

[2023202009]

有機色素化合物を用いた 3D 色素ゲル線量計の開発 Development of the 3D Gel Dosimeters based on the Organic Dyes

太刀川達也*, 小泉知恵, 山田琴美, 高瀬康生

Tatsuya Tachikawa, Chie Koizumi, Kotomi Yamada, Koki Takase

Faculty of Engineering, Graduate School of Science and Engineering, Saitama University

Abstract

The color former was developed to visually detect radiation that is harmful to the human body but imperceptible to the human senses. Gel dosimeters using these color formers are useful for visual detection of irradiated areas of heavy ion beams used in cancer therapy. In order to obtain clear images upon irradiation with heavy ion beams, new color formers with substituents that interact with the gelator and inhibit the diffusion of the chromophore in the gel are required. In this report, the coloration behavior of the organogel dye dosimeters containing a novel spiropyran-like colorformer and the hydrogel dye dosimeters containing a phenothiazine-based colorformer upon irradiation is described. The behavior upon irradiation to the new hydrogel dye dosimeters using calcium alginate as a gelator will also be reported.

Keyword: color former, dye dosimeter, hydrogel, organogel, hydrogelator, organogelator, phenothiazine, spiropyran, calcium alginate

1. はじめに

1.1 研究背景

我々は γ 線の照射を目視で確認するため、水溶液や有機溶媒中で数 Gy の低線量で発色するカラーフォーマーの開発研究を行ってきた[1-3]。癌治療に用いられる重粒子線の放射線量が 15 Gy 程度であることに着目し、本研究室で開発されている脂溶性・水溶性カラーフォーマーと、オルガノゲル・ヒドロゲル色素線量計を作成し、発色能を評価することで、癌治療における重粒子線の照射線量の空間分布を目視により観測するための色素線量計を創製することが本研究の目的である。

癌治療においては、重粒子線の線量と照射範囲を決められた線量と患部の大きさに揃えるが、その修正がきちんとされているか、患部の大きさを超える範囲の空間を、狭い間隔で 1 点、1 点 照射、計測しておかなければならないため、長大な時間と照射回数が必要となっている。色素ゲル線量計が開発されることにより、一度に全面で線量を観測することができ、照射準備にかかるサイクロトロンの使用時間を大幅に短縮でき、より多くの患者に重粒子線を照射できるようになると考える。癌治療に用いられる放射線量の分布を一度に簡便に観測するための 3D 色素ゲル線量計の開発を目的とし、新しい水溶性カラーフォーマーや低分子ヒドロゲル化剤の開発に取り組む。

1.2 本年度の取り組み

前年度までの研究[4]から、紫外線やガンマ線、過酸化水素などで発色するカラーフォーマーでも重粒子線では発色がみられない、あるいは、小さい線量計があることがわかった。また、重粒子線で発色しても発色体がゲル中を拡散するため、画像が不鮮明になる場合が見られた。本年度の研究では、生成し

た発色体がゲル媒体中を拡散しないようなカラーフォーマーの開発を目指した。フェノチアジン系あるいはスピロピラン類似型カラーフォーマーにゲル化剤部位と相互作用をもつ置換基を組み込んだカラーフォーマーを合成し、ガンマ線や重粒子線に対する発色能を評価した。また、ゲル化剤を換えることで発色体の拡散を防ぐことを考え、従来のフェノチアジン系カラーフォーマーとアルギン酸カルシウムゲルを用いた色素ゲル線量計を作製し、放射線に対する発色能を評価した。

2. ゲル化剤部位をもつスピロピラン類似カラーフォーマーを用いたオルガノゲル線量計への放射線照射実験

2.1 研究背景

スピロピラン類似カラーフォーマーとは、フォトクロミック特性をもつスピロピランに似た構造をもつカラーフォーマーで、スピロ環構造に類似した 5 員環構造を有し、光には安定であるが酸により 5 員環が開環して発色するカラーフォーマーである (図 1)。

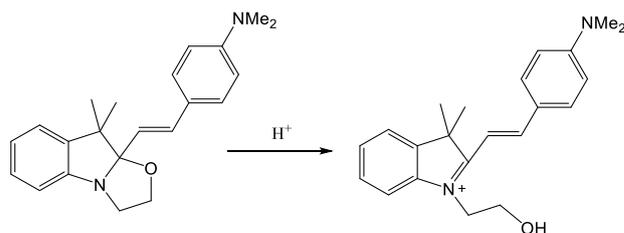


Figure 1. Change of spiropyran-like color former to colored form by proton addition.

