JAERI-Research
2002-011

JP0250265

JRR-4熱外中性子ビームのin vitro生物学的効果

ーフリービーム条件並びにファントム条件での測定ー

(協力研究)

2002年5月

山本　哲哉*・山本　和喜・松村　明*・熊田　博明
岸　敏明・堀　直彦・鳥居　義也・堀口　洋二・能勢　忠男*

日本原子力研究所
Japan Atomic Energy Research Institute

本レポートは、日本原子力研究所が不定期に公刊している研究報告書です。
入手の問合わせは、日本原子力研究所研究情報部研究情報課（〒319-1195　茨城県那珂郡東海村）あて、お申し越し下さい。なお、このほかに財団法人原子力弘済会資料センター（〒319-1195　茨城県那珂郡東海村日本原子力研究所内）で複写による実費頒布を行っております。

This report is issued irregularly.
Inquiries about availability of the reports should be addressed to Research Information Division, Department of Intellectual Resources, Japan Atomic Energy Research Institute, Tokai-mura, Naka-gun, Ibaraki-ken 〒319-1195, Japan.

© Japan Atomic Energy Research Institute, 2002
編集兼発行　日本原子力研究所

JRR-4 熱外中性子ビームの *in vitro* 生物学的効果
—フリービーム条件並びにファントム条件での測定—
(協力研究)

日本原子力研究所東海研究所研究炉部
山本 哲哉*・山本 和喜・松村 明*・熊田 博明・
岸 敏明・堀 直彦・鳥居 義也・堀口 洋二・能勢 忠男*

(2002年4月1日受理)

本研究では、JRR-4 熱外中性子ビームに対する初めての放射線生物学的評価によりその特性を明らかにし、熱外中性子ビームによる開頭 BNCT に向けた課題と方向性について検討する。熱外中性子ビームについて、フリービームおよび水ファントム内照射での物理線量測定並びに *in vitro* 生存率測定（コロニー形成法）を行い、BNCT における各線量成分(速中性子線量、窒素線量、γ線量、ホウ素線量)とそれぞれの生物学的効果比($RBE_{neutron}$ 、RBE_{beam} 、CBE_{boron})を算出し、混合中性子ビーム及び従来の熱中性子線主体の熱中性子ビームと比較した。ホウ素線量に対する生物学的効果比 CBE_{boron} では、ホウ素化合物による違いも検討に加えた。

フリービーム条件では、^{10}B 存在・非存在下の全ての細胞生存率測定において、同一物理線量に対して熱外中性子ビームで最も高い細胞致死効果を認めた。JRR-4 熱外中性子ビームモード（熱外ビーム）、熱中性子ビームモードⅠ（混合ビーム）、熱中性子ビームモードⅡ（熱ビーム）のそれぞれに対するビーム単独の生物学的効果比 RBE_{beam} 値は 1.22±0.16、1.23±0.16、1.21±0.16、速中性子線量ならびに窒素線量に対する生物学的効果比 $RBE_{neutron}$ 値は 2.50±0.32、2.34±0.30、2.17±0.28、CBE_{boron} 値は 3.99±0.24、3.04±0.19、1.43±0.08 であった。また、熱ビームを用いて測定した各種ホウ素化合物についての CBE_{boron} 値は、ホウ酸、BSH、BPA それぞれに対し 1.41、0.61、1.60 であった。ファントム照射実験において、熱外ビームは混合ビームと比較して、同等の熱中性子線量が 10mm 程度深い位置で観察され、生存率でも深部における優位性を認めた。各線量成分に対する生物学的効果比は用いるビームによって、また深度によっても変化することが明らかとなった。

従来 BNCT で用いられてきた熱中性子ビームに比べ熱外中性子ビームは高い生物効果を示し、また治療可能な領域が約 10 mm 深い位置まで拡大することから、治療成績の向上に結びつくものと期待される。

本研究は筑波大学との協力研究のもと実施された。

東海研究所：〒319-1195　茨城県那珂郡東海村白方白根 2-4
＊筑波大学

In vitro Biological Effectiveness of JRR-4 Epithermal Neutron Beam
- Experiment under Free Air Beam and in Water Phantom -
(Cooperative Research)

Tetsuya YAMAMOTO*, Kazuyoshi YAMAMOTO, Akira MATSUMURA*,Hiroaki KUMADA, Toshiaki KISHI, Naohiko HORI, Yoshiya TORII, Yoji HORIGUCHI and Tadao NOSE*

Department of Research Reactor
Tokai Research Establishment
Japan Atomic Energy Research Institute
Tokai-mura, Naka-gun, Ibaraki-ken

(Received April 1,2002)

