

# 高精度放射線治療における 放射線生物学

本号の特集は、第34回高精度放射線外部照射部会学術大会のシンポジウム「高精度放射線治療における放射線生物学」でご発表頂いた先生方にご寄稿頂きました。小野公二先生にはホウ素中性子捕獲療法 (BNCT)、尾池貴洋先生には重粒子線、渡邊翼先生には免疫療法に重点を置いて解説して頂きました。臨床応用の進む高精度放射線治療と新たな知見を生み出す放射線生物学の協働により有効な治療法の開発が進行している現在、第一人者の先生方による解説はこれからの放射線治療を考える上で有用なものと思います。この特集が読者の皆様のお役に立ちますと幸いです。

斗南病院 鬼丸力也

## ホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) の放射線生物学

・核心は CBE (Compound Biological Effectiveness) に在る・

●大阪医科薬科大学 BNCT 共同臨床研究所 小野公二

BNCTでは4種の放射線量が混在している。 $^{10}\text{B}(n, \alpha) ^7\text{Li}$ 反応の線量 ( $^{10}\text{B}$ 線量) および中性子が水素および窒素と反応した線量、そして随伴の $\gamma$ 線量である。 $^{10}\text{B}$ 線量の他は線量の把握が比較的容易で、反応相手の原子も均一に分布しているので、RBEを乗じてX線等効果線量に変換できる。

中性子は起源が研究炉であろうと加速器であろうとエネルギースペクトルは連続で、装置によって異なっている。生体組織では水素原子が最多であるので、中性子は水素原子核 (陽子) と衝突し、叩き出された陽子がDNA鎖を切断し細胞を死に導く。陽子に与えられるエネルギーは入射中性子の其れで決まる。陽子のエネルギーが高くなると飛程も其れに伴って長くなる。この関係は高エネルギー領域では略比例する。しかし、低エネルギー域では、飛程は極端に短くなり、LETとRBEは著しく大きくなる。低速中性子のRBEが高速中性子の其れよりも大きいのはこの為である。更に、低速の熱中性子では、 $^{14}\text{N}(n,p) ^{14}\text{C}$ 反応で陽子が放出される。この陽子はエネルギーが584.3 keV、LETは50.4 keV/ $\mu\text{m}$ で臨床利用の炭素イオン線の其れと同等である。しかし、 $^{14}\text{N}(n,p) ^{14}\text{C}$ 反応全体のRBEは炭素イオン線よりも大きい。其れは $^{14}\text{C}$ の飛程が0.25  $\mu\text{m}$ でLETが166.8 keV/ $\mu\text{m}$ の故である。

方や、 $^{10}\text{B}$ 線量の生物学的等価線量への変換は、晩発障害線量で特に難しい。元々、 $^{10}\text{B}$ 薬剤の細胞レベルの濃度を正確に把握することが困難な上に、集積が細胞種によって異なり、かつ、晩発障害では

複数の細胞集団での生物効果が複合しているためである。その為、換算係数は組織によって異なる。斯うした難しさを勘案して、BNCTではRBEに類似の概念のCBEが提唱されている (Morris GM, et al. 1994, Radiother Oncol)。CBE factor = [X線量 - (中性子ビーム線量  $\times$  RBE)] /  $^{10}\text{B}$ 線量、ここで線量は任意の生物影響が同頻度で生じる量である。亦、中性子ビーム線量のRBEはビーム総体に対するRBEである。善く研究されている放射線脳壊死のCBE値を、放射線脊髄症を代替指標として求めると、血管外の脳組織に浸透できないBorocaptate (BSH) では0.36で定値である (Ono K, 2016 JRR, 図1)。

一方、Boronophenylalanine (BPA) のCBEは正常脳組織と血液の $^{10}\text{B}$ 濃度比N/Bで決まる函数、CBE =  $1.65 \times (N/B) + 0.32$ 、となる (Ono K, 2016 JRR, 図1)。N/B=0の場合、BSHとBPAのCBE値は略等しくなる。このことは両者の関係を予想せずに行われた実験結果から導出されており、BPAにおけるCBEの式の妥当性を期せずして保証することになった。究極の標的は血管 (内皮) としても、血管外脳組織の線量が非常に大きく関与している。その病理学的機序の詳細は今後の研究課題である。

