されている。重粒子線治療は、腫瘍抗原の放出を促すことによる抗腫瘍免疫の賦活化に関与することが推測されるが、こと腸内細菌叢との関連については、未だ解明されていない。我々は、これまでに、X線治療と腸内細菌叢との関連について検討をすすめている。今回、腸内細菌叢改変動物モデルを用い、重粒子線治療効果について検討を行うことで、重粒子線治療の効果を高める菌叢の同定など、臨床へとつながる基礎的知見を得る事を目的とした。

2. 昨年度までに得られている結果

2-1.

前回の採択課題(22J150)では、X線、炭素線、および抗がん剤(CDDP)の効果について、従来用いられてきた2次元培養(2D)および3次元培養(3D)条件下で、ヒト子宮頸部腺がん細胞株(HeLa, HCA-1)を用いて評価した。2D培養では、いずれの処理においても線量・用量依存的な細胞生存率の低下が認められた。一方、3Dスフェロイド培養では、X線およびCDDPの抗腫瘍効果は減弱したのに対し、炭素線は2D培養と同等の効果を維持した。さらに、炭素線単独の抗腫瘍効果は、X線とCDDPの併用療法を上回ることも明らかとなった(参考文献1)。これらの結果は、3D培養におけるスフェロイド内部の低酸素環境がX線の効果を低減させる一方で、炭素線は低酸素条件下でも高い効果を発揮することに起因すると考えられる。

また、極めて悪性度の高い希少がんである甲状腺未分化がんに対する放射線治療効果を検討するため、ヒト甲状腺未分化がん細胞株6種(TTA1, TTA2, KTA1, 8305c, OCUT2, OCUT4)を用いて、炭素線およびX線の抗腫瘍効果を比較評価した。コロニー形成能アッセイの結果、炭素線はX線の約2倍(細胞株によっては3~3.5倍)の強い抗腫瘍効果を示した。また、放射線照射によりG2期停止、アポトー

シス誘導、細胞遊走および浸潤の抑制が認められ、これらの効果はいずれも炭素線照射で有意に高かった。さらに、*in vitro* で得られた知見の *in vivo* での再現性を検証するため、**BRAF** 野生型の **TTA1** 細胞および **BRAF V600E** 変異を有する **8305c** 細胞を用いたマウス異種移植モデルを作製し、治療効果を評価した。**TTA1** 担がんマウスでは、**X** 線単独および分子標的薬単独では有意な腫瘍増殖抑制効果は認められなかったが、炭素線照射群および炭素線と分子標的薬の併用群では有意な腫瘍増殖抑制が確認された。一方、**8305c** 担がんマウスでは **X** 線単独でも一定の効果が認められたものの、炭素線照射群および併用群においてより強力かつ持続的な抗腫瘍効果が観察された。

以上の結果から、子宮頸部腺がんおよび甲状腺未分化がんにおいて、重粒子線（炭素線）治療は従来の **X** 線治療や化学療法に比して優れた抗腫瘍効果を有し、特に低酸素環境や高悪性度腫瘍に対して有効である可能性が示された。

2-2.

前回の採択課題（22J150）では、腫瘍移植モデルとして用いる細胞株（Lewis lung carcinoma; LLC）に関して、colony formation assay を用い RBE が約 1.8 であると算出した。抗生剤（**vancomycin**, **metronidazole**）を用いた腸内細菌改変マウスモデルを作成した。糞便より細菌 DNA を精製し、**T-RFLP**（Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism）法を用い、腸内細菌叢の解析を実施した。抗生剤投与群において、非投与群と比較し、腸内細菌が欠失し、腸内細菌のパターンが優位に異なっていることを確認した。よって、腸内細菌の影響を比較検討するモデルとして適当であることが確認された。腸内細菌改変モデルおよび非改変モデルそれぞれにおいて、粒子線 7Gy 照射・15Gy 照射を実施し、非照射群と併せて計 6 群（非照射・7Gy 照射・15Gy 照射群・腸内細菌改変のみ・腸内細菌改変+7Gy 照射・腸内細菌改変+15Gy 照射群）で抗腫瘍効果を比較検討した。腫瘍体積の推移を比較したところ、腸内細菌改変モデルにおいて抗腫瘍効果の増強を認めた。また腸内細菌叢改変に関しても、グラム陰性菌およびグラム陽性菌などにおいても比較検討を行い、グラム陰性菌・陽性菌ともに改変した場合がもっとも抗腫瘍効果増強を示唆する結果が得られた。

3. 今年度の研究内容

3-1.

甲状腺未分化がんの増殖および悪性化に深く関与する主要なシグナル伝達経路である **MAPK**（**BRAF**-**MEK**-**ERK**）経路および **PI3K**-**AKT**-**mTOR** 経路に着目し、これらの経路に関連するタンパク質発現およびリン酸化状態の変化を詳細に解析する。具体的には、放射線照射（**X** 線および炭素線）ならびに分子標的薬の添加条件下において、各シグナル経路の活性化状態（**p-ERK**、**p-AKT** など）を評価し、治療介入によるシグナル制御機構の変動を明らかにすることを目指した。さらに、これらの解析を通じて、放

射線種別による生物学的効果の違いや、分子標的薬との相互作用がシグナル伝達経路に与える影響の比較検討を行った。

3-2.

腸内細菌改変モデルにおける、重粒子線の抗腫瘍効果の増強について、再現性の確認を行った。また、腸内細菌叢をより強く改変するため、抗生剤として、グラム陽性菌およびグラム陰性菌の双方に広く作用するように、**vancomycin** と **metronidazole** を併用した結果として、抗腫瘍効果の増強を認めている。そのため、どの薬剤による腸内細菌への影響がより抗腫瘍効果の増強に寄与するかを評価するため、**vancomycin** 単独、**metronidazole** 単独時、両薬剤併用時を比較検討した。

4. 今年度の研究成果と解析結果

4-1.

放射線照射と分子標的薬の併用により、**ERK** のリン酸化が有意に抑制されることを確認した。特に炭素線照射においては、**X** 線照射と比較してより強力なリン酸化抑制効果が認められ、**MAPK**（**BRAF**-**MEK**-**ERK**）経路に対する高い制御能が示唆された。この結果は、炭素線が分子標的薬との併用において、シグナル伝達の抑制をより効果的に増強し得る可能性を示すものである。一方、**AKT** のリン酸化については、現時点では一定の傾向は観察されているものの、再現性および統計的有意性の観点から明確な結論には至っていない。そのため、今後さらなる実験を重ねることで、**PI3K**-**AKT**-**mTOR** 経路に対する影響を詳細に検証する予定である。加えて、**mTOR** をはじめとする下流分子や関連シグナル分子の挙動についても現在解析を進めており、これらの結果を統合的に評価することで、放射線種別および分子標的薬併用によるシグナルネットワーク全体への影響を明らかにすることを目指している。

4-2.

