

令和 5 年 6 月 1 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K12714

研究課題名(和文) 加速器中性子源を用いたBNCT組織線量分布評価体系の確立

研究課題名(英文) Evaluation system of Dose Distribution in Boron Neutron Capture Therapy

研究代表者

井川 和代 (Igawa, Kazuyo)

岡山大学・中性子医療研究センター・准教授

研究者番号：90512111

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：ホウ素中性子捕療法(BNCT)は、腫瘍部に集積したホウ素-10原子と照射された熱中性子との核反応で放出される¹⁰B(n,α)⁷Liの放射線エネルギーすべてを腫瘍細胞1個に与えることで腫瘍を破壊するがん治療である。BNCTの治療計画において腫瘍部位と正常組織におけるホウ素-10原子の分布と濃度に基づいて中性子照射量を決定することがBNCT治療の成功を握るといえる。本研究では、放射線飛跡検出器として使用されているCR-39を用いて、ホウ素-10に基づいた組織内線量分布の評価体系を確立した。本研究の成果は、治療前のホウ素集積性検査や線量評価を行うBNCT適応検査システムとして臨床的応用が期待できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の組織内¹⁰B濃度分布評価法の確立により、患者ごとの¹⁰B濃度分布に基づいた線量計算が可能となり正確な処方中性子線量をBNCT治療計画で立案できる。組織内線量分布の評価体系の確立により「最善・最良」のがん治療となる頭頸部がんの組織系や部位を推奨できるようになり臨床意義がかなり高いといえる。さらに、新規薬剤¹⁰Bの開発、BNCT適応疾患拡大などBNCTの発展に大いに貢献できる。

研究成果の概要(英文)：Boron neutron capture therapy (BNCT) is a radiation cancer treatment based on (¹⁰B(n,α)⁷Li) reaction on a cancer cell by thermal neutron irradiation. The success of BNCT treatment depends on determining the neutron dose based on the distribution and concentration of boron-10 atoms in the tumor and normal tissues. In this study, we established a simple evaluation system of boron-10 tissue dose distribution using CR-39 nuclear track detector. Specially, the biological samples, such as cells and tissues of three-dimensional cancel models and tumor-bearing mice, containing boron-10 fixed to CR-39 by irradiation of thermal neutrons enabled the visualization of the boron-10 concentration as autoradiographs. These methods were applicable for evaluating the concentration of delivered boron -10 agents in the targeted tissue and cell and for assessment of absorbed dose. The results are expected to be applied clinically as boron accumulation tests and BNCT dosimetry before BNCT treatment.

研究分野：トランスレーショナルメディシン

キーワード：がん治療 BNCT ホウ素分布 固体飛跡検出器 線量評価

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

BNCTは、腫瘍部に集積したホウ素-10原子に熱中性子を照射することで核反応、 $^{10}\text{B}(n, \alpha)^7\text{Li}$ をひきおこし、 α 線と ^7Li 原子核によって腫瘍に線量付与する治療法である。それゆえ、生体に投与されたホウ素-10原子が確実に腫瘍部位に選択的に集積することで、周辺の正常組織にダメージがなく機能温存を可能とする。従って、BNCTの治療計画において腫瘍部位と正常組織におけるホウ素-10原子の分布と濃度に基づいて中性子照射量を決定することがBNCT治療の成功を握るといえる。一方、CR-39(アリルジグリコールカーボネイト)と呼ばれるプラスチックは、電子線やガンマ線に感度を有しないこと、小型で安価であることなどの特徴があり、個人被ばく線量計の中性子検出用素子に採用されている。この放射線飛跡検出器として知られるCR-39を生体サンプルに応用して、加速器中性子源を用いたBNCT組織内線量分布の評価体系を確立することにした。

2. 研究の目的

口腔がんのBNCTにおいて、ホウ素濃度分布評価を患者負担なく簡便に普及できる方法を確立することである。さらにBNCT治療前検査、BNCT線量評価としての確立を目指す。

3. 研究の方法

1) 組織サンプルにおけるホウ素-10集積性検査方法の確立

ヒト唾液腺癌細胞(HSG、JCRB)を培養し、マウス皮下に細胞を移植して担癌マウスモデルを作製した。担癌マウスモデルにホウ素-10としてボロノフェニルアラニン(BPA、Katchem, Czech)を投与し、2時間後に腫瘍を摘出した。これを組織サンプルとした。サンプルの一部を誘導結合プラズマ質量分析法(ICP-MS)を用いてホウ素-10ホウ素濃度を測定した。また、サンプルの一部の薄切切片をCR-39上に作成し、NASBEE(量子科学技術研究開発機構)で中性子を照射した。エッチング処理後、光学顕微鏡で得られた画像の飛跡解析を行い α 線の校正によるエッチピットの数の測定とホウ素-10の分布図を作成した。さらに、ICP-MSによるホウ素濃度とCR-39によるホウ素-10の数の相関係数を計算した。

