

2009/8029A

厚生労働科学研究費補助金
医療技術実用化総合研究事業

新規診断神経膠芽腫に対する硼素中性子捕捉療法を
中心とした治療プロトコール確立に関する研究

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 宮武 伸一

平成 22 (2010) 年 3 月

研究報告書目次

I. 総括研究報告

新規診断神経膠芽腫に対する硼素中性子捕捉療法を

中心とした治療プロトコール確立に関する研究…………… 1 - 7

宮武 伸一

資料

II. 分担研究報告

原子炉および加速器における中性子出力推定に関する研究…………… 8 - 10

小野 公一

マイクロELISA法による血中ホウ素薬剤の簡便迅速定量キット…………… 11 - 12

に関する研究

切畑 光統

III. 研究成果の刊行に関する一覧表…………… 13 - 14

IV. 研究成果の刊行物・別刷…………… 15 - 109

V. 「初発膠芽腫に対するホウ素中性子捕捉療法、X線追加照射、化学療法
の多施設第II相臨床試験 試験実施計画書」

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）
総括研究報告書

新規診断神経膠芽腫に対する硼素中性子捕捉療法を中心とした治療プロトコール
確立に関する研究

研究代表者 宮武 伸一（大阪医科大学医学部 脳神経外科学 准教授）

研究要旨

新規診断神経膠芽腫の標準治療は手術による可及的摘出後に、X線による60Gyの外照射とアルキル化剤であるテモダール（TMZ）の経口投与による化学療法の併用治療が近年、確立されている。しかしながら、この治療を行っても患者の生存期間はおよそ1年であり、満足すべき成績ではない。この疾患群の治療成績を向上させるため、細胞生物学的に腫瘍細胞のみを標的化しうる粒子線治療である、硼素中性子捕捉療法と24GyのX線外照射およびTMZの投与を組み合わせたプロトコールを作成し、これを実施するためのCase Report Form（CRF）も合わせて作成し、この臨床試験の実施を計画している。

研究分担者 小野 公二（京都大学・原子炉実験所 教授）

研究分担者 切畑 光統（大阪府立大学大学院 教授）

A. 研究目的

硼素中性子捕捉療法（BNCT）は原子炉からの中性子線による細胞選択的高線量粒子線治療法である。われわれは破綻した血液脳関門のみを通過しうる sodium borocaptate（BSH）と、悪性腫瘍において亢進している蛋白代謝を利用し、アミノ酸トランスポーターを利用して硼素を運搬しうる boronophenylalanine（BPA）を用いて、腫瘍選択的な硼素の集積を可能ならしめ、この腫瘍選択的な硼素蓄積を、治療薬であるBPAをトレーサーとしたPETにより確認証明している（J Neuro-Oncol 65:159-165, 2003）。正常神経組織に浸潤発育することから治療困難な膠芽腫の治療においては理想的な放射線治療法といえる。この治療概念は既存の放射線治療の概念と

は全く異なり、国民の関心は高く、われわれの申請は先端医療開発特区（スーパー特区）にも選定された。（（3）革新的な医療機器の開発研究代表者平岡真寛：平成20年11月より5カ年計画、宮武、小野は中性子捕捉療法システム担当）

一方、膠芽腫の根治は困難である。X線と新規アルキル化剤テモダール（TMZ）による放射線化学療法がようやく標準治療として認められてきたが、それとてもX線単独治療群の生存期間中央値（MST）12ヶ月にわずか2.5ヶ月の上乗せを追加したに過ぎない（Stupp R, et al, NEJM 2005）。われわれは化学療法の併用抜きでの新規診断膠芽腫に対するBNCT+X線追加照射でMST23.5ヶ月の成績を出し、単一施設での第2相臨床試験と

して、BNCT の治療効果を報告している(ハザード比 0.399, $p < 0.004$)。

これに続く step として、BNCT+X 線追加照射+TMZ により、新規診断膠芽腫に対する多施設による比ランダム化第二相臨床試験を行い、その治療効果を客観的に評価したいと考えている。

ort Form の作製および臨床試験の実施体制を確立することが本研究の目的である。一方でわれわれは新規中性子源として加速器を利用した BNCT を準備中である。平成 21 年度より加速器 BNCT および GMP グレード硼素化合物による再発悪性神経膠腫に対する第 1 相臨床試験を別途申請予定である。これが可能となれば、原子炉に依存しない、世界初の院内 BNCT が可能となる。当研究の目的は以下の臨床研究のプロトコルの作成にあるが、この成功を加速器による院内 BNCT の基礎的 evidence とすることも目的である。

B. 研究方法

平成 21 年下半期再開予定の京都大学原子炉(KUR)および日本原子力機構研究 4 号炉(JRR4)を使用し、新規診断膠芽腫に対して BNCT plus X 線分割照射(XRT) plus TMZ による化学療法併用の多施設共同第二相臨床試験のプロトコルを作成する。

プロトコルの骨子は、診断確定後の新規診断膠芽腫に対して、BNCT plus XRT plus chemotherapy の治療効果を検討解析することにある。具体的には、集積機序の異なる 2 種類の硼素化合物(BSH, BPA)を用いた BNCT を BPA-PET の結果をもとにした線量計画下に行う。その後 X 線による分割外照射を追加する。腫瘍の再発は腫瘍底部からが多く、放射線壊死の発生は脳表からが多いことを考慮し、適当な線量の X 線 外照射を 3 層に分けて gradient をかけて照射する。すなわち、BNCT の中性子照射方向に直交する対向 2 門照射とし、GTV (術前

腫瘍造影域) plus 2.5cm を clinical target volume (CTV) として設定し、脳表より、CTV 最深部までを 3 層に分けた上 multi-leaf collimator を使用して、上記線量を half-field technique を用いて照射する。本法により、放射線壊死、深部再発双方が減少すると予想される。BNCT 直後より、外照射終了時まで TMZ 75mg/m² の連日投与を行い、放射線治療終了後より、腫瘍再発が認められるまで、TMZ 150-200mg/m² の投与を 5 days/28 days cycle で行う。治療効果の検討は全生存期間を以下の対照群と比較して行う。すなわち 2006 年 9 月に TMZ が保健医療として認められて以来の各施設で行われている、標準治療(いわゆる Stupp の regimen, Stupp, et al. NEJM 352: 987-996, 2005) を行った新規診断膠芽腫の治療成績を historical control として比較検討する。合わせて、予後別解析(RPA)を EORTC の報告(Mirimanoff, et al. J. Clin. Oncol. 24: 2563-2569, 2006)と比較して行う。また放射線治療前後の抗腫瘍効果を治療前後の BPA-PET によるトレーサーの集積比により、検討を考える。

以上の臨床試験は大阪医科大学、岡山大学、近畿大学、兵庫医科大学、関西医科大学、りんくう総合医療センターを中心とした多施設共同研究としてプロトコルを作成し、その作成後かつ平成 21 年度下半期に京都大学原子炉が再開された時期から 2 年間とし、観察は最終エントリーからさらに 3 年間を目途とする。プロトコルの作成そのものや、症例の CRF 作成、登録、統計解析等は臨床研究情報センター(TRI)に業務委託した。

(倫理面への配慮)

これまでに、大阪医科大学で行ってきた BNCT の患者に対しては、BNCT を実施する際、その治療の原則、予想される治療効果、副作用等につき十分な説明の後、文書による同意を得てきた。よって、本プロトコル作成時にも、この臨床試