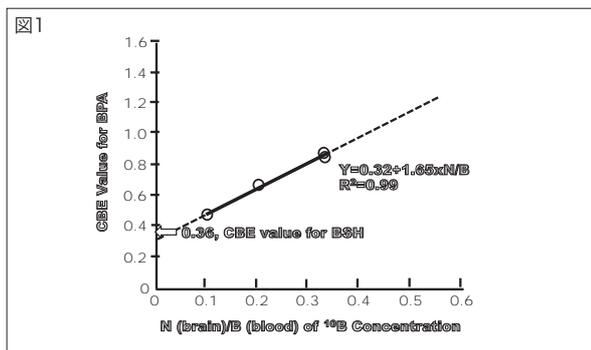
多くの晩期障害の機序では血管損傷が主体として考えられている。皮膚の壊死・潰瘍を指標にBSHとBPAのCBE値を求めると、両薬剤で略等しく、その値はBSHの放射線脊髄症での値の略2倍である。BSHとBPAが等しく存在し得るのは血中の

みであることから、皮膚の壊死・潰瘍を引き起こす標的は血管（内皮）と推定される (Morris GM, et al. 1994, Radiother Oncol)。この考えを典型的な晩期障害臓器である肺にも拡張して考察すると、 $CBE=0.32+N/B \times 1.80$ の式が導出できる (Ono K, 2016 JRR)。最近の研究で肝臓の急性障害のCBE値の再検討が行われ、BPAのCBE値としてかつて報告された値は過大評価であったことが示されている (Ono K, et al. 2020 ARI)。これまでの研究で評価済みの組織における値、式を表に示す。

腫瘍では別の複雑さがある。各線量成分にRBE値や通常よく使われているCBEの固定値3.8を乗じて合算した生物学的等価線量は不自然に大きく、腫瘍の反応とも整合しない (Gonzales SJ, et al. 2017 Phys Med Biol)。BNCTの臨床研究の報告を観ると、線量と効果の関係は明瞭とは言えない。脳腫瘍では、Finlandの第I相試験の報告で、PTV線量34Gy-Eを境に生存率に差を認めているが、線量の基礎となる腫瘍の<sup>10</sup>B濃度は血中<sup>10</sup>B濃度の3.5倍と仮定しており、統計的解析もなく科学的検証に耐えない (Kankaanranta L, et al. 2011 IJROBP)。我が国の脳腫瘍BNCTの報告でも効果の明確な線量依存性は認められていない。理由の一端はFBPA PETが未承認検査のため、患者個々の腫瘍<sup>10</sup>B濃度が把握できない点にある。最近の台湾からの報告では、全例で事前のFBPA PETを実施し、其れを基に<sup>10</sup>B濃度を推定し線量を計算している。この報告では25Gy-Eを境にBNCT後の生存率が相違すると在る (Chen Y-W, et al. 2021 biology)。但し、T/Bの基礎になる腫瘍の<sup>10</sup>B濃度の指標にSUVmeanを用いており、その妥当性について更なる検討が必要と考える。細胞レベルで集積するBPAの特性に

鑑みるとSUVmaxが妥当ではないかとの異見が在る。我が国の頭頸部癌BNCTの臨床研究でも線量との関係は明瞭でない (Aihra T, et al. 2016 Otolaryngology)。

