

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2022

課題番号：18K07750

研究課題名（和文）ホウ素中性子捕捉療法と免疫療法併用のプロトコル確立を目指した基礎研究

研究課題名（英文）Basic research aimed at creating a protocol for boron neutron capture therapy and immunotherapy

研究代表者

木梨 友子（Kinashi, Yuko）

京都大学・複合原子力科学研究所・准教授

研究者番号：80252534

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：遺伝子情報の異なるSCID、Balb/cおよびC3Hの3種類のマウスを用いて中性子の頭部部分照射後の照射部位ではない脾臓の組織学的影響を照射後およそ4カ月追跡し、Balb/cマウスに脾原発性悪性リンパ腫が高率に発症した。また、SCIDマウスについては全例に照射部の膿瘍発症と脾臓腫大および髄外造血が認められたがC3Hマウスでは脾臓に特に異常はなかった。頭部への部分中性子照射の晩発影響は遺伝子背景の違いで非常に異なることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

中性子の頭部部分照射後の照射部位ではない脾臓に脾原発性悪性リンパ腫が発症した事実は非常に貴重な発見である。この結果から頭部への部分中性子照射の脾臓への晩発影響は遺伝子背景の違いで非常に異なることが分かった。BNCTプラス免疫療法のプロトコルについて、治療効果向上のためには患者自身の遺伝子情報の違いにより対策を講じる必要があることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：To investigate the long-term influence of head -neutron irradiation on mice spleens, post-irradiation late effects were examined in three types of mice. The onset of primary splenic malignant lymphoma was recognized in many of the Balb/c mice 18 months after head-neutron irradiation.

研究分野：Radiation Biology

キーワード：中性子 アブスコバル効果

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

がんの放射線治療においてがん部位の放射線照射時に照射部位ではない部位に起きる効果がアブスコパル効果とされ、1969年に悪性リンパ種に対する放射線治療時に照射部位でない転移巣のリンパ節に腫瘍の縮小効果が認められたのが最初の報告である(文献)。最近の研究でアブスコパル効果は放射線照射により特異的な腫瘍免疫応答が惹起されて起きる効果であることが分かっている。ホウ素中性子捕捉療法(以下 BNCT : Boron Neutron Capture Therapy)においてのアブスコパル効果についてはほとんど報告がなかった。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、BNCTにおいて、中性子のがん部位の局所照射時に特異的な腫瘍免疫応答が惹起されて起きるアブスコパル効果がとらえられるかどうかを検証し、さらに、この効果を有効に利用することで BNCT プラス免疫療法のプロトコルを提案するための基礎研究を実施することである。

### 3. 研究の方法

放射線高感受性マウスとして DNA 二重鎖切断(DNA-DSB)の修復障害により放射線高感受性である C.B.-17 SCID マウスを用い、近交系 Balb/c および C3H マウスの反応と比較した。照射部の放射線感受性の指標は、マウス頭部をガンマ線で照射したときに認められる生存率と比較した。非照射部のアブスコパル効果の指標としては、ガンマ線照射後に非照射部位である脾臓を取り出し脾細胞のアポトーシス誘導を酵素免疫法により定量的に測定した。さらに、Balb/c および C3H マウスの脾細胞由来リンパ球の細胞核内 DNA 損傷部位に集積する 53BP1 フォーカス数を経時的に観察することで脾細胞に生じる DNA 二重鎖損傷の修復を観察した。放射線感受性の高い Balb/c マウスで頭部への中性子部分照射は個体の免疫機能を低下させている可能性が示唆されたため、頭部中性子照射後の中性子照射部位から外れた位置にある脾臓の組織学的変化を照射後長期間にわたり経時的に観察することで、晩発影響としてのアブスコパル効果を解析した。

### 4. 研究成果

#### (1) 中性子部分照射時の放射線感受性と脾細胞の応答

DNA 損傷修復酵素の機能異常のため DNA 二重鎖切断の修復ができない SCID マウスのガンマ線の感受性は C3H マウスより約 2 倍感受性が高いとされている。