The surviving curve and the biological effectiveness factor of dose components generated in boron neutron capture therapy (BNCT) were separately determined in neutron beams at Japan Research Reactor No.4. Surviving fraction of V79 Chinese hamster cell with or without ^{10}B was obtained using an epithermal neutron beam (ENB), a mixed thermal-epithermal neutron beam (TNB-1), and a thermal neutron beam(TNB-2), which were used or planned to use for BNCT clinical trial. The cell killing effect of these neutron beams with or without the presence of ^{10}B depended highly on the neutron beam used, according to the epithermal and fast neutron content in the beam. The biological effectiveness factor values of the boron capture reaction for ENB, TNB-1 and TNB-2 were 3.99 ± 0.24, 3.04 ± 0.19 and 1.43 ± 0.08, respectively. The biological effectiveness factor values of the high-LET dose components based on the hydrogen recoils and the nitrogen capture reaction were 2.50 ± 0.32, 2.34 ± 0.30 and 2.17 ± 0.28 for ENB, TNB-1 and TNB-2, respectively. The biological effectiveness factor values of the neutron and photon components were 1.22 ± 0.16, 1.23 ± 0.16, and 1.21 ± 0.16, respectively. The depth function of biological effectiveness factor in water phantom and the difference in biological effectiveness factor among boron compounds were also determined. The experimental determination of biological effectiveness factor outlined in this paper is applicable to the dose calculation for each dose component of the neutron beams and contribute to an accurate biological effectiveness factor as comparison with a neutron beam at a different facility employed in ongoing and planned BNCT clinical trials.

Keywords: Boron Neutron Capture Therapy, Biological Experiment, JRR-4, *in vitro*, Water Phantom, Surviving Fraction, Colony Formation Assay, Neutron Beam

---

This experiment was performed by cooperative research with the University of Tsukuba.

* University of Tsukuba

目 次

1. はじめに …… 1
1.1 BNCTの原理 …… 1
1.1.1 BNCT臨床研究で用いられるホウ素化合物 …… 2
1.2 BNCT臨床研究で用いられる放射線生物学的線量評価 …… 3
1.2.1 BNCTにおける ^{10}B 非依存性放射線量 …… 3
1.2.2 BNCTで用いられる血管線量(VD)とX(γ)線荷重線量(WD) …… 3
1.2.3 BNCTで線量の評価に用いられる実験手法とその意義 …… 5
2. 線量の評価方法 …… 7
2.1 中性子ビームの特性 …… 7
2.1.1 JRR-4中性子ビームの特性 …… 7
2.1.2 KUR中性子ビームの特性 …… 7
2.2 各物理線量の算出方法 …… 7
2.3 生物効果比の見積方法 …… 8
2.3.1 *CBE* 及び *RBE* の見積方法 …… 9
2.3.2 γ線等価線量の見積方法 …… 10
3. フリービーム細胞照射による *in vitro* 生物学的効果比 …… 11
3.1 ホウ酸を用いた実験 …… 11
3.1.1 細胞照射の実験条件 …… 11
3.1.2 細胞生存率の統計処理 …… 12
3.2 ホウ酸に対するRBE、CBEの測定結果 …… 12
4. ホウ素化合物のCompound factor測定 …… 14
4.1 細胞照射の実験条件 …… 14
4.2 ホウ素化合物のCompound factor測定結果と評価 …… 15
5. ファントム照射における *in vitro* 生物学的効果比 …… 17
5.1 ファントム内細胞照射の実験方法 …… 17
5.1.1 細胞照射の条件 …… 17
5.1.2 統計処理 …… 17
5.2 ファントム照射における *in vitro* 生物学的効果比の結果 …… 17
5.2.1 ファントム内深度による生存率、熱中性子線量、γ線量の変化 …… 17
5.2.2 生物学的効果比の深部方向変化 …… 18
6. *in vitro* 細胞生存率に基づくγ線等価線量による評価 …… 20
6.1 対象と方法 …… 20
6.1.1 中性子ビーム …… 20
6.1.2 細胞照射 …… 20
6.1.3 統計処理 …… 20
6.2 *in vitro* 細胞生存率に基づくγ線等価線量の測定結果及び評価 …… 20
6.2.1 γ線等価線量と細胞種による違い …… 21

6.2.2 BNCTでの各線量成分のγ線等価線量 …… 21
7. 臨床研究からみた考察 …… 22
7.1 ファントム照射実験結果からみた臨床BNCT …… 22
7.2 ビーム中心軸上の物理線量と熱外ビームによる熱中性子分布の改善 …… 22
8. 結論 …… 24
8.1 フリービーム条件でのRBE及びCBE …… 24
8.2 臨床に用いられるホウ素化合物のCBE …… 24
8.3 ファントム内のRBE及びCBEの分布 …… 24
8.4 ファントム内のγ線等価線量の評価 …… 25
8.5 臨床研究からの評価 …… 25
8.6 まとめ …… 26
謝 辞 …… 26
参考文献 …… 27
付録 回転照射装置の均一照射性能評価 …… 55

