

令和 6 年 9 月 26 日現在

機関番号：34401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K08134

研究課題名（和文）X線の抗腫瘍効果に占める腫瘍血管損傷の寄与の硼素中性子捕獲反応を用いた定量的解析

研究課題名（英文）Quantitative analysis of the contribution of tumor vascular injury to the anti-tumor effect of X-rays using boron neutron capture reaction

研究代表者

小野 公二（ONO, KOJI）

大阪医科薬科大学・BNCT共同臨床研究所・所長

研究者番号：90122407

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：硼素中性子捕獲療法（BNCT）は腫瘍細胞選択的な殺細胞効果が期待されるが、抗腫瘍効果には加えて腫瘍細胞の増殖を支える血管系の損傷の寄与も大きいはずである。X線治療は効果に腫瘍細胞選択性がないので血管損傷の寄与も大きいと見なされている。研究ではBNCT基礎研究や臨床研究のデータを再解析した結果、腫瘍の治癒を得るに必要な細胞数の推定が直接的殺細胞効果で正確に行えることが分った。亦、膠芽腫のBNCTの結果の解析からも、直接的殺細胞効果で成績を合理的に説明できることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

BNCTの特性である抗腫瘍効果の腫瘍細胞選択的特徴が明らかになった。

研究成果の概要（英文）：Boron neutron capture therapy (BNCT) is expected to have a selective cytotoxic effect on tumor cells, but in addition to its antitumor effect, damage to the vascular system that supports the growth of tumors should also contribute significantly. X-ray therapy is not selective to tumor cells, so it is considered that vascular damage also contributes significantly. In this study, the data from basic and clinical research on BNCT was reanalyzed, and it was found that the number of cells required to cure a tumor can be accurately estimated by the direct cytotoxic effect. In addition, an analysis of the results of BNCT for glioblastoma revealed that the results can be reasonably explained by the direct cytotoxic effect.

研究分野：医学（放射線科学）

キーワード：BNCT 腫瘍細胞選択的殺細胞効果 硼素化合物 BPA BSH 悪性脳腫瘍

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

X線治療に代表される腫瘍細胞に非選択的な放射線治療では、腫瘍細胞は勿論のこと腫瘍細胞を栄養する血管系にも等しい線量の放射線が照射される。斯うした治療では血管系の損傷も腫瘍の増殖遅延や治癒に寄与すると予想される。SRTの様な一回大線量照射の効果が腫瘍細胞に対する殺細胞効果のみでは説明できないのはこの為である。しかし、その寄与の定量的把握はなされていない。

2. 研究の目的

ホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) では腫瘍細胞に対して選択性の高い線量投与が可能なので、両治療の線量効果関係を比較解析すれば定量的把握も可能と考える。本研究は斯うした目的で構想された。

3. 研究の方法

BNCTにおける血管内皮細胞 (血管系の代表的細胞として) がどの程度の生物等価線量を受け、それが腫瘍細胞に比してどうなのかを調べた。腫瘍細胞が受ける生物学的線量の指標として、研究代表者の小野が発見し考案したABE (Absolute Biologically Effective Dose=ABE dose) は下記の式で計算できる (BPA: $D_0 = 0.1341X^{-1.586}$ 、BSH: $D_0 = 0.0122Y - 0.1319$)。Xは細胞核/細胞質の体積比 (N/C比)、Yは腫瘍細胞の大きさの指標とする組織標本上の平均細胞面積である。この式は腫瘍細胞に対する実験データの解析から抽出されたものであるが、原理上、正常細胞にも応用できるはずである。そこで、再生系の代表的正常組織である小腸の粘膜上皮細胞 (腺窩細胞) においてもBPAの場合の式が妥当かどうかを検討した。手法は再生腺窩数から生残細胞数を求めるマイクロ・コロニーアッセイである。妥当性が検証された後に、血管内皮細胞の細胞核/細胞質の体積比 (N/C比) を組織標本で検索した。

