

中から、*in vivo*で腫瘍形成が可能でシスプラチン感受性の高いものを選択し、抗CD44モノクローナル抗体を提示するイムノリポソームにより標的となる細胞に対してCD44の内在化について検討して、効率的な薬効を期待できる剤型をデザインした。さらにこの剤型の有効性について*in vivo*モデルにより検証した。

C. 研究結果

炎症に特異的に血管内皮細胞に発現するE-selectinは腫瘍内の血管内皮においても発現することを明らかとし、そのリガンドであるSLXで表面修飾したリポソームにより、腫瘍細胞及び担癌モデルを用いて検討を行い、腫瘍組織内にて特異的な薬物（シスプラチン）の蓄積を認めた。

ErbB2の人工リガンドEC-1は、SK-BR-3細胞のように細胞の種類によりErbB2の細胞内内在化が難しい。また、人工リガンドEC-1はFc融合タンパク質やBNC表面に提示する多価でErbB2に結合する形にすることで、親和性を約100倍向上させると共に、細胞内内在化が難しい場合でも細胞内への内在化を促進させる事ができる事が分かった。

ヒトグリオーマ由来細胞株の中でU251MG細胞は、シスプラチン感受性で抗CD44抗体が結合したCD44分子の細胞内移行が認められた。一方、抗CD44抗体結合シスプラチン内包イムノリポソームの細胞毒性はIC50で2.3 μ Mであった。これはシスプラチン単体の約100倍、シスプラチン内包リポソームの約4倍の毒性である。細胞との接触時間を評価しても細胞毒性を示すために必要な時間はイムノリポソームとシスプラチン単体ではほぼ同等であった。また、イムノリポソームにcy5.5を内封して*in vivo*における腫瘍での拡散効果を検討すると単純なリポソームでは時間経過に伴い腫瘍からの拡散が見られたのに対し、イムノリポソームでは時間が経過しても腫瘍への滞留が維持された。このことから、抗CD44抗体をリポソーム表面に付加することによって、より効果的に腫瘍に集積し、*in vivo*でより長く、CDDPも少量で効果を発揮できることが明らかになった。

D. 考察

難水溶性薬物の代表的な化合物であるCDDPをその硝酸誘導体を用いてリポソームへの封入効率を上げて、*in vitro*および*in vivo*の両方で良好な成績をおさめた。ホウ素製剤を利用することによりBNCTの発展へ可能性を示すことがで

きた。とくにSLX修飾により腫瘍内血管の標的が可能になったことは注目に値する。

一方、細胞表面分子を標的とする技術としてヒト化抗体が医薬として重用されている（例；ハーセプチン）。ハーセプチンがErbB2を標的とし、薬効の大きい部分がADCC効果にある。ErbB2過剰発現細胞の中には、ErbB2の細胞の内在化に差があり、内在化の傾向が弱い細胞ほどハーセプチンによる標的効果が期待できる。そこで、ErbB2の分子標的には細胞内への内在化が起こるものに対しては、制がん剤を同時にデリバリーできるものの方がより高い効果を期待できると考えられる。本研究結果は、リガンドを多価で提示する事はErbB2の細胞内内在化を促進する傾向にあることを明らかにした。このことは、ADCC効果を期待するまでもなく、リポソームやナノカプセルに制がん剤を封入する剤型で、抗体やリガンドを多価で細胞を認識するデザインをとる事により大きな薬効を少ない副作用で期待できる可能性が示された。

さらに、抗CD44抗体とこれを提示するリポソームが細胞内へエンドサイトーシスにより効果的に取り込まれることが示されたことから、このCD44を制がん剤内包リポソームにより標的することは十分な薬理効果を期待させる。シスプラチンを内包させた場合の効果は良好であり、単剤に比べ100倍の細胞毒性を示せた事により本剤型を完成させる事で有効なDDSを構築できると考えられる。

E. 結論

細胞表面抗原を利用した腫瘍特異的ターゲットングリポソームの作製に成功した。

細胞表面上の標的分子を多価で結合させる抗体やリガンドのデザインは細胞内導入を促進し、分子標的効果を効率よく上げることができることを示した。従って、分子標的を行う場合の指針として重要な知見が得られた。

悪性度の高いグリオーマにおいて、EGF受容体より特異性の高いCD44が候補分子として見つかったことにより、今後の新たなDDSのデザインが可能となった。シスプラチンの例を見ても投与量の幅が広がることにより患者のQOLを高めて治療効果が上がることが十分に期待できる。さらにホウ素中性子捕捉療法においてもBSHを運ぶキャリアとして十分に期待できる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Hirai M, Seno M, et al: E-selectin targeting to visualize tumors in vivo. *Contrast Media Mol Imaging* 5(2):70-77, 2010.

Hirai M, Seno M, et al: Novel and simple loading procedure of cisplatin into liposomes and targeting tumor endothelial cells. *Int J Pharm* 391:274-283, 2010.

Otani T, Seno M, et al: Production of biologically active IgG hinge-tag soluble epidermal growth factor receptors (ErbB). *Biotechnol Lett* 32:361-366, 2010.

Vaidyanath A, Seno M, et al: Enhanced internalization of ErbB2 in SK-BR-3 cells with multivalent forms of an artificial ligand. *J Cell Mol Med* 15(11):2525-2538, 2011.

Tan H, Seno M, et al: The conformational polymorphism of the green fluorescent protein. *Molecular Biology* 46(1):142-148, 2012.

2. 学会発表

Hirai M, et al: Targeting E-selectin expressed on endothelial cells in tumor region with cisplatin-liposomes conjugated with Sialyl Lewis X. AACR 100th Annual Meeting 2009, 2009.4.18-22.

Seno M: Molecular targeting of cells over-expressing ErbB2 with an artificial peptide ligand. 2010 Tianjin international breast cancer symposium, 2010.10.22-27, 天津.

Murakami M et al. Encapsulation of glycosylated paclitaxel into liposome targeting Her2. 第33回日本分子生物学会年会 第83回日本生化学会大会 合同大会, 2010.12.7-10, 神戸.

Okada M, et al: Development of cisplatin immunoliposome targeting ErbB2 overexpressing cancer. 第33回日本分子生物学会年会 第83回日本生化学会大会 合同大会, 2010.12.7-10, 神戸.

A.Vaidyanath et al: Analysis of ErbB2 internalization mechanism in SK-Br-3 cells. ASCB 2010 Annual meeting, 2010.12.11-15, Washington DC.

Uchida et al: CD44 protein targeting on the surface of glioma cells. 日本分子生物学会 第34回日本分子生物学会年会, 2011.12.13-16.