腸内細菌改変モデルにおける、重粒子線の抗腫瘍効果の増強について、メカニズム解析をすすめるため腫瘍組織を用いた遺伝子の網羅的な発現解析を実施した。腫瘍組織より、RNA を精製し、RNA シークエンスを行った。同一群間においても遺伝子の発現変動に差がある等、解釈が困難な点もあるが、現在、解析をすすめている。腸内細菌叢改変群における抗腫瘍効果増強の機序について今後、考察および検証を進めていく予定である。

参考文献

1. Sekihara K et al. *Cancer Cell Int.* 2022;22(1):391.

^a神がんセ臨床研がん生物 ^b宮崎大医薬理 ^c神がんセ臨床研がん免疫 ^dQST 病院重粒子治療

研究成果一覧 25HJ104 関原和正

(1) 原著論文

1. Sekihara K, Himuro H, Toda S, Saito N, Hirayama R, Suganuma N, Sasada T, Hoshino D.: Recent Trends and Potential of Radiotherapy in the Treatment of Anaplastic Thyroid Cancer. *Biomedicines* 12(6), 1286 (2024).

(2) 国際研究集会などの Proceedings

なし

(3) 学会及び研究会の口頭発表、ポスター発表

1. 関原和正, 氷室秀知, 平山亮一, 笹田哲朗, 武谷立, 星野大輔.: 甲状腺未分化がん細胞における放射線と分子標的薬の併用効果. 日本放射線腫瘍学会第 38 回学術大会, 東京, 2025. 11.
2. 氷室秀知, 関原和正, 平山亮一, 紅露拓, 魏菲菲, 辻嘉代子, 星野大輔, 笹田哲朗.: 腸内細菌叢と重粒子線の抗腫瘍効果との関連についての前臨床モデルを用いた検討. 日本放射線腫瘍学会第 38 回学術大会, 東京, 2025. 11.
3. 関原和正.: 令和 6 年度日本放射線影響学会奨励賞授賞講演: 放射線療法に抵抗性を示す難治がんに対する重粒子線の生物効果に関する研究. 日本放射線影響学会第 68 回大会, 広島, 2025. 10.
4. Sekihara K, Himuro H, Hirayama R, Suganuma N, Takeya R, Hoshino D.: Carbon Ion Radiotherapy as a Promising Modality for Anaplastic Thyroid Carcinoma Treatment. The 68th Annual Meeting of the Japanese Radiation Research Society and The 6th Asian Congress of Radiation Research, Hiroshima, 2025. 10.
5. 関原和正, 氷室秀知, 平山亮一, 笹田哲朗, 武谷立, 星野大輔.: 重粒子線照射と分子標的薬による 甲状腺未分化癌治療の新規治療戦略. 令和 7 年度日本生化学会九州支部例会, 宮崎, 2025. 6.
6. 関原和正, 氷室秀知, 平山亮一, 笹田哲朗, 武谷立, 星野大輔.: 炭素イオン放射線治療と BRAF/MEK 阻害剤併用による甲状腺未分化癌の治療効果. 第 11 回がん代謝研究会 in 草津, 草津, 2025. 5.

(4) その他 (解説、単行本など)

なし

(5) 学位論文 (博士論文、修士論文、卒業研究)

なし

Advanced multiomic analysis of DNA Damage, Metabolic, and Immunotherapeutic Inhibitors with Heavy-Ion Radiotherapy

(25HJ106)

DK Ebner^a and T Shimokawa^b

Abstract

Previously, we demonstrated that DNA damage response (DDR) inhibitors interact with carbon-ion radiotherapy (CIRT) in an LET-dependent manner: ATM and ATR inhibitors synergize at moderate LET but lose efficacy at high LET, while olaparib demonstrated significant radiosensitization regardless. We hypothesized that high-LET CIRT independently saturates homologous recombination (HR), creating a targetable “BRCAness” phenotype. In the 2025–2026 cycle, we advanced this hypothesis along three axes. First, comprehensive reanalysis of the October 2024 beamtime CCK-8 viability data - incorporating corrected dose-LET mapping - confirmed olaparib with concurrent RAD51 knockdown as the dominant radiosensitizer at 70 keV/μm, with a favorable therapeutic index across tumor and normal-tissue cell lines. Second, depth-resolved phosphoproteomic analysis across our carbon-ion LET ladder in hTERT-RPE1 has progressed to results validation. Third, transcriptomic analysis from the bilateral-flank LM8 abscopal model revealed LET-dependent durability of immune gene expression – for instance, CXCL9 and GZMB differentials between high and low LET widened substantially from Day 7 to Day 14, supporting combination with immune checkpoint inhibition.

Background / Objectives / Activities

As reported previously, our program centers on the hypothesis that high-LET CIRT generates clustered DNA damage that overwhelms homologous recombination, creating a transient HR-deficient state targetable with PARP inhibition. Initial phosphoproteomic analysis of hTERT-RPE1 samples across the LET spectrum revealed LET-dependent enrichment of key HR effectors, motivating evaluation of corresponding inhibitors. Unexpectedly, neither ATM inhibition nor ATR inhibition synergized with CIRT at high LET (70+ keV/μm), whereas olaparib demonstrated significant treatment amplification at both low and high LET. This was subsequently validated using B02 (a RAD51 small-molecule inhibitor), siRNA knockdown of RAD51, and U2OS BRCA1^{-/-} cell lines, all demonstrating similar effects with high-LET CIRT and supporting interconvertibility of induced and constitutive HR deficiency. Simultaneously, we established a bilateral-flank LM8 abscopal model to study CIRT-induced systemic immune response and collected tissue samples for transcriptomic analysis.

During the 2025–2026 cycle, a critical advance was the comprehensive deep reanalysis of the October 2024 beamtime CCK-8 viability data. This confirmed RAD51 siRNA knockdown combined with olaparib as the strongest radiosensitizer at 70 keV/μm, producing a dose-enhancement ratio (DER) of 1.41 in LM8 - the only condition to substantially exceed the modest ~10% DER ceiling seen with single-agent CDK1, CDK2, CDK4, CDK4/6, and ATM/ATR inhibitors. This is consistent with our interpretation that at high LET, HR is already saturated and additional single-target inhibition provides limited headroom, whereas simultaneous ablation of both HR (via RAD51 knockdown) and PARP-dependent backup repair (via olaparib trapping) is required to achieve meaningful sensitization. In U2OS, an orthogonal combination of RAD51 knockdown with CDK4/6 inhibition emerged as the strongest sensitizer, suggesting alternative mechanisms potentially related to TP53 wild-type cell cycle biology. Importantly, the hTERT-RPE1 normal-tissue comparator showed minimal differential sensitization across the panel, yielding therapeutic indices of 1.24–1.54 - the DDR inhibitors preferentially sensitize tumor over normal tissue at this LET. Additionally, the

dose mapping confirmed the LET-dependent crossover of ATR inhibition noted previously: berzosertib synergized at 20 keV/μm (where HR remains intact) but lost synergy at 70 keV/μm, further supporting PARP inhibition as the preferred combination partner for high-LET CIRT.

In parallel, our phosphoproteomic analysis of TMT18-multiplexed hTERT-RPE1 samples irradiated across a carbon-ion LET ladder (20, 50, and 70 keV/μm at iso-physical and iso-effect doses, with X-ray reference) has advanced considerably. Single-sample gene set enrichment analysis and kinase-substrate enrichment analysis against PhosphoSitePlus, PTMsigDB, and MSigDB Hallmark reference standards are now complete, with results validation in progress. We are framing this dataset as a hypothesis-generating LET-ladder atlas of kinase-substrate rewiring that complements existing X-ray phospho-atlases and the more limited prior photon-versus-carbon comparisons. A manuscript describing the first depth-resolved carbon-ion LET phosphoproteomic resource in an untransformed human cell line is in preparation for the 2026 cycle.