[2023202009]

昨年度までの研究でスピロピラン類似カラーフォーマー **1** と塩化メチレンやクロロホルム、四塩化炭素をゲル化するオルガノゲル化剤 **2** (図2) を用いて作製したオルガノゲル線量計は、炭素イオンビームの照射により青色に発色することが確認されたが、生成した色素体がゲル中を拡散することで照射の目視による検出が不明瞭になることが明らかになった(図3)。

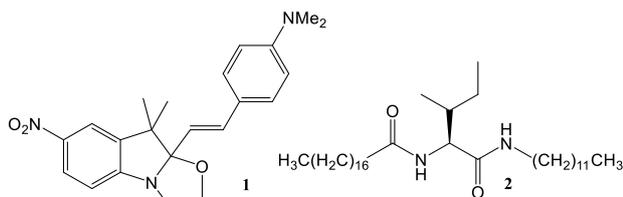


Figure 2. Spiropyran-like color former **1** and organogelator **2**.



Figure 3. Image of dry dichloromethane gel of **1** after $^{12}\text{C}^{5+}$ beam irradiation ($[\mathbf{1}]_0 = 0.13 \text{ mM}$, $[\mathbf{2}]_0 = 71 \text{ mM}$).

本研究では、ゲル化剤部位を分子に組み込んだ新奇なカラーフォーマーゲル化剤を合成し、ゲル化能や発色能の確認などの機能評価を行うこととした。本研究では、いくつかのカラーフォーマーゲル化剤が合成されたが、ここでは **3** について報告する。

2.2 カラーフォーマーゲル化剤 **3** の合成と機能評価

カラーフォーマーゲル化剤 **3** (図4) は、インドレニンから合成された末端にアミノ基を有するカラーフォーマー部位と末端にカルボキシ基をもつゲル化剤部位を縮合させることにより合成された。試験管倒置法で測定した結果、カラーフォーマーゲル化剤 **3** は、四塩化炭素、酢酸エチル、トルエンなどの有機溶媒を $14\text{--}25 \text{ gL}^{-1}$ の良好な最小ゲル化濃度でゲル化することができた。

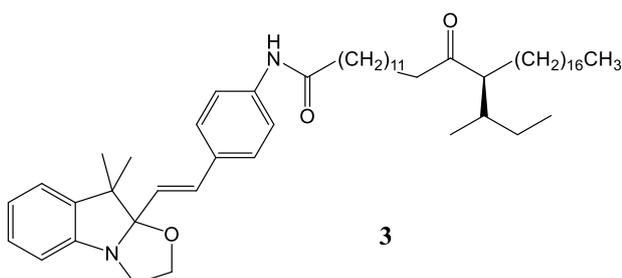


Figure 4. Spiropyran-like color former **3**.

2.3 カラーフォーマーゲル化剤 **3** を用いた色素ゲル線量計の機能評価

カラーフォーマーゲル化剤 **3** の塩化メチレン溶液を濃度 0.26 mM , になるように調製し、 ^{60}Co を線源として 100 Gy/h の線量率でガンマ線を照射した(図5)。溶液は 10 Gy の照射から赤色に発色し、カラーフォーマーゲル化剤 **3** は溶液でガンマ線の照射により発色することが示された。



Figure 5. Images of dichloromethane solution of **3** after γ irradiation ($[\mathbf{3}]_0 = 0.26 \text{ mM}$).

そこで、塩化メチレンゲルを作製し、ゲル状態でのガンマ線による発色を評価した(図6)。



Figure 6. Images of dry dichloromethane gel of **3** after γ irradiation ($[\mathbf{3}]_0 = 29.7 \text{ mM}$).

図5では塩化メチレンに 0.26 mM で溶解させたのに対し、図6では塩化メチレンをゲル化させなければならないため、カラーフォーマーゲル化剤 **3** を 29.7 mM と 100 倍近く用いているため、未照射のゲル線量計がオレンジ色の発色が見られている。しかしながら、カラーフォーマーゲル化剤のみからなるゲル線量計でガンマ線の照射を発色で確認できることが明らかとなったため、カラーフォーマーゲル化剤 **3** で作製した線量計への重粒子線の照射を行うこととした。

重粒子線の照射は、癌治療にも用いられる炭素イオンビームを用いることとしている。炭素イオンビームの照射条件は 220 MeV の炭素イオン ($^{12}\text{C}^{5+}$) ビームを $6.5 \text{ cm} \times 6.5 \text{ cm}$ の範囲でスキャンさせ、 4 nA で 30 秒と 60 秒間照射した。その結果を次頁の図7に示す。

[2023202009]



Figure 7. Image of dry dichloromethane gel of **3** after $^{12}\text{C}^{5+}$ beam irradiation ($[\mathbf{3}]_0 = 29.7 \text{ mM}$).