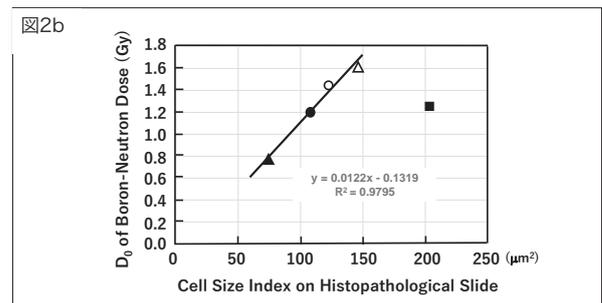
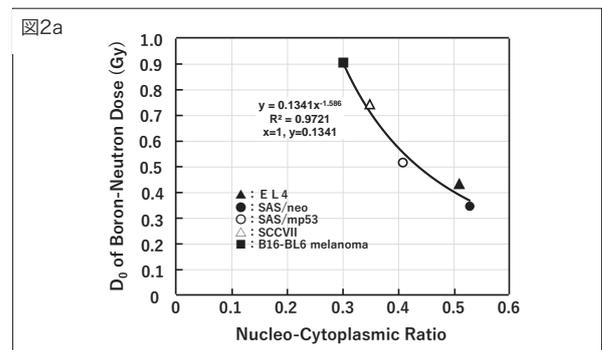
BNCTの2粒子はLET-RBE関係のover kill域に在り、物理線量が等しければ生物効果に差を想定し難いと考えるのが普通である。京大複合研の症例で腫瘍の物理線量構成を見ると<sup>10</sup>B線量が90%以上を占めている。これは「<sup>10</sup>B線量の生物効果には腫瘍による差がない」との考えの再検討を迫る。そこで、発表済み論文のデータを再解析すると、D<sub>0</sub>に3倍近い差が見られた。考究した結果、粒子が細胞核にヒットする確率が、細胞の核 (N) /細胞質 (C) 体積比や細胞サイズに依って大きく変わること気付いた。BPAではN/CからD<sub>0</sub>を高精度に推定する式： $D_0=0.1341 \times (N/C)^{-1.586}$ が、BSHでは細胞サイズで決まる式、 $D_0=0.0122X-0.1319$  (X:細胞サイズ指標 $\mu m^2$ ) が導出できた (Ono K, et al. 2019 JRR 図2 a,b)。この様に、患者の細胞に特徴的な指標から、その細胞の<sup>10</sup>B物理線量におけるD<sub>0</sub>を決め得ることが判った。そこで、Gy/D<sub>0</sub>をABE (Absolute Effectiveness) factorと定義し、この値を<sup>10</sup>B物理線量に乗じた値をABE線量とする感受性の絶対評価に基づく新たな生物学的等価線量の概念を提唱した (Ono K, et al. 2019 JRR)。その使用法は、例えばD<sub>0</sub> = 0.5Gyの場合、ABE factor=2.0となり、<sup>10</sup>B物理線量10Gyの生物学等価線量は20 ABE Gyで、その意味する処は、その細胞の生存率をe-20まで低下させ得ると云うことである。このABE線量で、先の線量効果関係が明瞭でなかった頭頸部がんBNCT症例の線量-効果関係を再解析したところ、CR症例とnon-CR症例を巧く弁別できた (Aihara T,



中性子のRBEとBPAおよびBSHの諸組織に対するCBE値

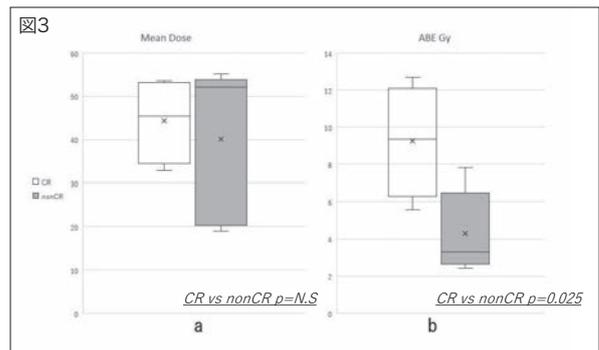
Radiation	Tumor	Brain	Skin	Mucosa	Lung	Liver
Thermal N.	3	3	3	3	3	3
Epithermal N.	3	3	3	3	3	3
<sup>10</sup> B(n,α) <sup>7</sup> Li						
BPA	3.8 ?	0.32+ N/Bx1.65	2.5 (0.73)	4.9	0.23+ N/Bx1.80	4~1 ;0 Gy~4.5Gy (?)
BSH	2.5 ?	0.36	0.8 (0.86)	0.3	?	0.9 (?)
γ-ray	1	1	1	1	1	1