Contents

1. Introduction ····· 1
1.1 Rationale of BNCT ····· 1
1.1.1 Boron Compounds for Clinical Study of BNCT ····· 2
1.2 Radiobiological Dosimetry on BNCT Medical Study ····· 3
1.2.1 ^{10}B-Independent Dose in BNCT ····· 3
1.2.2 Vascular Dose (VD) and Weighed Dose (WD) for BNCT ····· 3
1.2.3 Importance of Measurement Methods for Dose Estimation of BNCT ····· 5
2. Dose Estimation Methods ····· 7
2.1 Characteristics of Neutron Beams ····· 7
2.1.1 JRR-4 Neutron Beams Performance ····· 7
2.1.2 KUR Neutron Beam Performance ····· 7
2.2 Physical Doses ····· 7
2.3 Relative Biological Effectiveness ····· 8
2.3.1 Relative Biological Effectiveness and Compounds Biological Effectiveness ····· 9
2.3.2 Gamma Equivalent Dose ····· 10
3. Relative Biological Effectiveness Derived from Free-in-air BNCT experiments ····· 11
3.1 Experiments using V79 Cells in Boric Acid with Free Air Beam ····· 11
3.1.1 Materials and Methods ····· 11
3.1.2 Statistics Analysis for Surviving Fraction ····· 12
3.2 Results and Discussion on RBE and CBE for JRR4 Neutron Beams ····· 12
4. Compound Factor of Boron Compounds ····· 14
4.1 Materials and Methods ····· 14
4.2 Results and Discussion of Compound Factor for JRR4 Neutron Beams ····· 15
5. Relative Biological Effectiveness Derived from In-phantom BNCT Experiments ····· 17
5.1 Method of Irradiation Experiments with Phantom ····· 17
5.1.1 Materials and Methods ····· 17
5.1.2 Statistic Analysis ····· 17
5.2 Results and Discussion of *in vitro* Relative Biological Effectiveness ····· 17
5.2.1 Profile of Surviving Fraction, Neutron Dose and Gamma Dose ····· 17
5.2.2 Profile of Relative Biological Effectiveness in the Phantom ····· 18
6. Estimation of Gamma Equivalent Dose by *in vitro* Surviving Data ····· 20
6.1 Materials and Methods ····· 20
6.1.1 Neutron Beams ····· 20
6.1.2 Materials and Methods ····· 20
6.1.3 Statistic Analysis ····· 20
6.2 Results and Discussion of *in vitro* Gamma Equivalent Dose ····· 20
6.2.1 Gamma Equivalent Dose of Different Cell Lines ····· 21

6.2.2 Gamma Equivalent Dose for Each BNCT Dose Component 21
7. Consideration of Epithermal Beam BNCT from Clinical Study 22
7.1 Clinical BNCT of Epithermal Neutron Beam 22
7.2 Improvement of Dose Distribution on the Center by Epithermal Neutron Beam 22
8. Discussion 24
8.1 RBE and CBE of JRR-4 Free-in-air Neutron Beams 24
8.2 CBE and CF of Boron Compounds for Clinical Use 24
8.3 RBE and CBE of JRR-4 and KUR Neutron Beams in Phantom 24
8.4 Estimation of Gamma Equivalent Dose 25
8.5 Estimation of JRR-4 Epithermal Neutron Beam on Clinical Study 25
8.6 Conclusions 26
Acknowledgements 26
References 27
Appendix JRR-4 Rotation Irradiation Facility 55

1. はじめに

悪性神経膠腫に対するホウ素中性子捕捉療法 (BNCT: boron neutron capture therapy) は基礎及び臨床研究途上の放射線治療である。BNCTは非放射性ホウ素同位体 ^{10}B の低エネルギー中性子線に対する捕捉反応を利用した治療であり、この反応によって放出された ^{4}He (α線) 及び ^{7}Li 粒子を治療に利用する。α線の飛程が短いため ^{10}B を取り込んだ細胞と近接した部位にのみ効果が及び、理論上、^{10}B を取り込まない正常組織の障害を起こすことなく、腫瘍選択的な治療が実現しうる。しかしながら、BNCT の効果はその原理から、ホウ素化合物の生体内分布 (生物学的選択性) 及び低エネルギー中性子線の分布 （物理学的選択性）、さらに中性子ビーム中に含まれる、または組織内で2次的に発生する ^{10}B 非依存性放射線量に影響をうける。

従来BNCTで用いられてきた熱中性子ビーム（以下、熱ビーム）は組織透過性が低く、その治療効果は浅在性病巣に限られたものであった。本研究の目的は、悪性神経膠腫に対するBNCTにおける、熱外中性子ビーム（以下、熱外ビーム）の有効性を放射線生物学的手法により検証することである。本報告書では、BNCT の放射線生物学的評価法について整理し、JRR-4 熱外ビームの放射線生物学的評価を取り扱う。まず「フリービーム照射実験」では、ビーム孔位置の空気中（フリービーム条件）での物理線量測定と細胞生存率測定をもとに熱外ビームの線量成分毎の生物学的効果比を明らかにし、その生物効果を他のビームと比較する。「ホウ素化合物に対する compound factor」では、異なるホウ素化合物によるホウ素線量の生物学的効果比の違いを明らかにし、異なるホウ素化合物を用いた実験データの比較を可能にする。「ファントム照射実験」では、水ファントム内での物理線量測定と細胞生存率測定をもとに熱外ビームの生物学的効果比の深度変化を明らかにし、「γ線等価線量による評価」では、熱外ビームの水ファントム内での線量成分毎のγ線等価線量の深度変化を明らかにし、同評価法についての問題点を明らかにする。最後に、総括として臨床研究の観点から深部病巣の治療における熱外ビームの有効性について考察する。