験の必要性、主旨、方法等の説明文とともに、臨床研究の参加に対する同意書を作成し、倫理面での配慮を図った。また、ぷろと本臨床試験に参加する諸施設でもこの同意書を作成し、各症例ごとの同意を得る。また、プロトコル、説明文、同意書も含めて参加各施設の倫理委員会および、TRI, 京都大学医療照射委員会のレビューを受けている。

C. 研究結果

1) プロトコルの概要をシェーマとして掲載する。

2) 目標症例数の設定根拠

本試験の対象となる、初発膠芽腫患者を対象とした、手術・放射線・化学療法（標準治療群）の中央生存時間は 10.3 カ月であり、中性子捕捉療法＋追加放射線照射（試験治療群）は 23.5 カ月である。14) この両治療群は、TMZ を使用していないため、両群とも使用したとすると、両群の中央生存時間は 2.5 か月延長すると仮定される。生存時間分布として指数分布を仮定すると、TMZ を使用した場合の標準治療群のハザード率は 0.0542 (2 年生存率は 0.273)、試験治療群のハザード率は 0.0267 (2 年生存率は 0.527) と推定され、両群のハザード比は 0.4923 となる。いま、標準治療群のハザード率を既知とし、帰無仮説「試験治療群のハザード率は既知のハザード率 0.0542 に等しい」、対立仮説「試験治療群のハザード率は既知のハザード率 0.0542 よりも小さい」とする検定を考える。有意水準を両側 $\alpha = 0.05$ 、検出力を 0.8 以上とすると、この仮説を検証するのに必要なイベント数は 25 例と求まる。本試験では、登録期間 2 年及び追跡期間 2 年と設定しているため、Simpson ルールを用いると、試験治療でイベントの発生する割合は 0.6035 と推定され、本試験に必要な症例数は 42 例となる。10%弱の不適合例を見込んで、45 例を目標症例数とした。

3) 本プロトコルの特色

細胞選択的粒子線治療である BNCT と細胞選択性をもたない X 線外照射の組み合わせが特徴といえる。腫瘍の再発は腫瘍底部からが多く、放射線壊死の発生は脳表からが多いことを考慮し、追加する 24Gy を 3 層に分けて、脳表より、8, 16, 24Gy の gradient をかける。すなわち、BNCT の中性子照射方向に直交する対向 2 門照射とし、GTV plus 2.5cm を clinical target volume (CTV) として設定し、脳表より、CTV 最深部までを 3 層に分けた上 multi-leaf collimator を使用して、上記線量を half-field technique を用いて照射する。

但し、BNCT 前の手術により造影域が全摘出された場合は、摘出腔プラス 2.5 cm を CTV として設定する。また、CTV 最深部の正常脳 peak dose が 8.7 Gy-Eq を超える場合は XRT boost dose を減じ、total dose (分割換算) として、50Gy を超えないように XRT 総線量を計算し、その 1/3 ずつの gradient を与えるものとする。4) プロトコルの確立

本研究助成により確立したプロトコルは本報告書に別添しておく。

5) 分担研究者の研究

A) 切畑は「マイクロ ELISA 法による血中ホウ素薬剤の簡便迅速定量キット」に関する研究を行い、その成果については分担研究報告書に詳述している。

B) 小野は BNCT と X 線外照射の combination について simulation を繰り返し、上記を完成させた。また、「原子炉および加速器における中性子出力推定に関する研究」に関する研究を行い、この成果に関しては分担研究報告書に詳述している。

D. 考察および E. 結論

本研究は文字通り、「新規診断神経膠芽腫に対する硼素中性子捕捉療法を中心とした

治療プロトコル確立」に関する研究であり、実施可能で、かつ有効性を証明しうる患者数の推定等を行い、プロトコルを完成し、CRFを作成するところまでを行った。

実際には、懸案の日本原子力研究開発機構研究4号炉（JRR4）の再開が平成22年3月24日となったため、このプロトコルを用いて治療を行った症例は1例（平成22年3月31日原子炉でのBNCTを行った）のみであり、この報告書作成時には追加治療途中である。よってその結果までは分からないが、少なくともBNCTおよび引き続きX線外照射、TMZによるconcomitant化学療法は大過なく行えている。

燃料である、フランスよりのウランの輸送経路上の問題のため、運転再開の目処が不透明であった京都大学原子炉（KUR）にも無事ウランの搬入が終わり、平成22年6月にその再開が決定した現在、今後は安定した資金源をえて、この臨床試験の完遂をめざしたい。

F. 健康危険情報

主任研究者および分担研究者にはなんら健康被害は認めていない。

G. 研究発表

1. 論文発表

Shinji Kawabata, Shin-Ichi Miyatake, Toshihiko Kuroiwa, Kunio Yokoyama, Atsushi Doi, Kyoko Iida, Shiro Miyata, Naosuke Nonoguchi, Hiroyuki Michiue, Masatsugu Takahashi, Taisuke Inomata, Yoshio Imahoti, Mitsunori Kirihata, Yoshinori Sakurai, Akira Maruhashi, Hiroaki Kumada, and Koji Ono: Boron neutron capture therapy for newly diagnosed glioblastoma. J Rad Res 50:51-60, 2009.

Shin-Ichi Miyatake, Shinji Kawabata, Kunio Yokoyama, Toshihiko Kuroiwa, Hiroyuki Michiue, Yoshinori Sakurai, Hiroaki Kumada, Minoru Suzuki, Akira Maruhashi, Mitsunori Kirihata, Koji Ono: Survival benefit of boron neutron capture therapy for recurrent malignant gliomas. J Neuro-Oncol 91:199-206, 2009.

Shin-Ichi Miyatake, Shinji Kawabata, Naosuke Nonoguchi, Kunio Yokoyama, Toshihiko Kuroiwa, and Koji Ono : Pseudoprogression in boron neutron capture therapy for malignant gliomas and meningiomas. Neuro-Oncology 11(4):430-6, 2009

Yoshihiro Kimura, Yasunori Ariyoshi, Shin-Ichi Miyatake, Masashi Shimahara, Shinji Kawabata, Koji Ono: Boron Neutron Capture Therapy for Papillary Cystadenocarcinoma in the Upper Lip: A Case Report. International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery. 2009 Mar;38(3):293-5

宮武伸一：F-BPA-PETによる脳腫瘍の病態解析と細胞選択的粒子線治療への応用 デジタルメディスン PET /CT Book 95-98, 2009 .

宮武伸一、野々口直助、川端信司、黒岩敏彦：Pseudoprogression”と「硼素中性子捕捉療法」、脳21 12:71-74, 2009.

Bin Feng, Kazuhito Tomizawa, Hiroyuki Michiue, Shin-ichi Miyatake, Xiao-Jian Han, Atsushi Fujimura, Masaharu Seno, Mitsunori Kirihata, Hideki Matsui :

Delivery of sodium borocaptate to glioma cells using immunoliposome conjugated with anti-EGFR antibodies by ZZ-His. *Biomaterials*. 2009 Mar;30(9):1746-55.

