

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18H02909

研究課題名(和文) 小型加速器中性子線源による病院内BNCT治療のための基礎的・臨床的研究

研究課題名(英文) Fundamental studies for application of small linear accelerator to in-hospital BNCT

研究代表者

松村 明 (Matsumura, Akira)

筑波大学・医学医療系・客員教授

研究者番号：90241819

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：本学が開発した病院内併設可能型BNCT用加速器中性子源iBNCT001を用いて、非臨床試験を実施した。また、複数のレーザー光を組み合わせた患者位置合わせ装置を開発した。この装置は、治療計画装置(開発コード：ツクバプラン)と連動し、正確に照射位置に患者を導くことができる。一方、1)新規ホウ素含有 α -D-マンノピラノシドMMT1242、2)元素状ホウ素ナノ粒子eBNPを開発し、細胞内取り込み試験、照射実験を施行した。MMT1242は、BSHやBPAと比較して腫瘍保持時間が長く、低毒性で、有意な腫瘍抑制効果がみられた。eBNPは、水中安定で、照射実験で各腫瘍細胞株のコロニー形成能を有意に低下させた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

悪性神経膠腫は未だ治癒に至らない難治性疾患である。本研究において、病院内併設用に開発された、小型中性子源を用いた中性子捕捉療法(Boron Neutron Capture Therapy)は今後の臨床応用にむけて非常に有望である。今後は、当院発のエビデンスを発信することで、悪性神経膠腫の治療発展および治療成績向上に貢献できることが多いに期待される。

研究成果の概要(英文)：We conducted a series of fundamental experiments using a small neutron source based on a linear accelerator for in-hospital boron neutron capture therapy (BNCT). We have also developed a new patient positioning system that allows easy and correct orientation of the therapeutic target on the patient's head using real-time laser beams in combination with a treatment planning system called Tsukuba Plan. We have also accomplished preclinical studies using new promising boron compound candidates, alpha-d-mannopyranoside and eBNPs. These two stable compounds have shown proper tumoricidal effects.

研究分野：悪性脳腫瘍 放射線治療

キーワード：小型加速器中性子線源 病院内BNCT 基礎的・臨床的研究

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

未だ治療法が確立できていない悪性脳腫瘍などの難治性がんや再発がんの治療法として、ホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) が注目されている。BNCT は、治療に中性子とがん細胞に選択的に集まるホウ素薬剤を組み合わせ、がん細胞を選択的に破壊する放射線治療の一種である。治療に中性子を用いる BNCT は、これまで原子炉を使って臨床研究が行われてきた。筑波大学は、この BNCT の治療法確立を目指し、小型の直線型加速器ベースの BNCT 用治療装置の実証機: iBNCT001 を開発整備した。本学では加速器型中性子発生装置の開発を進め、2016 年には治療に十分な中性子線の発生を達成し、その後装置の安定化及び非臨床試験の実施に必要な施設整備、実施体制構築及び GLP に準拠した標準作業手順書、試験計画書の作成等を行ってきた。それらを経て 2021 年 11 月から、実験動物を用いた非臨床試験を実施し、治験を実施するにあたり、必要十分な試験データの蓄積を目指した。

2. 研究の目的

I. 位置合わせ装置

iBNCT001 とともに開発整備した治療計画システム (開発コード: ツクバプラン) に患者位置合わせ装置を導入し、各種動作検証を実施し、治験への適用性、実用性を確認する。

II. 非臨床試験として安全性試験と有効性試験

開発した加速器 BNCT 装置 (iBNCT001) 及び臨床で使用されているホウ素薬剤の併用による安全性及び有効性の評価を行い、治験前に患者の安全性とがん治療としての有効性を評価する。

III. ホウ素濃度・ホウ素分布の可視化

BNCT 実験系には、直接線量を確認する手段に乏しい。また過去の実験から、小さな皮下腫瘍においても、内部の重量当たりのホウ素濃度分布は部位ごとに異なっている。

IV. 新規ホウ素化合物の開発

本研究では、低分子化合物を含む新規ホウ素薬剤、ならびに薬剤の構造中に金成分を含むことにより、線量測定機能などの治療・診断特性を有するナノ粒子を開発する。

3. 研究の方法

I. 位置合わせ装置

複数のレーザー光発生器を照射室内に設置し、各レーザーが指し示す位置を遠隔制御で稼働させて患者頭部の各部位 (外眼核、鼻根部、鼻尖、外耳孔等) を指し示す機構を導入する。各レーザー光が指し示す座標は、ツクバプランが出力する。この機能をツクバプランに導入する。