未照射時の発色が大きいためか、目視による色変化の確認はできなかった。照射後のゲルを塩化メチレンに溶解して吸光度を測定したところ、照射時間の増加に対する発色体の吸光度の増加は見る事ができ、カラーフォーマーゲル化剤は発色体に変化していることがわかった。目視による確認ができなかった理由としては、容器がネジロのため容器の縁が遮蔽となってゲルまで届くイオンビームが少なかったことや、カラーフォーマーがゲル繊維として存在しているため、活性種を生成する塩化メチレンから隔離されていたことなどが考えられる。

最後にオルガノゲル化剤 **2** をゲル化剤として用い、カラーフォーマーゲル化剤 **3** をカラーフォーマーとして分散させた線量計のガンマ線照射による発色の様子を図8に示す。



Figure 8. Image of dry dichloromethane-2 gel of **3** after γ irradiation ($[\mathbf{3}]_0 = 29.7 \text{ mM}$, $[\mathbf{2}]_0 = 44.2 \text{ mM}$).

3 の明瞭な発色は得られず、カラーフォーマー部位を結合したことで、活性種と反応し難くなったことが伺える。

今回は合成の都合上、カラーフォーマー **1** がインドレニンの5位にもつニトロ基をカラーフォーマーに入れることができなかったが、5位にゲル化部位をつけることで感度を高めたカラーフォーマーの合成が期待できる。

3. 糖鎖部位をもつフェノチアジン系カラーフォーマーを用いたヒドロゲル線量計への放射線照射実験

3.1 研究背景

フェノチアジン系カラーフォーマーとは、放射線により生成したラジカルなどの活性種が、無色のカラーフォーマーの保護基を外すことで発色体に変化するカラーフォーマーである(図9)。類似のフェナジン系、フェノキサジン系カラーフォーマーと比

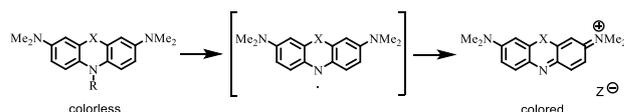


Figure 9. Coloration mechanism of phenothiazine-type color former.

較して安定性が高く、発色し難いとされてきたが、近年、PODや硫酸鉄(II)を媒体に添加することで、発色し易くなることが見いだされ、合成のし易さから利用されている。

水溶性フェノチアジン系カラーフォーマー **4** (図10)に硫酸鉄(II)七水和物を添加した κ -カラギーナンゲル線量計は炭素イオンビームの照射により青色の発色が、照射直後には明瞭に見られた(図11)が、翌日には色素体がゲル中に拡散していた。

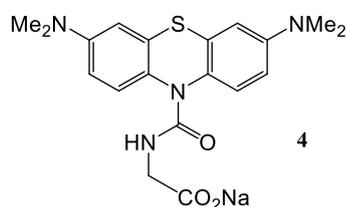


Figure 10. Phenothiazine-type color former **4**.

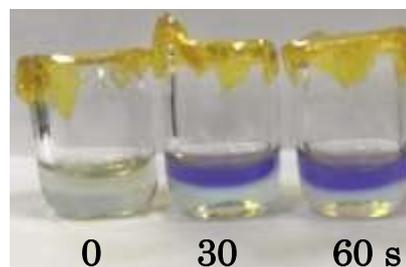


Figure 11. Images of κ -carrageenan gel of **4** after $^{12}\text{C}^{5+}$ beam irradiation ($[\mathbf{4}]_0 = 0.025 \text{ mM}$, $[\text{Fe}^{2+}]_0 = 0.125 \text{ mM}$).