(. . .) : CBE factors for late response



et al. 2020 ARI 図3)。

$D_0$ を細胞の特徴から推定する手法は腫瘍反応の予測のみならず、正常組織の反応の解析にも応用できる可能性が高い。長年、血管のCBE値が小さい点をどのように説明するか悩んでいたが、血管内皮細胞のN/Cは0.25程度で、推定されるホウ素物理線量の $D_0$ はX線のそれに近いことが判った。今後の臨床BNCTの発展を考えたとき、適応拡大のためには、対象となる腫瘍の正常組織影響を明らかにしておく必要がある。その意味で、未だCBE未確定の組織が多く、今後の研究の核心はそこにある、と考えている。

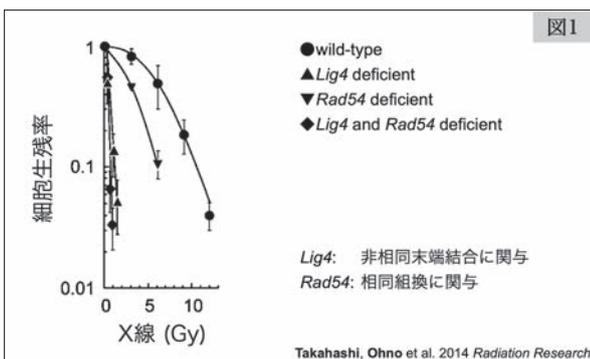


## 重粒子線の抗腫瘍効果の理解とさらなる個別最適化を目指して

●群馬大学腫瘍放射線学 尾池 貴洋

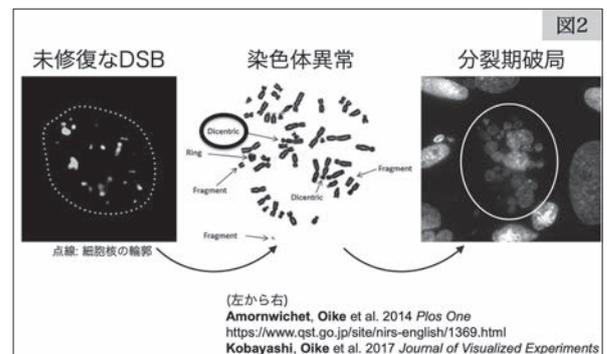
群馬大学の尾池貴洋と申します。本発表においては主に炭素イオン線がX線と比較して高い殺細胞効果を発揮する生物学的な機序について基本的事項から新しい知見まで順にご紹介しました。本稿は同演題発表の追体験を目的とし、スライドも含めて発表内容をほぼそのままご紹介いたします。

炭素イオン線の最大の特徴は高LET放射線であるということです。LET (linear energy transfer) は、日本語では線エネルギー付与といいますが、読んで字の如く、ビーム飛程の単位長さに与えるエネルギー量を意味します。すなわち高LETとは粒子の飛跡上に高い密度で電離が発生するという特徴そのものを表しています。電離放射線が誘導する主要な致死損傷はDNA二重鎖切断 (double strand breaks: DSBs) であると考えられています。このことはDSB修復経路である非相同末端結合ならびに相同組み換えに参与する遺伝子の欠損処理により細胞のX線感受性が著しく増加するという実験データにより支持されます (図1)。

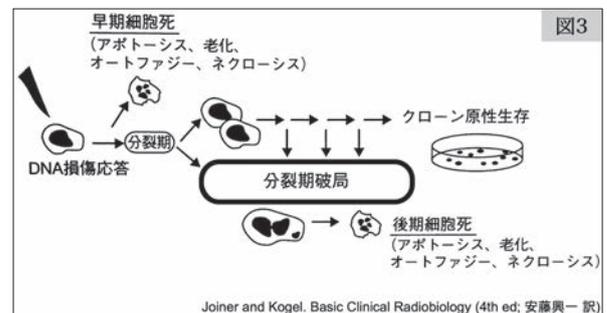


がん細胞が未修復なDSBsをもったまま細胞周期を進

展させることにより染色体異常が誘導されると考えられています。なかでも二動原体 (dicentric) などの致死的な染色体異常を生じたがん細胞はM期を経て分裂期破局 (mitotic catastrophe) という細胞死をきたすと考えられています (図2)。