II. 非臨床試験として安全性試験と有効性試験

1) 安全性試験

SPM-011 (抗悪性腫瘍剤, ホウ素化合物) を 16.67 mL/kg で雄 5 あるいは 6 匹の BALB/cCrSlc マウスの首背部皮下に投与後, マウス頭部に直線型加速器中性子照射装置 (iBNCT) から発生する中性子線を単回照射 (照射日を 0 日目とした) することにより誘発されるホウ素-中性子捕獲反応に対する毒性変化を調べた。群構成として, SPM-011 の投与及び中性子線照射のいずれも行わない未処理群, SPM-011 のみ投与する群, 中性子線のみ照射 (7, 14 及び 28 日目剖検例は陽子電荷量 4800 mC, 90 日目剖検例は陽子電荷量 3600 mC) する群, SPM-011 の投与後に中性子線を照射 (7, 14 及び 28 日目剖検例は陽子電荷量 4800 mC, 90 日目剖検例は陽子電荷量 3600 mC) する群を設定した。検査項目として, 一般状態観察, 体重測定, 摂餌量測定, 摂水量測定, 尿検査, 血液学的検査, 剖検及び病理組織学的検査を実施した。なお, 剖検は 7, 14, 28 及び 90 日目に実施した。

2) 有効性試験

ヒト頭頸部扁平上皮癌由来 SAS 細胞, ヒト悪性黒色腫由来 G-361 細胞及びヒト悪性神経膠芽腫由来 U-87 MG 細胞を右下肢大腿部に移植した雄の BALB/cSlc-nu/nu マウスを用い, SPM-011 (抗悪性腫瘍剤, ホウ素化合物) を 16.67 mL/kg でマウスの首背部皮下に投与後, マウス右下肢大腿部 (移植腫瘍部) に直線型加速器中性子照射装置 (iBNCT) から発生する中性子線を単回照射 (照射日を 0 日目とした) することにより誘発されるホウ素-中性子捕獲反応による抗腫瘍効果を調べた。群構成として, SPM-011 の投与及び中性子線照射のいずれも行わない未処理群, SPM-011 のみ投与する群, 中性子線のみ照射 (陽子電荷量 4800 mC) する群, SPM-011 の投与後に中性子線を照射 (陽子電荷量 4800 mC) する群を設定した。検査項目として, 一般状態観察, 体重測定及び腫瘍サイズ測定を実施した。なお, 観察期間は投与及び照射後 5 週間と設定したが, 腫瘍体積が体重の 10% を超えた場合は安楽死処置を実施し, 最終測定日時時点での腫瘍サイズから, 最終的な抗腫瘍効果を判定した。

III. ホウ素濃度・ホウ素分布の可視化

5µm 厚 polycarbonate 膜上で細胞培養する専用容器を開発し利用した。また、薄膜上での細胞付着性向上のため、ポリリジン・コラーゲンコートを行った。CT26 murine colon cancer, U251 human glioma を膜上で培養し、ホウ素化合物 boronophenylalanine (BPA) もしくは borocaptate Sodium (BSH) 800 µgB/mL を 2 時間暴露した。作用後、PBS/MEM で洗浄、凍結真空乾燥処理後、micro PIXE/PIGE の同時測定検体とし、微量元素分析を施行した。NaI 検出器の利用を試みるため、Natural boron 由来 BPA を利用した検体も作成し、NaI 検出器によって、2.124MeV のホウ素由来ガンマ線の検出可否を検討した。その際には、加速器を 3MeV 運転とし、ゲルマニウム半導体検出器にかえて、NaI シンチレー

シヨンスペクトロメーターを設置し、同位元素が天然存在比のホウ素化合物を用いて、計測を行った。

IV. 新規ホウ素化合物の開発

1) 新規ホウ素含有 α -d-マンノピラノシド(図1)の合成と前臨床試験での評価

MMT124 の合成は以下の通り行った: (a) tert-ブチルクロロジフェニルシラン、イミダゾール、N,N-ジメチルホルムアミド、5°Cから室温(rt)-(b)水素化ナトリウム、N,N-ジメチルホルムアミド、5°Cから室温(rt)に冷却し、次にプロパルギルプロミド、cat. テトラブチルアンモニウムヨージド、5°C~rt(68%)-(c)テトラブチルアンモニウムフルオリド、テトラヒドロフラン、5°C~rt(91%)-(d)水素化ナトリウム、N,N-ジメチルホルムアミド、5°C~rt、その後、臭化ベンジル、rt(53%)-(e)5、硫酸銅(II)五水和物、1-アスコルビン酸ナトリウム、tert-ブタノール/H₂O(1/2, v/v)、70 °C-(f) Amberlite® IR120B Na, H₂O、(25%, 2 ステップ)。

細胞や試料中の局在を決定するため、さらなる修飾は蛍光分子との複合体形成を目的とし、蛍光性ホウ素化合物 NBD1242 は以下のスキームに従い合成した: (a) フタルイミド、トリフェニルホスフィン、アゾジカルボン酸ジエチル(トルエン中 40%)、テトラヒドロフラン、5°C~rt-(b)ヒドラジーン水和物、エタノール、rt 後分取 RP-HPLC(含 0、05%トリフルオロ酢酸)、(50%)-(c)4-フルオロ-7-ニトロ-2,1,3-ベンゾキサジアゾール、トリエチルアミン、N,N-ジメチルホルムアミド、50°C(38%)-(d)5、硫酸銅(II)五水和物、L-アスコルビン酸ナトリウム、tert-ブタノール/H₂O(1/2, v/v)、70°C-(e)H₂O、Amberlite® IR120B Na(19%, 2 ステップ)。