Perhaps most significantly, we have now obtained transcriptomic results from the bilateral-flank LM8 abscopal model described in our 2025 report. In that experiment, LM8 tumors were inoculated bilaterally in syngeneic C3H/He mice (3.0×10^5 cells, 7–8 weeks), one flank was irradiated with CIRT combined with anti-CTLA-4 checkpoint blockade, and irradiated tumor, contralateral tumor, lymph node, and lung metastasis samples were collected. Pilot bulk RNA-seq from irradiated tumor tissue has revealed a striking finding: immune gene expression is not only higher at high LET, but demonstrates LET-dependent durability. CXCL9, a critical T-cell chemoattractant, showed 2.2-fold greater expression at 70 versus 13 keV/μm at Day 7 post-irradiation; by Day 14, this differential had widened to 6.2-fold. GZMB, a cytotoxic effector molecule, demonstrated a similar pattern — 3.3-fold at Day 7, widening to 7.9-fold at Day 14. This widening differential suggests that high-LET CIRT does not merely produce a stronger acute inflammatory response, but sustains immune activation through the critical window for adaptive immune priming. Combined with our previously reported observation that CIRT induces PD-L1 and IRF1

specifically in cancer cells, these data provide a compelling mechanistic basis for combining high-LET CIRT with immune checkpoint inhibition. This data is under further investigation with Dr Shimokawa and Dr Inaniwa's groups.

Full transcriptomic characterization of the contralateral tumor, lymph node, and lung metastasis compartments is ongoing, with significant transcriptomic data from our January beamtime received in the last two weeks, and under preparation for analysis. This will inform the development of a synergistic treatment pathway combining repair inhibition with immunotherapy, electing a potential model for CIRT combination therapy in clinical trials. Forthcoming beamtime priorities include CDK2 inhibitor combined with olaparib at 70 keV/ μm to

test whether pharmacologic CDK2 inhibition can phenocopy the RAD51-knockdown + olaparib effect, and in vivo characterization of LM8 RAD51^{-/-} across radiotherapy modalities with PARP inhibition and immune checkpoint blockade — bridging our in vitro DDR findings with the abscopal immunodurability model. Numerous grant-writing efforts are underway to further develop a foundation for the continuation of this collaborative work.

We are grateful for the continuing collaboration with Drs. Shimokawa and Imai and for the in-kind beamtime that has made this work possible, and look forward to advancing these findings toward manuscript submission in the coming year.

^aMayo Clinic Rochester, USA, ^bQST / NIRS, Chiba, Japan

Manuscripts describing the above are in preparation. These data are scheduled to be presented at:

- Particle Therapy Cooperative Group (PTCOG) 2026 Annual Meeting
- American Society for Radiation Oncology (ASTRO) 2026 Annual Meeting

The following organizations have provided grant support to this project:

- Sarcoma Foundation of America (Michael Pedrick Memorial Research Award, funded 2024)
- Particle Therapy Cooperative Group (PTCOG)s

The CANTO Project

(Circulating cANcer cells and meTastases fOrmation) (25HJ107)

Malte Benje¹, Olga Sokol¹, Takashi Shimokawa², Alisa Kobayashi², Walter Tinganelli¹

1. GSI Helmholtz Centre for Heavy Ion research, Darmstadt Germany
2. National Institutes for Quantum Science and Technology, Chiba Japan

The experiment was conducted under the number HJ107. The contact person was Prof. Takashi Shimokawa.

Abstract

Background Circulating tumor cells (CTCs) are key mediators of metastasis, yet their response to radiotherapy remains poorly understood. While radiation reduces primary tumor burden, its effects on CTC dynamics and the underlying molecular programs are unclear. In particular, whether X-rays and heavy ions differentially modulate tumor-intrinsic programs controlling CTC release remains an open question.

Objective The objective of the experiment was to investigate whether carbon ion radiation has a different impact on the metastatic cascade and CTC generation compared to X-rays.

Methods C3H mice bearing murine osteosarcoma tumors were irradiated with 4 Gy of ¹²C carbon ions. Primary tumors, CTCs and metastasis were isolated 1, 7 and 19 days after irradiation.

Results Carbon ion irradiation led to smaller tumors and a different tumor growth dynamic compared to non-irradiated controls, and was able to reduce the CTC numbers beyond the effect of tumor shrinkage. Blood samples, tumors and organs were isolated from the animals for further analysis.

Conclusion Carbon ion radiation has an effect on the tumor cells resulting in lower CTC numbers. To further elucidate this mechanism, we will do a molecular analysis on the collected samples, conduct the X-ray arm of the study to compare both irradiation modalities.

Activities

C3H mice were inoculated with 10⁶ LM8-GFP-Puro osteosarcoma cells in the right posterior limbs and irradiated with 4 Gy of carbon ions (primary energy = 290 MeV/u) in the middle of the Spread-out Bragg Peak (LET ≈ 50 keV/μm). Subsequently the animals were sacrificed 1 day, 7 days and 19 days after irradiation. The

primary tumors, blood, lungs, spleens, kidneys and livers of the animals were extracted.

The CTCs were isolated as described before by culturing the blood in DMEM containing 0.5 mM EDTA preventing the clotting of the blood, so viable tumor cells in the blood could attach to the cell flasks and be cultured¹. The colonies were counted 10 days after the blood isolation. Furthermore, 50% of the primary tumor and 50% of the lungs were dissociated and cultivated to generate metastatic and primary derived cell lines, which can be accurately compared with the cultured CTCs.

Results

The molecular analysis of the primary material and the X-ray arm of the study have not been conducted yet. Therefore, the results are now limited to the CTC numbers and the tumor growth results of the carbon ion irradiation at the QST.

We enumerated the CTC numbers based on the clonogenic isolation of CTCs and could show that carbon irradiation with 4 Gy led to a decrease of CTCs. When correcting for the tumor shrinkage effect the irradiation had on the primary tumors with an analysis of covariance (ANCOVA), we found that the reduction of CTCs was exceeding the effect attributable to the radiation induced tumor shrinkage.

Future Plans

We will conduct a comparative X-ray experiment at GSI (Germany) to investigate whether X-rays have a similar effect on CTC counts as carbon-ion irradiation.

Furthermore, we will evaluate whether X-rays have a differential effect on the transcriptome and proteome of primary tumors, CTCs and metastasis.

Finally, we will integrate these results with the data from several *in vitro* experiments.

Acknowledgment

This experiment was partially funded by the PTCOG BIO grant 2025 with 14.000 €.