G. 知的所有権の取得状況
現在のところ無し。

難治療癌モデル動物の作製と同モデルに対する製剤の安全性

分担研究者 富澤 一仁 熊本大学大学院生命科学研究部・教授
魏 范研 熊本大学大学院生命科学研究部・助教

本研究では、神経膠芽腫患者から摘出した腫瘍からがん幹細胞を単離培養し、同細胞をヌードマウスに植立したモデル動物を作製した。同モデルでは、ヒト同様播種性のがん細胞が浸潤していることを確認した。さらに抗体付加型ナノカプセルBSHの安全性について、マウスを用いて実証した。これらBSHは、50mg/kg以下の濃度では安全であることを確認した。

分担研究者：

省略

A. 研究目的

神経膠芽腫は、確定診断後の平均余命が1年未満と最も治療に抵抗性の癌の一種である。これまでヒトの病態に似た神経膠芽腫モデルは、存在しなかった。そこで本研究では、神経膠芽腫患者から摘出した腫瘍からがん幹細胞を単離培養し、同細胞をヌードマウスに植立したモデル動物の作製を行った。

さらにポリアルギニンペプチド付加BSHならびにバリエーションⅢ型EGF受容体を特異的に認識するモノクローナル抗体付加型ナノカプセルBSHの安全性について、上記神経膠芽腫モデルマウスを用いて実証した。

B. 研究方法

1. 難治療癌モデル動物の作製

術中に神経膠芽腫患者から摘出したがん組織を非コーティング培養皿内で無血清培地を用いた浮遊細胞塊形成法を用いて培養した。細胞塊を形成した細胞を単離培養し、がん幹細胞の樹立を試みた。樹立した細胞が、がん幹細胞であるか検証するために、神経幹細胞のマーカーであるNestin、Sox2、グリア細胞のマーカーであるGFAP、ならびに神経細胞のマーカーであるMAP2で免疫染色した。また樹立した細胞100個をヌードマウスの脳内に植立し、神経膠芽腫を形成するか検討した。

2. 抗体付加型ナノカプセルBSHの安全性試験 ヒトバリエーションⅢ型EGF受容体を昆虫細胞に

発現させ、細胞膜成分を可溶化し、カラムクロマトグラフィー法にて組換え蛋白質を精製した。精製した蛋白質をマウスに注射し、4週後脾臓を摘出した。抗体産生細胞からハイブリドーマ細胞を作製しヒトバリエーションⅢ型EGF受容体に対する抗体を産生しているハイブリドーマ細胞をクローン化した。このクローン細胞を大量培養し、抗体を精製した。精製した抗体にてU87ΔEGFR細胞ならびにU87WT細胞のSDS可溶画分を用いてウエスタンブローディングを行った。従来我々が開発したバイオナノカプセルのL-蛋白質を組換えZZ-Hisに置換した。この作製した中空リポソームと作製したヒトバリエーションⅢ型EGF受容体抗体を反応させ、抗体が付加したイムノリポソームの作製を行った。

BSHを封入したバイオナノカプセルと上述モノクローナル抗体を反応させ、抗体付加型ナノカプセルBSHを作製した。またBSHに10個のポリアルギニンを付加したBSHペプチドを作製した。これらBSHを12週齢オスICRマウスの尾静脈に1.0mg/kg、10mg/kg、50mg/kgで一日1回10日間連続投与し、マウスの体重、摂食量、行動についてコントロールマウスと比較検討した。さらに、投与終了後に全血採血し、血中GOT、GPT、クレアチニンならびに血糖値について、コントロールマウスと比較検討した。

（倫理面への配慮）

神経膠芽腫患者から摘出した腫瘍から細胞株を樹立するために、予め学内臨床研究倫理委員会で実験計画について承認を得て（承認番号:ゲノム第110号）、患者の同意を得て実施した。

C. 研究結果

1. 難治療癌モデル動物の作製

神経膠芽腫患者から樹立した細胞塊を形成する細胞は、NestinならびにSox2陽性であった。一方、GFAPならびにMAP2は陰性であることから幹細胞の特徴を有した細胞であることが明らかになった。また、この樹立した細胞をヌードマウスの脳内に植立すると、植立後14~18日ではほぼ全マウスが死亡した。死亡したマウスから脳を摘出後、薄切片を作製し、免疫染色ならびにH.E.染色を行った。植立した細胞は、播種性にマウス脳内に浸潤していた。また腫瘍は、GFAP陽性であったが、MAP2は陰性であった。

2. 抗体付加型ナノカプセルBSHの安全性試験

ヒトバリエーションIII型EGF受容体に対するモノクローナル抗体は、同受容体を発現しているU87ΔEGFR細胞ではウエスタンブローディング法で同受容体を認識したが、正常EGF受容体を発現しているU87WT細胞では、バンドが検出されなかった。ヒトバリエーションIII型EGF受容体抗体を付加したイムノリポソームが得られた。このイムノリポソームにBSHを封入し、抗体付加型BSHの開発に成功した。

ヒトバリエーションIII型EGF受容体モノクローナル抗体付加型バイオナノカプセルBSHを神経膠芽腫モデルマウスに投与し、各臓器・組織におけるホウ素量について定量解析したところ、腫瘍部におけるホウ素量が最も高かった。ヒトバリエーションIII型EGF受容体モノクローナル抗体付加型バイオナノカプセルBSHならびにBSHペプチドは、1.0~50mg/kgで全身投与しても、摂食量、体重に影響を及ぼさなかった。また投与後異常行動も認められなかった。さらに、抗体付加型ナノカプセルBSHならびにBSHペプチドを投与したマウスの血中GOT、GPT、クレアチニンならびに血糖値はコントロールマウスと比較し、有意差を認めなかった。

D. 考察

神経膠芽腫患者腫瘍から樹立したがん幹細胞をヌードマウスに植立することにより、ヒト神経膠芽腫の特徴を有したモデル動物を作製することができた。本モデルは、中性子捕捉療法の効果判定に有用であることが期待される。

ヒトバリエーションIII型EGF受容体の特異的に認識する抗体作製に成功した。この抗体は、腫瘍細胞にのみ強く発現しているバリエーションIII型を認識するが、野生型EGF受容体は認識しないため、本抗体を付加したバイオナノカプセルは、

脳腫瘍を標的化することが期待できると推察された。また脳腫瘍モデルマウスにおけるホウ素量の定量解析の結果から、実際にこの抗体を付加したバイオナノカプセルは、腫瘍に標的化していることが推察された。

抗体付加型バイオナノカプセルBSHならびにBSHペプチドは、50mg/kg濃度以下では副作用を認めないことが明らかになった。両BSHともその有効濃度は10mg/kgであり、有効濃度で投与した場合、安全であると考えられた。

E. 結論

ヒト神経膠芽腫の特徴を有したモデル動物の作製に成功した。神経膠芽腫に高発現しているバリエーションIII型EGF受容体の特異的に認識するモノクローナル抗体を付加したバイオナノカプセルは、脳腫瘍に標的化することが明らかになった。ヒトバリエーションIII型EGF受容体付加型バイオナノカプセルBSHならびにBSHペプチドの安全性が実証された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Feng B, Tomizawa K, Matsui H, et al: Delivery of sodium borocaptate to glioma cells using immunoliposome conjugated with anti-EGFR antibodies by ZZ-His. *Biomaterials* 30:1746-1755, 2009.