MMT1242(NBD1242)の in vitro での細胞内分布を KEYENCE BZ-X710(Keyence, Co. Ltd., Tokyo, Japan) 蛍光顕微鏡で観察した。腫瘍細胞での細胞内分布を確認するため、MMT1242 をニトロベンゾオキサジアゾールフレームで標識し、413nm の励起により 552nm で緑黄色蛍光を発生し、NBD1242 とした。動物毒性は健康なマウスを用いて検討した。Balb/c マウスに MMT1242 を 210mg/kg の用量で単回静脈注射群(n=3)または 250mg/kg 対コントロール(PBS)群(n=3)に注射した。動物は 7 日間連続で体重測定した。1 日目、3 日目、7 日目に ICP-MS を用いてホウ素濃度を測定するために、犠牲後に腎臓サンプルを採取した。腎臓、心臓、肺、肝臓、脾臓の組織サンプルは、注射から 7 日後に評価した。CT26 マウス結腸腫瘍細胞をマウスの腰部組織に皮下注射した動物モデルを用いて、ホウ素化合物の生体内分布を検討した。BPA、BSH、MMT1242 を、BPA は 500 mg/kg(26 mg B/kg, n=3)、BSH は 100 mg/kg(59 mg B/kg, n=3)、MMT1242 は 210 mg/kg(59 mg B/kg, n=3)の用量でこれらのモデル動物に注入した(果糖は 2.6 当量)。異なる時間間隔内に腫瘍組織、肝臓、腎臓、大腿筋、脳、脾臓、血液のサンプルを採取し、硝酸で灰化した後、ICP-MS で分析した。腫瘍/血液比(T/B 比)を算出し、BPA 群、BSH 群、MMT1242 群間で比較した。

動物への照射は、京都大学原子炉実験所(KUR)で、腫瘍部分を中性子ビームの経路に配置し、不要な中性子照射を吸収するためにリチウム含有プラスチックを非被害動物の身体部分に遮蔽して、1 時間かけてフラックス $1.8\text{-}4.0 \times 10^{12}$ neutrons/cm² の熱中性子で行った。CT26 動物モデルは、4 週齢の雌 BALB/c マウス(株式会社インビボサイエンス、東京、日本)の右大腿部に作成した。注射から 2 週間後、腫瘍を有する(平均 360 mm³)マウスを使用し、照射の 24 時間前に尾静脈から ¹⁰B-MMT1242(24.1 mg ¹⁰B/kg, n=5, 250 mg/kg with 68.3 mg ¹⁰B/kg, n=6)の注射を行った。ポジティブコントロールとして、フルクトース-¹⁰B-BPA(24.1 mg ¹⁰B/kg で 500 mg/kg, n=5)を照射の 2 時間前に尾静脈注射で投与した。腫瘍の大きさと体重は、投与前から照射 26 日後までの期間で測定した。

2) 元素型ホウ素ナノ粒子(eBNP)の合成と前臨床評価、および金ナノ粒子を用いたホウ素の用量評価

ホウ素ナノ粒子の合成は、初期実験段階で行われ、80°Cの水性分散媒中で非晶質ホウ素微粒子(0.5~4 μ m)をキャビテーション分散させ、その後 2 段階のカスケード分画することで表される。この段階でのナノ粒子の安定化は、様々な濃度のヒドロキシエチルセルロース(HEC)溶液を用いて、水溶液中でポリマーシェルを形成することにより行った。ナノ粒子の可視化には透過型電子顕微鏡(TEM)を用い、加速電圧 120kV で動作する JEM-1400 透過型電子顕微鏡(日本電子株式会社、東京、日本)を使用して、その形態、構造、およびサイズ分布を調査した。ホウ素ナノ粒子の合成は初期実験段階で行われ、2 段階のカスケード分画に続いて、80°Cの水性分散媒中で非晶質ホウ素粒子(0.5~4 μ m)をキャビテーション分散することを表している。この段階で、様々な濃度のヒドロキシエチルセルロース(HEC)溶液を用いて水溶液中でポリマーシェルを形成することにより、ナノ粒子を安定化した。ナノ粒子の可視化には透過型電子顕微鏡(TEM)を用い、加速電圧 120kV で動作する JEM-1400 透過型電子顕微鏡(日本電子株式会社、東京、日本)を使用して、その形態、構造、およびサイズ分布を調査した。本研究の主な実験細胞株は、ヒトグリオーマの T98G、U251、U87 とした。

照射実験では、タンデム型中性子発生陽子加速器を用いて、細胞培養物に熱外中性子と熱中性子を照射した。加速器は、陽子電流 1.725-1.812mA、エネルギー 2.032MeV で運転された。細胞サンプルはプレキシガラスファントム内のプラスチックチューブに入れ、熱エネルギーへの中性子減速を最大化した。また、腫瘍増殖抑制の効果は、コロニー形成アッセイ(CF アッセイ)を用いて評価した。中性子フルエンスまたはホウ素濃度の関数としての細胞生存曲線は、 $SF=e^{-(\alpha C+\beta C^2)}$ という方程式を用いて線形二次(LQ)モデルに適合させ、ここで SF は生存率であった。線量測定は、中性子照射直後にゲルマニウム分光器を用いて試料中の金の放射化量を測定することにより行った。動物への照射は、中性子発生型タンデム陽子加速器で、腫瘍部分をビーム整形アセンブリの下に置き、不要な中性子照射を吸収するためにリチウム含有プラスチックで患部以外の動物の体部を遮蔽して行った。