2) ヒト組織検体におけるホウ素-10集積性評価

ヒト腫瘍組織(岡山大学倫理委員会審査番号 研1808-040)の薄切切片を抗ヒトアミノ酸トランスポーター1(LAT1)抗体で免疫染色を行いLAT1の発現によるホウ素-10の分布を確認した。さらにサンプルの一部にホウ素-10としてBPAを2時間添加後洗浄後、サンプルの一部をICP-MSを用いてホウ素-10ホウ素濃度を測定した。

3) 三次元細胞培養モデルにおけるホウ素-10集積性評価

コラーゲン作成用試薬中で患者由来正常口腔線維芽細胞(NOFs, 新潟大学倫理委員会承認番号2015-5018)を、10%ウシ胎児牛血清含有DMEMの培地を用いて37°C、5%CO₂濃度下で7日間培養、その後、ヒト口腔扁平上皮癌細胞(SAS、JCRB)をコラーゲンモデル上面に播種、さらに14日間培養して三次元口腔がんモデルを作製した。三次元培養モデルにホウ素-10としてBPA(Katchem, Czech)を投与し、2時間後PBSで洗浄したものを三次元細胞培養モデルサンプルとした。サンプルの一部の薄切切片をCR-39上に作成し、京都大学研究用原子炉(KUR, 京都大学複合原子力科学研究所)で中性子を照射した。エッチング処理後、光学顕微鏡で得られた画像の飛跡解析を行い α 線の校正によるエッチピットの数の測定とホウ素-10の分布図を作成した。

4. 研究成果

1) 組織サンプルにおけるホウ素-10集積性検査方法の確立

組織サンプルとして、HSG細胞をヌードマウスに皮下移植し、ホウ素薬剤(BPA、Katchem, Czech)を腹腔内投与後、腫瘍を摘出した。摘出した腫瘍の一部を硝酸処理後、ICPで測定した結果、ホウ素濃度はであった。一方、摘出した腫瘍一部の薄切切片をCR-39上に作製し、NASBEE加速器中性子場で熱中性子 $5 \times 10^{12} \text{ cm}^{-2}$ 照射後、PEW-45(KOH 15 wt%, ethanol 45 wt%, water 40 wt%)、50°C、22分の条件で化学エッチングを行った。CR-39上のエッチピット解析(図1)から速中性子の影響を除去した組織内ホウ素-10取り込み分布の評価に成功した(図2)。本測定でのB-10取り込み量の絶対値(3.96 mM)はICP-MSによる測定結果(4.0 mM)と誤差範囲内で一致した。以上から、加速器中性子源を用いたBNCT組織内線量分布の評価手法を確立することができた。

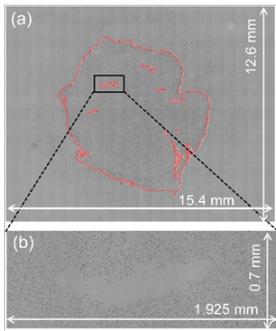


図1 CR-39上のエッチピット
a) 全体図 b) 拡大図

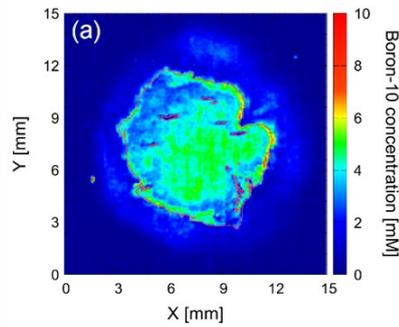


図2 組織内濃度分布

2) ヒト組織検体におけるホウ素-10 集積性評価

ヒト口腔良性腫瘍組織（岡山大学倫理委員会審査番号 研 1808-040）の薄切片を抗ヒト LAT1 抗体で免疫染色を行い LAT1 の発現によるホウ素-10 の分布を確認した（図3）。エナメル芽細胞様細胞で LAT1 の高発現を認め、良性腫瘍に対する BNCT の可能性が示された。また、ICP-MS にてホウ素の取り込みも確認できた。今後、症例数を増やして LAT1 の発現と ICP-MS によるホウ素濃度の相関性を検証する。

