

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：34401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K24055

研究課題名（和文）中枢神経原発リンパ腫に対するホウ素中性子捕捉療法の橋渡し研究とプロトコル立案

研究課題名（英文）Translational research and protocol planning for boron neutron capture therapy for central nervous system primary lymphoma

研究代表者

竹内 孝治（Takeuchi, Koji）

大阪医科大学・医学部・非常勤医師

研究者番号：40804109

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000 円

研究成果の概要（和文）：原発性中枢神経系リンパ腫(PCNSL)は、再発率の非常に高い難治性脳腫瘍である。初期治療奏功率は高いが、再発時の治療法は確立されておらず、最終的に腫瘍死に至る。再発時の治療方法として、ホウ素中性子捕捉療法(BNCT)に着目した。BNCTは極めて殺細胞効果の高い粒子を用いて生物学的に腫瘍細胞を選択的に治療しうるため、初期治療後の正常脳組織への影響が少ない。in vitroで複数の細胞株、マウスPCNSLモデル脳腫瘍においてボロノフェニルアラニン(BPA)の取り込みを確認し、BPA投与後中性子照射実験では、生存期間延長効果を確認した。PCNSL治療へのBNCT適応は有望であると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PCNSLは、高用量メトトレキサート(HD-MTX)と全脳照射による初期治療への奏功率は高いが、再発率の非常に高い難治性脳腫瘍である。再発時には、HD-MTXは放射線照射歴がある場合使用できず、放射線追加照射には周辺正常脳組織への線量制限のため、治療制限がある。BNCTは腫瘍細胞選択性の高い治療であり、初期治療で治療耐性の落ちた正常脳組織への影響を軽減し、腫瘍細胞のみを駆逐し得る。本研究では、マウスPCNSLモデルへのBNCTの有用性を示すことができ、次のステップである人を対象とした再発PCNSL治療に対するBNCT臨床試験への足掛かりとなる学術的・社会的意義の高い研究となった。

研究成果の概要（英文）：Primary central nervous system lymphoma (PCNSL) is a refractory brain tumor with a very high relapse rate. PCNSL has a high relapse rate after standard treatment of high-dose methotrexate (HD-MTX) and whole brain radiotherapy (WBRT), and a new treatment strategy is urgently required. Boron neutron capture therapy (BNCT), a tumor cell selective therapy has the potential to overcome these difficulties. On in vitro cellular uptake using boronophenylalanine (BPA), and in vivo biodistribution for mouse PCNSL models using systemic administration of BPA were conducted and showed that boron uptakes were confirmed in cells and brain tumors, respectively. On in vivo neutron irradiation study showed that BNCT group had a significantly prolonged survival compared to control groups. BNCT seems to be a promising treatment method and we will go ahead to propose a clinical BNCT protocol.

研究分野：脳神経外科学

キーワード：BNCT malignant lymphoma PCNSL 悪性リンパ腫 BPA PET

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

中枢神経系原発悪性リンパ腫(PCNSL)は、初期治療奏効率が高いものの再発率が非常に高い難治性腫瘍であり、再発時に有効となる標準治療は未だ確立していない。ホウ素中性子捕捉療法(BNCT)は腫瘍細胞選択性が高いため、このような再発治療には有用な可能性があり、“BNCTならば治療効果が期待できる”疾患といえる。そこで我々は、本研究においてPCNSLに対するBNCTの適応の可能性に着目した。

BNCTの特徴は、腫瘍細胞にホウ素-10(boron-10, ^{10}B)化合物を取り込ませ、中性子を照射することにより、高線エネルギー付与(LET, linear energy transfer)の(アルファ)粒子は腫瘍細胞ひとつ分に相当する飛程約 $10\mu\text{m}$ にとどまり、ホウ素を蓄積した腫瘍細胞のみを選択的に破壊する、細胞生物学的に腫瘍細胞選択的な治療法である。我々はこれまでに悪性神経膠腫および悪性髄膜腫患者に原子炉を中性子源としたBNCTにおいて、従来の治療法を上回る治療効果を取得しており、これらの研究成果を新たにPCNSLへ適応しようと試みた。