4. 研究成果

I. 位置合わせ装置

各種動作試験を実施し、治験実施に要求される精度を有していることを確認した。

II. 非臨床試験として安全性試験と有効性試験

1) 安全性試験

病理組織学的検査では、SPM-011 の投与後に中性子線を照射した群において、免疫系組織及び皮膚/皮下組織の萎縮性変化が 7 及び 14 日目に、舌、肝臓及び精嚢における壊死、空胞化あるいは萎縮性の変化、パイエル板の胚中心の Tingible body macrophage の増加が 7 日目に、眼球角膜の単細胞壊死が 14 日目に、大腿骨の海綿骨減少及び成長板肥厚が 14 及び / あるいは 28 日目に、腎臓の尿細管の変性及び Karyomegaly が 90 日目にみられ、いずれもホウ素化合物投与及び中性子線照射に起因する変化と考えられた。しかしながら、免疫系組織、皮膚/皮下組織、舌、肝臓、パイエル板、精嚢、眼球角膜、大腿骨における変化は 90 日目にはみられないことから可逆性の変化であると考えられた。なお、90 日目にみられた腎臓の変化は、尿細管再生過程の変化及び再生時の DNA 複製異常による変化と考えられるが、Karyomegaly は前がん病変とは考えられず、毒性学的意義は乏しいと考えられた。また、中性子線照射の影響と考えられる変化として、胸骨骨髓の造血細胞減少及び眼球の水晶体上皮の変性が 7, 14, 28 及び 90 日目に、精巣の精細胞の変性が 7 及び 14 日目に、精母細胞の枯渇が 28 日目に、精細管の限局性拡張が 14 及び 28 日目に、水晶体線維の変性、精巣の精細管の変性 / 萎縮及び精巣上体の精巣上体管腔内の精子減少が 90 日目に、中性子線のみ照射した群及び / あるいは SPM-011 の投与後に中性子線を照射した群でみられた。しかしながら、胸骨骨髓及び生殖器における変化は 90 日目では減弱あるいは回復傾向がみられることから可逆性変化であると考えられた。

2) 有効性試験

SAS 細胞を移植した担癌マウスにおいて、SPM-011 の投与後に中性子線を照射した群では、投与及び照射後 2 日目から腫瘍増殖の抑制傾向が確認され、抑制効果は 14 日目まで継続した(図 1)。その後緩やかな腫瘍の増大傾向が確認されたが、投与及び照射後 5 週間の時点で腫瘍堆積は 0 日目の 1.5 倍程度であった。投与及び照射後 9 日目時点での腫瘍体積は、未処理群に比べ 0.06 倍、SPM-011 のみ投与した群に比べ 0.07 倍、中性子線のみ照射した群に比べ 0.08 倍であった。G-361 細胞を移植した担癌マウスにおいて、SPM-011 の投与後に中性子線を照射した群では、投与及び照射後 14 日目まで緩やかな腫瘍の増大傾向が確認されたが、16~26 日目では腫瘍の増殖抑制傾向が確認された。28 日目以降再度腫瘍の増大傾向が見られた。投与及び照射後 12 日目時点での腫瘍体積は、未処理群に比べ 0.61 倍、SPM-011 のみ投与した群に比べ 0.59 倍、中性子線のみ照射した群に比べ 0.76 倍であった。U-87 MG 細胞を移植した担癌マウスにおいて、SPM-011 の投与後に中性子線照射した群では、投与及び照射後 16 日目まで緩やかな、19 日目以降はより急激な腫瘍の増大傾向が確認された。投与及び照射後 9 日目時点での腫瘍体積は、未処理群に比べ 0.32 倍、SPM-011 のみ投与した群に比べ 0.41 倍、中性子線のみ照射した群に比べ 0.50 倍であった。

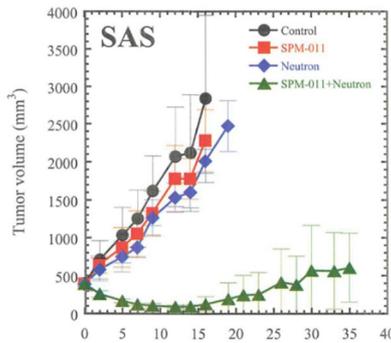
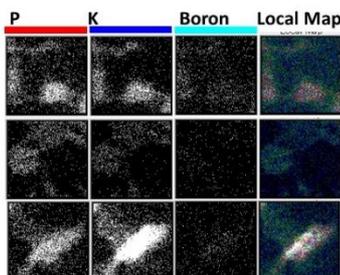


図 1. 腫瘍増殖曲線(頭頸部扁平上皮癌由来 SAS 細胞を移植した担癌マウス)

