

氏 名	吉村 亘平
(ふりがな)	(よしむら こうへい)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲博医第33号
学位審査年月日	令和4年1月12日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題名	Efficacy of boron neutron capture therapy in primary central nervous system lymphoma: in vitro and in vivo evaluation (中枢神経原発悪性リンパ腫に対するホウ素中性子 捕捉療法の有効性)
論文審査委員	(主) 教授 二瓶 圭二 教授 大須賀 慶悟 教授 河田 了

学位論文内容の要旨

《背景》

ホウ素中性子捕捉療法 (boron neutron capture therapy; BNCT) は、非放射性のホウ素原子に中性子を照射することで、ホウ素と中性子の核反応 ($^{10}\text{B} [n, \alpha] ^7\text{Li}$) により放出される α 粒子と Li 反跳子を利用して、腫瘍細胞を破壊する粒子線治療である。これらの粒子線は飛程が短く細胞短径を超えないためにホウ素が取り込まれた腫瘍細胞を選択的に破壊することが可能な治療法である。一方、中枢神経原発悪性リンパ腫 (primary central nervous system lymphoma; PCNSL) は WHO グレードIVに分類される悪性脳腫瘍である。治療には、高用量のメトトレキサートと全脳照射療法 (whole brain radiation therapy; WBRT) が推奨されている。しかし、PCNSL は初期治療への反応性は非常に高いものの再発することが多く、再発に対して安全で効果的な治療法が存在しないために予後不良で

ある。そのため、PCNSL に対する新規の治療法や再発における治療法の開発が必要とされている。BNCT は、既に同様の頭蓋内悪性腫瘍である悪性神経膠腫へ臨床応用されている。BNCT の高い細胞選択性から PCNSL に対する新規の治療法としても有用ではないかと考えた。そこで、PCNSL に対する治療としての BNCT の可能性を探るために、基礎的研究を行った。

《方 法》

Raji と RL の 2 種類のヒト由来リンパ腫細胞へ、ボロノフェニルアラニン (Borono-L-phenylalanine; BPA) 曝露後にホウ素の細胞内取り込み能を評価した。2 種類のリンパ腫細胞に 5、10、20 μ g B/mL の BPA を 3 時間曝露した後に Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy を用いてホウ素濃度を測定した。次にリンパ腫細胞の光子線照射および BPA 曝露後の中性子線照射がリンパ腫細胞の細胞生存率に与える影響を評価した。具体的には X 線照射装置を用いて、2 種類のリンパ腫細胞それぞれに 2、4、8、12、16、32Gy の X 線を照射し、X 線照射後のリンパ腫細胞を 96well plate に播種した。照射から 96 時間後に Cell Counting Kit-8 (CCK-8) を用いた water-soluble tetrazolium-8 (WST-8) assay を行い、細胞生存率を算出した。また、5、10、20 μ g B/mL の BPA を 3 時間曝露させたリンパ腫細胞に中性子照射を行い、96 時間後に CCK-8 を用いた WST-8 assay を行い、細胞生存率を測定した。In vivo study においては、Raji リンパ腫細胞を脳実質に移植したヌードマウス(マウス脳腫瘍モデル)に対して BPA を投与し、3 時間後の各臓器および腫瘍のホウ素濃度を測定した。そして、マウス脳腫瘍モデルに対して中性子照射実験を行うことで、BNCT のマウス脳腫瘍モデルに対する治療効果を BNCT 実施後の生存期間の観点から評価した。

《結 果》

リンパ腫細胞へのホウ素取り込みは、Raji では BPA の各ホウ素濃度 5、10、20 μ g B/mL において、 64.4 ± 4.7 、 107 ± 14.4 、 187.5 ± 7.9 (平均 \pm SD) μ g B/ 10^9 cells、RL では