1.1 BNCTの原理

BNCTで最も重要な放射線成分は、腫瘍組織に取り込まれたホウ素同位体(^{10}B) と熱中性子により惹起された核反応を経て放出される高エネルギー粒子線である [71]。

$$^{10}B + {}^{1}n_{th} \rightarrow [^{11}B] \begin{cases} \rightarrow {}^{7}Li + {}^{4}He + 2.79MeV\ (6\%) \\ \rightarrow {}^{7}Li\ (\rightarrow {}^{7}Li + \gamma + 0.48MeV) + {}^{4}He + 2.31MeV\ (94\%) \end{cases} \quad \textbf{Eq. 1}$$

熱中性子が原子核に捕捉される確率は中性子に対する反応断面積(σ)で通常表される [5]。生体内に多く存在する H、Ca、C、N、O 等の元素は ^{10}B に比してσが極めて小さいため (表1)、**Eq.1** に示されるホウ素中性子捕捉反応は組織内のホウ素化合物中でのみ高率に惹起される。さらに、ホウ素中性子捕捉反応で放出される ^{4}He (α線) 及び ^{7}Li 粒子の飛程 (^{4}He: 9μm、 ^{7}Li: 5μm) は一般的な細胞径に比して小さいため、これらの粒子線による障害はホウ素化合物を取り込んだ細胞とそのごく近接した部位に限局して発生すると考えられている (表2)。このホウ素中性子捕捉反応で発生する高 linear energy transfer (LET) 粒子線の治療への応用(^{4}He: 196 keVμm^{-1}、 ^{7}Li: 162 keVμm^{-1})は1936年に Locher によって初めて示されたものである [42]。BNCTのために利用される中性子線はエネルギーの高い順

に速中性子 (>10keV)、熱外中性子 (0.53eV-10keV)、熱中性子 (< 0.53eV) を含むが、ホウ素中性子捕捉反応を最も高率に引き起こすためエネルギーの低い熱中性子が最も重要である。

表3に示すように、BNCT施行時の組織中では先に述べた (a) $^{10}B(n,\alpha)^{7}Li$ 反応によるホウ素線量 (Boron dose) に加え、(b) 速中性子と $^{1}H(n,n')p$ 反応による速中性子線量(Fast neutron dose)、(c) $^{14}N(n,p)^{14}C$ 反応により放出される陽子に基づく窒素線量(Nitrogen dose、 **Eq. 2**)、(d) $^{1}H(n,\gamma)^{2}H$ 反応による2次γ線(**Eq. 3**) 及びビーム中に混在するγ線量 (core γ)を考慮する必要がある [59,69]。

$$^{14}N + {}^{1}n_{th} \rightarrow [^{15}N] \rightarrow {}^{14}C + {}^{1}p\,(0.54MeV) \qquad \textbf{Eq. 2}$$

$$^{1}H + {}^{1}n_{th} \rightarrow [^{2}H] \rightarrow {}^{2}H + \gamma\,(2.22MeV) \qquad \textbf{Eq. 3}$$

γ線のうち、$^{1}H(n,\gamma)^{2}H$ 反応によって発生する即発 γ線は、γ線全体の60-80%を占めるとされている[60]。速中性子線量、窒素線量、γ線量はホウ素化合物の分布には依存せず、組織の中で非特異的に発生するためBNCTにおける ^{10}B 非依存性放射線量となり、ホウ素化合物濃度が低い正常組織の耐容線量に関わってくる。1990 年代前半まで使用されていた熱ビームでは速中性子線や γ線の総線量に対する比率が低く、これら ^{10}B 非依存性放射線量はホウ素線量に従属するものとして、線量計画の中では重要視されなかった。近年、深部病巣への熱中性子分布改善を目的として熱外中性子が利用されるようになり、^{10}B 非依存性放射線量並びにこれを構成する各線量成分についての評価基準が求められるようになってきた。