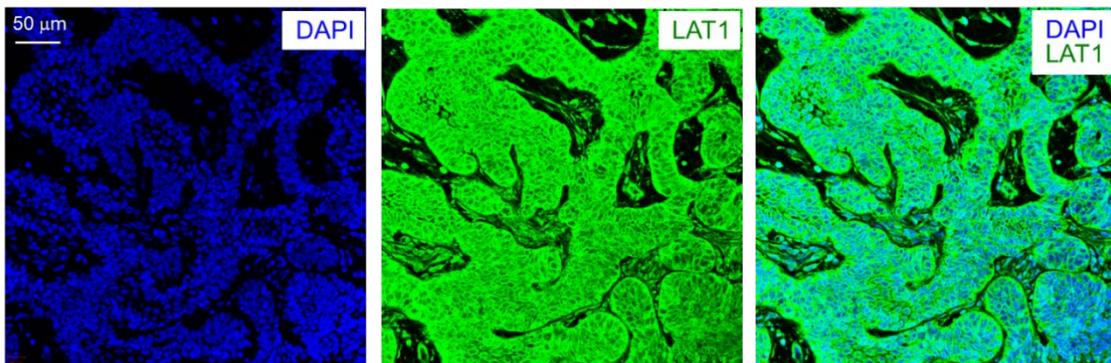


図3 エナメル上皮腫におけるLAT1の発現

3) 三次元細胞培養モデルにおけるホウ素-10 集積性評価

NOFs と SAS の 2 層構造から成る三次元口腔がんモデルを作製した（図4）。

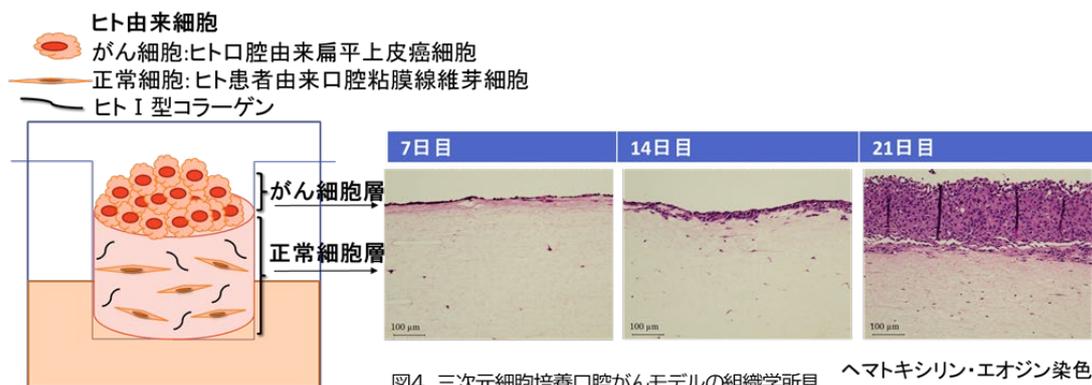


図4 三次元細胞培養口腔がんモデルの組織学所見 ヘマトキシリン・エオジン染色

三次元培養モデルにホウ素-10 として BPA を投与 2 時間後 PBS で洗浄し、一部を硝酸処理後、ICP-MS で測定したホウ素濃度は、26ppm であった。また、三次元細胞培養モデルの薄切片を CR-39 上に作成し、KUR で熱出力 1 MW で 20 分間の中性子線照射（ $2 \times 10^{12} \text{ cm}^{-2}$ ）後、PEW-45 (KOH 15 wt%, ethanol 45 wt%, water 40 wt%)、50°C、22 分で化学エッチングを行った。光学顕微鏡で得られたエッチピットイメージ（図5）より α 線の校正した分布図を作成した（図6）。三次元培養モデルは、正常細胞と腫瘍細胞の 2 層からなるため、正常細胞にはホウ素の取り込みが低く、腫瘍細胞にはホウ素の取り込みが高いため、腫瘍部位のホウ素濃度の高い領域ではエッチピット解析が難しく、定量的な解析が困難であった。そこで解決策として、ダイナミックレンジを広げるため二値化画像の画素値分布の解析を行いエッチ密度分布と比較検証を行う必要がある。