本研究ではPCNSLに対する中性子照射を含む基礎的研究を実施し、リンパ腫細胞および動物モデルに対するホウ素薬剤(BPA, ボロノフェニルアラニン)を用いるBNCTの効果を検証する世界で初めての研究を試みた。これらの実験からBNCTに用いるパラメータを算出するとともに、PCNSL、特にPCNSL再発例を対象とするBNCTの安全性・有用性を検討し、最適な治療プロトコルを立案する橋渡し研究を行うことを目的とし、実験的研究を立案した。

2. 研究の目的

研究代表者所属施設では以前から、難治性悪性脳腫瘍の根治をめざし、腫瘍細胞選択的粒子線治療とされるBNCTによる治療に積極的に取り組んできた。本治療の唯一および最大の欠点は原子炉使用であり、マシンタイムや運営コストの問題があったが、近年は医療照射が可能な加速器が登場し、本学BNCT医療センターでは頭頸部癌を対象としたBNCTに使用されている。このような流れの中で、PCNSLに対するBNCTの効果を検証した報告はなく、本研究が世界初の試みとなる。また今回の研究計画には腫瘍細胞、腫瘍モデル動物を用いた中性子照射実験までを含んでいることから国内外を通じて学術的意義は非常に高いものとなっている。PCNSLは再発率の非常に高い難治性腫瘍であり、再発時に有効となる標準治療は未だ確立していないため、本研究成果をもとに、PCNSLは是非ともBNCTの対象とすべき適応疾患であることを改めて提示したいと考える。

3. 研究の方法

準備実験では、RAJIリンパ腫細胞を用いたパイロットBPA暴露実験を行い、*in vitro*においてRAJIリンパ腫細胞内への良好なホウ素集積を確認できている。また、これまでにFBPA-PETによりPCNSLに対するBPA集積は非常に高いことがわかっている。BPAによるBNCTはすでに悪性神経膠腫・悪性髄膜腫において臨床使用経験があり、特筆すべきは投与するホウ素化合物および照射する中性子が、各々単一では無害であることで、両者が相まって始めて殺細胞効果を示すbinary approachであることである。本研究ではPCNSLに対するBNCTの適応可能性につき中性子照射を含む基礎的研究を実施し、リンパ腫細胞および動物モデルに対するBPAを用いるBNCTの効果を検証する世界で初めての試みとなる。これらの実験から得られたパラメータを算出するとともに、PCNSL、特に再発例を対象として、全脳照射後の治療を視野に入れたBNCTの安全性・有用性を検討し、最適な治療プロトコルを立案するための橋渡し研究を行う。

(1) 2種類のヒト由来リンパ腫細胞(RAJI, RL)を用いたマウス皮下悪性リンパ腫モデルにおける、BPA腹腔内投与後の腫瘍細胞へのホウ素集積性

ヌードマウス右側大腿部皮下へのヒト由来リンパ腫細胞(RAJI, RL)の植え込みを行い、マウス皮下悪性リンパ腫モデルを確立する。BPAを腹腔内投与し、腫瘍組織へのホウ素集積性をICP発光分光分析法(Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy: ICP-AES(学内常設))を用いたホウ素濃度測定で評価する。その他の臓器(脳・血液・心臓・肺・肝臓・腎臓・脾臓・皮膚・筋肉)へのホウ素化合物の集積性も同時に評価し、その安全性を評価する。

(2) 2種類のヒト由来リンパ腫細胞(RAJI, RL)を用いたマウスPCNSLモデルにおける、BPA腹腔内投与後の腫瘍細胞へのホウ素集積性と、マウスPCNSLモデルの自然経過の確認

ヌードマウスの右前頭葉にヒト由来リンパ腫細胞(RAJI, RL)を定位的に移植し、マウスPCNSLモデルを確立する。BPAを腹腔内投与し、脳腫瘍へのホウ素集積性をICP-AESを用いたホウ素濃度測定で評価する。その他の臓器(正常脳・血液・心臓・肺・肝臓・腎臓・脾臓・皮膚・筋肉)へのホウ素化合物の集積性も同時に評価し、その安全性を評価する。また2種の腫瘍株それぞれにおいてマウスPCNSLモデルの自然経過(生存期間や腫瘍倍化時間など)を確認する。