宮武伸一、川端信司、野々口直助、黒岩敏彦：「グリオブラストーマに対する治療戦略」(BNCT, PET による治療効果の検討および Tailor-made 化学療法を用いて)。脳腫瘍の外科 2008 年度 38-44, 2009

川端信司、宮武伸一、宮田至朗、横山邦生、大西恭子、三木義人、黒岩敏彦、今堀良夫、切畑光統、小野公二：硼素中性子捕捉療法による悪性神経膠腫の治療成績。定位放射線治療 13:23-30, 2009

Aoki T, Mizutani T, Nojima K, Takagi T, Okumura R, Yuba Y, Ueba T, Takahashi JA, Miyatake SI, Nozaki K, Taki W, Matsutani M: Phase II study of ifosfamide, carboplatin, and etoposide in patients with a first recurrence of glioblastoma multiforme. *J Neurosurg*. 112(1):50-6, 2010

Miyatake S, Kajimoto Y, Kuroiwa T.: Intraoperative photo-dynamic diagnosis of brain tumors. *Brain Nerve*. 2009 Jul;61(7):835-42.

Kawabata S, Miyatake S, Nonoguchi N, Hiramatsu R, Iida K, Miyata S, Yokoyama K, Doi A, Kuroda Y, Kuroiwa T, Michiue H, Kumada H, Kirihata M, Imahori Y, Maruhashi A, Sakurai Y, Suzuki M, Masunaga S, Ono K: Survival benefit from boron neutron capture therapy for the newly diagnosed glioblastoma patients. *Appl Radiat Isot*. 2009 Jul;67(7-8 Suppl):S15-8

Miyatake S, Kawabata S, Yokoyama K, Kuroiwa T, Michiue H, Sakurai Y, Kumada H, Suzuki M, Maruhashi A, Kirihata M, Ono K.: Survival benefit of boron neutron capture therapy for recurrent malignant gliomas. *Appl Radiat Isot*. 2009 Jul;67(7-8 Suppl):S22-4.

Kimura Y, Ariyoshi Y, Shimahara M, Miyatake S, Kawabata S, Ono K, Suzuki M, Maruhashi A. Boron neutron capture therapy for recurrent oral cancer and metastasis of cervical lymph node. *Appl Radiat Isot*. 2009 Jul;67(7-8 Suppl):S47-9.

Ito Y, Kimura Y, Shimahara T, Ariyoshi Y, Shimahara M, Miyatake S, Kawabata S, Kasaoka S, Ono K. Disposition of TF-PEG-Liposome-BSH in tumor-bearing mice. *Appl Radiat Isot*. 2009 Jul;67(7-8 Suppl):S109-10.

Bin Feng, Kazuhito Tomizawa, Hiroyuki Michiue, Xiao-Jian Han, Shin-ichi Miyatake Hideki Matsui: Development of a bifunctional immunoliposome system for combined drug delivery and imaging in vivo. *Biomaterials*. 2010 May;31(14):4139-45

2. 学会発表

宮武伸一：硼素中性子捕捉療法による悪性脳腫瘍の治療 第68回日本脳神経外科学会総会ランチョンセミナー。H21年10月東京

宮武伸一：F-BPA-PET による脳腫瘍の病態解析と細胞選択的粒子線治療への応用。第49回日本核医学会 シンポジウム6。H21年

9月、旭川

宮武伸一：放射線壊死の診断と治療。第2
2回 日本放射線腫瘍学会 シンポジウム
3. H21年9月、京都

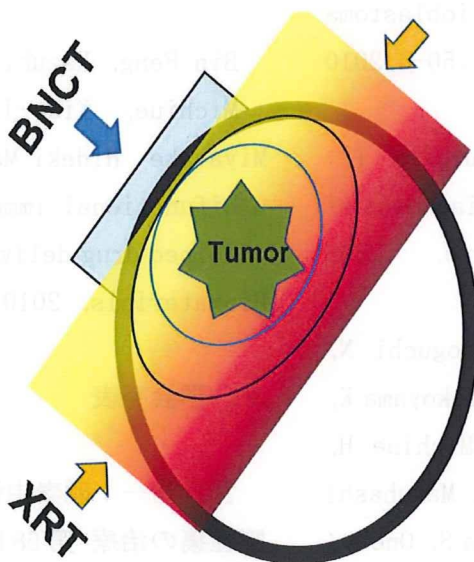
宮武伸一：腫瘍選択的粒子線治療である硼
素中性子捕捉療法 of 悪性脳腫瘍への応用と
展望。第18回 日本定位放射線治療学会
教育講演 1。H21年7月、仙台

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を
含む。)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

(資料・図)



(資料・図)

C. 研究結果

手術



主な適格規準

- 1) 手術により病理組織学的に膠芽腫の診断が得られている患者
- 2) 登録前 28 日前に撮影された MRI 画像において、以下のことが確認されている患者
 - ◆ 腫瘍がテント上、一側半球に限局し、最深部が頭皮より 6 cm 以内の症例。
 - ◆ (最深部が 6 cm 以上であっても、腫瘍摘出腔への空気置換により照射可能と判断した症例は適応とする。)
 - ◆ 単発であり、播種を認めない。
- 3) 同意取得時年齢が 15 歳以上 75 歳以下の患者
- 4) KPS \geq 60%の患者
- 5) 3 ヶ月以上の生存が期待される患者
- 6) 臨床検査値が以下の基準を満たす。
 - ①白血球数 $\geq 3 \times 10^3 / \mu\text{L}$ ②ヘモグロビン $\geq 8.0\text{g/dL}$ ③血小板数 $\geq 10 \times 10^4 / \mu\text{L}$
 - ④AST (GOT) $\leq 100 \text{ IU/L}$ ⑤ALT (GPT) $\leq 100 \text{ IU/L}$ 以下 ⑥血清クレアチニン $\leq 1.5 \text{ mg/dL}$



インフォームドコンセント



登録

目標症例数 : 45 例
症例登録期間 : 原子炉再開時より 2 年



protocol 治療

- 1) BNCT
- 2) XRT: 2Gy X 12 日間
- 3) TMZ 内服
(XRT 終了まで 75mg/m² 連日)
- 4) TMZ 内服
(XRT 終了後 150-200mg/m²
5 日間投与 23 日休薬のサイクルで繰り返す)



追跡期間 : 各症例を登録から BNCT 実施 96 週まで



研究課題名：新規診断神経膠芽腫に対する硼素中性子捕捉療法を中心とした
治療プロトコール確立に関する研究

申請者：宮武伸一（大阪医科大学・脳神経外科・准教授）

研究分担者：小野公二（京都大学・原子炉実験所・教授）

分担課題：原子炉および加速器における中性子出力推定に関する研究

分担研究報告書

A. 研究目的

ホウ素中性子捕捉療法は1～2回の照射によって治療が完了する。治療が多数回に亘る通常のX線治療とは異なり、途中で補正が適わないので、中性子出力・強度と言った物理線量は言うに及ばず、生物効果も勘案した線量を正確に推定することが殊の外重要になる。中性子の生物効果はそのエネルギースペクトルによって異なるので、中性子源毎にこれらを正確に把握すること無しに、安全で効果的な中性子照射やホウ素中性子捕捉療法は存在し得ない。本研究では、現在、京都大学原子炉実験所で開発中のサイクロトロン中性子源からの中性子強度、物理特性および生物特性を検索する。