そこで本研究では、色素部位がゲル中を移動しないように色素部位の側鎖にゲル化剤である κ -カラギーナンと相互作用するための糖鎖部位を導入したフェノチアジン系カラーフォーマーの合成開発を行った。色素部位の側鎖に糖鎖部位を導入したカラーフォーマー **5** の合成は困難を極め、良い結果が得られなかったが、保護基部位に糖鎖部位を導入したカラーフォーマー **6, 7** を合成し、色素線量計を作製し、それらの κ -カラギーナンゲルやゼラチンゲル線量計を作製し、ガンマ線や重粒子線照射による線量計の発色能の評価を行った。カラーフォーマー**5-7**の構造を図12に示す。

[2023202009]

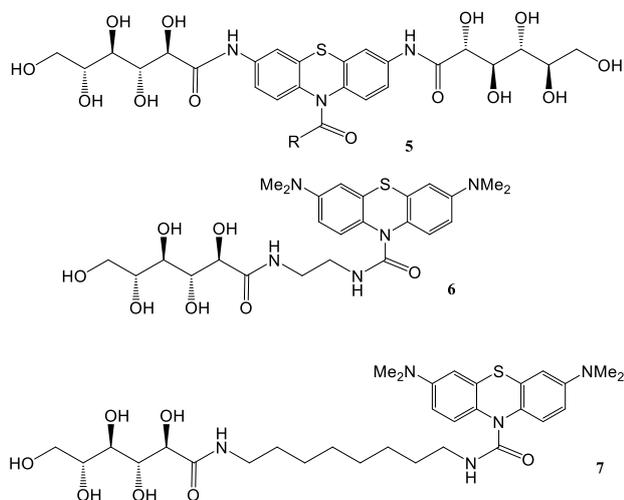


Figure 12. Phenothiazine-type color formers **5-7**.

3.2 ガンマ線照射実験

合成されたカラーフォーマー**6**、**7**とヒドロゲル化剤としてκ-カラギーナンを用いた色素ゲル線量計を作製し、ガンマ線照射実験を行った。線量計には、フェノチアジン系カラーフォーマーの発色を助ける添加剤である硫化鉄(II)七水和物を加えた。カラーフォーマーの濃度は、0.025 mM、添加剤の濃度は0.125 mMになるように水溶液を調製し、試料溶液 1 ml に対し、κ-カラギーナン 25 mg をそれぞれ加えて 60°C まで溶液を加熱して溶かし、冷凍庫で 10 分間冷却することでゲルとした。γ線照射は⁶⁰Co を線源とし、100 Gy/h で 6 分、24 分、42 分の照射を行い、それぞれ照射線量は 10, 40, 70 Gy となった。それぞれの照射結果を図 13、図 14 に示す。

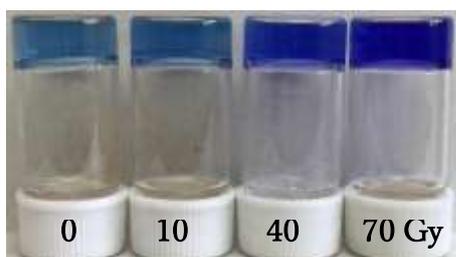


Figure 13. Image of κ-carrageenan gel of **6** after γ-ray irradiation ($[6]_0 = 0.025$ mM, $[Fe^{2+}]_0 = 0.125$ mM).

カラーフォーマー**6**はカラーフォーマー**4**のようなこれまでのフェノチアジン系カラーフォーマーとよく似た発色を示したが、**7**はあまり良く発色しなかった。その理由は明らかになっていないが、κ-カラギーナンからなるゲル繊維にカラーフォーマーが強く取り込まれているか、ゲル繊維との相互作用が小さく、溶液部分にカラーフォーマーが存在しているかの違いによるのではないかと考えている。

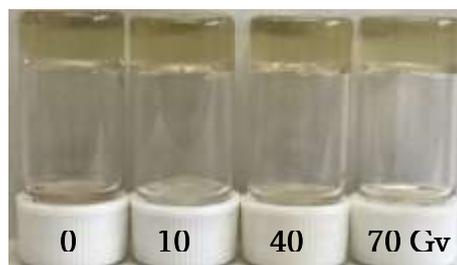


Figure 14. Image of κ-carrageenan gel of **6** after γ-ray irradiation ($[6]_0 = 0.025$ mM, $[Fe^{2+}]_0 = 0.125$ mM).