はじめに、マウスの頭部照射による口腔粘膜障害死を指標として中性子照射とガンマ線照射を比較することで RBE 値(生物学的効果比)を求めた。口腔粘膜障害死の RBE 値は SCID マウスでは 1.61、比較対象の近交系マウス C3H は 2.08 であった。中性子照射後の数時間後に経時的に脾臓を取り出し脾細胞のアポトーシスの変化を経時的に調べた結果では、脾細胞のアポトーシス誘導では SCID マウスは C3H マウスより約 3 倍感受性が高かった。脾細胞のアポトーシスが最も高く表れた時点での比較による RBE 値は SCID マウスでは 1.67、C3H マウスは 2.12 で照射部の障害である口腔粘膜障害と非照射部位の脾細胞の RBE 値はいずれも SCID マウスが C3H マウスより低かった。脾細胞由来リンパ球の細胞核内 DNA 損傷部位に集積する 53BP1 フォーカス数は Balb/c マウスと C3H マウスに優位の差は認められなかったが、Balb/c マウスでは DNA 二重鎖損傷の回復が遅延することが確認された。これらの結果から中性子照射では照射部位の正常組織およびアブスコパル効果としての非照射部位の影響は、X線やガンマ線に比べて放射線感受性

についての個体差が表れにくいのではないかと推測された。

## (2) マウスの遺伝子背景型の違いによる遅発性アブスコパル効果の効果解析

頭部中性子照射後の中性子照射部位から外れた位置にある脾臓を経時的に観察し、照射後3か月以降の晩発影響としてのアブスコパル効果を解析した。脾臓のマクロ変化については照射後4カ月時点で、脾臓/体重比の重量比較で脾臓の退縮がSCIDマウスで70%、Balb/cマウスで68%に認められたが、C3Hマウスには脾臓の退縮は認められなかった。頭部中性子照射3カ月後の免疫応答は、比較対象のガンマ線の頭部部分照射時の脾細胞の免疫応答に変化に比べて、いずれも免疫応答が低く、特に放射線感受性の高いSCIDマウスでは照射後長期間免疫応答が回復せずに中性子照射部位に膿瘍形成が認められ、脾臓腫大と髄外造血の組織学的変化が確認された。さらに、Balb/cマウスにおいては頭部中性子照射後18カ月後に脾臓の腫大が認められ組織病理検査で脾臓原発の悪性リンパ腫の発症が高率に認められた。

## (3) 研究成果のまとめと今後の展望

Balb/cマウスはガンマ線の全身照射後に他種のマウスに比べて効率に放射線照射後に発がんが認められると報告されている。しかしながら、ガンマ線の部分照射後に照射部以外の臓器に発がんの報告はされていない。今回の中性子の頭部部分照射後の照射部位ではない脾臓に脾原発性悪性リンパ腫が発症した事実は非常に貴重な発見である。この結果から頭部への部分中性子照射の脾臓への晩発影響は遺伝子背景の違いで非常に異なることが分かった。

がんの治療では、患者のがん細胞の遺伝子情報を調べて個人ごとのがんのタイプ別に治療薬を選択するがんゲノム医療が実施されている。遺伝子系の異なる脳腫瘍細胞の研究では、DNAアルキル化剤Temozolomide(TMZ)による化学療法とBNCTの効果解析した。TMZ感受性については、DNA損傷修復酵素MGMT(O6-methylguanine-DNA methyltransferase)をコードするMGMT遺伝子のプロモーター領域がメチル化されているとTMZに高感受性であるが、メチル化されていないとTMZ耐性となる。TMZ高感受性を示すA172腫瘍細胞とTMZ抵抗性となるT98G腫瘍細胞の実験では、遺伝子発現型によりBNCT中性子照射とTMZ併用時の治療効果が異なることを明らかにした。この結果からBNCTプラス免疫療法のプロトコルについても、がんの治療効果向上のためには患者自身の遺伝子情報の違いにより対策を講じる必要があることが示唆された。