1.1.1 BNCT臨床研究で用いられるホウ素化合物

BNCT の効果はホウ素化合物の生体内分布、とりわけ ^{10}B の腫瘍/血液比、腫瘍組織内絶対濃度、細胞内微小分布、血液脳関門透過性に左右される。$^{10}B(n,\alpha)^{7}Li$ 反応で放出される粒子線は飛程が短いため、BNCTでの治療効果を得るためには全ての腫瘍細胞に ^{10}B が分布している必要がある。微小線量分布のシミュレーション計算によれば、腫瘍細胞の死滅に要する細胞内必要最小 ^{10}B 数は 10^{9} 個程度とされ、^{10}B が細胞膜や細胞質でなく細胞核に分布した場合には、より少数でも同等の効果が得られるとされる[6,23,35]。この ^{10}B 濃度は実際の組織では20-35 $\mu g^{10}B/g$ に相当し、この濃度で治療効果を得るのに 10^{12} - 10^{13} n cm^{-2} 程度の熱中性子フルエンスが必要とされる[3,33,69,72]。

近年のBNCT臨床研究では sodium borocaptate（以下、BSH）と p-boronophenylalanine (以下、BPA) の2種のホウ素化合物が用いられている。表4にBSHとBPAの *in vivo / in vitro* 実験及び臨床データによる比較結果を示す。BPAは、構造上メラニンの前駆物質である tyrosine に類似し、悪性黒色腫に対するBNCTに使用する目的で開発されたが、現在は神経膠腫に対するBNCTにも用いられている。BPAは脳血液関門を通過し、血液中及び脳実質にほぼ同程度の分布を示す[18]。B16 メラノーマ細胞やラット 9L gliosarcoma（以下、9LGS）細胞を用いた *in vivo* 及び *in vitro* の実験ではBNCTにおけるBPAの有用性が示されている[1,12,13,14,15,17,25,26,51]。BPAは高い腫瘍内 ^{10}B 濃度が得られる点が特徴で、腫瘍組織内の平均 ^{10}B 濃度は血液及び正常脳組織の2-4倍とされている[10,11,19,22,25,44,52]。これに対しBSHは正常な脳血液関門は通過しないとされており、脳腫瘍組織には傷害された脳血液関門を介して移行する[68]。動物モデルを用いた実験では、BSH の腫瘍/血液比は 0.5-1 とされている[2,7,34]。glioblastoma におけるBSHの腫瘍/血液比は0.56-2とされ、臨床例では動物実験に比べ高い値が報告されている[28,31,32]。

1.2 BNCT臨床研究で用いられる放射線生物学的線量評価

1.2.1 BNCTにおける ^{10}B非依存性放射線量

BNCTに対する生物効果や用いられる線量体系、X(γ)線等価線量については未だ研究段階であり[29]、本項では比較的よく用いられる放射線生物学的線量評価法について略述する。BNCTでは中性子と組織並びにホウ素の相互反応により、混合照射場が形成される。^{10}B(n,α)^{7}Li反応で惹起される粒子線による線量に加え、熱中性子が組織内の元素と反応することにより、^{10}Bの存在する組織（主に腫瘍、血管内）及び存在しない組織（主に正常脳）のいずれにおいても、^{10}B非依存性放射線量が発生する。さらに中性子ビーム中に含まれる速中性子線やγ線(core gamma)、組織内で2次的に発生する即発γ線も^{10}B非依存性放射線量の主要な構成要素となる。これら^{10}B非依存性放射線量は正常組織の耐容線量との関係で様々な程度の障害を起こしうる。

1.2.2 BNCTで用いられる血管線量(VD)とX(γ)線荷重線量(WD)

1.2.2.1 ホウ素血管線量 (Vascular boron dose: VD_{boron})

BNCTに対する正常脳の耐容線量については、日本での熱ビームによる開頭BNCTで放射線壊死をきたした組織の線量解析からホウ素血管線量 (Vascular boron dose: VD_{boron}) で13Gyと報告されている [54]。

$$VD_{boron} = GF \times D_{boron} \qquad \text{Eq. 4}$$

ここで用いるホウ素血管線量 VD_{boron} は、血液 ^{10}B 濃度により得られるホウ素物理線量 D_{boron} とgeometric factor (GF=0.33) の積で表され、^{10}B(n,α)^{7}Li反応で惹起されるα線及び^{7}Li粒子線のうち毛細血管内皮細胞核に到達して障害を及ぼす確率が約1/3であるとするシミュレーション及び実験結果に基づくものである (図1) [3,21,62]。血管線量に基づく線量計画は、1998年以降KUR及びJRR-4で行われている治療研究のプロトコールでも採用されている [54,83]。

ホウ素血管線量 VD_{boron} は、ホウ素線量のみに基づく経験的な脳組織線量の基準であり、窒素線量、速中性子線量、γ線量といった他の線量成分による影響は従属的な効果とみなして線量計画を行う。ホウ素血管線量 VD_{boron} による線量評価は①計算が簡便であり金線による脳表での熱中性子フルエンス測定によって容易に照射線量を決定できる、②速中性子、熱外中性子の混入の比較的少ない熱ビームでは放射線障害等の生物反応とよく一致する、という利点があった。しかし近年、ホウ素血管線量 VD_{boron} による評価は次第に見直されつつある。その理由として、①熱中性子・熱外中性子混合ビーム（以下混合ビーム）または熱外ビームが使用されるようになり、ホウ素線量以外の線量成分が無視できなくなってきている、②設計の異なる中性子ビーム施設間ではホウ素線量以外の線量成分の割合やホウ素線量に対する生物学的効果比が異なり、正確な基礎・臨床データの比較が困難、③線量体系の違いのため、すでに確立されている一般放射線治療の知見がBNCTで利用できない、④一般の放射線治療後の再発例に対するBNCTまたはBNCT後の再発例に対するX(γ)線治療の際に合計線量の計算が困難、などの点があげられる。