3.3 重粒子線照射実験

ガンマ線照射実験に用いたものと同様に作製した色素ゲル線量計に対し、炭素イオンビームの照射実験を行った。炭素イオンビームの照射条件は、220 MeV に加速した炭素イオン (¹²C⁵⁺) ビーム 4 nA を 6.5 cm × 6.5 cm の範囲でスキャンさせ、30 秒と 60 秒間照射した。その結果をカラーフォーマー**6**については図 15 に、カラーフォーマー**7**については図 16 に示す。

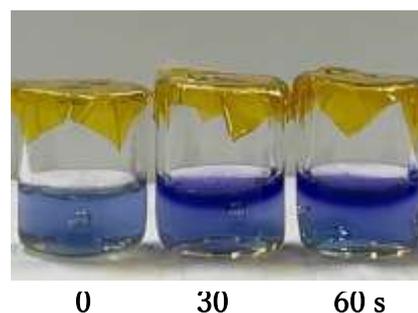


Figure 15. Images of κ-carrageenan gel of **6** after ¹²C⁵⁺ beam irradiation ($[6]_0 = 0.025$ mM, $[Fe^{2+}]_0 = 0.125$ mM).

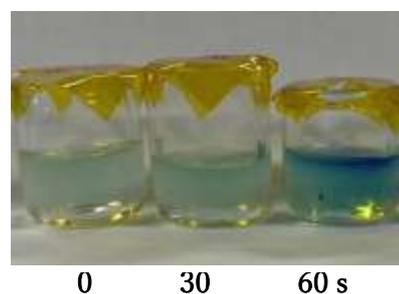


Figure 16. Images of κ-carrageenan gel of **7** after ¹²C⁵⁺ beam irradiation ($[7]_0 = 0.025$ mM, $[Fe^{2+}]_0 = 0.125$ mM).

次にそれぞれ照射 1 日後に撮影した画像を図 17 に示す。

[2023202009]

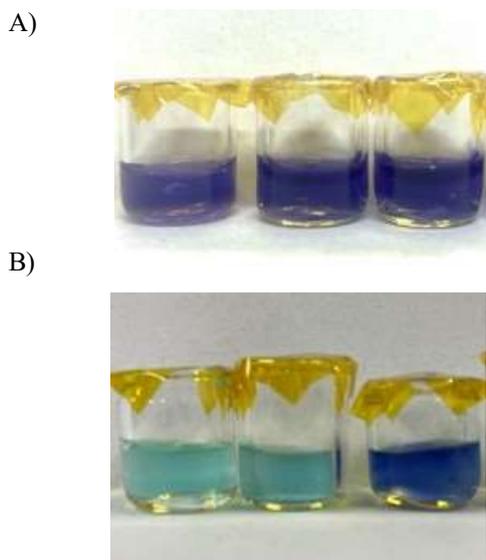


Figure 17. Images of κ -carrageenan gel of **7** and **8** photographed one day after $^{12}\text{C}^{5+}$ beam irradiation ($[\text{7}]_0 = [\text{8}]_0 = 0.025 \text{ mM}$, $[\text{Fe}^{2+}]_0 = 0.125 \text{ mM}$).

炭素イオンビームの照射ではガンマ線を照射した時と異なり、カラーフォーマー**7**においても発色が見られた。ガンマ線による発色は媒体から発生した活性種による間接効果、炭素イオンビームによる発色は炭素イオンビームからカラーフォーマーが直接エネルギーを受け取る直接効果であると考えられる。

照射後の発色体の拡散については、図 18 に示すように、カラーフォーマー**7**では、時間経過によるゲル全体の発色が見られるもののイオンビームにより生成した発色体の拡散は見られず、一方で、カラーフォーマー**8**では、発色体のゲル中での拡散がみられるという結果になった。この理由もまだよくわかっていないが、カラーフォーマーが溶液部分に多くいるかゲル化剤部分に捕捉されているかの違いによるものと考えている。

4. アルギン酸カルシウムゲル化剤を用いた色素ゲル線量計への粒子線照射実験

4.1 研究背景

我々は、ヒドロゲル線量計に用いるヒドロゲル化剤として、一般的なゲル化剤であるゼラチンや κ -カラギーナンを用いてきた。ゼラチンゲルや κ -カラギーナンゲルはゲルを作成する時に、ゲル化剤を一旦加熱して溶解させる必要がある。加熱によって発色するようなカラーフォーマーをゲル線量計に用いる場合、加熱時にわずかなカラーフォーマーの分解が見られてもゲルが着色し、放射線照射時の線量計の発色の確認が見えづらいこととなる。また、ゼラチンや κ -カラギーナンでは、放射線照射後に生成する発色体がゲル中を拡散することがあり、ゲル化剤の種類をさらに模索することは重要である。今回、我々は、新しいヒドロゲル化剤の候補として、アルギン酸カルシウムを用いることとした。アルギン酸カル

