

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
大西 恭子	主査 教授 黒 岩 敏 彦
	副査 教授 鳴 海 善 文
	副査 教授 池 田 恒 彦
	副査 教授 芝 山 雄 老
	副査 教授 谷 川 允 彦
<p>主論文題名</p> <p>Evaluation of the biological effects of boron neutron capture therapy for the human malignant meningioma cell line IOMM-Lee (ヒト悪性髄膜腫の cell line である IOMM-Lee に対する硼素中性子捕捉療法の生物学的効果についての検討)</p>	
学位論文内容の要旨	
<p>《緒 言》</p> <p>悪性髄膜腫は根治困難な浸潤性脳実質外腫瘍である。可及的摘出後に X 線分割照射、定位的放射線治療が行われているが、これらの治療では根治は期待しがたく、最近当施設では硼素中性子捕捉療法(BNCT)を試みている。BNCTは、硼素化合物を腫瘍細胞に選択的に取り込ませて中性子を照射することで、腫瘍細胞のみを破壊する細胞標的治療であり、高 linear energy transfer (LET)な粒子線治療でもあることから、放射線感受性の低い腫瘍や浸潤性腫瘍に対しても効果を発揮できる。悪性髄膜腫に対する BNCT の生物学的効果について検証した。</p> <p>《方 法》</p> <p><i>In vitro</i>: 硼素化合物である boronophenylalanine (BPA)を含んだ培養液でヒト悪性髄膜腫細胞 (IOMM-Lee)及びヒト悪性神経膠腫細胞 (U87Δ)を培養し、種々の BPA 濃度で培養した場合の経時的な細胞内硼素濃度を inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES)を用いて測定した。コントロール群として ^{10}B 非投与で中性子照射を行った。また、$500 \mu\text{g}^0\text{B}/\text{ml}$ の BPA 濃度で培養後、中性子を照射して colony forming assays (CFAs)を行い、抗腫瘍細胞効果についても両細胞で検討した。</p> <p><i>In vivo</i>: IOMM-Lee 及び U87Δ を用いて皮下担腫瘍ヌードマウスモデルを作製し、種々の量の BPA を腹腔内投与し、2.5 時間後の腫瘍、正常脳、血液中硼素濃度を測定した。同様に BPA 投与後の腫瘍、正常脳、血液中の硼素濃度を経時的に測定した。皮下担 IOMM-Lee マウスに中性子を照射し(炉出力 3500kW, 30 分)、腫瘍体積を経時的に計測した。腫瘍吸収線量は以下の方程式を用いて計算した。</p> <p>等価線量 (Gy-Eq) = $D_B \times CBE_B + D_N \times RBE_N + D_\gamma \times \text{hour}$</p> <p>Gy-Eq は生物学的 X 線等価線量を意味し、組織に与える全放射線効果を表す。D_B (硼素線量) = $7.43 \times 10^{-14} \times \text{硼素濃度} (\mu\text{g}^0\text{B}/\text{g}) \times \Phi$ 熱中性子フルエンス(Gy)。D_N (窒素線量) = $6.78 \times 10^{-14} \times \text{窒素濃度} (\%) \times \Phi$ 熱中性子フルエンス (Gy)。D_γ (ガンマ線量) = 0.83 Gy/hour。RBE_N は D_N の Relative Biological Effectiveness で 2.5、CBE_B は D_B の Compound Biological Effectiveness factor (CBE)で、BPA では腫瘍が 3.8、正常脳が 1.35 である。窒素含有率は 4%である。統計分析は</p>	