References

1. Benje M, Vitacchio T, Fritsche D, Tinganelli W. Gene Expression Profiling and Phenotypic Characterization of Circulating Tumor Cells Derived from a Murine Osteosarcoma Model. *Cancers*. 2025;17(7):1210.
doi:10.3390/cancers17071210

List of publications

(3) Poster presentation

Benje M., Carbon Ion and Photon Irradiation differentially modulate transcriptional programs linked to Circulating Tumor Cells in mouse osteosarcoma. PTCOG annual conference 2026/6

重粒子線すだれ状照射による抗腫瘍効果と正常組織障害軽減効果に関する
基礎研究 (25HJ112)

Basic biological research on the antitumor effect and the reduction of normal tissue
damage by special fractionated heavy particle beam irradiation (HJ112)

小嶋光明^a、平山亮一^b、香崎正宙^c、劉 翠華^b、相場俊樹^b、坂本裕貴^b
M. Ojima^a, R. Hirayama^b, M. Kohzaki^c, C. Liu^b, T. Aiba^b and Y. Sakamoto^b

Abstract

Microbeam radiation therapy (MRT) has attracted attention as a novel radiotherapy technique that can suppress tumor growth while minimizing damage to surrounding normal tissues. In MRT, high-dose microbeams with widths of several tens of micrometers are delivered at intervals of several hundred micrometers, producing alternating peak and valley dose regions. Although X-ray MRT has shown promising results in animal studies, its application to deep-seated tumors is limited due to dose attenuation in tissue. Heavy-ion beams, which exhibit a Bragg peak and high beam directionality, may overcome this limitation. In this study, the biological effects of heavy-ion MRT were investigated using breast cancer as a model. Human normal mammary epithelial cells (HME-hTERT) and human breast cancer cells (MCF-7-GFP) were irradiated with 290 MeV/n SOBP carbon ions (LET = 80 keV/μm) under uniform irradiation and grid (“sudare”) irradiation conditions. DNA double-strand breaks and micronucleus formation were analyzed to evaluate cellular responses to heavy-ion microbeam irradiation.

1. 研究の目的とバックグラウンド

放射線治療では腫瘍を制御するために十分な線量の照射が必要であるが、がん組織のみに放射線を照射することは物理的に困難であり、正常組織への影響を最小限に抑える必要がある。近年、この課題を克服する新しい放射線治療法としてマイクロビーム放射線治療 (Microbeam Radiation Therapy: MRT) が注目されている。MRT では、数十 μm 幅に絞った高線量の X 線マイクロビームを用い、がん病巣部に数百 μm 間隔で照射領域 (peak) と非照射領域 (valley) が交互に並ぶように照射する“すだれ状照射”を行う。動物実験では、正常組織への影響を抑えながら腫瘍を制御できる可能性が示さ

れている。しかし、X 線マイクロビームは体内を進むにつれて線量が減弱するため、深部腫瘍への適用には限界がある。そこで本研究では重粒子線に着目した。重粒子線は体内の一定深さでエネルギー付与のピーク (ブラッグピーク) を形成するため、深部腫瘍に対して線量を集中させることが可能である。また、ビームの指向性が高く拡散が小さいことから、“すだれ状照射”への応用が期待される。

本研究では乳がんをモデルとして、重粒子線 MRT の生物学的効果を *in vitro* および *in vivo* 系で評価し、さらに正常細胞とがん細胞間のクロストーク (バイスタンダー効果およびレスキュー効果) の観点からその作用機序の解明を目指すことを目的とする。

2. 前年度までに得られている結果

本研究は今年度より開始した新規課題であるため、前年度までの研究成果はない。

3. 今年度実施された照射実験

今年度は *in vitro* 系の実験を実施した。照射対象として、ヒト正常乳腺上皮細胞 (HME-hTERT) およびヒト乳がん細胞 (MCF-7-GFP) を用いた。細胞は 10 cm² のチャンバースライド内でコンフレントになるまで培養した後、照射実験を行った。

照射には 290 MeV/n の SOBP 炭素イオン (LET = 80 keV/μm) を用いた。照射条件として以下の 2 条件を設定した。

1. 全面照射 (100%照射)

チャンバースライド全面に対して均一に炭素イオンを照射した。

2. すだれ状照射 (50%照射)

コリメーターサイズを 5 mm × open mm (幅 × 高さ) とし、5 mm 間隔で炭素イオンを“すだれ状照射”した。

4. 解析結果のまとめ

照射後の細胞応答を評価するため、DNA 損傷および染色体損傷の解析を実施している。DNA 二重鎖切断の評価として、照射後 1、4、24 時間に細胞を固定し、DNA 損傷マーカーである 53BP1 の免疫蛍光染色を行い、蛍光顕微鏡下でフォーカス形成を観察した。現在、取得した画像データの定量解析を進めている。また、細胞死の評価として微小核試験 (micronucleus assay) を実施した。照射直後および照射 24 時間後に細胞を回収し、サイトカラシン B 含有培地で培養することで二核細胞を形成させ、微小核生成頻度を指標として解析を進めている。これらの解析により、重粒子線による“すだれ状照射”が細胞レベルで引き起こす DNA 損傷および細胞死の特徴を明らかにし、重粒子線 MRT の生物学的効果の理解を深めることを目指す。

a 大分県立看護科学大学、b 量子科学技術
研究開発機構、c 産業医科大学

a Oita University of Nursing and Health
Sciences、b QST、c University of
Occupational and Environmental Health

研究成果一覽
25HJ112 小嶋光明

無し

Heavy ion minibeam radiation therapy: safety and efficacy studies (25HJ203)

Ramon Handerson Gomes Teles¹, Loris Roncali¹, Ryoichi Hirayama², Cuihua Liu², Toshiki Aiba²,

Yuki Sakamoto², Yolanda Prezado¹

Abstract

Heavy ion radiotherapy holds promise as a therapeutic intervention due to its unique physical properties, which translate into biological effects, such as a lower oxygen enhancement ratio. This characteristic suggests it may be suitable for treating radioresistant tumors. However, patients have experienced severe side effects, leading to its discontinuation in clinical settings. With the emergence of new technologies, there is potential to harness the unique benefits of heavy ions by combining them with techniques like minibeam radiotherapy. Therefore, our objective was to investigate the effects of Neon Minibeam Radiotherapy (NeMBRT) on tumor development while also preserving the well-being of a tumor-bearing mouse model.

Background and objectives of the experiment

Cancer is the leading cause of death worldwide, and it is estimated that approximately 70% of oncologic patients receive radiotherapy. To improve their efficacy, one possibility is the use of heavy ions, such as Neon beams, which exhibit superior biological effectiveness and a lower oxygen enhancement ratio¹, associated with minibeam therapy, which consists of spatial dose modulation by arrays of millimetric beamlets. These beam characteristics have been shown to improve tolerance of healthy tissue while maintaining at least the same effectiveness as conventional radiotherapy in tumor control². Currently, radiotherapy is a standard treatment for different types of cancer, such as squamous-cell carcinoma, in which patients who are not surgical

candidates are eligible to receive this treatment³. Due to significant side effects observed in patients who have undergone heavy ion radiotherapy in the past, along with a lack of studies demonstrating its mechanisms of action and long-term safety, there is limited consensus on guidelines for its application to other cancer types that may benefit from this advanced treatment. Therefore, our objective was to evaluate the effects of NeMBRT in a murine model of squamous-cell carcinoma by assessing animal wellness, tumor volume, and protein expression seven days after irradiation.

Materials and methods

Approximately 1×10^6 SCCVII cells/ $10 \mu\text{l}$ medium were intramuscularly injected into the right hind leg of 5-6-week-old female Che/He mice ($n = 10/\text{group}$). 11 days later, irradiation was performed on the tumors using NeMBRT or Ne-broad beam, while control animals were submitted to anesthesia to mimic handling-stress conditions, but without irradiation. A custom-made brass collimator was used to deliver a single array of planar mini-beams with lateral dimensions of $1\text{mm} \times 25\text{mm}$ and a center-to-center distance of 4mm. The prescribed dose in the NeMBRT condition was 105 Gy, while 20 Gy in the Broad Beam. Over 7 days, animal weight, tumor volume, and wellness state were recorded. Then, animals were euthanized via cervical dislocation, and tumor collected for further immunohistochemistry analysis to assess the immune infiltration (ongoing).