1.2.2.2 X(γ)線荷重線量 WD (weighted dose)

欧米で相次いで始まった熱外ビームを用いたBNCTでは、いくつかの仮定の上に、生物学的効果

比を用いたX(γ)線に等価な線量をプロトコールの中で用いている。BNCTで用いるX(γ)線荷重線量の算出法については、下記に示す*RBE*並びに*CBE*を用いる方法と、X(γ)線による細胞生存率曲線により直接計算する方法がありICRU(International Commission on Radiation Units)を含めて議論されているが、一定の結論には至っていない[29]。

^{10}B非依存性荷重放射線量WD_{beam}(weighted dose for beam)は中性子ビーム中の窒素線量、速中性子線量、γ線量に関する吸収線量の和D_{beam}を用いて、

$$WD_{beam} = RBE_{beam} \times D_{beam} \qquad \text{Eq. 5}$$

ここでRBE_{beam}は等しい生物学的効果に必要なX線の線量$D_{X\text{-}ray}$をD_{beam}で除して求められる。各線量成分のうち生物学的効果比の算出など放射線生物学的アプローチを行う際、速中性子線量と窒素線量の高LET荷重線量は中性子線量$WD_{neutron}$(weighted neutron dose)として一括して評価されることが多い[36,76]。ビーム及び二次的に発生するγ荷重線量の和WD_{γ}と速中性子線量及び窒素線量による荷重線量$WD_{neutron}$の間に相加性があると仮定するとEq.5は次式で表される。

$$WD_{beam} = WD_{neutron} + WD_{\gamma} \qquad \text{Eq. 6}$$

$$WD_{neutron} = RBE_{neutron} \times D_{neutron} \qquad \text{Eq. 7}$$

$$WD_{\gamma} = DRF_{\gamma} \times D_{\gamma} \qquad \text{Eq. 8}$$

ここで$RBE_{neutron}$は同等の生物効果を認める$D_{X\text{-}ray}$を速中性子線量D_{Fast}と窒素線量$D_{nitrogen}$の物理線量和$D_{neutron}$で除して求められる。また、BNCTでの混合照射野で発生するγ線は種々のエネルギーを含むが、組織内の深い部分では一般に線量率は低く(≒1-10 cGy/min)、Coγ線や250 kVp X線に比べ生物学的効果が低いと考えられる。DRF_{γ}(dose reduction factor for γ-ray)は同等の生物学的効果に必要な250 kVp X線の線量との比を示し、基礎及び臨床研究を扱った多くの文献での線量評価法ではDRF_{γ}を1と仮定して計算を行っている[8,16,27,64,76]。

Eq. 6と同様、^{10}B非存在下の中性子ビーム照射である^{10}B非依存性荷重放射線量WD_{beam}と^{10}B(n, α)^{7}Li反応による荷重ホウ素線量WD_{boron}(weighted boron dose)の間に相加性を仮定した場合のホウ素存在下の荷重総線量WD_{total}は、

$$WD_{total} = WD_{boron} + WD_{beam} \qquad \text{Eq. 9}$$

ホウ素線量の生物学的効果比は等しい生物学的効果に必要なX線の線量$D_{X\text{-}ray}$をホウ素物理線量D_{boron}で除して求められるが、細胞内微小分布をはじめとしたホウ素化合物の特性に左右されるため化合物によって違う数値を示し、一般的なrelative biological effectiveness (*RBE*)の概念[70]とは異なるためcompound biological effectiveness factor (CBE_{boron})として区別して使用されている。

$$CBE_{boron} = \frac{D_{X-ray}}{D_{boron}} \qquad \text{Eq. 10}$$

ホウ素化合物の生物効果の指標となる CBE_{boron} 値を因子別に見ると、

①F_U (uptake factor)：等しい ^{10}B 濃度が与えられたときのホウ酸での細胞内 ^{10}B 濃度と比較される化合物での細胞内 ^{10}B 濃度との比で ^{10}B の細胞内移行の程度を表す；②F_G（geometry factor）：細胞内微小分布の違いを表し、^{10}B と細胞核との距離に依存する；③F_L (LET factor)：均一な ^{10}B 細胞及び組織内分布を仮定した場合の LET に依存する本来の RBE；④F_S (sensitizing factor)：ホウ素化合物が放射性増感作用を有する場合；の 4 つがあげられる。このうち各ホウ素化合物での CBE_{boron} 値の違いに関係するのは F_U と F_G で、通常 F_L 及び F_S については各化合物間で通常同一の値となる。Bond *et al.* [4] によれば、ホウ酸及び BSH に対しての F_L は 6.2、F_S は 1 である。