Takayama K, Tomizawa K, Matsui H, et al: Enhanced intracellular delivery using arginine-rich peptides by the addition of penetration accelerating sequences (Pas). *J Control Release* 138(2):128-133, 2009.

Feng B, Tomizawa K, Michiue H, Miyatake S, Matsui H, et al: Development of a bifunctional-immunoliposome system for combined drug delivery and imaging in vivo. *Biomaterials* 31: 4139-4145, 2010.

Araki D, Tomizawa K, Matsui H, et al: Cell-penetrating D-isomer peptides of p53 C-terminus: Long-term inhibitory effect on the growth of bladder cancer. *Urology* 75(4):813-819, 2010.

Feng B, Tomizawa K, Matsui H: Nanoparticle-based drug delivery systems for solid brain tumors. *Current Nanoscience* 7(1):47-54, 2011.

Li A, Tomizawa K, et al: Ciliary transition zone activation of phospho-Tctex-1 controls ciliary resorption, S-phase entry and fate of neural progenitors. *Nat Cell Biol* 13:402-411, 2011.

Miwa T, Tomizawa K, Yumoto E, et al: Protein transduction into the mouse otocyst utilizing arginine-rich cell penetrating peptides. *Neuroreport* 22(18):994-999, 2011.

Han X-J, and Tomizawa K: Protein delivery. In: *Primary and Stem Cells* (Eds Lakshmi U, and Thyagarajan B), p119-133, Wiley, 2011.

2. 学会発表

Taku Kaitsuka, Hirofumi Noguchi, Nobuaki Shiraki, Fanyan Wei, Shoen Kume, Kazuhiro Tomizawa: Induction of the differentiation of ES cells into insulin-producing cells by protein transduction. 第87回日本生理学会大会、盛岡、2011年5月19日。

Taku Kaitsuka, Hirofumi Noguchi, Nobuaki Shiraki, Fanyan Wei, Shoen Kume, Kazuhiro Tomizawa: Generation of insulin-producing cells from iPS and ES cells by protein transduction method. CiRA International Symposium, Kyoto, March 31, 2011.

G. 知的所有権の取得状況
現在のところ無し。

脳疾患動物モデル作製・培養細胞導入

分担研究者 伊達 勲 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 脳神経外科・教授

悪性脳腫瘍、特に神経膠芽腫と呼ばれる疾患は、実際は脳へ浸潤する形態を有する。しかしながら、その形態をモデル動物で再現することは困難である。今回我々は、ヒト悪性脳腫瘍細胞をマウスに移植し、新規の悪性脳腫瘍モデルを作製した。

分担研究者：

省略

A. 研究目的

悪性脳腫瘍を標的としたホウ素中性子捕捉療法は、予後の改善が見込まれる治療法である。臨床研究を行う前の前臨床研究では、ヒト悪性脳腫瘍細胞を移植した動物脳腫瘍モデルを作製する。しかし、従来の脳腫瘍モデルでは、実際の患者で見られるような浸潤型の脳腫瘍像を反映しておらず、実験での効果が臨床研究へ反映されず、研究と臨床との間の壁となっている。

そこで本研究では、ホウ素中性子捕捉療法に対して新規のホウ素製剤の効果を見るために、ヒトの悪性脳腫瘍に似た動物モデルを作製することを目的とした。

B. 研究方法

当科にて樹立した2種類の浸潤様式の異なる細胞株J3T-1およびJ3T-2を用いた実験を行った。この2種類の細胞株は、犬悪性脳腫瘍細胞株J3Tをマウス皮下化に移植し、形成されてきた腫瘍をそれぞれ別々に培養し得られた細胞株である。この2種類の細胞株をヌードマウスまたはヌードラットに移植し、脳腫瘍の浸潤形式を評価した。ヌードマウスは8週齢メスを使用し、ヌードマウス脳内へ移植しその経過観察を行った。脳腫瘍が形成された後に、脳を摘出し正常脳への浸潤の程度や脳損傷についての検討を行った。病理組織における検討を免疫染色や *in situ hybridization* などにより行い、臨床像に近い悪性脳腫瘍モデルを作製した。

（倫理面への配慮）

動物実験に関しては岡山大学に動物実験計画書を提出し、岡山大学動物実験委員会並びに遺伝子組み換え動物取扱による岡山大学倫理委員会の承認のもと行った。

C. 研究結果

2種類の浸潤様式の異なる細胞株J3T-1およびJ3T-2をヌードマウス・ヌードラット脳内に移植し、その結果を組織染色・脳内イメージングにて評価した。

その結果、J3T-1では腫瘍および脳内の血管に依存した腫瘍増殖を認めた。一方、J3T-2は腫瘍血管の分布と全く異なる浸潤形態を示した。腫瘍部と正常部の境界は非常に不明瞭であった。

本実験で使用した細胞株は実際のgliomaにみられる浸潤性を認め、より臨床像に近い動物腫瘍モデルの作製であるという結果を得た。

D. 考察

悪性脳腫瘍の浸潤形態は、血管新生と密接な関係にあり、色々な浸潤形態が報告されている。今回の研究により、浸潤形式の異なる2種類の細胞株による脳腫瘍モデルの作製に成功した。

従来の細胞株では、浸潤発育することなく腫瘍が増殖するため、本来の脳腫瘍の形態を示さず、実験の結果が臨床結果と一致しない。したがって、本研究の成果は臨床での治療効果を予測した実験につながると考えられる。

E. 結論

今回我々は、ホウ素中性子捕捉療法を行うに当たって、臨床の脳腫瘍患者に近い疾患モ

デル動物を作製することに成功した。本研究の結果は、中性子捕捉療法の基本実験データを臨床研究へと発展させる上で、非常に重要な疾患モデルとなり得ると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Onishi M, Ichikawa T, Kurozumi K, Date I: Angiogenesis and invasion in glioma. *Brain Tumor Pathol* 28:13-24, 2011.

Inoue S, Ichikawa T, Kurozumi K, Maruo T, Onishi M, Yoshida K, Fujii K, Kambara H, Chiocca E A, Date I: Novel Animal Glioma Models that Separately Exhibit Two Different Invasive and Angiogenic Phenotypes of Human Glioblastomas. *World Neurosurg* Nov.7, 2011.