Results

Our results indicated that the animals did not experience weight loss over the one-week

follow-up period. However, significant differences were observed in tumor volume. In the control group, tumor volume consistently increased, while irradiation was found to slow its progression. Broad Beam treatment demonstrated a notably superior effect in controlling tumor growth compared to NeMBRT. It is important to mention that previous experiments by our group showed that the animals exhibited severe distress signals and secondary complications related to inflammation and pain, which necessitated the application of humane endpoints. In contrast, animals receiving NeMBRT showed no signs of distress or associated radiation-tissue damage. Furthermore, NeMBRT was effective in decreasing tumor volume and maintaining stability. Finally, *in vivo* dosimetry measurements revealed a peak dose of 39.2 ± 0.5 Gy and a valley dose of 0.94 ± 0.05 Gy for NeMBRT, while the Broad Beam condition had a peak dose of 19.6 ± 1 Gy.

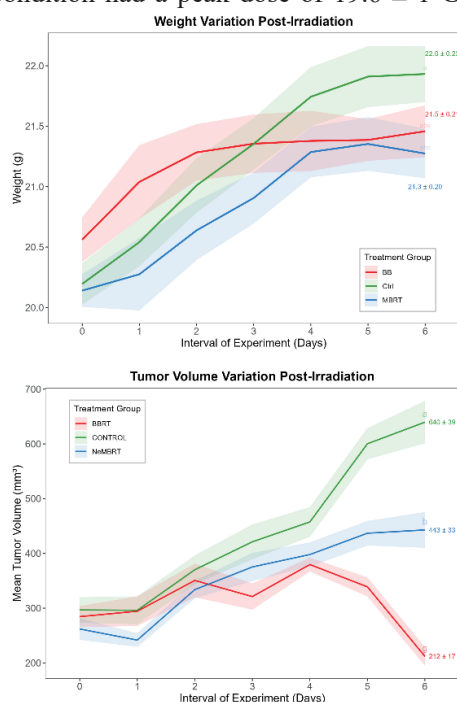


Figure 1. Panel showing the animal weight variation (superior) and tumor volume variation post-irradiation (inferior).

Summary of the previous year(s), if the experiment is a consecutive one

This experiment builds upon the investigation conducted by our team in previous years, where we observed sparing effects on healthy tissues, specifically in the intestines, skin, and bone marrow viability (2024-J07). With the addition of a minibeam collimator to Neon irradiation, which successfully spares healthy tissue, we have advanced to studying its effects on tumors, and as presented in this report, we have obtained promising results, which will prompt us to proceed with experiments under hypoxic conditions (FY2026). This is a key condition in radioresistance, and heavy ions demonstrate their greatest efficacy in such environments due to a lower oxygen enhancement ratio.

References

- (1) González-Vegas, R., et al. Synchrotron-based infrared microspectroscopy unveils the biomolecular response of healthy and tumour cell lines to neon minibeam radiation therapy. *Analyst*, 2025, 150, 342.
- (2) Prezado, Y., et al. Proton minibeam radiation therapy: a promising alternative for brain re-irradiations. *Radiation and Oncology* 209 (2025) 110980.
- (3) Wysong, A. Squamous-Cell Carcinoma of the Skin. *N Engl J Med* 2023;388:2262-73.

1 Center for Research in Molecular Medicine and Chronic Diseases (CiMUS), Av. Barcelona, 15782, Santiago de Compostela, Spain

2 Department of Charged Particle Therapy Research, QST Hospital, National Institute for Quantum Science and Technology (QST), Chiba, Japan

研究成果一覽
25HJ203 PREZADO Ydanda

無し

Radioamplification effect of nanoparticles study on 3D cell models (25HJ402)

E. Porcel^a, F. Feghali^a, F. Savina^a, C. Liu^b, T. Aiba^b, Y. Sakamoto^b, R. Hirayama^b, and S. Lacombe^a

1. Abstract

Increase of radiation effect in tumor whilst preserving healthy tissue located at the entrance of the track is an important challenge in particle therapy. Nanoparticles (NPs) are good candidates to achieve this goal, thanks to their preferential accumulation in cancer cells and their electronic emission.

However, the presence of hypoxic cells in the tumor is a main cause of radioresistance which can lead to relapse, metastasis and treatment failure.

2. Introduction – objectives

During the last decade, the efficiency of the treatment protocol based on the combination of nanoparticles (NPs) with radiations has been demonstrated. Clinical trials have proved the efficiency of this approach using nanoagents such as gold, hafnium dioxide and gadolinium based nanoagents developed by companies (Nanobiotix, France for NBTXR3; NH-Theraguix, France for AGuiX). They have shown that the treatment by NPs using IT injection (for NBTXR3) or IV injection (for AGuiX) amplifies the effects of radiations. These professionals have demonstrated that the addition of these NPs improves the conventional radiotherapy but so far, very little has been done using particle beams as incident radiation.

The team develops multimodal NPs which, amplify radiation effects at the tumour and are also able to improve medical imaging diagnostic. This strategy aims at developing image-guided particle therapy at term.

In collaboration with R. Hirayama, the group studied the impact of platinum NPs using carbon ions beams (SOBP mode) on 3D models. The spheroid models made with tumoral cells (HeLa) were optimized in France. A protocol has been developed to be able to build survival curves after irradiating the models in presence of NPs. We found that platinum NPs penetrate the spheroid cells and localize in the cytoplasm. They are very efficient to enhance the radiation effects.

3. Methodology

3.1 Nanoparticles (NPs)

Platinum containing NPs were synthesized in France with a radiolytic method patented by the team. The basic composition of the NPs consists of

a platinum core covered by a PolyEthylenGlycol (PEG) shell. The biocompatible coating is used to stabilize and functionalize the NPs. 2 types of NPs were obtained (Figure 1) : i) platinum NPs coated with PEG_{OH} and (Pt-PEG-OH) resulting in 3nm in diameter spherical shaped NPs ii) platinum NPs coated with PEG_{(NH₂)₂} (Pt-PEG-(NH₂)₂) resulting in 16nm in diameter nanoflower shaped NPs.

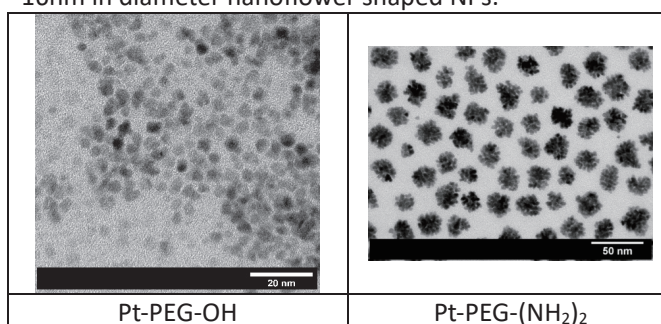


Figure 1 : TEM images of Pt-NPs

3.2 Cell culture and incubation

HeLa (human cervical cancer) and BxPC3 (human pancreas cancer) were used. A cell solution is dispensed into each well of a 96-well conical-bottom plate, treated with a coating to prevent cell adhesion (Corning, microplates system). This encourages cell aggregation, resulting in the formation of a three-dimensional spheroid whose diameter increases with the time the cells are cultured in the well. Spheroids were maintained in 5% CO₂ incubator at 37°C. For 12h before irradiation, spheroids were treated with NPs. The combined effect of radiation and NPs on cells was quantified by clonogenic.