シウムはイオン化コントロール法を用いることにより、加熱することなく室温でゆっくりと、水をゲル化することができる。

4.2 イオン化コントロール法を用いた色素ゲル線量計の調整

イオン化コントロール法とは、アルギン酸ナトリウム、ピロリン酸ナトリウム、第二リン酸カルシウムをよく混合し溶解させた中に、グルコノ- δ -ラク톤を加えることで、溶液中にカルシウムイオンをゆっくりと遊離させ、アルギン酸カルシウムゲルを作成する方法である。溶液中にカラーフォーマーや、発色を助ける添加剤としての POD や硫酸鉄七水和物を加え、ゲル線量計を調製した。

カラーフォーマーとしては、水溶性フェノチアジン系カラーフォーマー**4**、とその前駆体であるメチルエステル体**8**を使用した(図 18)。**4**は保護基の末端がカルボン酸塩となっており、そのみで水に溶解する。**8**は保護基の末端にメチルエステルをもつため水溶性が低く、水に分散させるために界面活性剤 TX-100 を添加した。

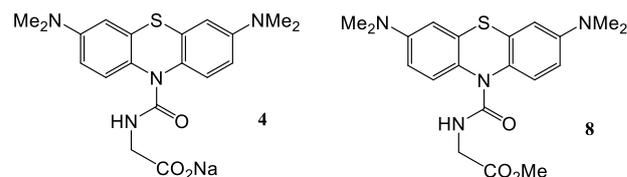


Figure 18. Phenothiazine-type color formers **4** and **8**.

具体的な調整方法としては、脱気した蒸留水を用いてカラーフォーマーの濃度が 0.25 mM となるように水溶液 10 ml を調整した。水溶性の低いカラーフォーマー**8**については TX-100 を濃度 6.2 mM となるように、硫酸鉄(II)七水和物を添加する場合はその濃度が 1.25 mM になるように、POD を添加する場合はその濃度が $4 \mu\text{M}$ になるようにそれぞれ添加した。それらの水溶液に、アルギン酸ナトリウム 100 mg 、ピロリン酸ナトリウムを 4 mg 、第二リン酸カルシウム 30 mg をさらに加えて溶解させた。最後に、グルコノ- δ -ラク톤を 93 mg 加え、この溶液を 1 ml ずつスクリー管瓶に入れて放置し、ゲル化させた。

4.3 重粒子線照射実験

220 MeV の炭素イオンビーム ($^{12}\text{C}^{5+}$) 4 nA を $6.5 \text{ cm} \times 6.5 \text{ cm}$ の範囲でスキャンし、 30 秒間 と 60 秒間 照射した。さらには、ビーム量を 2 nA に落とし、 120 秒間 の照射を行った。計算によると、 4 nA で 30 秒 の照射は約 9 Gy 、 4 nA で 60 秒 、 2 nA で 120 秒 の照射は約 18 Gy に相当する。

水溶性カラーフォーマー**4** を用いて作製したアルギン酸カルシウムヒドロゲル線量計への照射結果について、添加剤なしの場合を図 19(a)に、増感剤として硫酸鉄七水和物を加えた結果を(b)に、POD を加えた結果を(c)に示す。

[2023202009]

(a) no additives



(b) $[\text{Fe}^{2+}]_0 = 1.25 \text{ mM}$



(c) $[\text{POD}]_0 = 4 \mu\text{M}$



0 30 60 120 s

(4 nA) (4 nA) (2 nA)

Figure 19. Images of calcium alginate gel of 4 after $^{12}\text{C}^{5+}$ beam irradiation ($[\mathbf{4}]_0 = 0.25 \text{ mM}$).