B. 研究方法

(1) 中性子ビームの物理学的特性の検証と分布のモデレーション

平成21年度の前半には加速器中性子ビーム入射時の生体内の中性子線量分布を、放射化法を用いたファントム実験により評価し、中性子線量分布の評価結果をシミュレーション計算によるデータと比較することで、既に得ている加速器中性子ビームの物理学的特性の検証を行った。また、分布モデレーション手法に関するファントム実験を行い、その有効性を確認

した。後半には、中性子および γ 線の線量分布の「双子チェンバ法」による分離評価を試み、前半と同様に線量分布評価および分布モデレーション手法の有効性の確認を行った。分布モデレーション手法の改善・最適化も図った。また、LET(線エネルギー付与)チェンバを用いて、生物学的効果に関わるビーム線質の評価も行った。

(2) 加速器中性子の生物効果の特性の実験動物およびヒト試料による検索

BNCTの適応の将来の拡大を視野に入れ、ヒト胎児由来線維芽細胞、マウス口腔粘膜、腸管や骨などの正常組織に対する中性子ビームの生物学的効果比(RBE)を決定した。さらに、照射野外に漏れる中性子線など放射線の影響を、ヒトBNCTを模したヒトサイズの水ファントムにボランチア(研究者)提供の血液試料を置き中性子を照射、試料中のリンパ球に誘導される染色体損傷の頻度を測定することによって検索した。

C. 研究結果

(1) 中性子ビームの物理学的特性の検証と分布のモデレーション

① 中性子ビームの物理学的特性の検証

ファントム内の線量分布を放射化箔法お

よび熱ルミネッセンス線量計(TLD)を用いて評価した。実施済みの金線、インジウム線、ニッケル線、アルミニウム線を用いた評価を補完するために、マンガン線、銅線、鉄線、等を用いた評価を行った。既に得ていた中性子エネルギースペクトルおよび γ 線混在割合等のビームパラメータを用いたシミュレーションと比較することで、熱外中性子ビーム特性の検証を行った。

熱中性子線量については、前年度に得られたデータをもとにした評価結果を、ほぼ支持する結果が得られた。しかしながら、高速中性子線量については+10~15%、 γ 線線量については+20%程度の補正が必要であった。

続いて、「双子チェンバ法」による線量分布評価を行った。中性子用には FWT 社製 IC-18 組織等価イオンチェンバを、 γ 線用には FWT 社製 IC-18G グラファイトイオンチェンバを用いた。熱中性子に対する感度を補償するために、濃縮 6 フッ化リチウム (^6LiF) 遮蔽材製のカバーを利用した。

それぞれのチェンバを遮蔽材でカバーした場合としない場合についてファントム実験を行い、熱中性子、高速中性子、 γ 線の線量分布に関する評価を行った。チェンバにより得られた結果は、上記の放射化箔法および TLD により得られた結果と、それぞれの成分について相対的に良く一致していることが確認された。

ファントム内中心軸上での物理的吸収線量率分布を熱中性子吸収線量率(Thermal)、高速中性子吸収線量率(Fast)、 γ 線吸収線量率(Gamma)の3成分についてみると、物理的吸収線量に関しては、 γ 線の寄与が大きいことが分かる。また、表面近傍では高速中性子線量が熱中性子線量を大きく上回っていることが分かる。

次に、生物学的効果比を γ 線については 1.0、熱中性子については 3.0、高速中性

子については 2.5 として生物学的効果を考慮した等価線量率分布を調べると、表面での高速中性子の寄与が大きいことが分かった。

②分布モデレーション手法の検討

実施済みのシミュレーションの結果をもとに、本手法に用いる前面中央遮蔽(6LiF 遮蔽材製)の作成を行い、それらの有効性の確認を行った。厚さ1cm、直径2~8cmの前面中央遮蔽を作成し、ファントム表面の照射野中央に配置して、放射化箔法による熱中性子線量分布の評価を行った。

中央遮蔽の無い場合と用いた場合で、いずれも、熱中性子束分布のピーク値を1として規格化して比較すると、熱中性子線量の二次元分布の平坦度が、前面中央遮蔽により改善されていることが確認できる。直径10cmの照射野の場合、直径4~6cmの前面中央遮蔽が有効であることが確認された。さらに、過去に取得したKURにおける中央遮蔽の適応結果との比較を行ったところ、C-BENSのビーム特性では、KURに比べて、同じサイズの中央遮蔽で、10%程度の平坦度の改善が確認された。

(2) 加速器中性子の生物効果の特性の実験動物およびヒト試料による検索

①ヒト癌細胞における生物学的効果比(RBE)の検討

対照となるガンマ線に対する細胞生存率と随伴するガンマ線を含む中性子ビームの全線量に対する細胞生存率から計算した中性子単独の生存率を中性子単独の線量に対応させ、ガンマ線のデータと中性子のデータの比較から中性子の RBE を求めると 2.4 となった。

②放射線口腔死を指標とした検討

γ 線をあらかじめ C3H マウスの頭部に 17Gy 照射後、4時間後に 0.45-2.67Gy 相当の加速器中性子をさらに追加照射したときの生存率である。グラフの近似式より放射線口腔死の LD50 は γ 線が 19.26Gy (17Gy+2.6Gy)

であるのに対し、加速器中性子では18.2Gy(17Gy+1.2Gy)となり、RBEは2.2であった。

D/E. 考察と結論

サイクロトロン中性子ビームの調整が完了し、物理データや生物学データを取得した。これらのデータの示すところでは、中性子ビームのRBEがこれまで使ってきた原子炉中性子ビームのRBEよりもやや小さい。原子炉中性子ではRBEが約3.0であったが、サイクロトロンの場合は生物反応の指標にも依るが平均すると2.5以下となる。これは、物理データが示唆する中性子のエネルギースペクトルが高い方へシフトしていることを勘案すると自然に理解可能なRBEである。

以上の成果に基づいて平成22年度にはサイクロトロン中性子による、ヒト癌患者を対象とした臨床試験研究が開始出来る準備が調った。

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

1. 論文発表

G. KASHINO, S. FUKUTANI, M. SUZUKI, Y. LIU, K. NAGATA, S. MASUNAGA, A. MARUHASHI, H. TANAKA, Y. SAKURAI, Y. KINASHI, N. FUJII and K. ONO A Simple and Rapid Method for Measurement of ¹⁰B-para-Boronophenylalanine in the Blood for Boron Neutron Capture Therapy Using Fluorescence Spectrophotometry. Journal of Radiation Research, 50:377-382, 2009

M. Suzuki, H. Tanaka, Y. Sakurai, G.

Kashino, Y. Liu, S. Masunaga, Y. Kinashi, T. Mitsumoto, S. Yajima, H. Tsutsui, T. Sato, A. Maruhashi, K. Ono Impact of accelerator-based boron neutron capture therapy (AB-BNCT) on the treatment of multiple liver tumors and malignant pleural mesothelioma. Radiotherapy and Oncology, 92:89-95, 2009

H. Tanaka, Y. Sakurai, M. Suzuki, S. Masunaga, Y. Kinashi, G. Kashino, Y. Liu, T. Mitsumoto, S. Yajima, H. Tsutsui, A. Maruhashi, K. Ono Characteristics comparison between a cyclotron-based neutron source and KUR-HWNIF for boron neutron capture therapy. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, B267:1970-1977, 2009