以上より、本試験条件下では、SPM-011 (抗悪性腫瘍剤ホウ素化合物)を単回皮下投与後し、マウス頭部に iBNCT から発生する中性子線を単回照射することで誘発される毒性変化が、免疫系組織、皮膚/皮下組織、舌、肝臓、パイエル板、精嚢、眼球角膜、大腿骨及び腎臓でみられ、また中性子線照射の影響と考えられる変化が、胸骨骨髓、精巣、精巣上体及び水晶体でみられた。一方で、腎臓及び水晶体を除く変化は 90 日目までに軽減あるいは消失しており、回復性がみられた。また、SPM-011 (抗悪性腫瘍剤、ホウ素化合物)を単回皮下投与後し、マウス右下肢大腿部(移植腫瘍部)に iBNCT から発生する中性子線を単回照射することにより誘発される抗腫瘍効果が、ヒト頭頸部扁平上皮癌由来 SAS 細胞、ヒト悪性黒色腫由来 G-361 細胞及びヒト悪性神経膠芽腫由来 U-87 MG 細胞を移植した雄の BALB/cSlc-nu/nu マウスで確認された。

結果 二次元分布 洗浄なし



III. ホウ素濃度・ホウ素分布の可視化

U251 human glioma に、800ugB/mL の f-BPA/BSH を 2 時間作用させた後、PIXE/PIGE 分析を施行したところ、細胞の形状と B の分布がおおよそ一致する条件も見出すことができた。(BSH、無洗浄で凍結乾燥)細胞の存在についてリン、硫黄の元素位置画像を計算によって可視化し、ホウ素存在位置に重ね合わせて可読性の高い画像を取得した(図 2)。

図 2 細胞内にホウ素分布が確認できた PIXE 二次元マッピング画像の一例

IV. 新規ホウ素化合物の開発

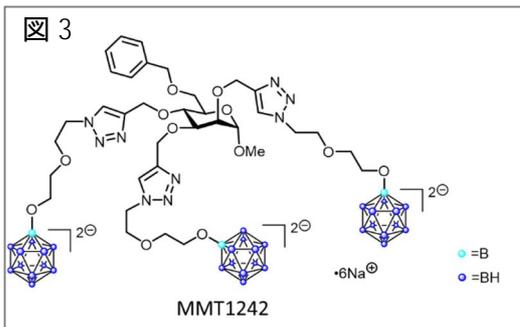
1) 新規ホウ素含有 α -D-マンノピラノシドの合成と前臨床試験での評価

蛍光顕微鏡で観察したところ、CT26 腫瘍細胞における NBD 標識 MMT1242 (NBD1242) の細胞内分布は、拡散的で広範囲であった。BPA と比較して、CT26 腫瘍細胞では 2 倍の MMT1242 が用量依存的に取り込まれた。B16-F10 メラノマ細胞では 3 mM の MMT1242 投与により、BPA に比べて 2.7 倍高いホウ素濃度を示し、C6 グリオーマ細胞では同用量で BPA に比べて 8 倍高い蓄積ホウ素を示した。腫瘍細胞では高い細胞内 MMT1242 濃度が 60 分まで維持されたが、細胞を洗浄すると細胞内 BPA 濃度は時間依存的に直ちに減少した。

MMT1242 の静脈内注射後 7 日間、すべてのマウスの体重は変化しなかった。MMT1242 は、マウスの正常な腎臓から良好なクリアランスを示した。マウスの腎臓、心臓、肺、肝臓、脾臓の組織標本では、毒性障害は観察されなかった。 ^{10}B -MMT1242 による ^{10}B の分布は、 ^{10}B -BPA の分布よりも広い範囲であり、通常の化合物である BSH や BPA よりも BNCT に適していることがわかった。MMT1242 は、*in vivo* の ^{10}B 生体内分布試験において、正常組織からの良好なクリアランスとともに、十分な腫瘍組織内滞留性を有することが確認された。照射のみの群では、無治療の群と比較して腫瘍体積が有意に抑制された ($p = 0.0321$)。 ^{10}B -MMT1242 (250mg/kg) ($p = 0.0123$)、 ^{10}B -MMT1242 (89mg/kg) ($p = 0.0002$)、 ^{10}B -BPA ($p < 0.0001$) 群では、照射のみの群と比較して有意な腫瘍体積の抑制が見られた。

^{10}B -MMT1242 (250mg/kg) 群では、18 日目まで ^{10}B -BPA 群と同等の腫瘍増殖抑制効果を示した。試験経過において、肺、脾臓、肝臓の塞栓症は観察されなかった。

今回開発したホウ素含有 α -D-マンノピラノシド MMT1242 は、腫瘍モデルにおいて高い腫瘍対正常組織蓄積率を示し、動物照射試験においても投与 24 時間後に腫瘍増殖を明らかに抑制した。このことから、MMT1242 は、将来の加速器を用いた BNCT 臨床試験の有望な候補となる。