(3) マウスPCNSLモデルに対する中性子照射に関する実験

(2)の実験において確立したマウスPCNSLモデルを用いて、京大複合原子力科学研究所での中性

子照射実験を実施する。マウス PCNSL モデルに対して BPA を腹腔内投与し、その後中性子照射実験を行う。生存曲線を用いて BNCT 効果を判定する。グループ分けとして以下の群分けを基盤プロトコールとして照射実験を企画する。 と の protocol A および B については、(2)での各臓器のホウ素取り込み濃度と、これまでに BNCT 基礎実験で取得された中性子照射実験の推定線量結果などから、BPA 投与量や中性子照射線量、照射時間を調整し、至適な付与占領の条件を検討し照射実験を企画する。

untreated control group

BPA intraperitoneal administration only control group

neutron irradiation only control group

BNCT; neutron irradiation+BPA (protocol A) group

BNCT; neutron irradiation+BPA (protocol B) group

4. 研究成果

(1) 2 種類のヒト由来リンパ腫細胞(RAJI, RL)を用いたマウス皮下悪性リンパ腫モデルにおける、BPA 腹腔内投与後の腫瘍細胞へのホウ素集積性

ヌードマウス右側大腿部皮下を用いて、2 種のヒト由来のリンパ腫細胞(RAJI, RL)によるマウス皮下悪性リンパ腫モデルを作成し、病理標本で腫瘍が生着していることを確認した。BPA を腹腔内投与し、生体内分布試験を実施した。腫瘍内ホウ素濃度はそれぞれ、RAJI: $5.2 \pm 4.8 \mu\text{g}^{10}\text{B/g}$ 、RL: $10.3 \pm 5.4 \mu\text{g}^{10}\text{B/g}$ であり、正常組織(脳、血液、肺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、筋肉)への異常集積は認めなかった。脳血管関門を介さない場合には、血管内から腫瘍組織へ BPA が移行することが判明したため、予定通りマウス PCNSL モデルでの BPA 突予後生体内分布試験を実施した。

(2) 2 種類のヒト由来リンパ腫細胞(RAJI, RL)を用いたマウス PCNSL モデルにおける、BPA 腹腔内投与後の腫瘍細胞へのホウ素集積性と、マウス PCNSL モデルの自然経過の確認

ヌードマウスの右前頭葉にヒト由来リンパ腫細胞(RAJI, RL)を定位的に移植し、マウス PCNSL モデルを作成し、病理標本で腫瘍が生着していることを確認し、マウス PCNSL モデルの自然経過による生存期間を確認した。準備実験でのマウス PCNSL モデルに対する BPA 腹腔内投与後の腫瘍内ホウ素濃度は、RAJI: $22.92 \mu\text{g}^{10}\text{B/g}$ 、RL: $3.96 \mu\text{g}^{10}\text{B/g}$ であった。また、腫瘍/正常脳ホウ素濃度比は RAJI: 3.1、RL: 2.5 であった。脳腫瘍への BPA 集積性が期待されたため、複数の同一マウス PCNSL モデルを用いてこれらの実験を継続し、マウス PCNSL モデルでの安定した生体内分布を確認した。また、正常組織(脳、血液、肺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、筋肉)への異常集積は認めなかった。すでに実臨床において FBPA-PET により PCNSL に対する BPA 集積は非常に高いことが判明しているが、本研究ではこれを裏付ける結果が取得された。本実験結果をもとに、予定通りマウス PCNSL モデルへの中性子照射実験を計画・実施した。