2. 学会発表

省略

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

無し

2. 実用新案登録

無し

3. その他

無し

研究課題名：新規診断神経膠芽腫に対する硼素中性子捕捉療法を中心とした
治療プロトコール確立に関する研究

申請者：宮武 伸一（大阪医科大学・脳神経外科・准教授）

研究分担者：切畑 光統（大阪府立大学大学院・教授）

分担課題：「マイクロELISA法による血中ホウ素薬剤の簡便迅速定量キット」
に関する研究

分担研究報告書

研究要旨：BNCTにおいては、血中のホウ素化合物濃度を正確、迅速に定量測定する必要がある。BNCTに併用される2つのホウ素化合物、BPAおよびBSHに対するモノクローナル抗体を用いたマイクロELISAキットを試作し、これによる個別のホウ素化合物濃度分析方法を確立する。

A. 研究目的

BNCTでは、血中の2つのホウ素化合物、BPAおよびBSH濃度をICP（イオンプラズマ発光）分析により「総ホウ素濃度」として算出し、この値を基に線量計画を作成している。しかし、これらの2つの化合物の生物効果、腫瘍集積性および投与量は異なり、「個別のホウ素化合物濃度」を簡便且つ迅速に測定する分析法の開発が強く求められている。本研究では、BNCTの臨床現場で応用可能なマイクロELISA分析方法を確立し、キット化することを目的とする。

B. 研究方法

BPA および BSH に対して高い親和性を示すモノクローナル抗体、すなわち、抗BPA抗体および抗体BSH抗体を作製し、これらをポリスチレン性のマイクロビーズに固定化させて抗体結合マイクロビーズを調整した。このビーズを吸引送液が可能なマイクロ流路チップに導入し、チップ内で抗原-抗体反応、標識2次抗体との反応、酵素反応を順次行ない、発色はCCDカメラで測定した。

（倫理面への配慮）マウスを用いる抗体作製にあたっては、大阪府立大学内に設けられた動物実験委員会のガイドラインに則り、一連の実験を行なった。

C. 研究結果

・抗体結合マイクロビーズの作製を市販のポリスチレン性ビーズを用いて行ない、抗体濃度、固定化温度、溶液組成、反応

時間を最適化した。・モデル実験として、BSH共存下のBPA添加血液を用いて測定条件を検討した。この結果、20nM-250nMの濃度領域が測定可能濃度範囲で有る事が判明した。

・抗体結合ビーズの調整は別にして、抗原との反応、ビオチン標識2次抗体との反応、酵素標識アビジン反応および酵素反応の4工程に要した時間は約20分であった。

D. 考察

本方法では抗体結合マイクロビーズの作製段階が重要であり、ビーズ表面に均一に再現性よく抗体を固定化することが分析データの信頼性を高める上に極めて重要であると考えられる。また、競合剤（エライト）の選択も精度向上に重要な要因であった。

E. 結論

本マイクロ流路式のELISAシステムは課題は残るが、ホウ素薬剤の個別迅速定量法として有望であると評価でき、今後、キット化を達成したい。

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

1. 論文発表

無し

2. 学会発表：本年8月7日に開催され

る第7回日本中性子捕捉療法学会学術大会において発表の予定である。

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得：上の学会発表に先んじて包括的ホウ素化合物分析法として特許出願を予定している。

2. 実用新案登録

無し

3. その他

無し

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
宮武伸一	F-BPA-PET による脳腫瘍の病態解析と細胞選択的粒子線治療への応用	玉木長良	PET /CT Book	デジタルメディスン	東京	2009	95-98
宮武伸一, 他	“Pseudoprogression”と「硼素中性子捕捉療法」	松谷雅生 黒岩俊彦	脳21	金芳堂	京都	2009	71-74
宮武伸一, 他	グリオブラストーマに対する治療戦略 (BNCT, PETによる治療効果の検討およびTailor-made化学療法を用いて)	河本圭司	脳腫瘍の外科	メディカ出版	大阪	2009	38-44

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
S. Kawabata, S-I. Miyatake, et al	Boron neutron capture therapy for newly diagnosed glioblastoma.	J Rad Res	50	51-60	2009
S-I Miyatake, et al.	Survival benefit of boron neutron capture therapy for recurrent malignant gliomas.	J Neuro-Oncol	91	199-206	2009
S-I Miyatake, et al.	Pseudoprogression in boron neutron capture therapy for malignant gliomas and meningiomas.	Neuro-Oncology	11	430-436	2009
Y Kimura, S-I. Miyatake, et al	Boron Neutron Capture Therapy for Papillary Cystadenocarcinoma in the Upper Lip: A Case Report.	International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery.	38	293-295	2009
B Feng, S-I. Miyatake, et al	Delivery of sodium borocaptate to glioma cells using immunoliposome conjugated with anti-EGFR antibodies by ZZ-His.	Biomaterials	30	1746-1755	2009
川端信司、宮武伸一, 他	ホウ素中性子捕捉療法による悪性神経腫の治療効果	定位放射線治療	13	23-30	2009
T Aoki, S-I. Miyatake, et al	Phase II study of ifosfamide, carboplatin, and etoposide in patients with a first recurrence of glioblastoma multiforme	J Neurosurg	112	50-56	2010

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
S-I Miyatake, et al.	Intraoperative photo-dynamic diagnosis of brain tumors.	Brain Nerve	61	835-842	2009
S.Kawabata, S-I.Miyatake, et al	Survival benefit from boron neutron capture therapy for the newly diagnosed glioblastoma patients.	Appl Radiat Isot.	67	S15-18	2009
S-I Miyatake, et al	Survival benefit of boron neutron capture therapy for recurrent malignant gliomas.	Appl Radiat Isot.	67	S22-24	2009
Y Kimura, S-I.Miyatake, et al	Boron neutron capture therapy for recurrent oral cancer and metastasis of cervical lymph node.	Appl Radiat Isot.	67	S47-49	2009
Y Ito, S-I.Miyatake, et al	Disposition of TF-PEG-Liposome-BSH in tumor-bearing mice.	Appl Radiat Isot.	67	S109-110	2009
B Feng, S-I.Miyatake, et al	Development of a bifunctional immunoliposome system for combined drug delivery and imaging in vivo.	Biomaterials	31	4139-4145	2010

F-BPA-PETによる脳腫瘍の病態解析と 細胞選択的粒子線治療への応用

大阪医科大学脳神経外科
宮武伸一

1. はじめに

FDGをトレーサーとしたPETは、がん診断の決め手として極めて有用であることは論を待たない。

しかしながら、脳ではグルコース代謝が亢進しており、バックグラウンドが高く、FDG-PETによる腫瘍の局在評価や病態解析には限界がある。図1に右側頭葉内の数mm径の悪性黒色腫の転移病巣の造影CTを示す。この病変に対して、FDGをトレーサーとしてPETを行った所見を図2に示す。脳全体のバックグラウンドが高く、このような病変の描出には残念ながらFDG-PETは無効である。一方、同病変の描出をアミノ酸PETであるF-BPA-PETで試みた所見を図3に示す。F-BPA (F18-labeled boronophenylalanine) の正常脳内への集積は極めて低く、数mm径の腫瘍でも十分に描出される。加えて、肺や、肝臓の病変の描出にも優れている。正常肝での蓄積はC¹¹-labelのmethionineに比べても低い。腎、尿路系より排泄されるため、この部分の描出には不向きである。