2. 学会発表

大西, 伊達, ら. 浸潤性グリオーマ動物モデルを用いた浸潤規定因子の検討. 第28回日本脳腫瘍学会学術集会, 2010.11,

G. 知的所有権の取得状況

現在のところ無し。

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）
（総合）分担研究報告書

肺癌・悪性中皮腫モデル動物作製と治療

分担研究者 井口 東郎（独）国立病院機構四国がんセンター・内科学
（四国がんセンター臨床研究部） | 臨床研究部長

モデル動物作製の成功は、治療実験において大きな意味合いを持つ。肺癌モデル、及び悪性中皮腫モデルや難治性悪性腫瘍疾患である悪性脳腫瘍や膵臓癌（膵がん）などの担癌動物を作製し、テーラーメイド医療につながるモデルを作製する。

分担研究者：

省略

A. 研究目的

膵がん（浸潤性膵管がん）の予後は画像診断や治療法が発達した今日においても未だ厳しく、満足するには程遠いのが現況である。膵がんの予後不良の原因として、ひとつは早期診断が難しいことであり、もうひとつは治療抵抗性や進展が早いといった膵がん自体の生物学的悪性度が挙げられている。こういった背景を鑑み、本研究は膵がんの予後改善につながる診断・治療体系の確立を目的とした。

B. 研究方法

膵がんの危険因子として、“肝細胞がん発生母地としての肝硬変”のような因子は見当たらず、膵がん早期発見を目指した検診システムの開発は緒についたばかりで、費用対効果の点からも実際に機能するか否かは不明である。四国がんセンターはがん専門病院であるため、他院で膵がんを疑われた症例の診療が主体となり、こういった症例に対する膵精査プロトコルとして造影CTを組み合わせたPET/CT（単純CT、PET、造影CTの順に撮影；以下、造影PET/CT）を行っている。造影PET/CTだけで存在診断、質的診断、局所診断、転移診断が完結する“one-step shopping”の画像モダリティとして活用している。

本研究では、この造影PET/CTの膵がん診療における位置づけ、すなわち、(1)診断、(2)治療法決定（進展度評価）、(3)治療効果判定における有用性について検討した。

（倫理面への配慮）

本研究はヘルシンキ宣言およびGCP（厚生労働省、平成20年10月改訂、施行）の精神に則り実施し、臨床試験に関する倫理指針（厚生労働省、平成20年7月改訂、平成21年4月施行）を遵守した。また、患者個人情報の保護に留意し、個人情報取扱に関する倫理指針を遵守した。

C. 研究結果

1. 膵腫瘍性病変の良悪性鑑別

【方法】浸潤性膵管がん108例、膵管内乳頭腫瘍（IPMN）15例、膵内分泌腫瘍10例及び膵炎（腫瘍形成性慢性膵炎（CP）、自己免疫性膵炎（AIP））10例を対象として造影PET/CTを撮影し、膵腫瘍性病変の良悪性鑑別におけるSUVmaxの有用性について検討した。SUVmaxはFDG静注1時間後に撮影した時の値とし、FDG静注時の血糖値が200mg/dl以下の症例に限定して解析した。

【結果】各種膵腫瘍性病変のSUVmax値を比較すると、浸潤性膵管がんのSUVmaxはStage I～III 6.14±3.51、Stage IVa 6.28±2.91及びStage IVb 7.21±2.65で、ステージ間の差はみられないが、良性膵内分泌腫瘍を除いた他の膵腫瘍性病変のSUVmaxよりは高値をとる傾向にあった。IPMNのSUVmaxは悪性（IPMC）で2.93±1.23（n=3）及び良性（IPMA）1.72±0.49（n=12）で、IPMCで高い傾向にあるが有意差は認めなかった。膵内分泌腫瘍のSUVmaxは良性で27±18（n=3）及び悪性で4.2±2.5（n=7）であり、良性で著明高値であった。一方、膵腫瘍性病変との鑑別が難しい腫瘍形成性膵炎及び腫瘍形成型AIPのSUVmaxは2.19±0.48（n=5）及び4.76±1.64（n=5）で、AIPで高い

値を示す傾向にあって、このように SUVmax は良性の膵腫瘍性病変においても高値を示す場合があり、その範囲は悪性腫瘍とオーバーラップしていた。

造影 PET/CT による膵がんの早期診断の可能性については、ステージ別では I～III が 12 例 (11%)、また腫瘍径別では Ts1 ($\leq 2\text{cm}$) が 6 例 (5.5%) と、必ずしも早期診断にはつながっていないことが示唆される。ただ、四国がんセンターではハイリスク群の経過観察は行っておらず、他院で膵がんが疑われた紹介患者の診療がほとんどといった背景が早期膵がんが少ないことの一因と考えられる。

2. 浸潤性膵管がんの進展度評価

【方法】手術を施行した浸潤性膵管がん 29 例において、造影 PET/CT による術前の進展度と切除標本における組織学的進展度を対比させ、造影 PET/CT による進展度評価の正診率について検討した。また、手術に臨んだものの、遠隔転移 (リンパ節 (N3) 2 例、肝臓 1 例、腹膜 1 例) が見つかったケースが 4 例あり、これら症例では切除は行わずに転移組織の生検のみを施行したため、N 因子及び M 因子の評価はこれら 2 例ずつを加えた計 31 例で行った。

また、造影 PET/CT で診断された Stage IVb 浸潤性膵管がん 66 例の遠隔転移内訳を、進展度評価に現時点では最も頻用されている腹部造影 CT のそれと比較した。

【結果】浸潤性膵管がんの進展度は、日本膵臓学会が定めた膵癌取扱い規約に準じて、局所進展度 (T)、リンパ節転移 (N) 及び遠隔転移 (M) に分けて評価した。

T、N および M 因子の正診率は、T 因子については Ts、S 及び RP が 80% 未満と造影 PET/CT の正診率が低かったが、局所進行膵がん (Stage IVa) が切除可能かどうかの判断材料となる A、PV あるいは PL の正診率はいずれも 80% を越えていた。とりわけ切除あるいは非切除にとって最も重要な A については 29 例中 1 例で造影 PET/CT で“浸潤なし”と判断したケースが組織学的に“浸潤あり”と診断されただけで、正診率は 97% と満足すべき結果であった。また OO の正診率は 100% であった。

N 因子の進展度評価は、従来の腹部造影 CT ではリンパ節の形態とサイズから判断しているが、造影 PET/CT ではこれらに加えて FDG 集積の有無がさらなる判断材料として加わっている。リンパ節転移の診断は、もともと CT 診断の弱点であったが、造影 PET/CT の正診率も

45% と 50% を割り込む低い値であった。造影 PET/CT と組織学的進展度が異なった 17 例の内訳をみると、造影 PET/CT が過大評価したケースが 6 例及び過小評価したケースが 11 例みられた。この中で臨床的に問題となるのは、術前の造影 PET/CT による進展度評価で N2 あるいは N3 と診断され、この N 因子の評価だけから臨床病期が IVb となり、切除不能と判断されるケースである。四国がんセンターでは、造影 PET/CT による N 因子の正診率が低いことを踏まえ、N 因子の評価だけから臨床病期 IVb とされたケースに対しては手術で臨み、まずは開腹後にリンパ節の迅速生検を行い、転移がない場合は手術を全うし、転移があった場合は閉腹して化学療法といった方針で対処している。

M 因子の評価については、全身検索を行う PET/CT の最も得意とする領域であり、正診率は 94% であった。造影 PET/CT で捉えられなかったのは肝表面への転移と栗粒大の腹膜播種の 2 例だけで、これらの転移は他の画像モダリティで捉えることも困難であり、このあたりが画像診断の限界と考えられる。