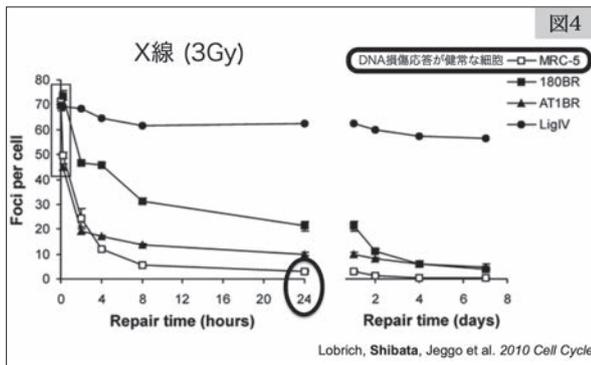


電離放射線が誘導する様々な細胞死はその大部分が分裂期破局を経由して生じると考えられています (図3)。

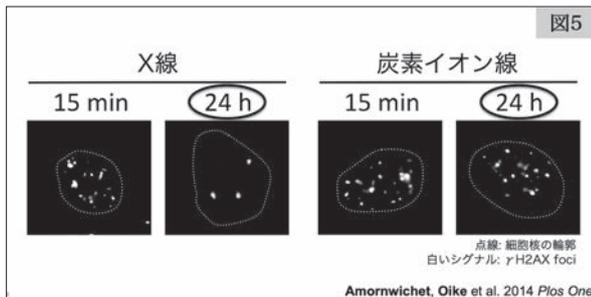


しかし、DNA損傷応答が健全な細胞においては、X線が誘導するDSBsの大部分は照射後24時間以内に修復されてしまいます。このことはDSBsの指標である $\gamma$ H2AX fociの1細胞あたりの数がX線照射24時

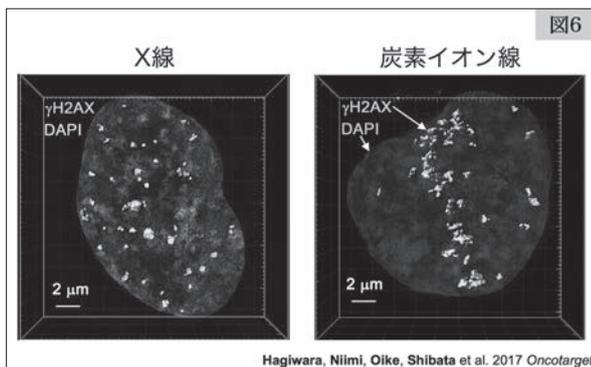
間後に約95%減少するという実験データにより支持されます(図4)。



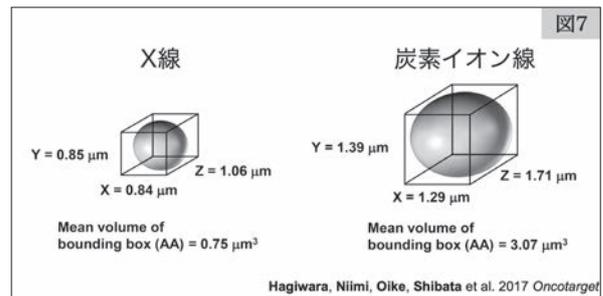
炭素イオン線とX線の生物効果の大きな違いはDSBsの修復動態に起因すると考えられています。このことは、X線とは対照的に、炭素イオン線により誘導されたDSBsの多くが照射24時間後にも残存するという実験データにより支持されます(図5)。