1.2.3 BNCT で線量の評価に用いられる実験手法とその意義

BNCT の利点は放射線の影響を細胞単位の大きさで与えるという特徴にある。その反面、BNCT では複数の放射線が腫瘍組織並びに正常組織に対して個別かつ異なる割合で関与するだけでなく、それぞれの生物効果は異なっており、放射線治療の根幹を成す線量評価が困難である。正確な線量評価に基づく線量 - 効果関係の解析により施設毎のビームの特徴を明らかにし、さらに各施設で得られた基礎データを通しそれぞれの臨床研究結果を把握するためには、共通した方法での基礎実験が必要である。これまで報告された代表的な方法としては、フリービーム条件での物理線量測定、ファントム内物理線量測定、MCNP コードを用いたシミュレーション計算、放射線生物学的線量評価[27,59,77]がある。このなかで、*in vitro* 生物学的評価としてはコロニー形成法、DNA double strand break 測定、quiescent cell assay、アポトーシス測定などの報告がなされている[57,58,84]。しかし既に述べたように、BNCT での線量体系それ自体が研究途上にあり、先に述べた複数の線量成分の相加性や X 線等価線量などが十分に明らかにされていないため、生物効果を比較する尺度となるべき線量評価法の選択については未だ議論の分かれるところである。したがって BNCT の基礎研究において中性子ビームの生物効果を比較する際には、比較的定量性に優れ、一般的によく用いられるコロニー形成法が各 BNCT 用原子炉施設での基礎実験において多用される傾向にある[4,16,27,76]。本研究においても、JRR-4 各ビーム間及び他施設ビームとの比較のためコロニー形成法を主として用い、使用する実験細胞種や基本的な実験並びに解析の方法については、主要文献に従った。

熱中性子を中心とした従来の熱ビームに対し、熱外中性子をより高率に含むものが熱外ビームと呼ばれるが、これまで明確な定義はなされていない。熱外ビームという名称は設計の異なる各原子炉施設でそれぞれに使用されており、その生物学的効果並びに物理特性は相当程度異なる。近年の悪性神経膠腫に対する BNCT 臨床研究では、深部の熱中性子分布増加による治療効果の改善を目指し、また主として海外で低侵襲の非開頭 BNCT の有用性を検証する目的で、熱外中性子が積極的に取り入れられてきている。JRR-4 においても、混合ビームが開頭 BNCT の臨床治療研究に用いられ、今後治療研究への導入が想定される熱外ビームについてもすでに利用可能となっている。これを受けて、熱外ビーム並びに混合ビームについて、これまで十分明らかにされていない放射線生物学的線量評価、すなわち従来の熱ビームに比しての優劣、またどの程度有効であるかについての基礎的検討の必要性が高まっている[83]。BNCT の生物効果は混合照射場で起こり、組織内の ^{10}B 分布や深さによって各成

分の比率が変化するため、全体としての効果だけでは異なるビーム間の比較は困難であり、「1.1 BNCTの原理」で述べた各線量成分、(a) $^{10}B(n,\alpha)^{7}Li$ 反応によるホウ素線量、(b)と $^{1}H(n,n')p$ 反応による速中性子線量、(c) $^{14}N(n,p)^{14}C$ 反応による窒素線量、(d) hydrogen capture 反応による即発γ線及びビーム中に混在するγ線を合わせたγ線量、のそれぞれについての評価が必要となる。

2. 線量の評価方法

2.1 中性子ビームの特性

2.1.1 JRR-4 中性子ビームの特性

MCNP 計算により作成した各ビームに対する照射孔位置での中性子エネルギースペクトルと Au、Ni を用いたフラックス測定結果は概ね一致している（図 2）。各ビームの熱中性子 (< 0.53eV)、熱外中性子 (0.53eV-10keV)、 速中性子 (> 10keV) フラックス及びγ線量を表 5 に示した。熱外中性子／熱中性子比は、熱外ビーム で 6.111、混合ビームで 0.450、熱ビーム で 0.049 であった。また、速中性子／熱中性子比は熱外ビーム で 0.305、混合ビームで 0.038、熱ビームで 0.007 であった。γ線量率は熱外ビーム が 1.86 cGy min^{-1}、混合ビームが 2.79 cGy min^{-1}、熱ビームが 0.54 cGy min^{-1} であった。

フリービーム条件下における JRR-4 熱外ビームの熱中性子、熱外中性子、速中性子フラックスは順に 3.6 x 10^{8} n $cm^{-2}sec^{-1}$、2.2 x 10^{9} n $cm^{-2}sec^{-1}$、1.1 x 10^{8} n $cm^{-2}sec^{-1}$ であり、混合ビームでは 2.0 x 10^{9} n $cm^{-2}sec^{-1}$、9.0 x 10^{8} n $cm^{-2}sec^{-1}$、7.6 x 10^{7} n $cm^{-2}sec^{-1}$ である。