また、造影 PET/CT で診断された Stage IVb 膵がん 66 例の遠隔転移内訳は、リンパ節 36 例 (55%)、肝臓 37 例 (56%)、腹膜 35 例 (53%) であったほか、腹部 CT では診断されることが少ない肺転移及び骨転移がそれぞれ 12 例 (18%) 及び 16 例 (24%) 含まれていた。

D. 考察

PET 単体では膵腫瘍性病変の良悪性鑑別に SUV 値が有用とする報告もあるが、今回の検討では SUV 値は悪性疾患で高値をとる傾向があるものの、基本的に良性疾患の SUV 値とオーバーラップしており、SUV 値からの良悪性鑑別は困難と考えられた。造影 PET/CT による良悪性鑑別では、造影 CT 部分での血管や周囲臓器への浸潤に加え PET での FDG 集積の有無をもう一つの判断材料として診断している。一方、造影 PET/CT による膵がんの進展度評価では、手術症例における組織学的進展度との比較より正診率を算出するとともに、造影 PET/CT で診断された Stage IVb 膵がんの遠隔転移内訳を、現在、進展度評価の画像モダリティとして頻用されている腹部造影 CT のそれと比較した。その結果、T 因子及び N 因子の正診率では造影 PET/CT と腹部造影 CT とで差はなかったが、M 因子の診断は造影 PET/CT が優っていた。以上の成績は造影 PET/CT が膵腫瘍性病

変の良悪性鑑別及び膵がんの進展度評価に有用な画像モダリティであることを示唆している。

E. 結論

今後、肺がんや悪性中皮腫、難治性悪性腫瘍（悪性脳腫瘍、膵がん）等の担癌モデル動物が作製できれば、この造影PET/CTはがん評価に有用であると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Noda M, Iguchi H, et al : The role of immune cells in brain metastasis of lung cancer cells and neuron-tumor cell interaction. *Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova* 95:1386-1396, 2009.

Maruta S, Iguchi H, et al: A role for leukemia inhibitory factor in melanoma-induced bone metastasis. *Clin Exp Metastasis* 26:133-141, 2009.

Doi H, Iguchi H, et al: Primitive Neuroectodermal tumor of the pancreas. *Intern Med* 48:329-333, 2009.

仁科智裕、井口東郎: 【ジェネラリストのためのがん診療エッセンス】 知っておきたい7大がん 胃がん. *JIM Journal of Integrated Medicine* 19(12):868-871, 2009.

Nasu J, Iguchi H, et al: A case of small undifferentiated intramucosal gastric cancer with lymph node metastasis. *Gastric Cancer* 13(4): 264-266, 2010.

仁科智裕、井口東郎: 2章 分子標的薬の副作用マネジメント 9 消化器症状. 消化器がん化学療法看護完全マスターBOOK (消化器外科NURSING) 臨時増刊 224-233, 2010.

仁科智裕、井口東郎: 2章 分子標的薬の副作用マネジメント 10 消化器穿孔. 消化器がん化学療法看護完全マスターBOOK (消化器外科NURSING) 臨時増刊 234-238, 2010.

井口東郎: 診断と治療 (8)電解質異常 コンセンサス癌治療 9. 36-39, 2010.

Okusaka T, Iguchi H, et al: Phase II study of erlotinib plus gemcitabine in Japanese patients with unresectable pancreatic cancer. *Cancer Sci* 102(2): 425-431, 2011.

Seike T, Iguchi H, et al: Interaction between lung cancer cells and astrocytes via specific inflammatory cytokines in the microenvironment of brain metastasis. *Clin Exp Metastasis* 28(1): 13-25, 2011.

G. 知的所有権の取得状況
現在のところ無し。

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）
（総合）分担研究報告書

原子炉及び加速器による中性子源の開発

分担研究者 小野 公二 京都大学 原子炉実験所・教授

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の物理特性および生物特性を検索し、ホウ素中性子捕捉療法の高高度化に不可欠なホウ素濃度やその分布の簡便な検索法を開発した。

分担研究者：

省略

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。従って、途中での線量投与計画の補正が難しいので、中性子の物理線量は言うに及ばず、生物学的光子等価線量を正確に推定することが殊の外重要である。線量の推定にはエネルギーによって異なる中性子の生物効果の正確な把握が不可欠である。同時に、腫瘍でのホウ素濃度や分布の推定もまた、重要な要素である。特にホウ素中性子捕捉療法の将来を考えた時、高い腫瘍集積比を有し腫瘍で均一に分布する新規ホウ素化合物の開発は、最重要の研究課題であり、その為にホウ素分布を細胞レベルで簡便に検索できる技術の開発は喫緊の課題である。本研究では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し、 α オートラジオグラフィ(ARG)の高精度化を図った。

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

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によるファントム実験により評価し、結果をシミュレーション計算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。

(2) 加速器中性子の生物効果特性の実験動物および株化培養細胞、ヒト試料による検索

BNCT適応の拡大を視野に入れ、4種の株化培養細胞を、更にマウスの放射線口腔死を指標としてRBEを求めた。またヒト型ファントムの照射を行い、全身被曝について検索した。

(3) 開発済みのBPAの簡便測定法について実験犬による精度検証と、新規のホウ素化合物の開発に不可欠な組織中でのホウ素化合物のマイクロ分布の検索法の開発

担癌および非担癌マウスにホウ素化合物BPAあるいはBSHを投与、一定時間後に殺し組織を摘出、凍結した。この凍結組織からクライオスタットにて薄切組織切片を作成、CR-39上に展開固定した。原子炉中性子 $\sim 10^{13}$ を試料に照射、その後、CR-39上の薄切組織をヘキスト染色し、組織・細胞の蛍光顕微鏡画像を記録・保存した。次に、CR-39に化学処理を行い、中性子とホウ素原子核との核反応で放出された α 粒子などの高LET粒子によるCR-39上の飛跡を表出した。顕微鏡の明視野観察によってこの飛跡の画像を記録・保存した。先の蛍光像における血管像などを頼りに正確に重ね合わせ、組織上の飛跡の位置を決定、ホウ素の分布やその濃淡（ホウ素濃度の高低）を検索した。

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

熱中性子線量は、既に得ているデータ結果をほぼ支持する結果が得られたが、高速中性子線量では+10～15%、 γ 線線量では+20%程度の補正が必要であった。物理的吸収線量率分

布の結果、高速中性子、中性子、 γ 線線量の3成分のうち、ファントム内中心軸上では γ 線の寄与が大きく、表面近傍では高速中性子の寄与が大きかった。

(2) 加速器中性子の生物効果特性の実験動物および株化培養細胞、ヒト試料による検索

γ 線に対する感受性が元々高かったヒト新生児皮膚繊維芽細胞株ではRBEが2.0と小さかったが、他は2.3、2.5、2.6であった。 γ 線と中性子のデータの比較から中性子のRBEは2.4となった。放射線口腔死を指標として求めたRBEは2.8であった。脳腫瘍のBNCTを想定して行ったヒト型ファントムでの全身各部位の被ばく線量の検索では、首が1.57 Gy-Eq、胸、へそ、そけい部、膝、くるぶしなどの部位での推定線量は約0.35~0.78 Gy-Eqであった。