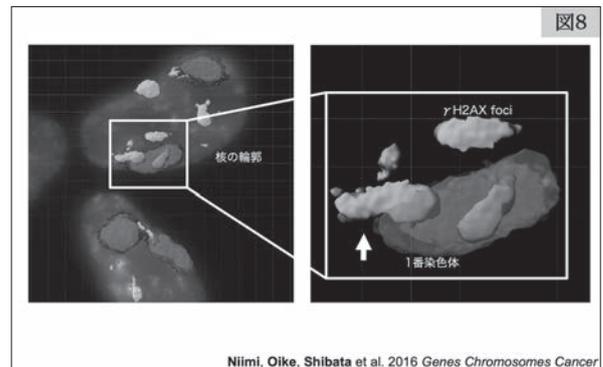
1μm以下の解像度をもつ3D-SIM顕微鏡を用いると、炭素イオン線誘導DSBsは飛跡に沿った複雑な形状を呈することがわかります(図6)。



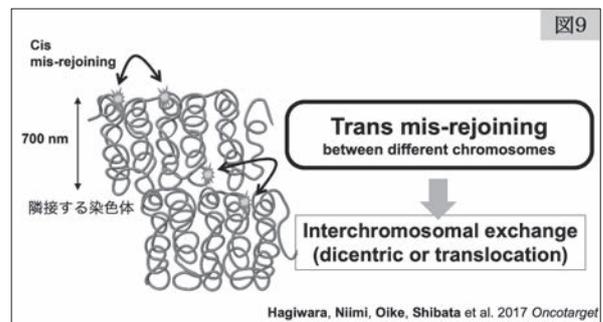
また、3次元再構成したγH2AX fociシグナルの解析から、炭素イオン線誘導DSBsの体積はX線誘導DSBsのそれと比較して大きいことが示唆されます(図7)。



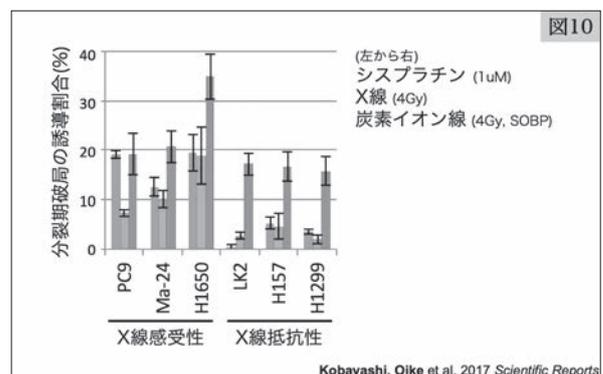
その大きさゆえに、炭素イオン線はしばしば隣接する染色体を跨ぐDSBsを誘導します(図8: 矢印)。



このようにDSBsが複数の染色体上に近接して存在すると、修復の過程で誤った再結合(mis-rejoining)により二動原体などの致死的な染色体異常が誘導される可能性が高まると考えられます(図9)。

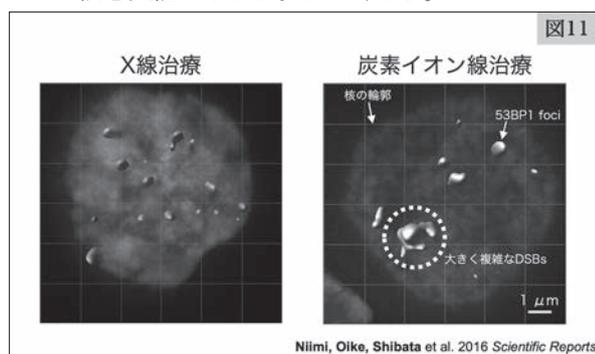


結果として炭素イオン線はX線、シスプラチンなどの一般的ながん治療への内因的応答活性に依らず高い割合で分裂期破局を誘導します(図10)。



これまでご紹介したデータは全て培養細胞実験によっ

て得られたものであり、これらの事象が実際の炭素イオン線治療で生じている証拠はありませんでした。そこで我々は患者から初回照射直後に取得した腫瘍検体を3D-SIM顕微鏡を用いて解析し、炭素イオン線治療症例におけるDSB指標53BP1 fociの体積がX線治療症例と比較して有意に大きいことを見出しました(図11)。このデータは炭素イオン線治療の強い抗腫瘍効果の初めての概念実証であると考えております。