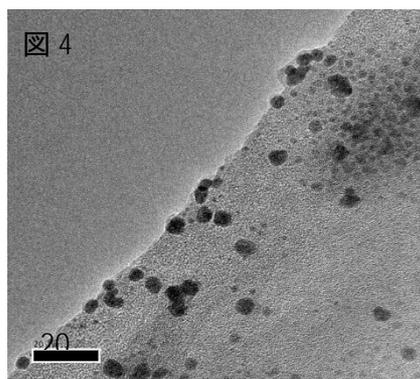
2) 元素型ホウ素ナノ粒子 (eBNPs) の合成と前臨床評価 および金ナノ粒子を用いたホウ素の用量評価

透過型電子顕微鏡 (TEM) 像では、1 ~ 12 nm の大きさのやや細長い球状の eBNP が観察され、1 ~ 4 nm のナノ粒子が主要な画分であった (図 4)。2 つのフラクションが可視化され、動的分散によって確認された (図 8)。X 線回折分析では、超音波処理の前後で非晶質ホウ素を特徴付けるピークが見られ、得られたナノ粒子の組成が非晶質であることが示された。新たに合成したナノ粒子は、水溶液中で経時的に大きさが大きく異なり、より大きなクラスターを形成したが、HEC との複合体形成により、より大きなサイズの均一な粒子が得られ、経時的な溶液安定性が高まった。

ナノ粒子は、临床上の最小治療濃度である 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲では細胞増殖に大きな影響を与えず、最小治療範囲を超える濃度 (50-250 $\mu\text{g}/\text{mL}$) では細胞増殖の抑制がさらにわずかに増加した。U251 細胞は、他の 2 つの細胞株よりもホウ素ナノ粒子の濃度を上げると、より顕著な反応を示した。

eBNP は、未処理で照射したコントロールと比較して、すべての細胞株で全フルエンス範囲において細胞の増殖能力を著しく低下させた。この効果は T98G 細胞でより顕著であったが、BPA とのインキュベーションは中性子線照射に大きな影響を与えなかった。U251 細胞では、BPA と eBNP の両方が、ホウ素を含まない照射細胞に比べ、高い指数関数的な細胞生存率の低下を誘導したが、

5.370 $\times 10^{12}$ 中性子/cm² 照射時点では両化合物の差はみられなかった。U87 細胞では、2.685 $\times 10^{12}$ 個の中性子線/cm² を照射した時点で BPA と照射対照を除き、全群間で有意な差を示した。安定化ナノ粒子は、中性子線照射なしでの細胞生存率に大きな影響を与えず、照射後に試験したすべての腫瘍細胞株のコロニー形成能力を有意に低下させた。ナノ粒子と BPA の両方を用いた BNCT 効果は、細胞培養によって異なり、BPA のみの場合、照射前に細胞をブランク培地に置くと効果が得られなかった。TEM 画像では、T98G 細胞の細胞質内に直径の異なる AuNPs が観察された。AuNPs を含む試料の活性化により、放射性 ^{198}Au 同位体が生成され、各ホウ素濃度における中性子線量評価のデータとなった。BNCT はホウ素濃度に依存して指数関数的に腫瘍細胞の生存率を低下させ、ホウ素濃度 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で最も大きな BNCT 効果が得られた。サンプル中の AuNPs の存在は、細胞生存率に大きな影響を与えなかった。中性子照射による金の活性化と金放出ガンマ線のさらなる測定に基づく線量測定は、放射線治療に対する有意な有害作用はないが、BNCT 後の吸収線量の推定が可能となった。



TEM 画像では、T98G 細胞の細胞質内に直径の異なる AuNPs が観察された。AuNPs を含む試料の活性化により、放射性 ^{198}Au 同位体が生成され、各ホウ素濃度における中性子線量評価のデータとなった。BNCT はホウ素濃度に依存して指数関数的に腫瘍細胞の生存率を低下させ、ホウ素濃度 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で最も大きな BNCT 効果が得られた。サンプル中の AuNPs の存在は、細胞生存率に大きな影響を与えなかった。中性子照射による金の活性化と金放出ガンマ線のさらなる測定に基づく線量測定は、放射線治療に対する有意な有害作用はないが、BNCT 後の吸収線量の推定が可能となった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 9件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 S.A. Uspenskii, P.A. Khaptakhanova, A.A. Zaboronok, T.S. Kurkin, O.Yu. Volkova, L.V. Mechetina, A.C. Taranin, V.V. Kanygin, A. Matsumura, S.Yu. Taskaev	4. 巻 491
2. 論文標題 Elemental Boron Nanoparticles: Production by Ultrasonication in Aqueous Medium and Application in Boron Neutron Capture Therapy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Doklady Chemistry	6. 最初と最後の頁 20-24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1134/S0012500820030027	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 該当する
1. 著者名 H. Kumada, K. Takada, T. Terunuma, T. Aihara, A. Matsumura, H. Sakurai, T. Sakae	4. 巻 163
2. 論文標題 Monitoring patient movement with boron neutron capture therapy and motion capture technology	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Appl. Radiat. Isot	6. 最初と最後の頁 109208 ~ 109208
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.apradiso.2020.109208.	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 該当する
1. 著者名 H. Kumada, K. Takada, S. Tanaka, Y. Matsumoto, F. Naito, T. Kurihara, T. Sugimura, M. Sato, A. Matsumura, H. Sakurai, T. Sakae	4. 巻 165
2. 論文標題 Evaluation of the characteristics of the neutron beam of a linac-based neutron source for boron neutron capture therapy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Appl. Radiat. Isot	6. 最初と最後の頁 109246 ~ 109246
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.apradiso.2020.109246.	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 該当する
1. 著者名 H. Kumada, K. Takada, T. Aihara, A. Matsumura, H. Sakurai, T. Sakae	4. 巻 166
2. 論文標題 Verification for dose estimation performance of a Monte-Carlo based treatment planning system in University of Tsukuba	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Appl. Radiat. Isot	6. 最初と最後の頁 109222 ~ 109222
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.apradiso.2020.109222.	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 該当する