3.3 Irradiation

Irradiations by C⁶⁺ ions (E=290 MeV uma⁻¹, Spread Out Bragg Peak=6cm) and He²⁺ (E=150 MeV uma⁻¹, Spread Out Bragg Peak=6cm) ions were performed at QST (Chiba, Japan). The doses ranged from 0 up to 5Gy.

3.4 Analysis

To characterize the type of lesions amplified by the NPs, the survival fraction (SF) curves were simulated with a linear quadratic law:

$$SF(D) = \exp -(\alpha D + \beta D^2)$$

D is the dose of irradiation.

4. Results and discussions

The survival curves of NPs-free HeLa spheroids

(control) and HeLa spheroids loaded with NPs (incubation time of 12h) irradiated by carbon ions are presented in Figure I.

The cell survival fraction decreases exponentially with the increase of the radiation dose. We found that the NPs can enhance the radiation effect. It confirms previous results obtained in France with X-rays.

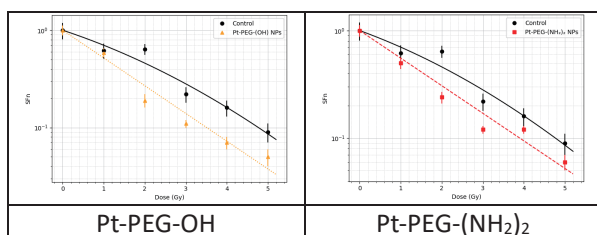


Figure II : Survival fractions of BxPC3 spheroids irradiated with C^{6+} , incubated with (orange or red) or without (black) platinum NPs.

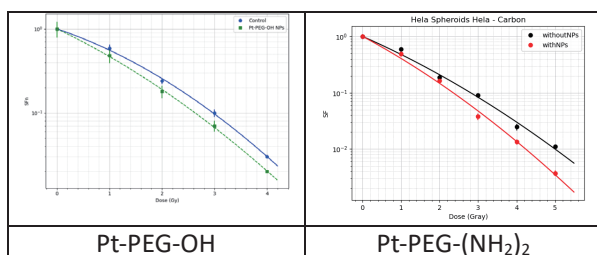


Figure III : Survival fractions of HeLa spheroids irradiated with C^{6+} , incubated with (green or red) or without (black) platinum NPs.

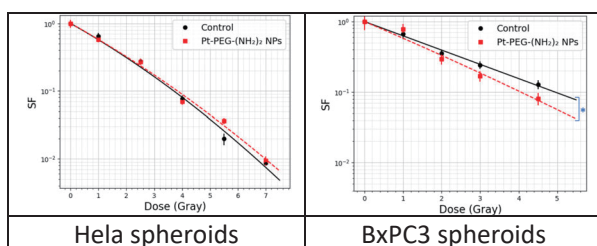


Figure III : Survival fractions of HeLa and BxPC3 spheroids irradiated with He^{2+} , incubated with (red) or without (black) platinum $Pt-PEG-(NH_2)_2$ NPs.

We observed a significant radioamplifying effect of the two types of NPs on both cell lines when the C^{6+} was used. The Sensitizing Enhancement Ratio (SER) was between 25 and 40 % at 2 Gy.

When the He^{2+} ions were used, we observed a radioamplifying effect only on BxPC3 spheroids.

5. Conclusions and Perspectives

We have shown that platinum NPs are able to amplify the effect of carbon ions on BxPC3 and HeLa spheroids. The NPs were not able to amplify the effect of Helium ions in both cell lines showing multiparametric dependency and complexity of the radioamplifying effect. The NPs are internalized by the tumoral cells inside the spheroid. They are clearly localized in the cytoplasm. It would be interesting to investigate the specific action sites of the NP inside the cytoplasm and to compare them between the two cell lines.

These results are very important to predict the effect of NPs in tumors.

The next step is to study the in-vivo effects of the platinum NPs.

a Institut des Sciences Moléculaires d'Orsay (ISMO), CNRS, Univ. Paris-Saclay, F-91405 Orsay (France),

b Department of Charged Particle Therapy Research, QST Hospital, National Institutes for Quantum Science and Technology (QST), 4-9-1 Anagawa, Inage-ku, Chiba 263-8555, Japan

List of Publications (25HJ402) Erika PORCEL

(1) Publications

1. *Synergistic effect of Gemcitabin-loaded metal organic frameworks nanoparticles with particle therapy*. Pauline Maury, Ryoichi Hirayama, Xue Li, Pierre Mahou, Marie-Claire Schanne-Klein, Sandrine Lacombe, Ruxandra Gref, Erika Porcel.
International Journal of Pharmaceutics, 124721 (2024).

粒子線による DNA 損傷と突然変異誘発機構の分子レベルでの解析
Molecular analysis of ion beam-induced DNA damage and mutations.
(25HJ408)

松尾陽一郎^a、清水喜久雄^b、泉佳伸^b、下川卓志^c
Y. Matuo^a, K. Shimizu^b, Y. Izumi^b, T. Shimokawa^c

Abstract

Our research group has been studying ion beam-induced mutation of the budding yeast, S288c (*RAD*⁺), as a model of eukaryote cells. Yeast cells were grown in a YPD medium and irradiated with carbon ion beams with doses of 50 - 200 Gy at HIMAC-QST, Japan. We examined the survival rate and mutagenesis rate of *ku70* strain, which are nonhomologous end joining repair (NHEJ) deficient by irradiation with carbon ion beams. The survival rate of yeast lacking NHEJ was similar to that of the wild strain. This result indicates that NHEJ is not important for yeast cell survival. In contrast, our results suggest that NHEJ suppresses mutagenesis caused by particle ion beam irradiation.

In a 2025 study, the *can1*- mutants are isolated from the L-Canavanine plates were cultured, and chromosomal DNA was isolated. The sequence of the entire *CAN1* gene region was examined for base alterations in *RAD*⁺ and *ku70* (NHEJ-inactive) strains. It was shown that deletion mutations primarily occurred in the *RAD*⁺ strain, while substitution mutations primarily occurred in the *ku70* strain. This relates to the fact that the *ku70* strain uses homologous recombination repair instead of non-homologous end-joining repair for DNA double-strand break repair. Moreover, the mutation localization at the same base were observed in the *RAD*⁺ strain. In addition, the positions where mutations were induced were shown to be different in the *RAD*⁺ and *ku70* strains. Different repair pathways may result in different mutation positions induced by irradiated carbon ion beam.