腫瘍に対する最終効果 (治癒率) と腫瘍のホウ素-中性子線量の関係を二種のホウ素薬剤 (BSHとBPA) について調べた。ここで、BPAは腫瘍細胞によって能動的に取り込まれる硼素薬剤であるが、BSHは腫瘍細胞には殆ど取り込まれず、細胞間質に存在する。従って、効果は小野の式によれば細胞サイズで決まる。BPAはその性質からも予想できるように腫瘍内で不均一な分布が避けられず、効果は2相性になるのに対し、BSHの場合は1相性と予想される。放射線腫瘍学の基礎知識に従うと、治癒実験での中性子量と治癒率曲線の傾きから、中性子量と其れに対応する生体内での遺残腫瘍細胞数の関係を推定できる。そこで、等しいサイズの腫瘍を2種の異なったホウ素薬剤 (BPAとBSH) を用いて治療した場合に、腫瘍治癒率が等しければ、遺残の腫瘍細胞数が略等しいと仮定することは妥当と考えられるので、その各々の中性子量から反応曲線を2相性、1相性に従って逆行させ、中性子量0の時点での遺残細胞数が略等しければ、BNCTの抗腫瘍効果は腫瘍細胞選択な直接の殺細胞効果である証明の一つとなる。

BNCTの抗腫瘍効果に介入治療 (BNCT) の腫瘍血管に対する効果が如何様に影響するかを、再発悪性神経膠腫とりわけ膠芽腫 (GBM) を例に、その治療成績から考察した。解析の対象はBNCT治療JG002において再発前診断時からGBMの症例で、かつ、初回再発例、加えて再切除が非適応の症例である。これ等と治療参加施設から収集した再発GBMの内、対照群として適切な患者を抽出した。両群における再発後の全生存期間を調べ、生存曲線の形を比較した。

4. 研究成果

小野の式を正常細胞に適用するの当たっての妥当性の検討したところ、BPA-BNCTを受けた小腸上皮細胞 (腺窩細胞) の生残細胞数は中性子フルエンスに対し指数関数で減少した。これより D_0 は約0.6Gyとなった。腺窩細胞の核・細胞質比から小野の式でもって推定したところ、 D_0 は0.5~0.7Gyとなり妥当な推定値と見なされた。小野の式は腫瘍細胞のみならず、正常細胞にも応用可

能と考えられたので、血管内皮細胞の核・細胞質比を調べると、0.216となり、この値からホウ素中性子線量に対する D_0 は先の小野の式によって1.524Gyと推定された。今後の抗腫瘍効果における血管内皮細胞の損傷の寄与の研究に重要な情報と考える。

BNCTにおける抗腫瘍効果に占める直接の殺細胞効果を、ホウ素薬剤BPA、BSHとSCCVII腫瘍を用いて行ったBNCT実験結果の再解析で検討した結果、集落形成法で評価したSCCVII腫瘍細胞の中性子感受性、及び細胞分裂後の小核非出現率で調べたSCCVII腫瘍細胞の反応を示す(図1, 2)。BPA-BNCT後の分裂細胞における小核非出現率と中性子量の関係は二相性であった(図2)。低反応第 相細胞分画の割合は約40%であり、第 相分画の小核非出現率曲線の傾きを高反応第 相細胞分画のそれと比較すると、47.7%であった。 $\ln(\text{小核非出現率}) = - (\text{中性子フルエンス} : E+11)$ で表すと、第 相細胞分画のそれは0.031であり、低反応第 相分画が最終的な治癒に影響すると考えた。中性子フルエンスと腫瘍治癒率のデータから、 $\ln(\text{BNCT後の腫瘍治癒率}) = - (\text{造腫瘍性生存細胞数})$ の関係式を用いて、BNCT後の造腫瘍性生存細胞数と中性子フルエンスの関係性を求め得る(図3)。この解析結果から、 $\ln(\text{造腫瘍性細胞数})$ の曲線の傾きは0.035となり(図4)、先の低反応第 相細胞分画のそれと略等しい値になったが、僅かに大きかった。この差は生体での造腫瘍性と培養実験でのコロニー形成能の違いとして合理的に理解できる。この傾きの比、 $0.035/0.031=1.129$ を最初のデータでのコロニー形成率曲線の傾きに乗じて生体内での造腫瘍性曲線の傾きを補正すると、0.1548となった。この値と0.035を用いて生体内での造腫瘍性細胞の減少曲線の全体を推定した。BNCT前の生体内での造腫瘍性細胞数を推定すると、 $9E+4$ 個となった(図5)。この値は、腫瘍径から推定のBNCT前の細胞数の $\times 0.00167$ である。腫瘍移植の際の経験からもこの値は合理的な推定値である。亦、BNCTの効果が腫瘍細胞への直接効果で説明できることを示している。