1. 著者名 Kumada H, Takada K, Naito F, Kurihara T, Sugimura T, Matsumoto Y, Sakurai H, Matsumura A, Sakae T	4. 巻 2160
2. 論文標題 Beam performance of the iBNCT as a compact linac-based BNCT neutron source developed by University of tsukuba.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 AIP Conference Proceedings.	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/1.5127705	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kumada H, Tanaka S, Naito F, Kurihara T, Sugimura T, Sakurai H, Matsumura A, Sakae T	4. 巻 231
2. 論文標題 Neutron beam performance of iBNCT as linac-based neutron source for boron neutron capture therapy.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 EPJ Web of Conference.	6. 最初と最後の頁 1-4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1051/epjconf/202023101003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Zavjalov E; Zaboronok A; Kanygin V; Kasatova A; Kichigin A; Mukhamadiyarov R; Razumov I; Sycheva T; Mathis BJ; Maezono SEB; Matsumura A; Taskaev S	4. 巻 on line publication
2. 論文標題 Accelerator based boron neutron capture therapy for malignant glioma a pilot neutron irradiation study using boron phenylalanine sodium borocaptate.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Radiation Biology	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09553002.2020.1761039	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Sato E, Zaboronok A, Yamamoto T, Nakai K, Taskaev S, Volkova O, Mechetina L, Taranin A, Kanygin V, Isobe T, Mathis BJ, Matsumura A.	4. 巻 1
2. 論文標題 Radiobiological response of U251MG, CHO-K1 and V79 cell lines to accelerator-based boron neutron capture therapy.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Radiation Research	6. 最初と最後の頁 101-107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jrr/rrx071.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kumada H, Takada K, Sakurai Y, Suzuki M, Takata T, Sakurai H, Matsumura A, Sakae T.	4. 巻 1
2. 論文標題 DEVELOPMENT OF A MULTIMODAL MONTE CARLO BASED TREATMENT PLANNING SYSTEM.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Radiation Prot Dosimetry	6. 最初と最後の頁 286-290
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/rpd/ncx218.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Zelenetskii AN, Uspenskii S, Zaboronok A, Cherkaev G, Shchegolihin A, Mathis BJ, Selyanin M, Yamamoto T, Matsumura A	4. 巻 1
2. 論文標題 Polycomplexes of Hyaluronic Acid and Borates in a Solid State and Solution: Synthesis, Characterization and Perspectives of Application in Boron Neutron Capture Therapy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Polymers (Basel)	6. 最初と最後の頁 101-107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/polym10020181.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計22件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 16件)

1. 発表者名 H. Kumada, Y. Sakurai, H. Tanaka, Y. Kiyonagi
2. 発表標題 Beam Design Considerations for BNCT device, Technical Meeting on Advances in Boron Neutron Capture Therapy
3. 学会等名 IAEA, Web Congress (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 H. Kumada, Y. Li, S. Tanaka, F. Naito, T. Kurihara, T. Sugimura, M. Sato, H. Sakurai, T. Sakae
2. 発表標題 Beam performance of the linac-based neutron source for BNCT in University of Tsukuba
3. 学会等名 UCANS_Web-2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 熊田博明
2. 発表標題 BNCT治療装置の国際標準化について
3. 学会等名 令和2年度京都大学複合原子力科学研究所専門研究会，オンライン開催
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 熊田博明
2. 発表標題 次世代がん放射線治療：BNCTの研究開発最前線 - 世界をリードする医療用加速器中性子源技術
3. 学会等名 中部原子力懇談会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nakai Kei; Kumada H; Aihara T; Matsumura A; Sakurai H
2. 発表標題 Feasibility of Newly constructed LINAC based BNCT for malignant melanomas
3. 学会等名 PTCOG58 MANCHESTER 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kumada H ; Takada K; Tanaka S; MATSUMURA, A; Sakurai H; Sakae T
2. 発表標題 Verification of performance for dose estimation for BNCT by the Monte Carlo based multi-modal treatment planning system
3. 学会等名 PTCOG58 MANCHESTER 2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名	Kumada H; Takada K; Tanaka S; Matsumoto Y; Naito F; Kurihara T; Nakai K; Matsumura A; Sakurai H; Sakae T
2. 発表標題	Physical characteristic measurements for the neutron beam generated by the linac-based neutron source for BNCT in University of Tsukuba
3. 学会等名	PTCOG58 MANCHESTER 2019 (国際学会)
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	中井啓; 吉田文代; 松村明; 江夏昌志; 山田尚文; 山縣諒平; 佐藤隆博
2. 発表標題	大気マイクロPXEによるBNCT応用技術細胞内ホウ素可視化の試み
3. 学会等名	QST高崎サイエンスフェスタ
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	中井啓; 吉田文代; 松村明; 江夏昌志; 山田尚文; 山縣諒平; 佐藤隆博; 松本孔貴; 櫻井英幸
2. 発表標題	マイクロビームPIGEを用いた細胞内外ホウ素分布測定を試み NaI検出器とHPGeの検出器の比較
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	Nakai Kei; Kumada H; Matsumoto Y; Matsumura A; Sakurai H
2. 発表標題	Study on Application of BNCT to skin malignant melanoma in Japan
3. 学会等名	YBNCT to Helsinki 2019(FINISH SOCIETY FOR NEUTRON CAPTURE THERAPY Offers to organize the 10th YBNCT meeting) (国際学会)
4. 発表年	2019年

