

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 27 日現在

機関番号：14301
 研究種目：挑戦的萌芽研究
 研究期間：2014～2016
 課題番号：26670557
 研究課題名(和文)高精度 -ARGによるホウ素化合物のミクロ分布の探索と腫瘍・組織反応解析への応用

 研究課題名(英文) application of high resolution arufa-autoradiography for analysing
 micro-distribution of B-compund in tissues and its BNCT effects

 研究代表者
 小野 公二(ONO, Koji)

 京都大学・原子炉実験所・寄附研究部門教員

 研究者番号：90122407
 交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：正常組織のCBEファクター値を説明する新たな式を発見した。脳放射線壊死に対するBPAの場合はCBE値 $=0.32+N/B \times 1.65$ (NとBは正常脳組織と血中の各々の¹⁰B濃度)である。BSHの場合は、0.36と定値になった。肺線維症をではBPAのCBE値 $=0.32+N/B \times 1.80$ となった。BSHについては解析すべき実験データの報告が無かった。このことから、BPAの脳でのCBE値には正常組織の¹⁰B濃度が重要であることが分かり、その濃度を低減する手法を探索した。BPAの投与前にPA(フェニールアラニン)を前投与しておく、脳での¹⁰B濃度は劇的に低減し、治療可能比が大きく上昇することが分かった。

研究成果の概要(英文)：A new formula to describe the relation between CBE factor and B-10 level in tissue. For brain radio-necrosis, $CBE=0.32+N/B \times 1.65$. N and B are B-10 level (ppm) in the normal brain and the blood. For BSH, it is independent of B-10 level in the tissue and a fixed value ($=0.36$). For lung fibrosis, $CBE=0.32+N/B \times 1.80$. For BSH, there exist no data for analysis. it is independent of B-10 level in the tissue and a fixed value ($=0.36$). As above analysis, B-10 level in normal brain is very important factor. An idea to selectively reduce the B-10 level was discovered when BPA was applied to BNCT. Predosing of PA (phenylalanine) prior to BPA administration markedly decreased B-10 level of brain tissue and an increase of therapeutical gain factor is expected in clinical BPA-BNCT for brain tumor.

研究分野：放射線腫瘍学

キーワード：BNCT CBEファクター BPA BSH 放射線脳壊死 放射線肺線維症

1. 研究開始当初の背景

ホウ素中性子捕捉療法で用いる 10B 化合物の正常組織内の分布は構成する細胞レベルでは様々である。その為、新規の 10B 化合物の正常組織影響を予測するためには組織レベルでのミクロ分布を探索できる、更には中性子照射を行った時に各細胞に付与される線量も予測が可能な手法の開発が必要であった。この開発を目的にした研究(基盤研究 A・平成 22 年度~24 年度)によって、従来の中性子照射による オートラジオグラフィー(-ARG)に改良を重ね、細胞に集積する性質の種々の 10B 化合物の細胞レベルでの分布を、高精度かつ簡便に解析できる高分解能な手法を独自に開発した。本研究ではこの独自の手法を応用して二つの目的を達成する為の研究を行う。

2. 研究の目的

10B 原子核と低速中性子の核反応で放出される 粒子と Li 原子核の飛程は細胞径を超えず、従って、その放射線損傷は核反応の生じた細胞に限定される。それ故に、もし、特定のホウ素化合物ががん細胞に選択的に集積すると、がん細胞選択的放射線治療が可能となる。斯うした特徴ゆえに、ホウ素中性子捕捉療法(BNCT)は癌放射線治療の理想形として期待もされ、現在、研究が進められている。この中性子とホウ素原子核の反応の特徴は正常組織にも大変ユニークな放射線影響を生じる。正常組織は一般に複数種の細胞で構成され、それらに対する放射線反応の複合が正常組織反応として現出する。この場合、どの細胞種が反応にどの程度寄与しているかは明瞭ではない。それは X 線照射では全ての細胞が等しい線量の放射線に暴露するからである。しかるに、ホウ素化合物の集積は細胞種毎に、また化合物毎に異なる。其のため、BNCT の反応と線量との関係は複雑になるが、細胞種毎のホウ素化合物の集積とミクロ分布が分かれば上記の問題を解明することが出来る。我々は、既存の オートラジオグラフィー(ARG)を高精度化した方法を開発した(JRR 誌に発表・Web 版に掲載済み・2013 年)。本法ではミクロ分布、濃度を検索できる。この手法を応用し、線量と反応の関係について複数のホウ素化合物での反応を比較することこの未知の課題を解明したい(第一の目的)。また、我々の手法によってがん細胞への集積性、体内分布と化合物構造の関係を解明することも可能である。これが第二の目的である。