(3) マウス PCNSL モデルに対する中性子照射に関する実験結果に基づく、今後の展望

中性子照射実験の結果、対照群に比較して BPA を用いた BNCT 生存期間は有意に延長し、PCNSL に対する抗腫瘍効果が示された。BPA はすでに実臨床において、悪性神経膠腫や悪性髄膜種、頭頸部癌などへ使用されており、FBPA-PET 検査などの臨床データ蓄積も多数ある。PCNSL 患者についてもこれらの知見を応用することで、PCNSL、特に再発例を対象とした BNCT の安全性・有用性を確保しようと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Fukuio Yusuke, Hattori Yoshihide, Kawabata Shinji, Kashiwagi Hideki, Kanemitsu Takuya, Takeuchi Koji, Futamura Gen, Hiramatsu Ryo, Watanabe Tsubasa, Hu Naonori, Takata Takushi, Tanaka Hiroki, Suzuki Minoru, Miyatake Shin-Ichi, Kirihata Mitsunori, Wanibuchi Masahiko	4. 巻 9
2. 論文標題 The Therapeutic Effects of Dodecaborate Containing Boronophenylalanine for Boron Neutron Capture Therapy in a Rat Brain Tumor Model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biology	6. 最初と最後の頁 437 ~ 437
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biology9120437	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9件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 福尾祐介、川端信司、柏木秀基、金光拓也、竹内孝治、平松 亮、宮武伸一、小野公二
2. 発表標題 2種のホウ素化合物ライゲーションによる新規BNCT用薬剤の開発研究
3. 学会等名 日本脳神経外科学会第78回学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川端信司、竹内孝治、平松 亮、松下葉子、柏木秀基、福尾祐介、金光拓也、田中浩基、櫻井良憲、鈴木 実、小野公二、宮武伸一
2. 発表標題 FBPA PET検査からみた脳腫瘍のホウ素中性子捕捉療法
3. 学会等名 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 福尾祐介、川端信司、柏木秀基、金光拓也、竹内孝治、平松 亮、宮武 伸一、服部能英、切畑光統、高田卓志、田中浩基、鈴木 実、小野公二
2. 発表標題 ドデカボレート含有BPA を用いたBNCT によるラット脳腫瘍モデルの生存期間延長効果
3. 学会等名 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 福尾祐介、川端信司、柏木秀基、金光拓也、竹内孝治、平松亮、宮武伸一、中村浩之、鰐淵昌彦
2. 発表標題 ヒト血清アルブミンを用いた新規ホウ素化合物におけるホウ素中性子捕捉療法の治療効果
3. 学会等名 日本脳神経外科学会第79回学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 福尾祐介、川端信司、柏木秀基、金光拓也、竹内孝治、二村元、平松亮、鰐淵昌彦
2. 発表標題 ラット脳腫瘍モデルを用いた新規ホウ素化合物の有用性の検討方法
3. 学会等名 第2回生体量子捕獲反応研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 福尾祐介、川端信司、柏木秀基、金光拓也、竹内孝治、二村元、平松亮、呼尚徳、宮武伸一、鰐淵昌彦
2. 発表標題 BNCTの安全性と脊髄腫瘍への臨床応用の可能性
3. 学会等名 第2回生体量子捕獲反応研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柏木秀基、川端信司、福尾祐介、金光拓也、竹内孝治、二村元、平松亮、服部能英、切畑光統、鰐淵昌彦
2. 発表標題 18kDa mitochondrial translocator proteinを標的とした悪性神経膠腫へのBNCTの可能性
3. 学会等名 第2回生体量子捕獲反応研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柏木秀基、川端信司、平松亮、松下葉子、藤城高広、古瀬元雅、小野公二、鰐淵昌彦
2. 発表標題 BNCT for rat glioma models using a TSP0-targeted new boron compound
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柏木秀基、川端信司、福尾祐介、金光拓也、竹内孝治、平松亮、宮武伸一、服部能英、切畑光統、高田卓志、田中浩基、鈴木実、小野公二、鰐淵昌彦
2. 発表標題 Translocator proteinを標的とする新規ホウ素化合物を用いたラット脳腫瘍モデルへのホウ素中性子捕捉療法
3. 学会等名 日本脳神経外科学会第79回学術総会
4. 発表年 2020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