1 . 発表者名 Tsurubuchi T; Matsumoto K; Ubagai R; Nakai Kei; Yoshida F...
2 . 発表標題 In vivo Evaluation of Novel Boron containing compound A-1 for BNCT
3 . 学会等名 YBNCT to Helsinki 2019(FINISH SOCIETY FOR NEUTRON CAPTURE THERAPY Offers to organize the 10th YBNCT meeting) (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Kumada H; Tanaka K; Matsumoto Y; Tanaka S; Nito F; Kuriha..
2 . 発表標題 Development status of the iBNCT device as a linac-based neutron source of the University of Tsukuba
3 . 学会等名 YBNCT to Helsinki 2019 (FINNISH SOCIETY FOR NEUTRON CAPTURE THERAPY Offers to organize the 10th YBNCT meeting) (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Matsumura A
2 . 発表標題 Experience of BNCT for Glioblastoma and current status of accelerator based BNCT. Recent Progress in Boron Neutron Capture Therapy
3 . 学会等名 American Association for Cancer Research 2019 (招待講演) (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Sauerwein W, Hey-Hawkins E, Matsumura A, Beck-Sickinger A, Gutberlet T, Itami J, Igawa K, Bruckel T, German BNCT Group
2 . 発表標題 A rising hospital-based radiation modality on demand for a broad interdisciplinary collaboration to be implemented in Germany
3 . 学会等名 STRAHLEN-THERAPIE UND ONKOLOGIE, 2019 (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1. 発表者名 松村 明
2. 発表標題 国際中性子捕捉療法学会の現状と課題.
3. 学会等名 第16回日本中性子捕捉療法学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Matsumura A
2. 発表標題 Clinical experience of BNCT in glioblastoma and current BNCT accelerator project in Tsukuba
3. 学会等名 1st Ru BNCT CONFERENCE (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Zaboronok A; Uspenskii S; Khaptakhanova P; Zelenetskii AN; Kurkin T; Volkova O; Mechetina L; Taranin A; Selyanin M; Taskaev S; Kanygin V; Mathis BJ; Tsurubuchi T; Matsumura A
2. 発表標題 Absorbed dose evaluation using complex boron compounds for BNCT
3. 学会等名 1st Ru BNCT CONFERENCE (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Matsumura Akira
2. 発表標題 Current status of i-BNCT project at Tsukuba & Tokai
3. 学会等名 International Congress on Neutron Capture Therapy (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshida Fumiyo, Kurita Tadashi, Endo Keita, Nakai Kei, Shirakawa Makoto, Alexander Zaboronok, Ishikawa Eiichi, Matsumura Akira
2. 発表標題 Difference in BPA uptake between glioma stem cells and their cancerous cells
3. 学会等名 International Congress on Neutron Capture Therapy (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Alexander Zaboronok, Kei Nakai, Takao Tsurubuchi, Fumiyo Yoshida, Eiichi Ishikawa, Bryan J. Mathis, Tetsuya Yamamoto, Akira Matsumura
2. 発表標題 Hybrid gold and boron nanoparticles for treatment and boron dose estimation in boron neutron capture therapy for malignant glioma
3. 学会等名 International Congress on Neutron Capture Therapy (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nakai Kei, Endo Keita, Yoshida Fumiyo, Koka Masashi, Yamada Naoto, Satoh Takahiro, Matsumura Akira
2. 発表標題 Boron analysis and imaging of 2hr-BPA-exposed cells by using micro proton particle induced gamma-ray emission (PIGE)
3. 学会等名 International Congress on Neutron Capture Therapy (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Matsumura Akira
2. 発表標題 Experience of BNCT for glioblastoma and current status of accelerator based BNCT
3. 学会等名 AACR Annual Meeting 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019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
研究分担者	熊田 博明 (Kumada Hiroaki) (30354913)	筑波大学・医学医療系・准教授 (12102)	
研究分担者	中井 啓 (Nakai Kei) (50436284)	筑波大学・医学医療系・准教授 (12102)	
研究分担者	鶴淵 隆夫 (Tsurubuchi Takao) (70778901)	筑波大学・医学医療系・講師 (12102)	

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
---------	---------