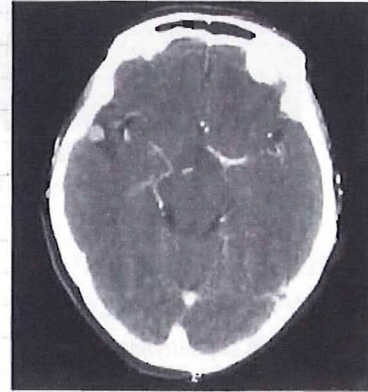


図1 悪性黒色腫転移巣の造影CT像

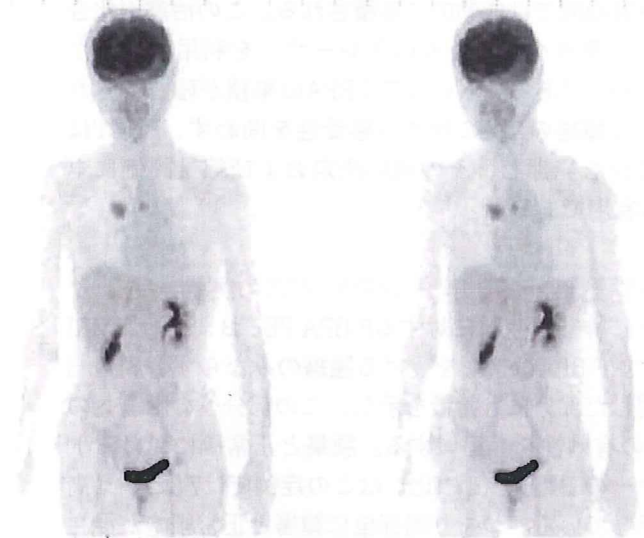


図2 図1症例のFDG-PET像

2. 硼素中性子捕捉療法とは

もともとF-BPA-PETはこの「硼素中性子捕捉療法 (boron neutron capture therapy, BNCT)」を行う際の適応決定、線量評価のツールとして開発されてきた経緯がある¹²⁾。よって、ここで紙面を割き、本治療法の概説を行う。BNCTは抗がん剤による化学療法と粒子線による放射線療法の双方の特徴をもつ治療法である。その原理を図4に示す。まず腫瘍細胞により選択的に硼素化合物を集積させ、そこに中性子を照射する。この硼素化合物には毒性はなく、治療に用いる熱もしくは熱外中性子にもほとんど細胞を壊す作用はない。硼素原子 (¹⁰B) に中性子が衝突したときに発生するアルファ線とリチウム線という粒子線ががんを破壊する。この粒子の飛距離ががん細胞一個に相当するので、硼素化合物をがん細胞に集積できれば、がん細胞のみを破壊し、硼素の入っていない正常の細胞は破壊を免れて残ることが可能となる。BNCTでがんを破壊するのは中性子ではなく、粒子線であり、このような細胞選択的な粒子線によるがんの破壊はBNCT以外には存在しない。

このBNCTの成否は硼素化合物の腫瘍への選択的集積と中性子の腫瘍への到達が決定する。硼素化合物の腫瘍への選択的集積は脳腫瘍の場合以下の2点を利用して可能となる。まず使用する硼素化合物のうちBSH (sodium borocaptate) は静脈内投与により、破綻した血液脳関門

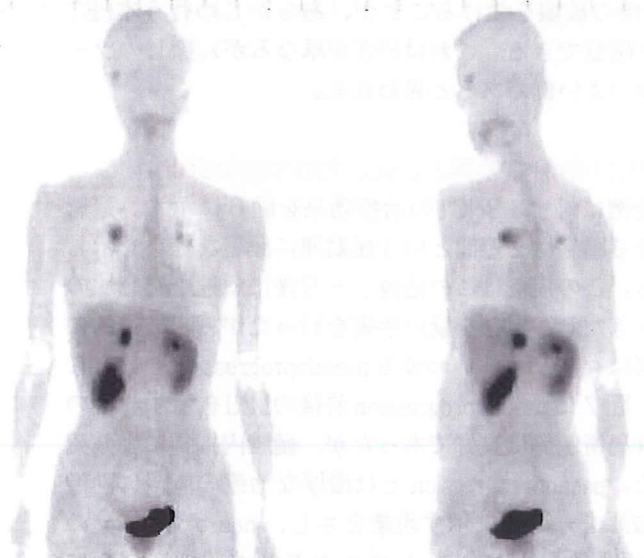


図3 図1症例のF-BPA-PET像

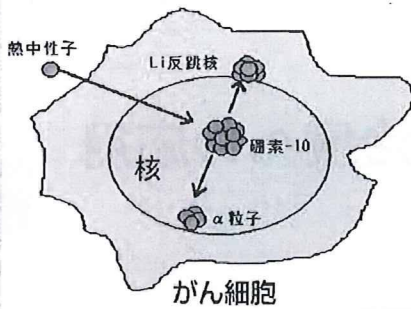


図4 BNCTの原理

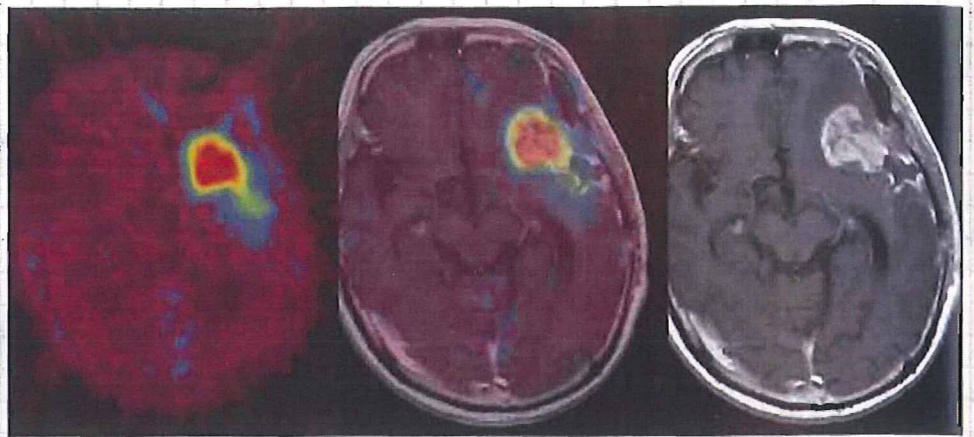


図5 神経膠芽腫
左より、BPA-PET像 (T/N 7.8)、PETとMRIの融合画像、Gd造影MRI像

(BBB) から腫瘍に受動的に蓄積され、正常脳ではBBBが保たれるため、BSHの蓄積は起こらない。今一つの化合物がBPAであり、これは必須アミノ酸であるphenylalanineを硼素で修飾した化合物である。よって蛋白代謝の亢進した腫瘍組織では能動的に蓄積される。この治療用化合物をフッ素ラベルしたもののトレーサーを利用するのがF-BPA-PETである。このPETでBPAの集積が確認できれば、その腫瘍のX線に対する感受性を問わず、BNCTは必ず効果を発揮し、その適応決定および線量評価に本PETは有用である。

3. 悪性脳腫瘍に対するF-BPA-PETの実際

図5に神経膠芽腫に対するF-BPA-PETおよび造影MRIを示す。F-BPAは造影を受ける腫瘍のみならず、周辺脳へ浸潤した部分にも蓄積を示し、この部分への腫瘍へのBNCTの有効性をも担保する。腫瘍と正常脳におけるトレーサーの蓄積比 (L/N比) はこの症例では7.8という高値を示している。つまり同部位に腫瘍と正常細胞が混在していれば、同じ中性子量の照射により腫瘍は正常細胞の7.8倍の破壊を受けることが、あらかじめ行う本PETにより確認できる。これはPETが単なるがん探しのツールでないよい例であると思われる。