(3) 実験犬にホウ素化合物BPAとBSHを二重投与し、BPA濃度を蛍光強度で測定、総ホウ素濃度を即発 γ 線分析あるいはICPで測定することによって化合物由来別のホウ素濃度を分別測定できた。ただ、全血での測定では、投与後の時間経過と共にBPAの血球・血漿間での移動の為、不正確になるが血漿中濃度では精度が確認された。ARGの精度を上げて細胞間の分布の差を検出するにはARG画像と蛍光染色画像を正確に重ね合わせることが不可欠であるが、凍結固定前に、試料を生理食塩水で良く洗浄すること、血管をランドマークに使うことで精度を向上させることが可能となった。

D. 考察

開発中の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。その結果、中性子ビームのRBEは従来の原子炉中性子ビームよりもやや小さかった。原子炉中性子ではRBEが約3.0であったが、サイクロトロンでは生物反応の指標にも依るが平均すると2.4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。

ホウ素濃度を由来化合物別に弁別測定する手法の開発は、BSHとBPAの併用を基本とする悪性神経腫瘍のBNCTでは不可欠の技術であり、これまでの濃度・時間変化曲線からの推定による精度を格段に向上させるものである。

α オートラジオグラフィ(ARG)の高精度化と簡便化がある程度実現した。 α 粒子の飛跡が細胞長程度の為、未だ、位置精度に難がある。今

後、ホウ素原子の位置を細胞内のそれに特定するための画像処理などにスマートな解を発見出来れば、ホウ素原子の細胞内位置を極小の誤差精度で特定でき、新規ホウ素化合物の開発を大きく促進出来ると考えられる。

E. 結論

平成24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整った。また、新規ホウ素化合物開発を加速するマイクロ分布検索の手法の確立に目途がついた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Kashino G, Ono K, et al: A simple and rapid method for measurement of ^{10}B -para-borono phenylalanine in the blood for boron neutron capture therapy using fluorescence spectrophotometry. *J Radiat Res* 50:377-382, 2009.

Suzuki M, Ono K, et al: 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.

Tanaka H, Ono K, et al: 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.

Tanaka H, Sakurai Y, Suzuki M, Ono K, et al: Improvement of dose distribution in phantom by using epithermal neutron source based on the Be(p,n) reaction using a 30MeV proton cyclotron accelerator. *Applied Radiation and Isotopes* 67:S258-S261, 2009.

Hamada N, Ono K, et al: Recent advances in the biology of heavy-ion cancer therapy. *J Radiat Res* 51(4):365-383, 2010.

Masunaga S, Ono K, et al: Usefulness of Hexamethylenetetramine as an Adjuvant to Radiation and Cisplatin in the Treatment of Solid Tumors: its Independency of p53 Status. *J Radiat Res* 51:27-35, 2010.

Kinashi Y, Ono K, et al: Ascorbic acid 2-glucoside reduces micronucleus induction in distant splenic T lymphocytes following head irradiation. *Mutation Research* 695:69-74, 2010.

Masunaga S, Ono K, et al: Influence of manipulating hypoxia in solid tumors on the radiation dose-rate effect in vivo, with reference

to that in the quiescent cell population. *Jpn J Radiol* 28(2):132-142, 2010.

Masunaga S, Ono K, et al: Evaluation of the Radiosensitivity of the Oxygenated Tumor Cell Fractions in Quiescent Cell Populations within Solid Tumors. *Radiat Res* 174(4):459-466, 2010.

Inoue M, Ono K, et al: Clinical effectiveness of boron neutron capture therapy for a recurrent malignant peripheral nerve sheath tumor in the mediastinum. *J Thorac Oncol* 5(12):2037-2038, 2010.

小野公二, 他: 加速器中性子源によるホウ素中性子捕捉療法 of 展望. *映像情報medical* 42(12): 1028, 1038-41, 2010.

Fujita Y, Ono K, et al: Induction of multi-nucleation in oral squamous cell carcinoma tissue with mutated p53 surviving boron neutron capture therapy. *Int J Radiat Biol* 87(3):293- 301, 2011.

Tanaka H, Sakurai Y, Suzuki M, Masunaga S, Ono K, Maruhashi A, et al: Experimental verification of beam characteristics for cyclotron-based epithermal neutron source (C-BENS). *Applied Radiation and Isotopes* 69:1642-1645, 2011.

Imoto M, Tanaka H, Fujita K, Mitsumoto T, Ono K, Maruhashi A, Sakurai Y: Evaluation for activities of component of Cyclotron-Based Epithermal Neutron Source (C-BENS) and the surface of concrete wall in irradiation room. *Applied Radiation and Isotopes* 69:1646-1648, 2011.

Ueda H, Tanaka H, Maruhashi A, Ono K, Sakurai Y: The optimization study of Bonnersphere in the epi-thermal neutron irradiation field for BNCT. *Applied Radiation and Isotopes* 69:1657-1659, 2011.

Tsukamoto T, Tanaka H, Yoshinaga H, Mitsumoto T, Maruhashi A, Ono K, Sakurai Y: A phantom experiment for the evaluation of whole body exposure during BNCT using cyclotron-based epithermal neutron source (C-BENS). *Applied Radiation and Isotopes* 69:1830-1833, 2011.

2. 学会発表

International Symposium for Radiation Research and Medical Physics. Invited Lecturer: Boron Neutron Capture Therapy for Cancers in Kyoto University Research Reactor Institute (KURRI). May 31~June 2, 2011 in Shanghai, China.

ICRR-2011. Symposium Speaker: Boron Neutron Capture Therapy (BNCT) -past, present and subjects in the future-. Aug 27~Sept 1 in Warsaw, Poland.

6th Young Researchers BNCT Meeting. Invited Lecturer: BNCT IN JAPAN -Experiences in Kyoto University Research Reactor Institute (KURRI)-. Dec 5~8 in Tsing Hua Univ, Taiwan.

2011 BNCT Workshop on Clinical Applications. Invited Lecturer: DEVELOPMENT OF ACCELERATOR NEUTRON SOURCE FOR BNCT -Present in KURRI and Future Prospects-. December 10 in VGH Taipei, Taiwan.