以上から、高LET放射線である炭素イオン線は、大きく複雑で修復困難なDSBsを誘導し、致死的な染色体異常の発生を介して効率的に分裂期破局を誘導することで高い殺細胞効果を発揮すると総括されます。炭素イオン線の生物学的利点であるDSBsの修復困難性はLETに依存性であり、一方で臨床使用される炭素イオン線は多彩なLETのビームを含むことから、現在は臨床線量Gy (RBE)により規格化されている炭素イオン線の治療計画をLETプロファイルの観点から解析・変調することにより、炭素イオン線治療のさらなる個別最適化が推進されると期待し、現在鋭意研究を進めています。

この度は貴重な発表の機会をいただきましたことを京都大学・溝脇尚志先生、斗南病院・鬼丸力也先生に深く御礼申し上げます。演題発表のご推薦をいただきましたことを京都大学・吉村通央先生、QST病院・若月優先生に御礼申し上げます。

## 放射線の免疫賦活作用に関する考察

●京都大学複合原子力科学研究所、京都大学白眉センター（兼務） 渡邊 翼

### はじめに

放射線の抗腫瘍効果は直接の殺細胞効果以外にも免疫反応が関与し、また放射線が宿主の免疫機能に正の影響も与えることが分かっている。本稿では主に基礎研究の話題として、以下の3点に着目して考察したい。1点目は腫瘍量と免疫量の関係について、2点目は免疫細胞の放射線感受性について、3点目は免疫療法時代における高精度照射の意義についてである。

### 1点目：総腫瘍量と免疫の“量”の関係

放射線と免疫機能の関係を考える上で個人的に一番大切だと考えていることは、腫瘍量と免疫の“量”との関係である。一定数の腫瘍細胞がゲル中にある状態で、腫瘍抗原特異的に反応するT細胞を投与した場合の腫瘍細胞への治療効果は共培養するT細胞の数によって異なるという研究結果が発表されている(Budhu et al. J Exp Med 2010)。つまり免疫により腫瘍を根治するためには、腫瘍数に対して相対的に必要な免疫細胞の目安が存在する。これを「critical T-cell concentration」という概念で提唱されている。臨床例でも免疫療法の効果予測因子として腫瘍サイズが指摘されており(Joseph et al. Clinical Cancer Res 2018)、腫瘍数に対する相対的な免疫

細胞の量的・質的な働きは腫瘍の根治に重要であると考えられる。

この観点から放射線治療について考え直すと、何より放射線の直接の殺細胞効果が腫瘍数を減らし、免疫細胞の量的・質的な力に加勢する働きがあるとも捉えられる。これは放射線治療のセントラルドグマとも言うべき根治線量を大事にしていくという考え方の延長線上にある放射線の免疫賦活作用であるように思う。

### 2点目：免疫細胞の放射線感受性について

2点目は免疫細胞の放射線感受性についてである。リンパ組織は分裂が盛んで放射線感受性が高いことは古くから知られる(Bergonie J, Tribondeau L. Comptes-rendus de l'Academie des Sciences (Paris) 1906)。従って放射線照射の負の影響として免疫細胞を放射線により殺してしまうのではないかとこの考えが、未だ根強く存在する。

活性化したリンパ球は放射線に強いことは50年以上昔から知られている(Robert et al. Journal of the National Cancer Institute 1964)。通常のリンパ球は約5Gyで生存割合が0%であるのに対して、Phytohemagglutininによりリンパ球を刺激すると約10Gy照射しても30%程度も残存し、約20Gyを照射しても全滅しない。

腫瘍組織内のT細胞は腫瘍を攻撃すべく活性化されているはずであり、ベルゴニー・トリボンドの法則をそのまま腫瘍内浸潤T細胞に当てはめることは法則の誤用である。実際に腫瘍へ照射後に、腫瘍内に浸潤している各種免疫細胞の経時的な量的変化を観察した基礎研究結果を見ると、一般に考えられているよりもはるかに放射線照射後も免疫細胞は残存していることがわかる (Liufu et al. J Clin Invest 2014)。また、量的変化だけでなく照射後の免疫細胞の機能についても、最近の報告では放射線照射後も残存する腫瘍内リンパ球の機能が保たれていることも報告されている (Ainhua et al. Nat Com 2019)。確かに一般にリンパ組織は放射線感受性が高い。加えて、その放射線感受性は細胞それぞれの種類や活性化状態などにも大きく依存するという視点も重要である。