再発悪性神経膠腫の予後はRPAのクラス からクラス に分けられる(JCO, 200)。報告論文のクラス毎の生存率データと再発後時間(月)の関係を、生存率を対数表示で解析すると、何れのクラスも指数関数となる。BNCT介入群で該当するのはクラス (4)、 (2)、 (9)の15例である。一方、対照群はクラス (1)、 (9)、 (26)の36例である。この二つの生存率曲線を比較するとBNCT介入群の生存率は最初に15ヶ月程の肩を持つ指数減少曲線で、24ヶ月以降は生存率が平坦化する。方や対照群のそれは、最初に4ヶ月程の肩を持ち指数減少した後、BNCT群同様に、24ヶ月以降は生存率が平坦化する。亦、指数減少曲線の傾きは等しい(図6)。BNCTでは治療介入は1回のみで、効果は極めて腫瘍細胞選択的であることを考えると、指数減少曲線の等しい傾きは極めて合理的である。肩の大きさの差が、BNCTによる殺細胞効果を示すと考えられる。亦、平坦化した生存率のレベルは一回のBNCT介入で腫瘍の長期制御が達成できる腫瘍の割合を示していると解釈できる。通常の治療の様に介入が反復される場合には、曲線の傾きは緩やかになるし、腫瘍細胞の破壊に加えて腫瘍血管の破壊が加わる場合には、同様に曲線の傾きが小さくなるはずである