G. 知的所有権の取得状況
現在のところ無し。

Ⅲ. 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	書籍全体の著者名	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	“Pseudoprogession” 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
宮武伸一	BNCT による悪性脳腫瘍、頭頸部腫瘍の治療	川端信司、宮武伸一	臨床医とコメディカルのための「最新クリニカル PET」	先端医療技術研究所	東京	2010	207-210
井口 東郎	3.切除不能例に対する治療 B.インフォームド・コンセントのポイント	奥坂拓志、羽鳥隆	脳腫瘍診療ポケットガイド	医学書院	東京	2010	154-164
Han X-J, and Tomizawa K.	Protein Delivery	Lakshmipathy U., Thyagarajan B.	Primary and Stem Cells	WILEY	U.S.A.	2011	119-133
Yuh Sugii, Masaharu Seno, et al.	Clustering Genes, Tissues, Cells and Bioactive Chemicals by Sphere SOM	Josphat Igadwa Mwasiagi	Self Organizing Maps-Applications and Novel Algorithm Design	InTech	Croatia	2011	371-386
Haidong Tan, Masaharu Seno			Exploring the mechanism for biological evolution: DNA methyltransferase is the pushing power of DNA and protein evolution	Lambert Academic Publishing	Germany	2011	

主要論文	発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
○	Feng B., <u>Tomizawa K.</u> , <u>Miyatake S.</u> , <u>Seno M.</u> , <u>Matsui H.</u> et al	Delivery of sodium borocaptate to glioma cells using immunoliposome conjugated with anti-EGFR antibodies by ZZ-His.	Biomaterials	30	1746-1755	2009
	Takayama K., <u>Michiue H.</u> , <u>Tomizawa K.</u> , <u>Matsui H.</u> , <u>Futaki S.</u> , et al	Enhanced intracellular delivery using arginine-rich peptides by the addition of penetration accelerating sequences (Pas).	J Control Release	138(2)	128-133	2009
○	<u>Miyatake S.</u> , <u>Matsui H.</u> , <u>Ono K.</u> , et al	Pseudoprogression in boron neutron capture therapy for malignant gliomas and meningiomas.	Neuro-Oncology	11	430-436	2009
	Kawabata S., <u>Miyatake S.</u> , et al	Boron neutron capture therapy for newly diagnosed glioblastoma.	J Rad Res	50	51-60	2009
○	<u>Miyatake S.</u> , et al	Survival benefit of boron neutron capture therapy for recurrent malignant gliomas.	J Neurooncol	91	199-206	2009
	Kimura Y., <u>Miyatake S.</u> , 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
○	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膠腫の治療効果	定位放射線治療	13	23-30	2009
	<u>Miyatake S.</u> , et al	Intraoperative photo-dynamic diagnosis of brain tumors.	Brain Nerve	61	835-842	2009
	Kawabata S., <u>Miyatake S.</u> , et al	Survival benefit from boron neutron capture therapy for the newly diagnosed glioblastoma patients.	Appl Radiat Isot	67	S15-18	2009
	<u>Miyatake S.</u> , et al	Survival benefit of boron neutron capture therapy for recurrent malignant gliomas.	Appl Radiat Isot	67	S22-24	2009
	Kimura Y., <u>Miyatake S.</u> , et al	Boron neutron capture therapy for recurrent oral cancer and metastasis of cervical lymph node.	Appl Radiat Isot	67	S47-49	2009
	Ito Y., <u>Miyatake S.</u> , et al	Disposition of TF-PEG-Liposome-BSH in tumor-bearing mice.	Appl Radiat Isot	67	S109-110	2009
	Kashino G., <u>Ono K.</u> , et al	A Simple and Rapid Method for Measurement of ¹⁰ B-para-Boronophenylalanine in the Blood for Boron Neutron Capture Therapy Using Fluorescence Spectrophotometry.	J Radiat Res	50	377-382	2009

○	Suzuki M., <u>Ono K.</u> , et al	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
	Tanaka H., <u>Ono K.</u> , et al	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
○	Tanaka H., <u>Ono K.</u> , et al	Improvement of dose distribution in phantom by using epithermal neutron source based on the Be(p,n) reaction using a 30MeV proton cyclotron accelerator.	Appl Radiat Isot	67	S258-S261	2009
○	Noda M., <u>Iguchi H.</u> , et al	The role of immune cells in brain metastasis of lung cancer cells and neuron-tumor cell interaction.	Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova	95	1386-1396	2009
○	Maruta S., <u>Iguchi H.</u> , et al	A role for leukemia inhibitory factor in melanoma-induced bone metastasis.	Clin Exp Metastasis	26	133-141	2009
○	Doi H., <u>Iguchi H.</u> , et al	Primitive Neuroectodermal Tumor of the Pancreas.	Intern Med	48	329-333	2009
	仁科智裕、井口東郎	【ジェネラリストのためのがん診療エッセンス】知っておきたい7大がん 胃がん	JIM Journal of Integrated Medicine	19(12)	868-871	2009
○	Feng B, <u>Tomizawa K.</u> , <u>Michiue H.</u> , <u>Miyatake S.</u> , <u>Matsui H.</u> , et al	Development of a bifunctional immunoliposome system for combined drug delivery and imaging in vivo.	Biomaterials	31	4139-4145	2010
	Araki D., <u>Tomizawa K.</u> , <u>Matsui H.</u> , et al	Cell-penetrating D-isomer peptides of p53 C-terminus: Long-term inhibitory effect on the growth of bladder cancer.	Urology	75(4)	813-819	2010
	Yamashita T., <u>Miyatake S.</u> , et al	Asialoerythropoietin attenuates neuronal cell death in the hippocampal CA1 region after transient forebrain ischemia in a gerbil model.	Neurol Res	50	957-962	2010
○	宮武伸一	悪性脳腫瘍に対する最新放射線治療とその成績 -放射線治療における外科治療の役割-	脳神経外科ジャーナル	19	899-906	2010
	川端信司、宮武伸一	中性子捕捉療法 (新時代の脳腫瘍学 診断治療の最前線。V 脳腫瘍の治療 脳腫瘍の放射線治療)	日本臨牀	68 巻 増刊号 10	427-431	2010
	川端信司、宮武伸一	BNCTによる悪性脳腫瘍、頭頸部腫瘍の治療	臨床医とコメディカルのための「最新クリニカルPET」	先端医療技術研究所	207-210	2010
	Aoki T, <u>Miyatake S.</u> , 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