3. 研究の方法

研究の根幹技術である独自に改良開発した高精度 -ARG について説明する。
マウスに 10B 化合物を投与、時間を置いて

マウスを解剖し、各組織を摘出、凍結試料を作成する。その凍結試料をクライオスタットにて薄切、粒子のディテクター CR-39 上に展開する。この時、CR-39 には後の -ARG と薄切組織の蛍光染色画像を正確に重ね合わせるためのランドマークとなるように、予めクロス傷を機械的に付けておく。次に CR-39 上の試料をヘキストによって細胞核を蛍光染色する。その試料の明視野画像を撮影し、顕微鏡上で位置を変えることなく蛍光染色画像を取得する。これによって、ランドマークの入った蛍光染色画像が出来る。次に試料の載った CR-39 に中性子照射を行い、その後 60 の 6N NaOH を用いて化学エッチングを施すと、粒子の CR-39 上の飛跡が顕在化する。その画像を明視野で撮像し、コンピューター画像処理によって正円の飛跡のみを取り出した画像を作成する。これと先に取得した蛍光画像をランドマークを目印に正確に重ね合わせると、10B 原子の位置と、細胞の位置関係が正確な融合画像が出来上がる。26 年度は、上記の手法を用いて既存のホウ素化合物で、中性子照射時の反応と線量の関係が分かっているホウ素化合物について各正常組織の構成細胞種毎のミクロ分布と濃度を検索し、これを基に計算される線量と最終反応の関係を解析し、反応の責任細胞種や寄与の多寡を解析する。斯うしたデータは、がん放射線治療の改良の基礎や放射線防護の基礎の構築にも資する。27 年度は、腫瘍における種々の 10B 化合物のミクロ分布の系統的解析を行い、化合物の構造や特性と各細胞への集積の特性の関係を探索する。これによって新規 10B 化合物の開発の指標となるデータベースを作る
当初は上記の予定で研究を進める計画であったが、結果的に研究期間中に研究炉の再稼働が実現せず(毎年、暫時先送りとなった)高精度 ARG を行うことが出来なかった。このため、結果として当初の計画の様な研究を進めることはできなかった。そこで、過去の実験データや広く他研究者に依って行われた実験結果の報告を、報告者が全く考えてもいなかった視点で再解析し、正常組織反応を支配するマクロ要素を明らかにした。

4. 研究成果

正常組織の CBE ファクター値を説明する新たな式を見つけることが出来た。脳組織での放

射線壊死をエンドポイントとした時、ホウ素化合物 BPA の場合は CBE 値 = $0.32 + N/B \times 1.65$ 、ここで N および B は正常脳組織と血中の各々の ^{10}B 濃度、で表し得ることが明らかになった。BSH の場合は、0.36 と定値になった。肺の線維症を指標にした場合、BPA では CBE 値 = $0.32 + N/B \times 1.80$ となった。BSH については解析すべき実験データの報告が無かった。このことから、BPA の脳での CBE 値には正常組織の ^{10}B 濃度が重要であることが分かったので、その濃度を低減する手法を探索した。BPA の投与前に PA (フェニールアラニン) を前投与しておくこと、脳での ^{10}B 濃度は劇的に低減し、治療可能比が大きく上昇することが分かった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 12 件)

Koji Ono, An analysis of the structure of the compound biological effectiveness factor, J Radiat Res (2016) 57 (S1): i90-i98. (査読在り)

Tsubasa Watanabe, Hiroki Tanaka, Satoshi Fukutani, Minoru Suzuki, Masahiro Hiraoka, Koji Ono, L-phenylalanine preloading reduces the $^{10}\text{B}(n, \gamma)^7\text{Li}$ dose to the normal brain by inhibiting the uptake of boronophenylalanine in boron neutron capture therapy for brain tumours, Cancer Letters 370 (2016) 27-32 (査読在り)

田中浩基, "サイクロトロン加速器 BNCT 照射システム (C-BENS) の開発と今後の展望", Radioisotope, 2015, vol 64 no1, 29-36 (査読在り)

Y. Sakurai, H. Tanaka, et al., "Advances in boron neutron capture therapy (BNCT) at Kyoto University - from reactor-based BNCT to accelerator-based BNCT", J. Korean Phys. Soc. 67(1), 2015, pp.76-81.

H. Ueda, H. Tanaka and Y. Sakurai, "The improvement of the energy resolution in epi-thermal neutron region of Bonner sphere using boric acid water solution moderator", Appl. Radiat. Isot. 104, 2015, pp.25-28.