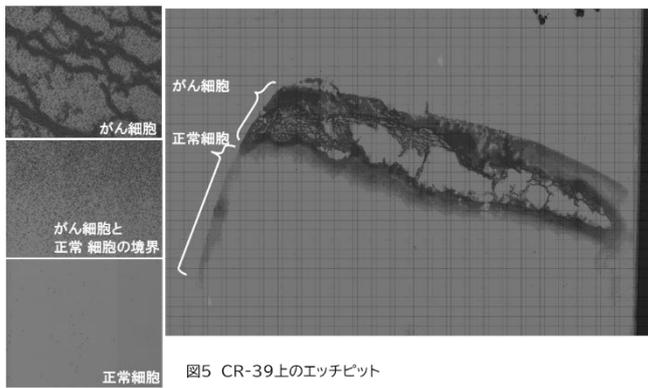


図5 CR-39上のエッチピット

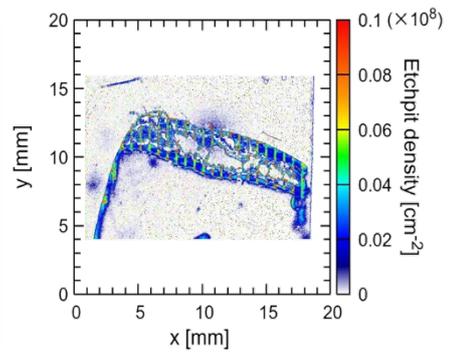


図6 エッチピット密度分布

本研究では、1) CR-39 上の組織サンプルを用いてホウ素濃度分布とホウ素濃度から組織サンプルにおけるホウ素—10 集積性を測る手法を確立した。2) ヒト組織検体における LAT1 の発現とホウ素濃度測定から、確定診断に使用する際のヒト組織検体を用いて BNCT の適応を診断できる可能性が示された。3) 三次元培養細胞のホウ素—10 の集積性評価は新しい手法であり、細胞レベルかつ三次元ホウ素—10 分布を考慮した BNCT の線量計算モデルのアルゴリズムの応用に期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2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 Igawa Kazuyo, Izumi Kenji, Sakurai Yoshinori	4. 巻 12
2. 論文標題 Development of the Follow-Up Human 3D Oral Cancer Model in Cancer Treatment	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 BioTech	6. 最初と最後の頁 35 ~ 35
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biotech12020035	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 井川和代、道上宏之、藤村篤史	4. 巻 49
2. 論文標題 加速器中性子源を用いたBNCTの展開	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 MSD	6. 最初と最後の頁 224-226
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 Tamon Kusumoto, Ryo Ogawara, Kazuyo Igawa, Kentaro Baba, Teruaki Konishi, Yoshiya Furusawa, Satoshi Kodaira.	4. 巻 62
2. 論文標題 Scaling parameter of the lethal effect of mammalian cells based on radiation-induced OH radicals: effectiveness of direct action in radiation therapy.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 .J Radiat Res. 2021	6. 最初と最後の頁 86-93
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jrr/rraa111.	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7件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 小川原 亮
2. 発表標題 3次元培養細胞と CR-39 を用いた BNCT 有効性評価システムの開発
3. 学会等名 第35回 固体飛跡検出器研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 井川和代
2. 発表標題 Current Status Boron Neutron Capture Therapy for Head and Neck Cancer
3. 学会等名 The 3rd Takao Forum of Oral Maxillofacial Surgery (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小川原 亮
2. 発表標題 加速器中性子場における CR-39 と PEW エッチングを用いた組織切片内 B-10 濃度分布測定
3. 学会等名 第34回 固体飛跡検出器研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 内藤絵里子
2. 発表標題 正常口腔粘膜細胞と口腔癌細胞を用いた3次元in vitroモデル作製法とその応用
3. 学会等名 第57回日本口腔組織培養学会学術大会・総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kazuyo Igawa
2. 発表標題 Evaluation system of BNCT ~ Indication of BNCT ~
3. 学会等名 Technical Meeting on Best Practices in Boron neutron Capture Therapy EVT2104151 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kazuyo Igawa
2. 発表標題 The activities of BNCT at Okayama University
3. 学会等名 TSNCT (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kazuyo Igawa
2. 発表標題 BNCT evaluation system
3. 学会等名 IAEA virtual Technical meeting
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>KURNS PROGRESS REPORT 2020 https://www.rii.kyoto-u.ac.jp/PUB/report/PR/ProgRep2020/ProgRep2020.html</p>
--

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
研究分担者	小川原 亮 (Ryo Ogawara) (00807729)	京都大学・化学研究所・助教 (14301)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	泉 健次 (Kenji Izumi) (80242436)	新潟大学・医歯学系・教授 (13101)	
研究分担者	楠本 多聞 (Tamon Kusumoto) (90825499)	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・高度被ばく医療センター 計測・線量評価部・博士研究員（任常） (82502)	

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