	Hamada N., <u>Ono K.</u> , et al	Recent advances in the biology of heavy-ion cancer therapy.	J Radiat Res	51(4)	365-383	2010
	Masunaga S., <u>Ono K.</u> , et al	Usefulness of Hexamethylenetetramine as an Adjuvant to Radiation and Cisplatin in the Treatment of Solid Tumors: its Independency of p53 Status.	J Radiat Res	51	27-35	2010
	Kinashi Y., <u>Ono K.</u> , et al	Ascorbic acid 2-glucoside reduces micronucleus induction in distant splenic T lymphocytes following head irradiation.	Mutation Research	695	69-74	2010
	Masunaga S., <u>Ono K.</u> , et al	Influence of manipulating hypoxia in solid tumors on the radiation dose-rate effect in vivo, with reference to that in the quiescent cell population.	Jpn J Radiol	28(2)	132-142	2010
	Masunaga S., <u>Ono K.</u> , et al	Evaluation of the Radiosensitivity of the Oxygenated Tumor Cell Fractions in Quiescent Cell Populations within Solid Tumors.	Radiat Res	174(4)	459-466	2010
	Inoue M., <u>Ono K.</u> , et al	Clinical effectiveness of boron neutron capture therapy for a recurrent malignant peripheral nerve sheath tumor in the mediastinum.	J Thorac Oncol	5(12)	2037-2038	2010
	小野公二, 他	加速器中性子源によるホウ素中性子捕捉療法の展望	映像情報 medical	42(12)	1028, 1038-41	2010
○	Nasu J., <u>Iguchi H.</u> , et al	A case of small undifferentiated intramucosal gastric cancer with lymph node metastasis.	Gastric Cancer	13(4)	264-266	2010
	仁科智裕、井口東郎	2章 分子標的薬の副作用マネジメント 9 消化器症状	消化器がん化学療法看護完全マスターBOOK (消化器外科 NURSING)	臨時増刊	224-233	2010
	仁科智裕、井口東郎	2章 分子標的薬の副作用マネジメント 10 消化器穿孔	消化器がん化学療法看護完全マスターBOOK (消化器外科 NURSING)	臨時増刊	234-238	2010
	井口東郎	診断と治療 (8)電解質異常	コンセンサス癌治療	9	36-39	2010
○	Hirai M., <u>Seno M.</u> , et al	E-selectin targeting to visualize tumors in vivo.	Contrast Media Mol Imaging	5(2)	70-77	2010
○	Hirai M., <u>Seno M.</u> , et al	Novel and simple loading procedure of cisplatin into liposomes and targeting tumor endothelial cells.	Int J Pharm	391	274-283	2010

○	Otani T., <u>Seno M.</u> , et al	Production of biologically active IgG hinge-tag soluble epidermal growth factor receptors (ErbB).	Biotechnol Lett	32	361-366	2010
○	Miyamoto R., <u>Futaki S.</u> , et al	Enhanced target-specific accumulation of radiolabeled antibodies by conjugating arginine-rich peptides as anchoring molecules.	Bioconjug Chem	21(11)	2031-2037	2010
	Feng B., <u>Tomizawa K.</u> , <u>Matsui H.</u>	Nanoparticle-based Drug Delivery Systems for Solid Brain Tumors.	Current Nanoscience	7(1)	47-54	2011
	Ogawa T., <u>Michiue H.</u> , <u>Matsui H.</u> , et al	Protein therapy using heme-oxygenase-1 fused to a polyarginine transduction domain attenuates cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage.	J Cereb Blood Flow Metab	31(11)	2231-42	2011
	Hiramatsu R., <u>Miyatake S.</u> , et al	Application of a novel boronated porphyrin (H ₂ OCP) as a dual sensitizer for both PDT and BNCT.	Lasers in Surgery & Medicine	43(1)	52-58	2011
	Miyata S., <u>Miyatake S.</u> , et al	Computed tomography imaging of transferrin targeting liposomes encapsulating both boron and iodine contrast agents by convection-enhanced delivery to F98 rat glioma for boron neutron capture therapy.	Neurosurgery	68(5)	1380-1387	2011
	Furuse M., <u>Miyatake S.</u> , et al	Repeated treatments with bevacizumab for recurrent radiation necrosis in patients with malignant brain tumors: a report of 2 cases.	J Neurooncol	102(3)	471-475	2011
	Andoh T., <u>Miyatake S.</u> , et al	Boron neutron capture therapy for clear cell sarcoma (CCS): Biodistribution study of p-borono-l-phenylalanine in CCS-bearing animal models.	Appl Radiat Isot	69(12)	1721-1724	2011
	Nonoguchi N., <u>Miyatake S.</u> , <u>Ono K.</u> , et al	The distribution of vascular endothelial growth factor-producing cells in clinical radiation necrosis of the brain: Pathological consideration of their potential roles.	J Neurooncol	105(2)	423-431	2011
	Kawabata S., <u>Miyatake S.</u> , <u>Ono K.</u> , et al	Phase II clinical study of boron neutron capture therapy combined with X-ray radiotherapy/ temozolomide in patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme -Study design and current status report.	Appl Radiat Isot	69	1796-1799	2011
	Takahashi K., <u>Miyatake S.</u> , et al	Enhanced expression of coproporphyrinogen oxidase in malignant brain tumors: CPOX expression and 5-ALA-induced fluorescence.	Neuro-Onocology	13(11)	1234-1243	2011
○	宮武伸一	II. 悪性脳腫瘍に対するホウ素中性子捕捉療法	癌と化学療法	38(6)	927-932	2011

○	川端信司、宮武伸一 他	硼素中性子捕捉療法について	PET journal	15	9-12	2011
	Fujita Y., <u>Ono K.</u> , et al	Induction of multinucleation in oral squamous cell carcinoma tissue with mutated p53 surviving boron neutron capture therapy.	Int J Radiat Biol	87(3)	293-301	2011
○	Tanaka H., <u>Ono K.</u> , et al	Experimental verification of beam characteristics for cyclotron- based epithermal neutron source (C-BENS).	Appl Radiat Isot	69	1642-1645	2011
○	Imoto M., <u>Ono K.</u> , et al	Evaluation for activities of component of Cyclotron-Based Epithermal Neutron Source (C-BENS) and the surface of concrete wall in irradiation room.	Appl Radiat Isot	69	1646-1648	2011
○	Ueda H., <u>Ono K.</u> , et al	The optimization study of Bonnersphere in the epi-thermal neutron irradiation field for BNCT.	Appl Radiat Isot	69	1657-1659	2011
○	Tsukamoto T., <u>Ono K.</u> , et al	A phantom experiment for the evaluation of whole body exposure during BNCT using cyclotron-based epithermal neutron source (C-BENS).	Appl Radiat Isot	69	1830-1833	2011
○	Okusaka T., <u>Iguchi H.</u> , et al	Phase II study of erlotinib plus gemcitabine in Japanese patients with unresectable pancreatic cancer.	Cancer Sci	102(2)	425-431	2011
○	Seike T., <u>Iguchi H.</u> , et al	Interaction between lung cancer cells and astrocytes via specific inflammatory cytokines in the microenvironment of brain metastasis.	Clin Exp Metastasis	28(1)	13-25	2011
○	Li A., <u>Tomizawa K.</u> , et al	Ciliary transition zone activation of phospho-Tctex-1 controls ciliary resorption, S-phase entry and fate of neural progenitors.	Nat. Cell Biol	13	402-411	2011
○	Miwa T., <u>Tomizawa K.</u> , et al	Protein transduction into the mouse otocyst utilizing arginine-rich cell penetrating peptides.	Neuroreport	22(18)	994-999	2011
○	Onishi M., <u>Date I.</u> , et al	Angiogenesis and invasion in glioma.	Brain Tumor Pathol	28	13-24	2011
○	Inoue S., <u>Date I.</u> , et al	Novel Animal Glioma Models that Separately Exhibit Two Different Invasive and Angiogenic Phenotypes of Human Glioblastomas.	World Neurosurg		印刷中	2011
○	Vaidyanath A., <u>Seno M.</u> , et al.	Enhanced internalization of ErbB2 in SK-BR-3 cells with multivalent forms of an artificial ligand.	J Cell Mol Med	15(11)	2525-2538	2011