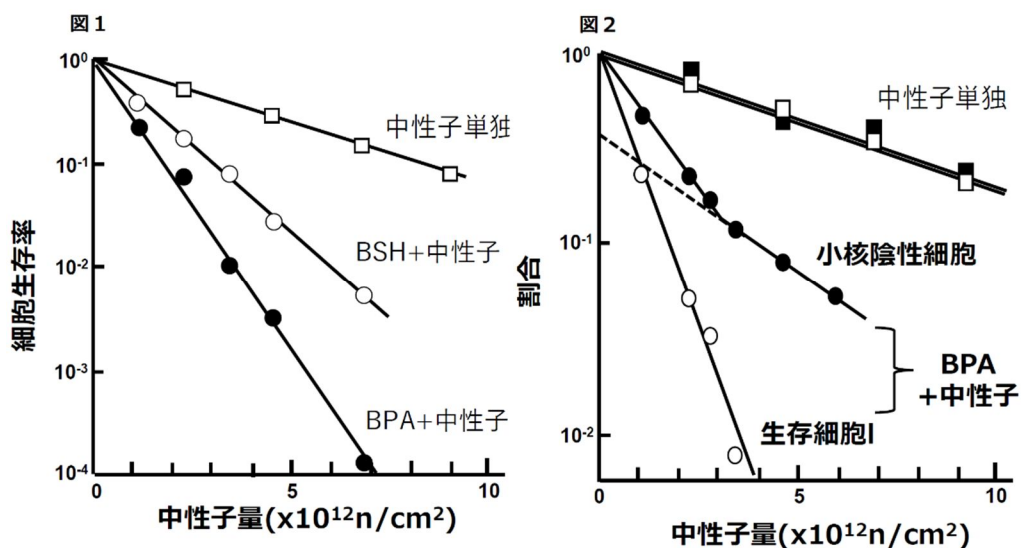


図3

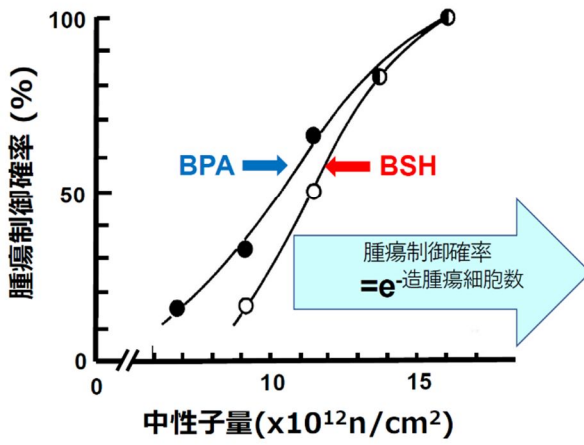


図4

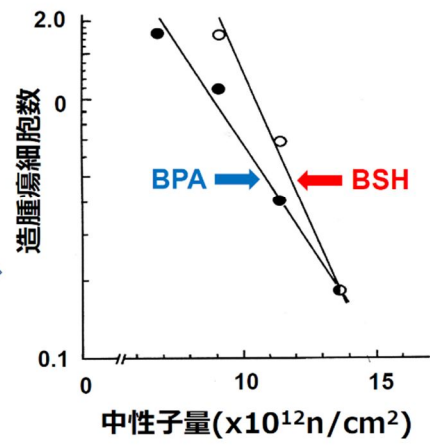


図5

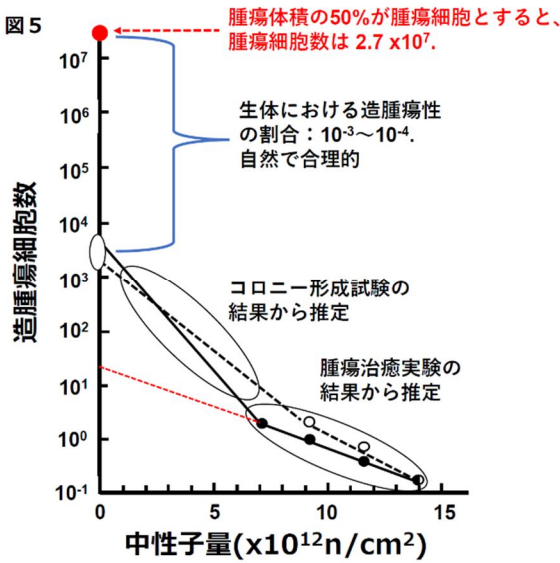
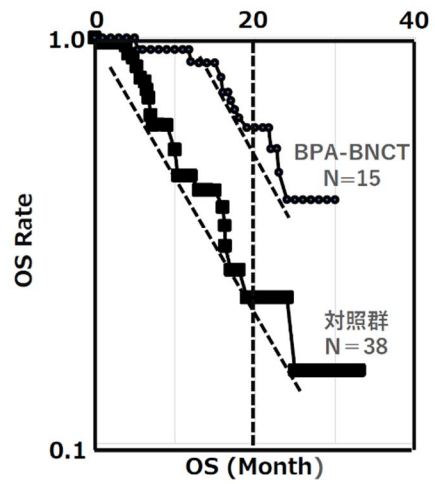