1. 研究の目的とバックグラウンド

がん治療をはじめとする医療応用や遺伝子資

源の開発などの分野において、ガンマ線と比較して重粒子線の優位性が明らかになっている。細胞の生死および突然変異誘発にとって重要な DNA の損傷が、重粒子線照射の場合、特異的な構造や空間分布を持つことが推測される¹⁾。24J472 課題では、出芽酵母(*S. cerevisiae*) S288c 株の細胞や DNA を対象として、重粒子線照射による生体効果の研究、特に細胞致死および突然変異生成に関するメカニズムの解明のために、炭素線照射による酵母細胞の *URA3* 遺伝子および *CAN1* 遺伝子での突然変異の頻度および変異スペクトルを分析した。また、修復遺伝子不活性株を用いて生存率、突然変異誘発頻度を評価した。さらに、PCR 法により、炭素線照射による DNA 鎖の損傷量を評価した(紙面の都合上、本報告書では割愛した)。

2. 昨年度までに得られている結果

Ku70 不活性株(*ku70* : 非相同末端結合修復不活性株)および *RAD52* 不活性株(*rad52* : 相同組換え修復不活性株)に炭素線 (LET: 13.3keV/ μ m) を照射した場合の生存率および、*URA3* 遺伝子での突然変異誘発頻度を解析した。

Ku70 不活性株の感受性は *RAD*⁺ 株と類似した。また、*Ku70* 不活性株は、*RAD*⁺ 株と比較して 170 倍の自然突然変異が誘発した。さらに *ku70* 株の突然変異誘発頻度は、吸収線量の増加に伴って上昇した。一方で、*RAD52* 不活性株の突然変異誘発頻度は吸収線量の上昇に伴って上昇せず一定となった。

これまで解析対象としてきた遺伝子である *URA3* 遺伝子と比較して、近傍に重要な遺伝子を持たないため大きな領域が欠失した場合でも検出が可能であると推測される *CAN1* 遺伝子(原形質膜でのアルギニン透過酵素活性に関与)に対するシーケンス解析を行い、炭素線を照射

した場合の RAD^+ 株および $Ku70$ 不活性株での突然変異スペクトルについての評価を開始した。

3. 今年度に得られた結果

表1に炭素線照射による RAD^+ 株および $ku70$ 株での $CAN1$ 突然変異体のシーケンス解析の結果を示す。 RAD^+ 株および $ku70$ 株のいずれにおいても、A : T→C : G および G : C→T : A 変異置換変異が高い割合を占めることが示された。特に $ku70$ 株では、置換変異の中でも自然突然変異に由来するとされるトランジションが高い割合を占めることが示された。これは2024年度までの成果として報告した $ku70$ 株での0Gyでの自然突然変異誘発頻度の高さを反映した結果である。置換変異の要因としては炭素線照射によってDNAあるいは細胞核内のヌクレオチドプールでの酸化により、8-OH-dGTP や2-OH-dATPが生成し、これらのDNAへの取り込まれることで塩基置換変異が誘発したと考えられる。また、 $ku70$ 株では RAD^+ 株と比較して、置換変異に対する欠失/挿入変異の割合が低い結果が得られた。二本鎖切断修復のMMEJ（マイクロホモロジー媒介末端結合）は、欠失変異が起りやすいという報告があり²⁾、この結果

は $ku70$ 株において二本鎖切断が主としてHRによって修復され、MMEJによる欠失/挿入変異の発生が抑制された可能性が示唆された。

$CAN1$ 遺伝子上での変異した位置について図1に示す。突然変異を誘発した位置は、 RAD^+ 株と $ku70$ 不活性株では異なっていた。異なる修復経路の選択は、炭素粒子線照射によって誘発される突然変異の位置の違いにつながる可能性がある。また、 RAD^+ 株および $ku70$ 不活性株では同じ位置で変異が誘発される部位を確認した。ただし、変異が集中する”ホットスポット”の存在の有無について議論するためには、シーケンス解析に関するデータの蓄積が少なく、今後実験を継続して明らかにする計画である。

参考文献

- [1] Y. Matuo, *et al.*, *Mutation Research*, 810, pp. 45-51 (2018).
 - [2] M.McVey, *et al.*, *Trends Genet*, 24, pp.529–538 (2008).
- a. 福井大学 学術研究院工学系部門 原子力安全工学講座
b. 福井大学 附属国際原子力工学研究所
c. 量子科学技術研究開発機構 量子医科学研究所 物理工学部 粒子線照射効果研究グループ

Table 1 Mutations in the $CAN1$ gene in RAD^+ and $ku70$ strains induced by carbon ion irradiation.

	RAD^+		$ku70$	
	Number	Percentage[%]	Number	Percentage[%]
Transversion				
G:C to T:A	0	0.0	1	4.8
G:C to C:G	1	9.1	3	14.3
A:T to C:G	3	27.3	0	0.0
A:T to T:A	2	18.2	6	28.6
Transition				
G:C to A:T	2	18.2	5	23.8
A:T to G:C	0	0.0	3	14.3
Deletion/Insertion	3	27.3	3	14.3
Total	11	100.0	21	100.0

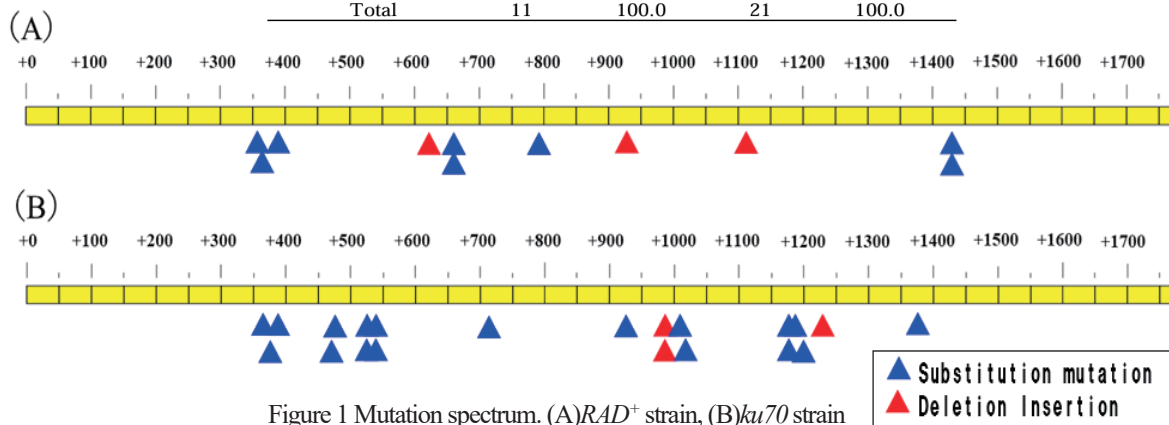


Figure 1 Mutation spectrum. (A) RAD^+ strain, (B) $ku70$ strain

2025 年度 研究成果一覧(25HJ408)

(学会発表)

・川崎敦基、松尾陽一郎、清水喜久雄、下川卓志、泉佳伸：炭素線照射による出芽酵母 NHEJ 不活性株での突然変異誘発に関する研究、第 68 回日本放射線影響学会、広島、2025.10.

(学位論文)

・川崎敦基：放射線照射による出芽酵母の突然変異誘発に関する研究、修士論文、福井大学大学院工学研究科 (2025).