現在の研究からは中性子部分照射時のアブスコパル効果による免疫賦活の結果は得られていない。現在、がんの放射線治療時に強力な抗炎症作用と免疫賦活効果を示すとされているアスコルビン酸をマウスに投与して、特に放射線感受性の高いマウスへの免疫賦活効果について研究を進めている。ガンマ線照射による予備実験では、頭部部分照射後にマウスの脾細胞解析で免疫賦活効果が優位に認められている。今後は、アスコルビン酸をマウスに投与して中性子照射を行い、中性子照射後の免疫反応賦活化させた状態でアブスコパル効果を観察することを計画している。

### <引用文献>

Nobler, MP, The abscopal effect in malignant lymphoma and its relationship to lymphocyte circulation, Radiology, Volume93, Issue:2, 1969, 410-412

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yuko Kinashi, Takushi Takata, Yoshinori Sakurai, Hiroki Tanaka	4. 巻 43
2. 論文標題 Carcinogenesis observed in spleens of Balb/c mice after head-neutron irradiation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 1455, 1461
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.16294	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yuko Kinashi, Tomoyuki Ikawa, Sentaro Takahashi	4. 巻 163
2. 論文標題 The combined effect of neutron irradiation and temozolomide on glioblastoma cell lines with different MGMT and p53 status	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Applied Radiation and Isotopes	6. 最初と最後の頁 109204
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.apradiso.2020.109204	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Fujimoto T, Suzuki M, Kuratsu S, Morishima M, Sudo T, Nakamatsu Y, Sakurai Y, Takata T, Tamari Y, Tanaka H, Masunaga SI, Kinashi Y, Kondo N, Sakakibara S, Igaki H, Andoh T, Sakamoto S, Kawamoto T, Watanabe T, Hara H, Fukase N, Kawakami Y, Matsumoto T, Akisue T, Ono K, Ichikawa H, Kuroda R, Hirose T.	4. 巻 169
2. 論文標題 BNCT for primary synovial sarcoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Applied Radiation and Isotopes	6. 最初と最後の頁 109407
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.apradiso.2020.109407	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tanaka H, Takata T, Watanabe T, Suzuki M, Mitsumoto T, Kawabata S, Masunaga S, Kinashi Y, Sakurai Y, Maruhashi A, Ono K.	4. 巻 983
2. 論文標題 Characteristic evaluation of the thermal neutron irradiation field using a 30 MeV cyclotron accelerator for basic research on neutron capture therapy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nuclear Inst. And Methods in Physics Research, A	6. 最初と最後の頁 164533
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nima.2020.164533	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Yuko Kinashi
2. 発表標題 Relationship of the abscopal effect to the survival rate after the head neutron-irradiation between the different types of mice
3. 学会等名 19th International Congress on Neutron Capture Therapy (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木梨友子、井川智之、高橋千太郎
2. 発表標題 p53の発現が異なる神経膠芽腫細胞の中性子照射およびDNAアルキル化剤に対する感受性の差
3. 学会等名 第16回日本中性子捕捉療法学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木梨友子、田中浩基
2. 発表標題 マウス頭部照射で認められた脾臓のアブスコパル効果
3. 学会等名 第55回日本医学放射線学会秋季臨床大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuko Kinashi, Tomoyuki Ikawa, Sentaro Takahashi
2. 発表標題 The combination effect of neutron irradiation and exposure to DNA-alkylating agent on glioblastoma cell lines with different MGMT and p53 status
3. 学会等名 18th International Congress on Neutron Capture Therapy (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 木梨友子、小野公二
2. 発表標題 エックス線感受性の異なるマウスにおける中性子感受性の差
3. 学会等名 日本放射線影響学会 第61回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小野公二、田中浩基、玉利勇樹、渡邊翼、鈴木実、木梨友子、増永慎一郎
2. 発表標題 絶対生物効果線量の提案-10B(n, )7Liの効果は核細胞質または細胞サイズで予測できる
3. 学会等名 日本放射線影響学会 第61回大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関