4. BNCTの治療効果とpseudoprogression

本症例に対するBNCTの治療効果を図6に示す。造影を受ける腫瘍は2週間という短期間に顕著な縮小を示している。この症例はこの治療1ヶ月後に急速な造影域の増大をきたし、再発を疑い手術を行ったが、組織学的には腫瘍は存在せず、いわゆる pseudoprogressionと考えられた。図7に pseudoprogression前後のMRIを示す。この症例は局所制御は良好であったが、髄腔内播種により死亡した。pseudoprogressionとは濃厚な治療の直後に画像上の増悪を一時的に示す現象をさし、neuro-oncologyの分野では最もホットなトピックスである³⁾。のちに pseudoprogressionと放射線壊死、腫瘍の再発に対する鑑別におけるF-BPA-PETの役割について詳述する。

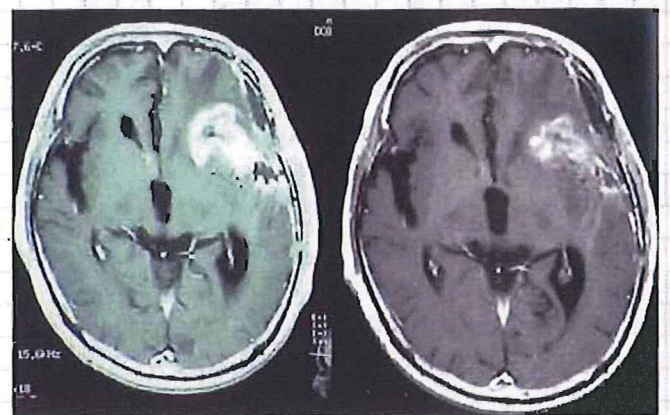


図6 BNCT治療効果
図5症例のBNCT治療後2週間の造影CT像

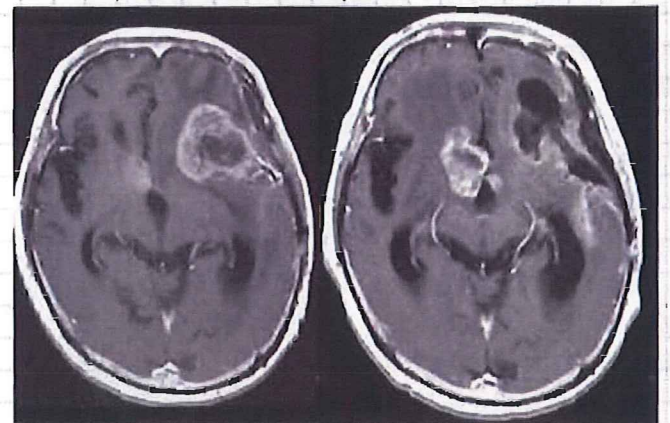


図7 pseudoprogressionのMRI像
図5症例、治療1ヶ月後

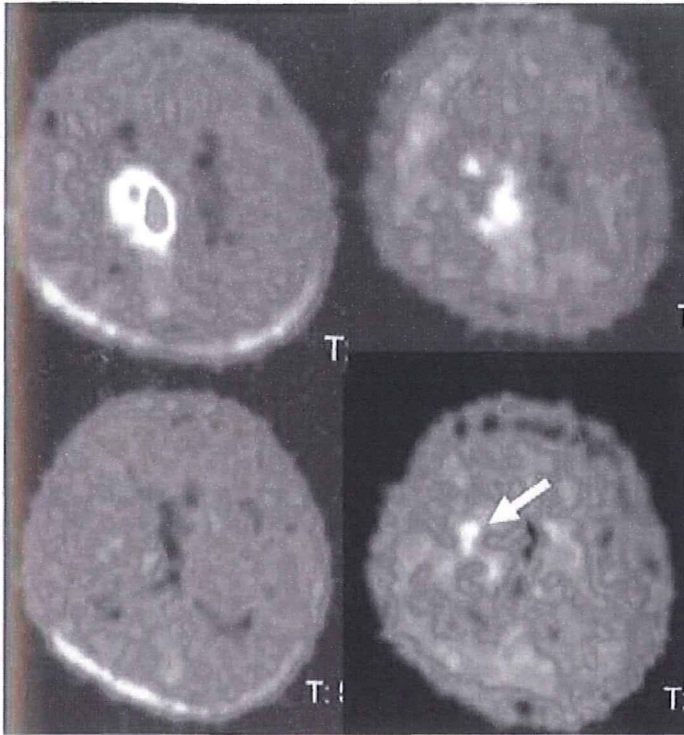


図8 再発神経膠芽腫
左：BNCT前、右：BNCT後2ヶ月のF-BPA-PET像

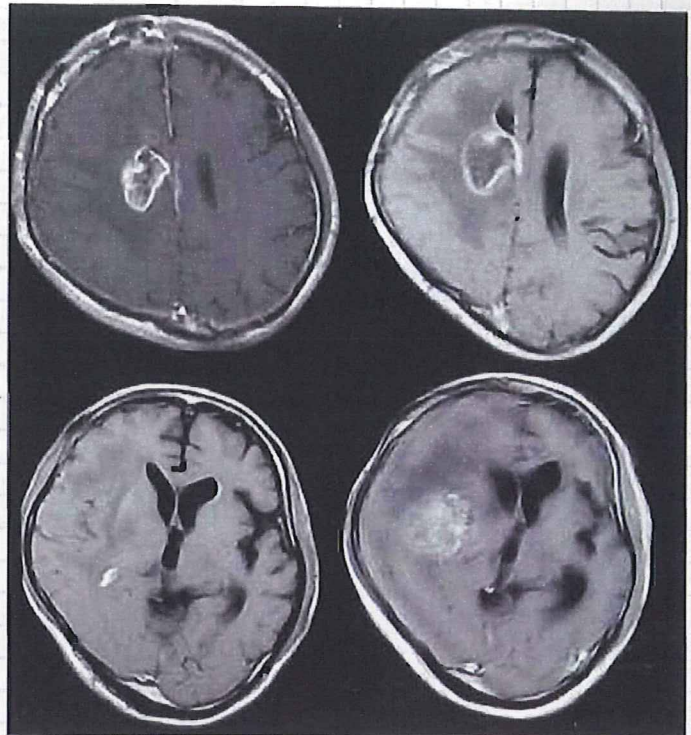


図9 BNCT後の造影MRI像
図8症例、左上：BNCT前、
右上・左下：BNCT 2.5ヶ月後、右下：BNCT 7ヶ月後

5. F-BPA-PETによるpseudoprogressionの診断および腫瘍増大の病態把握

再発神経膠芽腫に対するBNCT前（左）および2ヶ月後のF-BPA-PET（右）を図8に示す。BNCT前のL/N比は3.3であったが、BNCT 2.5ヶ月後のL/N比は1.7と低下しており、BNCTの治療効果を確認しえた。しかしながら、治療前には右基底核部にはトレーサーの取り込みを認めなかったが、治療2.5ヶ月後のPETでは弱いながらもトレーサーの蓄積を認めていた。経過のMRIを図9に示す。左上がBNCT前、右上、左下がBNCT 2.5ヶ月後、右下がBNCT 7ヶ月後の造影MRIを示す。PETで取り込みが下がっている治療2.5ヶ月後のMRIでは造影域の増大を認めている。しかしながら、この病変はその後のMRIでは縮小が確認されている。これがpseudoprogressionであり、造影MRIでは再発との鑑別は不可能であるが、F-BPA-PETで容易に診断が可能であり、新たな治療は行っていない¹⁾。一方、治療2.5ヶ月後のPETでわずかなトレーサーの取り込みを認めた病変はその時点でのMRIでは描出されていないが（図9左下）、その後のMRIで病変は出現している。すなわちPETでの病変の描出の方が造影MRIでの病変の描出より早期に可能である事実を示している。ここで再度図5を見直していただきたい。図5でBPAは造影域の外側、すなわち、BBBの破綻していない、ところにもトレーサーが蓄積している。この事実を考えると、病変が微小でBBBの破綻が起こっていない時期でもBPAは蓄積するが、この時期には造影剤は入らないものと考えられる。

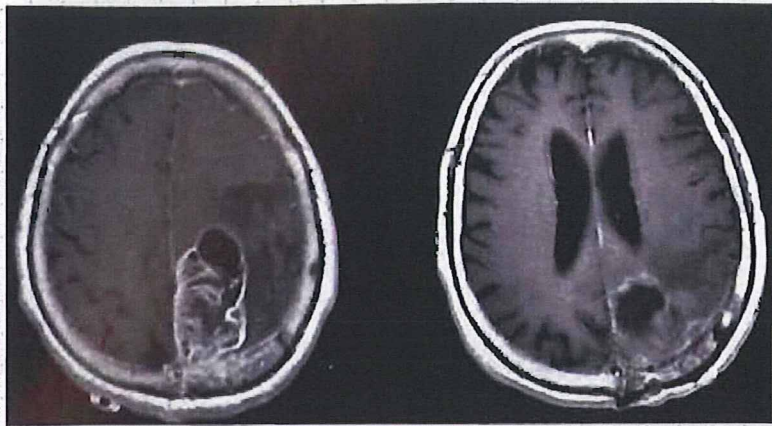
6. F-BPA-PETによる腫瘍再発と放射線壊死との鑑別

図10の膠芽腫症例の造影MRIを見ていただきたい。左は当院での術前、その後手術、BNCTを施行し、その後1年にわたり、画像上の増大、神経症状の悪化を認めなかったが、治療13ヶ月後に造影域の増大と軽度の麻痺が出現した。この時点では腫瘍の再発を疑い、手術を予定した。念のため、この時点でF-BPA-PETを再検した。図11に初回術前と造影域増大時のPETを示す。術前のL/N比は3.5であったが、再発が疑われた時点でのPETでのL/N比は1.9と算出された。手術による組織の確認を行ったところ、明らかな腫瘍細胞の増殖は全く認められず、放射線壊死との診断が得られた。この症例ではBNCT後に30GyのX線の追加照射を行ったこともその要因と考えられる。幸い、患者はBNCT 4年後の現在も抗腫瘍剤の使用抜きで再発を認めていない（図12）。我々の経験では膠芽腫の再発もしくは放射線壊死が疑われた場合、F-BPA-PETでのL/N比が2.5以上ではまず、再発を疑い、2.0以下では壊死が示唆される。もちろん両者の混在も存在し、注意を要する。