Y. Hattori, M. I. Shimura, Y. Ohta, H. Takenaka, T. Watanabe, H. Tanaka, et al., Organic & Biomolecular Chemistry, 2015, 13, 6927-6930

R. Hiramatsu, S. Kawabata, H. Tanaka, Y. Sakurai, et al., Journal of Pharmaceutical Sciences, 2015, 104, 962-970

H. Kawaji, S. Miyatake, K. Shinmura S. Kawabata, T. Tokuyama, H. Namba, "Effect of boron neutron capture therapy for recurrent anaplastic meningioma: an autopsy case report." Brain Tumor Pathol. 2015 Jan;32(1):61-5.

Y. Sakurai, H. Tanaka, et al., "Dose estimation for internal organs during boron neutron capture therapy for body-trunk tumors", Appl. Radiat. Isot. 88, 2014, pp.43-45.

H. Tanaka, et al., "Evaluation of thermal neutron irradiation field using a cyclotron-based neutron source for alpha autoradiography", Appl. Radiat. Isot. 88, 2014, pp.153-156.

H. Michiue, Y. Sakurai, et al., "The acceleration of boron neutron capture therapy using multi-linked mercaptoundecahydrododecaborate (BSH) fused cell-penetrating peptide", Biomaterials 35, 2014, pp.3396-3405.

H. Tanaka, et al., "Development of a simple and rapid method of precisely identifying the position of ^{10}B atoms in tissue: an improvement in standard alpha autoradiography", J. Radiat. Res. 55, 2014, pp.373-380.

[学会発表](計 10 件)

小野公二

平成 28 年度放射線安全管理研修会
2017 年 2 月 24 日(東京) 3 月 3 日(大阪)

特別講演『がん放射線治療に新たな地平を拓く中性子捕捉療法 (BNCT)』

小野公二

2017 年メディカルジャパン 2017[大阪]

2017年2月16日、
インテックス大阪
『実用化が迫る革新的がん治療法 BNCT
(ホウ素中性子捕捉療法)』

Koji Ono, Shin-ichiro Masunaga,
Minoru Suzuki
2nd Annual Meeting of Taiwan Society
of Neutron Capture Therapy (TSNCT),
2017年1月14日
At Taipei Veterans General Hospital,
『Problems of the biologically
equivalent boron-neutron reaction dose
to the tumor』

Koji Ono
2016年12月10日, Advanced
Radiation Therapy Summit (ARTS)
between Japan and Taiwan,
At Taipei Veterans General Hospital,
『Development of Boron Neutron
Capture Therapy (BNCT)』

Koji Ono,
2016年11月22日,
2016 BIOPlus Incheon-Global
Conference-,
At Songdo Convensia,
『Boron Neutron Capture Therapy
(BNCT) including every element of the
achievements in radiation oncology
since the discovery of X-ray』

Koji Ono, Shin-ichiro Masunaga,
Tsubasa Watanabe, Minoru Suzuki,
Natsuko Kondo, Yuko Kinashi
2016年10月4日,
ICNCT-17,
At University of Missouri Colombia,
『CBE factor for boron compound to
the tumor varies depending on the ¹⁰B
level · radiobiological consideration
about its significance · 』

Koji Ono,
2016年09月01日~02日,
Japanese and German Cutting Edge
Technologies for Patient Care,
At University Hospital Essen,
『Developments for BNCT at Kyoto
University Research Reactor Institute』
小野公二、増永慎一郎、渡邊翼、鈴木実、
近藤夏子、木梨友子
2016年08月05日~07日,
JSNCT-2016,
於東大,

『腫瘍に対するホウ素化合物(BPA)の
CBE ファクター値はホウ素濃度によっ
て変化する-その意味についての放射線
生物学的考察-』

- ⑨ Koji Ono,
2016年03月11日~13日,
日台 X 線中性子散乱研究会,
At Kyoto University Research Reactor
Institute,

『Boron Neutron Capture Therapy
(BNCT) includes every research
achievement of radiation oncology
since the discovery of X-ray』

- ⑩ Koji Ono,
8thYBNCT,
2015年09月16日,
Pavia University,
『Development of Accelerator Based
BNCT and Relating Researches』

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕
無し

6. 研究組織

- (1)研究代表者
小野公二(ONO, Koji)
京都大学・原子炉実験所・寄附研究部門研
究員
研究者番号: 90122407

- (2)研究分担者
田中 浩基(TANAKA Hiroki)
京都大学・原子炉実験所・准教授
研究者番号: 70391274

- (3)連携研究者
無

- (4)研究協力者
無