2025年度 HIMAC 共同利用研究課題一覧

整理番号	申請者	課題名	報告書ページ
25HJ001	稲庭拓	新規重粒子線治療の実現に向けた臨床前動物実験	3
25HJ101	Safavi-Naeini, Mitra	Investigation of Cell Death as a Result of Dose Enhancement via Neutron Capture	不許可
25HJ102	下川卓志	高 LET 粒子線による放射線抵抗性脳腫瘍の治療を目指した基礎研究	7
25HJ103	舟山知夫	三次元培養した伴侶動物がん細胞の放射線感受性解析	11
25HJ104	関原和正	治療抵抗性がんに対する重粒子線治療の新展開：薬物療法との併用効果と腸内細菌叢の役割の解明	61
25HJ105	佐井星	難治性癌に対する重粒子線照射と薬剤併用による基礎研究	17
25HJ106	Ebner Daniel Keith	Advanced multiomic analysis of DNA Damage and Immunotherapeutic Inhibitors with Heavy-Ion Radiotherapy	64
25HJ107	Tinganelli Walter	The CANTO Project (Circulating cANcer cells and meTastases fOrmation)	67
25HJ108	高草木洋一	超偏極 13C-MRI を用いた重粒子線照射による腫瘍内代謝変化の評価	21
25HJ110	高橋豊	重粒子線が誘導する免疫応答の解明と免疫治療との併用効果の検討	23
25HJ111	武島嗣英	光子線と重粒子線の抗腫瘍免疫応答の比較	26
25HJ112	小嶋光明	重粒子線すだれ状照射による抗腫瘍効果と正常組織障害軽減効果に関する基礎研究 Basic biological research on the antitumor effect and the reduction of normal tissue damage by special fractionated heavy particle beam irradiation	70
25HJ201	吉岡公一郎	重粒子線を用いた根治的不整脈治療の開発	34
25HJ202	若月優	重粒子線による高精度量子メス治療（マイクロサージェリー）技術開発と適応拡大に関する研究	37
25HJ203	Prezado Yolanda	Heavy ion minibeam radiation therapy: safety and efficacy studies	73
25HJ302	森田明典	細胞死制御剤による粒子線防護効果のマウス個体レベルでの検討	40
25HJ303	小西輝昭	ブラッグピーク近傍の重粒子イオンによる致死的 DNA 損傷誘発メカニズムの解明	43
25HJ401	余語克紀	重粒子線誘発の DNA 損傷を指標としたアミノ酸およびアミノ酸誘導体の放射線防護剤の探索	31
25HJ402	PORCEL Erika	Radioamplification effect of nanoparticles study on 3D cell models	76
25HJ403	中野敏彰	重粒子線照射により生じる DNA 損傷と細胞死の相関の解明：細胞死経路の制御によるがん治療の最適化	46
25HJ404	島田幹男	組織オルガノイドにおける重粒子線の生物効果比の評価	14
25HJ405	Takata Kei-ichi	Mutational signatures induced by high LET radiation	49
25HJ407	平山亮一	低酸素細胞に関する粒子線基礎生物研究	28
25HJ408	松尾陽一郎	粒子線による DNA 損傷と突然変異誘発機構の分子レベルでの解析	79
25HJ501	下川卓志	イオンビームによる微生物・植物への変異導入を利用した基礎研究 プラットフォームの構築	52
25HJ502	高橋美智子	植物への重粒子線照射が栄養ストレス耐性に与える影響	未実施
25HJ503	藤田知道	コケ植物胞子体の宇宙放射線耐性限界の調査および DNA 修復・放射線耐性の分子機構の研究	56

2025 年度 HIMAC 共同利用研究課題一覧

整理番号	申請者	課題名	報告書ページ
25HH001	坂間誠	重粒子線治療照射法に関する総合的研究	85
25HH002	新藤浩之	Soceity5.0 に向けた革新的耐宇宙線デバイス技術の開発	104
25HH003	山内知也	高感度飛跡検出器開発を目指したイオントラック構造と応答特性に関する基礎データ集の確立 Fundamental data collection on ion track structure and response characteristics for the development of high-sensitivity track detectors.	118
25HH004	小林憲正	重粒子線照射による模擬宇宙環境下での有機物の生成とその変成	106
25HH005	寺沢和洋	位置有感比例計数管の重イオンに対する応答	121
25HH006	中竜大	超微粒子原子核乾板によるナノスケールの放射線飛跡検出器の高度化と展開	124
25HH007	George Stuart P	Measurement of Isotopic Light Ion Cross Sections with a Nuclear Fragment Spectrometer	157
25HH008	山谷泰賀	重粒子線照射野イメージングのための OpenPET 装置開発に関する研究	88
25HH009	森口哲朗	反応断面積測定に向けた固体重水素標的の開発 RI ビーム飛行時間検出器の開発 -理研稀少 RI リングのための検出器 -	142
25HH010	RAFFY Quentin	Dose-rate effects with accelerated ions: Experimental investigation and Simulation of water and biomolecules radiolysis	162
25HH011	Ploc Ondrej	Novel Space Dosimetry System for the Czech Satellite in the Cislunar Environment	133
25HH012	牧野高紘	SiC MOSFET のシングルイベント過渡応答の直接測定	109
25HH013	上野恵美	炭素線照射した脂質中に生成するフリーラジカルの定量とその反応進行過程の解析	99
25HH014	石川正純	BaTiO ₃ 強誘電体を用いた線量測定における LET 依存性の検証	127
25HH015	大田晋輔	ガスアクティブ標的による核物質の物性研究	147
25HH016	Benton Eric R	Atmospheric Ionizing Radiation Detectors: Continuing Development Atmospheric Ionizing Radiation Detector Development	165
25HH017	Safavi- Naeini Mitra	A Second-Generation High Performance Prompt Gamma Detection and Neutron Capture Discrimination System for NCEPT Evaluation of a prototype system for prompt gamma detection and neutron capture discrimination in NCEPT	不許可
25HH018	今井伸明	重イオン位置感応型検出器の開発	168
25HH019	小林正規	超音波エコーを利用した水中における重粒子線飛跡可視化の研究	101
25HH020	Berger Thomas	Human Space Exploration - The Radiation risks and novel new detector developments	137
25HH021	Davis Scott C	Radiation Effects Testing Electronic Components for Space	免除
25HH022	Kim Sunghwan	Calibrations of Advanced Particle dosimeter and Spectrometer for Heavy Ions in Space Radiation	96
25HH023	Sihver Lembit	Enabling in-orbit AI on Space Stations and Satellites by shielding of COTS based electronics	免除
25HH024	小林和淑	放射線環境下で発生する電圧変動を活用したデバイスモデルパラメータ最適化手法の構築	110

2025 年度 HIMAC 共同利用研究課題一覧

整理番号	申請者	課題名	報告書ページ
25HH025	Coronetti Andrea	Heavy ion single-event effect testing of components needed for ethernet-based time-sensitive networks in space applications	免除
25HH027	Park Inchun	気象衛星ひまわり後継機搭載用宇宙放射線計測装置の開発と評価	140
25HH028	榊泰直	重粒子線による輝尽性蛍光体検出器および蛍光体検出器の LET 依存性に関する研究	130
25HH029	三原基嗣	動的核偏極法による不安定核の磁気双極子モーメント測定	152
25HH030	安部勇輝	レーザーイオン加速による GeV 級イオンビーム生成の実証に向けた高エネルギーイオン診断法の開発	171
25HH031	Rosenfeld Anatoly B	In-Field and Out-of-Field Dose Profile from Therapeutic Hadron Therapy Beams	112
25HH032	外川学	ノンシリコン半導体を使った粒子検出器の基礎研究	未実施
25HH033	山口充孝	二次電子制動放射線計測による粒子線イメージング手法の開発	93
25HH034	中嶋大	宇宙 X 線観測に向けた超小型衛星搭載センサの放射線耐性	未実施
25HH035	Nguyen Trung Tat	耐宇宙環境試験による民生品の信頼性評価	免除
25HH036	岡本広樹	半導体部品(電源用部品)の宇宙機器への適用に向けた重イオンシングルイベント効果の評価	免除

(35 課題)