さらに、上述のようにBNCT前にはほぼ全例で本PETを施行しており、この治療前とのPETと治療経過中のPETとの比較がその病態把握に重要であることを経験し、報告している⁵⁾。

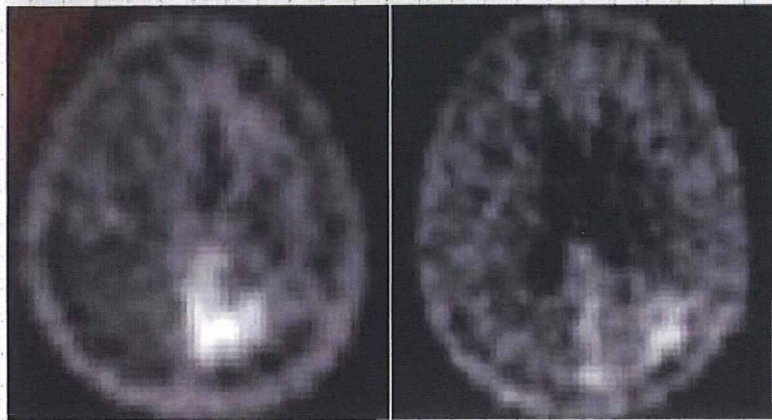
7. おわりに

もともとBNCT用に関連されたF-BPA-PETは脳内でのバックグラウンドが低く、腫瘍性病変の描出に有用で



a b

図10 膠芽腫の造影MRI像
a. 術前



a b

図11 PET像
図10症例
a. 初回術前
b. 造影域増大時

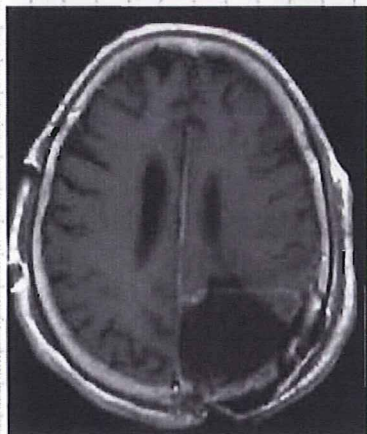


図12 BNCT 4年後のMRI像
図10症例

ある。MRIでの造影域の増大時等、正確な病態の把握が必要な折には、本PETを施行することにより、pseudoprogression、放射線壊死、腫瘍再増大等の病態の把握が可能であり、治療法の選択に対して大きな情報を得ることができる。BNCTはもちろん、抗腫瘍剤の変更、追加手術の選択等、筆者にとって本PETがなければ、悪性脳腫瘍の治療は成立しないほど、恩恵を受けていることを記しておく。

【参考文献】

- 1) Imahori Y, Ueda S, Ohmori Y, et al. Positron emission tomography-based boron neutron capture therapy using boronophenylalanine for high-grade gliomas: part I. Clin Cancer Res 1998; 4 : 1825-32.
- 2) Miyatake S-I, Kawabata S, Kajimoto Y, et al. Modified boron neutron capture therapy for malignant gliomas

performed using epithermal neutron and two boron compounds with different accumulation mechanisms: an efficacy study based on findings on neuroimages. J Neurosurg 2005; 103 : 1000-9.

- 3) Brandsma D, Stalpers L, Taal W, Sminia P, van den Bent MJ. Clinical features, mechanisms, and management of pseudoprogression in malignant gliomas. Lancet Oncol 2008; 9 : 453-61.
- 4) Miyatake S-I, Kawabata S, Nonoguchi N, et al. Pseudoprogression in boron neutron capture therapy for malignant gliomas and meningiomas. Neuro-Oncology in press.
- 5) Miyashita M, Miyatake S-I, Kawabata S, et al. Fluoride-labeled Boronophenylalanine-PET Imaging for the Study of Radiation Effects in Patients with Malignant Gliomas. J Neuro-Oncol 2008; 89 (2) : 239-46.