図6



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 0件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Ono Koji, Tanaka Hiroki, Suzuki Minoru	4. 巻 161
2. 論文標題 Reevaluation of CBE value of BPA for hepatocytes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Applied Radiation and Isotopes	6. 最初と最後の頁 109159 ~ 109159
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.apradiso.2020.109159	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 S. Masunaga, Y. Sanada, K. Tano, Y. Sakurai, H. Tanaka, T. Takata, M. Suzuki, K. Ono	4. 巻 61
2. 論文標題 An attempt to improve the therapeutic effect of boron neutron capture therapy using commonly employed ¹⁰ B-carriers based on analytical studies on the correlation among quiescent tumor cell characteristics, tumor heterogeneity and cancer stemness	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Radiation Research	6. 最初と最後の頁 876, 885
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jrr/rraa048	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 Fujimoto T., Suzuki M., Sudo T., Fujita I., Sakuma T., Sakurai Y., Hirose T., Morishita M., Takata T., Tamari Y., Tanaka Hi., Ando T., Kawamoto T., Hara H., Fukase N., Kawakami Y., Shigemoto R., Matsumoto T., Ichikawa H., Ono K., Kuroda R. yosuke, Akisue Toshihiro	4. 巻 166
2. 論文標題 Boron neutron capture therapy for clear cell sarcoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Applied Radiation and Isotopes	6. 最初と最後の頁 109324 ~ 109324
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.apradiso.2020.109324	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 Teruhito Aihara, Junichi Hiratsuka, Nobuhiko Kamitani, Hirotake Nishimura, Koji Ono	4. 巻 163
2. 論文標題 Boron neutron capture therapy for head and neck cancer: Relevance of nuclear-cytoplasmic volume ratio and anti-tumor effect. -A preliminary report-	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Applied Radiation and Isotopes	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.apradiso.2020.109212	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 H. Yanagie, M. Yanagawa, T. Higuchi, N. Dewi, Y. Nonaka, A. Shinohara, T. Matsukawa, K. Yokoyama, M. Suzuki, S. Masunaga, Y. Sakurai, H. Tanaka, K. Ono, H. Yamauchi, M. Ono, J. Nakajima, S. Higashi, H. Takahashi	4. 巻 163
2. 論文標題 Single-dose toxicity study by intra-arterial injection of 10BSH entrapped water-in-oil-in-water emulsion for boron neutron capture therapy to hepatocellular carcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Applied Radiation and Isotopes	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.apradiso.2020.109202	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 Koji Ono, Hiroki Tanaka, Yuki Tamari, Tsubasa Watanabe, Minoru Suzuki and Shin-ichiro Masunaga	4. 巻 60
2. 論文標題 Proposal for determining absolute biological effectiveness of boron neutron capture therapy ; the effect of 10B(n, γ)7Li dose can be predicted from the nucleocytoplasmic ratio or the cell size	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Radiation Research	6. 最初と最後の頁 29-36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jrr/rry080	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 Ryota Iwasaki, Ryutaro Yoshikawa, Ryo Umeno, Azusa Seki, Takehisa Matsukawa, Satoshi Takeno, Kazuhito Yokoyama, Takashi Mori, Minoru Suzuki, Koji Ono.	4. 巻 64
2. 論文標題 The effects of BPA-BNCT on normal bone: determination of the CBE value in mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Radiation Research	6. 最初と最後の頁 795, 803
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jrr/rrad054	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 Naonori Hu, Minoru Suzuki, Shin-ichiro Masunaga, Genro Kashino, Yuko Kinashi, Yi-Wen Chen, Yong Liu, Koki Uehara, Toshinori Mitsumoto, Hiroki Tanaka, Koji Ono.	4. 巻 64
2. 論文標題 Experimentally determined relative biological effectiveness of cyclotron-based epithermal neutrons designed for clinical BNCT: in vitro study	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Radiation Research,	6. 最初と最後の頁 811, 815
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jrr/rrad056	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 Shin-ichiro Masunaga, Yu Sanada, Takushi Takata, Hiroki Tanaka, Yoshinori Sakurai, Minoru Suzuki, Mitsunori Kirihata, Koji Ono	4. 巻 64
2. 論文標題 The impact of TP53 status of tumor cells including the type and the concentration of administered 10B delivery agents on compound biological effectiveness in boron neutron capture therapy	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Radiation Research	6. 最初と最後の頁 399, 411
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jrr/rrad001	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 Yoshihide Hattori, Tooru Andoh, Shinji Kawabata, Naonori Hu, Hiroyuki Michiue, Hiroyuki Nakamura, Takahiro Nomoto, Minoru Suzuki, Takushi Takata, Hiroki Tanaka, Tsubasa Watanabe, Koji Ono.	4. 巻 64
2. 論文標題 Proposal of recommended experimental protocols for in vitro and in vivo evaluation methods of boron agents for neutron capture therapy	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Radiation Research	6. 最初と最後の頁 859, 869
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jrr/rrad064	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 -

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 小野公二
2. 発表標題 再発芽腫のRPA(Recursive Partitioning Analysis)クラス分類に隠された特性 ・ 其の利用に関する考案 ・
3. 学会等名 第19回日本中性子捕捉療法学会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Ono Koji	4. 発行年 2023年
2. 出版社 Marketing and Sales Unit, Publishing Section, International Atomic Energy Agency	5. 総ページ数 416
3. 書名 Advances in BORON NEUTRON CAPTURE THERAPY	

〔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
---------	---------