### 3点目：免疫療法時代における高精度放射線治療の意義について

免疫療法時代における高精度放射線治療の意義として最後に2点の基礎研究結果を紹介したい。1つ目はリンパ領域の照射について、2つ目は肝転移の制御が重要である可能性が示唆されている点である。まず1点目は、リンパ節は照射をしない方がやはり免疫療法の効果が高い (Marciscano AE et al. Clin Cancer Res 2018, Xuanwei Zhang et al. IJROBP 2019)。リスクに応じた患者層別化が必要ではあるが、免疫療法併用を前提とする場合にリンパ節を積極的に照射しない選択肢はデメリット回避だけでなくメリットにもなりうる戦略である。2点目については、肝転移があると免疫療法の治療効果が悪い可能性は以前より示唆されていた (Joseph RW et al. Clin Cancer Res 2018)。近年、肝転移巣中にはFas ligand+マクロファージが多く存在し、血流のついで循環してくる腫瘍抗原特異的T細胞を肝転移巣でアポトーシスさせていることが示唆された (Jiali Yu et al. Nat Med 2021)。さらに、肝転移巣に放射線治療を行うことによりこれらマクロファージの量を減らすことで循環するT細胞のアポトーシスが減り治療効果改善に役立つことも同研究結果として示されている。高精度放射線治療はやはり免疫療法併用と相性が良いというエビデンスが積み重なってきており、照射戦略を立案する上でこれら基礎研究の結果も考慮する価値があると考えられる。

### アブスコパル効果とどのように折り合いをつけるべきか？

アブスコパル効果とは局所の腫瘍への放射線照射が免疫機能を介して非照射部位へも抗腫瘍効果を表す現象である。私は学位取得後フライブルク大学に留学し、放射線の免疫反応についての基礎研究・臨床研究を行い、帰国後も放射線の免疫反応について

の基礎研究を続けている。留学中にアブスコパル効果の基礎研究・臨床研究も行い、実際に経験して存在そのものについてはやはりあるらしいと感じてはいるが、免疫療法が普及した現在においても尚、劇的なアブスコパル効果を経験することは未だに少ない (Abuodeh Y et al. Curr Probl Cancer 2016; 40: 25)。個人的にはアブスコパル効果をあまりに期待しすぎたり誇張しすぎることもまた、腫瘍への根治線量や照射範囲と向き合う姿勢を蔑ろにするような考えになってしまう場合もあるような気がする。アブスコパル効果を信じながらも、今まで通り目の前の患者にとっての最善の照射線量と照射範囲をきちんと考えていく方針の重要性は免疫療法時代となっても変わりはないはずである。今は未だアブスコパル効果の概念や基礎研究が先行し、実臨床での戦略と調和が完全にとれているわけではない状態であるかもしれない。この背景としては百数十keVのX線照射装置で行う照射条件の制約やSPF環境で飼育された週齢の若いマウスが用いられることが多いなど特殊な条件下で行う動物実験と臨床との条件のギャップも関わっているのではないかと感じる。現在様々な免疫療法と定位照射とを組み合わせた臨床研究が数多く進められており (Spina et al. Seminars in Radiation Oncology 2021;31:205)、基礎研究の知見との折り合いや新たな課題が少しずつ明らかになっていくと期待している。

### まとめ

最後に以上の要点をまとめて終わりとしたい。

- 1点目、腫瘍量と相対的な免疫の量には相関があり、放射線治療の直接の殺細胞効果自体が免疫を助ける働きがあると考えられる。
- 2点目、免疫細胞の放射線感受性は活性化状態や免疫細胞の種類により大きく異なり一概に免疫細胞は放射線で死ぬと考えることは単純化しすぎている。
- 3点目は免疫療法時代における高精度照射の意義を支持する基礎研究結果が続々と出ており、今後の方向性を示すものとする。