71.4 ± 2.5、108.4 ± 7.6、205.7 ± 8.4 μg B/10⁹ cells であり、Raji、RL ともに高いホウ素取り込み能力を有していた。X 線照射実験では、Raji の細胞生存率は 0.62 ± 0.07、0.58 ± 0.07、0.28 ± 0.06、0.19 ± 0.03、0.19 ± 0.04、0.13 ± 0.03 (平均値 ± SD) であり、2Gy 以上の線量で有意に細胞生存率の低下を認めた ($p < 0.05$)。RL の細胞生存率は 0.72 ± 0.03、0.33 ± 0.02、0.23 ± 0.01、0.17 ± 0.073、0.14 ± 0.01、0.12 ± 0.01 (平均値 ± SD) であり、2Gy 以上の線量で有意な細胞生存率の低下を認めた ($p < 0.05$)。中性子照射の細胞生存率は、Raji では各ホウ素濃度 5、10、20 μg B/mL 暴露後でそれぞれ 0.23 ± 0.07、0.12 ± 0.03、0.14 ± 0.03 (平均値 ± SD) であり、RL 細胞では 0.33 ± 0.01、0.29 ± 0.04、0.25 ± 0.04 であった。いずれのリンパ腫細胞株においても、BNCT 群では有意に細胞生存率が低下していた ($p < 0.05$)。マウス脳腫瘍へのホウ素の取り込みは 9.9 ± 1.6 μg/g であり、正常脳への取り込みの値 3.5 ± 1.8 μg/g と比較して有意に高かった ($p = 0.0006$)。中性子照射実験における生存期間 (中央値[最小値-最大値]) は、無治療群は 26.5 日[23.5-33 日]、BPA 投与のみの群は 31 日[24-33 日]、中性子照射のみの群は 31.5 日[28-33 日]、BNCT を 15 分間行った群は 39 日[35.5-48.5 日]、BNCT を 30 分間行った群は 44 日[37-日]であり、BNCT による生存期間延長効果を認めた ($p < 0.05$)。

《考 察》

本研究では In vitro study においてリンパ腫細胞は高いホウ素取り込み能力を有することが判明した。そして中性子照射における細胞生存率を X 線照射後の細胞生存率の結果と比較検討することによって、X 線等価となる中性子照射線量を推定した。その推定した等価線量を用いて BPA のリンパ腫細胞に対する生物学的効果比(compound biological effectiveness; CBE)を算出した。In vitro study から算出された Raji、RL の CBE はそれぞれ 10.6、5.6 であった。神経膠腫細胞の CBE は 3.8 という報告があり、それと比較すると Raji、RL の CBE ははるかに高い。リンパ腫細胞は神経膠腫よりも高いホウ素取り込み能力を有していたため、低いホウ素濃度での BNCT でも X 線照射と比較して同等あるいはそれ以上の細胞障害をきたしていた。その結果 Raji、RL の CBE が高い値になったと

考えられた。この結果から解析すると、BNCT 群では正常脳に照射された等価線量 2.0Gy-Eq に比して、腫瘍細胞には 16.6Gy-Eq の等価線量を照射できた。腫瘍細胞に対する高い等価線量の照射が有意な生存期間の延長につながったと考えられる。今回の結果から、PCNSL に対する新規治療としての BNCT の可能性を示すことができた。

《結 論》

中性子照射を含む本研究の結果は、PCNSL の新しい治療法として BNCT の可能性を示した。この結果は今後 PCNSL 治療の発展および BNCT 研究の発展に寄与すると考えられた。

(様式 甲 6)

論文審査結果の要旨

ホウ素中性子捕捉療法 (boron neutron capture therapy; BNCT) は従来の放射線治療とは異なり、個々の腫瘍細胞内で生じる核反応により発生する粒子線を用いる事で細胞レベルでの選択性を持つ粒子線治療である。BNCT は頭蓋内腫瘍では悪性神経膠腫に対する研究や治験が進んでいる。同様の頭蓋内悪性腫瘍である、中枢神経原発悪性リンパ腫 (primary central nervous system lymphoma; PCNSL) は再発率が高く、再発時に適切な治療がないのが現状である。本研究は、現在臨床応用されている BPA (boronophenylalanine) をホウ素薬剤として用いて、PCNSL に対して中性子照射実験を含めた BNCT の基礎的研究を実施し、その有効性を検証している。

In vitro study において、リンパ腫細胞は BPA を用いた検討で、高いホウ素取り込み能を有することが示されている。中性子照射実験では、BNCT がリンパ腫細胞の細胞生存率を有意に低下させることが示されている。Raji リンパ腫細胞を脳実質に移植したラットに対し BPA を投与後に中性子照射を行ったところ、BNCT 群では未治療群と比較して生存期間の有意な延長を認めている。

以上の結果より PCNSL に対する BPA を用いた BNCT は有効であることが示唆され、この結果は今後の PCNSL 治療及び BNCT 研究の発展に寄与する可能性があることを示している。

以上により、本論文は本学大学院学則第 13 条第 1 項に定めるところの博士 (医学) の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Cells In Press