statview software の Mann-Whitney analysis を使用し± SE にて表記した。

《結果》

In vitro: 20, 50, 100 $\mu\text{g}^0\text{B/ml}$ の BPA 濃度で 2.5 時間培養した時の IOMM-Lee 細胞内硼素濃度は 47.2 ± 3.3 , 84.5 ± 1.7 , 99.1 ± 3.3 $\mu\text{g}/1\times 10^9$ cells、6 時間では 57.2 ± 0.3 , 104.1 ± 6.6 , 148.8 ± 6.0 $\mu\text{g}/10^9$ cells であり、BPA 暴露時間及び硼素濃度に比例して増加した。コントロール群では腫瘍細胞には硼素集積はみられなかった。100 $\mu\text{g}^0\text{B/ml}$ の BPA 濃度で培養した場合、U87A の細胞内硼素濃度は IOMM-Lee よりも明らかに高濃度を示した。BPA 投与量を 500 $\mu\text{g}^0\text{B/ml}$ に増量した結果、両腫瘍間で細胞内硼素濃度に相違はみられなかった。500 $\mu\text{g}^0\text{B/ml}$ の BPA 濃度で 2.5 時間培養後、5, 10, 15, 30 分間中性子を照射した。その後 CFA を行った結果、照射のみ行ったコントロール群ではコロニー形成能の低下はみられなかったが、BPA 投与下の照射群では、腫瘍細胞生存曲線は中性子線量の増加に伴い低下した。Survival fractions (SFs) は熱中性子フルエンスの増加(0, 1.55×10^{11} , 3.09×10^{11} , 4.64×10^{11} and 9.27×10^{11} n/cm²)に伴い、IOMM-Lee では 1, 0.32, 0.09, 0.03, 0.02、U87A では 1, 0.62, 0.46, 0.38, 0.10 と低下した。IOMM-Lee において、より強い殺細胞効果がみられた。

In vivo: 担 IOMM-Lee 腫瘍マウスに 125, 250, 375 mg/kg b.w. の BPA を腹腔内投与した 2.5 時間後の腫瘍細胞内硼素濃度は、 3.20 ± 1.00 , 7.24 ± 1.16 , 13.25 ± 2.20 $\mu\text{g/g}$ と硼素投与量に比例して増加した。正常脳及び血液中硼素濃度も硼素投与量に比例して増加したが、腫瘍/正常脳比、及び腫瘍/血液中硼素濃度比は 3.6, 4.8, 3.3, 3.5, 4.5, 4.7 とほぼ一定であった。次に 250 mg/kg b.w. の BPA を投与し、2.5, 6, 24 時間後の各臓器内硼素濃度を測定したところ、腫瘍内硼素濃度は 7.24 ± 1.16 , 4.04 ± 1.81 , 1.41 ± 0.70 $\mu\text{g/g}$ と、時間経過と共に低下した。正常脳及び血液中硼素濃度はいずれも低値であり、腫瘍/正常脳比及び腫瘍/血液中硼素濃度比は 3.2-4.8, 2.9-4.5 であった。いずれの硼素濃度においても U87A とほぼ同じ結果であった。250 mg/kg b.w. の BPA 腹腔内投与から 2.5 時間後の腫瘍細胞内硼素濃度は 7.24 $\mu\text{g}^0\text{B/g}$ であり、脳内硼素濃度は 1.50 $\mu\text{g}^0\text{B/g}$ であった。これを基に腫瘍の X 線等価線量を計算すると、 3.91 Gy-Eq であった。

IOMM-Lee 細胞移植から 35 日後の平均腫瘍体積は、BNCT 群では 445 ± 168 mm³ であり、BPA 非投与中性子照射群での 2652 ± 419 mm³、非治療群での 2286 ± 364 mm³ と比較し、BNCT 群で有意に縮小していた(P<0.01)。

《考察》

BNCT の線量計画を行う際、腫瘍内硼素濃度と CBE と呼ばれる ¹⁰B(n, alpha)⁷Li 反応による線量の生物学的効果を数値化したものが必要となる。

腫瘍内及び正常組織内硼素濃度は BPA-PET を用いて腫瘍と正常脳の BPA の集積比を解析し、これと照射直前の血液中硼素濃度から推測できるようになったため、現在は非開頭下で照射を行えるようになっている。悪性神経膠腫に対する BNCT は開頭下で行っていた時期があり、照射中の腫瘍内硼素濃度を実測でき、推測した腫瘍硼素集積量が正しいことを検証できていた。悪性髄膜腫の照射はすでに非開頭で行えるため、照射中の硼素濃度を実測することは不可能であるが、担腫瘍マウスモデルに BPA の全身投与を行った結果、腫瘍内、正常脳内、血液中の各硼素濃度を測定でき、腫瘍/正常脳、腫瘍/血液中硼素濃度比が、硼素投与量や暴露時間によらずほぼ一定である結果が得られた。また、IOMM-Lee の皮下担腫瘍マウスモデルにおける治療実験の結果、BPA 投与後に中性子照射を行った群では約 85% の腫瘍制御がみられ、臨床治療の効果を裏付ける結果となった。