アルギン酸カルシウムゲル線量計ではゲル作製時に薄青色に発色していた。多種の試薬を加えているため、一部の試薬がそれに含まれる不純物がカラーフォーマーを発色させたと思われるが、各成分単独の溶液にカラーフォーマーを加えて原因究明を試みたが発色は見られず。初期発色の原因はわからなかった。この線量計では他のゼラチンや κ -カラギーナンゲル化剤から作製した線量計とは異なり、添加剤無しの線量計でもカラーフォーマーが強く発色した。この系にはアルギン酸カルシウム以外にも様々な添加物が入っており、その何かがカラーフォーマーの発色に影響を与えた可能性がある。このゲル化剤ではガンマ線照射においても添加剤無しで発色が見られている。

次に水溶性の低いカラーフォーマー9と界面活性剤 TX-100 を用いたアルギン酸カルシウムゲル線量計への炭素イオンビーム照射結果を図 20 に示す。

カラーフォーマー9においても4と類似した発色が見られた。発色体の拡散は4の線量計と比較して小さくなっているように見える。カラーフォーマー9の場合、9はTX-100が形成するミセル中に存在していることから発色体の拡散が小さくなっている可能性がある。しかしながら、カラーフォーマー4の線量計と9の線量計は、どちらも照射1日後には発色

(a) no additives



(b) $[\text{Fe}^{2+}]_0 = 1.25 \text{ mM}$



(c) $[\text{POD}]_0 = 4 \mu\text{M}$



0 30 60 120 s

(4 nA) (4 nA) (2 nA)

Figure 20. Images of calcium alginate gel of 9 after $^{12}\text{C}^{5+}$ beam irradiation ($[\mathbf{9}]_0 = 0.25 \text{ mM}$, $[\text{TX-100}] = 6.2 \text{ mM}$).

体が拡散し、均一な青色のゲルとなっていた。これはゲル化の際にアルギン酸カルシウムの架橋構造の構築が不十分であり、ゲル内部に発色体が通れる隙間が多く存在している可能性が考えられる。よって、架橋構造を構築するカルシウムイオンの量を増やすことで、色素体の拡散が防げるのではないかと考える。アルギン酸はD-マンヌロン酸 (M) とL-グルロン酸 (G) とで構成されるヘテロ多糖類であり、MとGの比率によりゲルの物性が変化することが知られている。ゲル化はグルロン酸が支配的であることが示唆されていることから、Gの比率の高いHigh Gと呼ばれるアルギン酸を用いることで、カルシウムイオンによる架橋構造が多く構築され、拡散が抑えられると考えられる。

5. まとめ

本年度の研究では、カラーフォーマーに置換基を導入することにより、粒子線照射後のカラーフォーマーの発色により得られる像を鮮明化することを試みた。その結果、発色体の拡散が抑えられ得る可能性が示唆された。また、ゲル化剤の種類をアルギン酸カルシウムに換えることにより、添加剤無しでも発色する系を得ることができた。今後、さらにカラーフォーマーやゲル化剤の種類や濃度を検討するこ

[2023202009]

とにより、より高感度で明瞭な発色を目指すと共に
経時安定性の高い線量計の作製に尽力していきたい。

参考文献

- [1] 太刀川達也, 「放射線を視覚で検知するための機能性色素材料」・放射線物質対策技術-除去、モニタリング・装置・システム開発-, 株式会社エヌ・ディー・エス, pp. 249-257, 2015, 太刀川達也 「放射線量を色で把握」・Isotope News、731(3), PP.7-11, 2015.
- [2] Tachikawa T., Sato Y. and Tokita S., Synthesis and Radiation Sensitivity of Phenoxazine Type Color Formers Including Thiol Ester Protective Group, Mol. Cryst. Liq. Cryst., 431, pp. 461-466 (2005). 太刀川達也,
- [3] 太刀川達也, 「放射線検出のためのカラーフォーマーゲル化剤」, ゲルの安定化と機能性付与・次世代への応用開発, 技術情報協会, pp. 111-116, 2013., H. Itoi, Y. Sekine, M. Sekiguchi, and T. Tachikawa, "A Novel Color Former Organogel for Radiation Detection Systems", Chem. Lett., 38, 1002-1003, 2009.
- [4] 太刀川達也, 吉岡雅俊, 早川堅登, 遠田拓海, 松島大, 2022 年度 日本原子力研究開発機構・量子科学技術研究開発機構 施設利用共同研究 一般共同研究 成果報告書, 2023, 太刀川達也, 藤田智哉, 綱島大紀, 山田琴美, 飯嶋亮樹, 小泉知恵, 2021 年度 日本原子力研究開発機構・量子科学技術研究開発機構 施設利用共同研究 一般共同研究 成果報告書, 2022.