CBE は、細胞毎に、また硼素化合物により異なる。悪性髄膜腫における BPA の CBE 値は報告されておらず、BPA を用いた IOMM-Lee の BNCT に対する感受性は U87A よりも高値であった。悪性髄膜腫患者に BNCT を行う際、悪性神経膠腫の CBE 値である 3.8 を適用してきた。CFA により、悪性髄膜腫の細胞レベルでの BPA-BNCT に対する感受性を初めて示すことができ、IOMM-Lee は U87A よりも高い感受性がみられた。同様に悪性髄膜腫の中性子捕捉反応に対する感受性が悪性神経膠腫よりも高いとすれば、悪性髄膜腫の CBE は 3.8 よりも高いことになる。この仮説が正しければ、同じ硼素線

量の基で一定の腫瘍吸収線量を付加するために必要な中性子照射時間は、悪性神経膠腫よりも短くて充分であり、正常組織に対する吸収線量も軽減することができる。

《結 論》

悪性髄膜腫におけるBPAを用いたBNCTの生物学的効果は悪性神経膠腫を凌駕し、BNCTは悪性髄膜腫に対する有効な治療法になりうることを実験的に証明できた。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲 第 号	氏 名	大 西 恭 子
論文審査担当者		主 査 教 授 黒 岩 敏 彦	
		副 査 教 授 鳴 海 善 文	
		副 査 教 授 池 田 恒 彦	
		副 査 教 授 芝 山 雄 老	
		副 査 教 授 谷 川 允 彦	
主論文題名			
<p>Evaluation of the biological effects of boron neutron capture therapy for the human malignant meningioma cell line IOMM-Lee (ヒト悪性髄膜腫の cell line である IOMM-Lee に対する硼素中性子捕捉療法の生物学的効果についての検討)</p>			
論文審査結果の要旨			
<p>悪性髄膜腫は根治困難な浸潤性脳実質外腫瘍であり、可及的摘出後に X 線分割照射、定位的放射線治療が行われているが根治は期待しがたい。硼素中性子捕捉療法(BNCT)は、硼素化合物を腫瘍細胞に選択的に取り込ませて中性子を照射することで、腫瘍細胞のみを破壊する細胞標的治療であり、放射線感受性の低い腫瘍や浸潤性腫瘍に対しても効果を発揮できることから、近年は悪性髄膜腫治療に応用されている。しかしながら悪性髄膜腫に対する生物学的効果の報告はないため、申請者は悪性髄膜腫に対する BNCT の生物学的効果について検証している。</p> <p>硼素化合物である boronophenylalanine (BPA)を含んだ培養液でヒト悪性髄膜腫細胞 (IOMM-Lee)及びヒト悪性神経膠腫細胞 (U87Δ)を培養し、中性子を照射してコロニー形成能の抑制を確認している。腫瘍細胞内硼素濃度が同じ場合、中性子照射による IOMM-Lee のコロニー形成能は U87Δ よりも抑制され、BPA を用いた中性子照射に対する感受性は悪性髄膜腫において悪性神経膠腫より強い可能性を示している。IOMM-Lee 及び U87Δ を用いて皮下担腫瘍ヌードマウスモデルを作製し、BPA を腹腔内投与した場合、腫瘍細胞内硼素濃度が硼素投与量に比例して増加し、腫瘍/正常脳比及び腫瘍/血液中硼素濃度比はほぼ一定する結果を得ている。また皮下担 IOMM-Lee マウスに中性子を照射した結果、細胞移植から 35 日後の平均腫瘍体積は、BPA 非投与中性子照射群及び非治療群と比較し、BPA 投与下中性子照射群で有意に縮小(P<0.01)することを確認している。本研究は、悪性髄膜腫に対する BPA を用いた BNCT の有用性を証明したもので、難治性脳腫瘍の治療に光明を与えるものである。</p> <p>以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条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。</p>			
(主論文公表誌)			
Bulletin of the Osaka Medical College 55(1): 9-19, 2009			