2.1.2 KUR 中性子ビームの特性

ファントム実験に用いた中性子ビームは JRR-4 の熱外ビーム、混合ビームのほか、京都大学原子炉実験所の KUR 熱外ビームである。混合ビームは現在治療研究で用いられているビームであり、JRR-4 熱外ビーム及び KUR 熱外ビームについては今後導入が検討されているビームである。KUR 熱外ビームのフリービーム特性については表 7 に示した。KUR 熱外ビームに対するカドミウム比は理論値である 1.0 を用いているため、熱中性子フラックスは 0 となっている。細胞照射実験の評価に際しては、実際の線量測定結果に基づいて熱中性子フラックスを算出して用いた。

2.2 各物理線量の算出方法

窒素物理線量とホウ素物理線量の算出には中性子カーマ係数が必要である。これらカーマ係数 K $Gycm^{2}$ （ホウ素線量ではホウ素濃度 1ppm あたりの値 $Gycm^{2}$/ppm）は以下の式で求めた。吸収断面積は核データ (ENDF/B-VI 核データ[61]) から 36℃に相当する 0.0266eV の吸収断面積σを内挿して算出した[77]。

$$K_{N\ th} = \frac{J_N \cdot \frac{\sqrt{\pi}}{2}\sigma_N \cdot \frac{w\rho}{A} \cdot N_a \cdot e/10^{24}}{\rho \times 10^{-3}} \qquad \text{Eq. 11}$$

$$K_{B10th} = \frac{J_{B10} \cdot \frac{\sqrt{\pi}}{2}\sigma_{B10} \cdot \frac{w\rho}{A} \cdot N_a \cdot e/10^{24}}{\rho \times 10^{-3}} \qquad \text{Eq. 12}$$

ここで $K_{N\,th}$、$K_{B10\,th}$ は熱中性子（0.0253eV）に対する $^{14}N(n, p)^{14}C$ 及び $^{10}B(n, \alpha)^{7}Li$ 反応のカーマ係数（$Gycm^{2}$ 、$Gycm^{2}$/ppm）、J_N または J_{B10} は陽子または α・Li 核に与えられる運動エネルギー(6.259178 x 10^{3}eV、 2.342525 x 10^{6}eV)、e は電気素量(1.6021892 x 10^{-19} C)、N_a はアボガドロ数(6.02 x 10^{23} 個/mol)、σ_N 及び σ_{B10} は 0.0266eV の断面積(0.075044barn 及び 3846.343 barn)、A は各原子質量(14.0067 及び 10)、

Wは媒質重量に対するNまたは^{10}Bの重量比(Nの場合2.2%=0.022、^{10}Bの場合1ppm=10^{-6})、ρは密度(1.04g/cm^3)である。**Eq. 11**、**Eq. 12**よりホウ素物理線量(D_{boron})及び窒素物理線量($D_{nitrogen}$)はそれぞれϕ（熱中性子フルエンス n cm^{-2}）、C_B（medium中の^{10}B 濃度 μg/g）を用いて、

$$D_{nitrogen} = K_{Nth} \cdot \phi = 1.49708 \times 10^{-13} \cdot \phi \qquad \textbf{Eq. 13}$$

$$D_{boron} = K_{B10th} \cdot C_{B10} \cdot \phi = 7.5054 \times 10^{-14} \cdot C_{B10} \cdot \phi \qquad \textbf{Eq. 14}$$

と表され、これをもとにホウ素物理線量と窒素物理線量を算出した。これら線量の必要な熱中性子フルエンスfは実測により決定した。測定には直径0.25mmの金線または厚さ0.01mm、一辺5mmの正方形金箔(Au)を用い、箔放射化法により算出した。

フリービーム条件下における速中性子線量は、物理測定で得られている混入率を使用して決定した。その混入率は熱外ビーム、混合ビーム、熱ビームでそれぞれ4.03 x 10^{-13} Gy cm^2、1.08 x 10^{-13} Gy･cm^2、1.31 x 10^{-14} Gy･cm^2 である[77]。

ファントム内の速中性子線量は実測を行わず、Yamamoto *et al.* [77]の報告した速中性子線量のファントム内減衰曲線の計算式を使用した。熱外ビーム及び混合ビームでの速中性子線量D_{Fast}^{ENB}及びD_{Fast}^{TNB-1}の減衰率は -0.0158 (mm^{-1}) であり、**表5**のフリービームデータと中心軸上のファントム表面からの深さZ (mm)と原子炉出力P(MW)を用いて簡易的に算出した。

$$D_{Fast}^{ENB} = 2.44 \exp(-0.0158 \cdot Z) \frac{P}{3.5} \qquad \textbf{Eq. 15}$$

$$D_{Fast}^{TNB-1} = 0.773 \exp(-0.0158 \cdot Z) \frac{P}{3.5} \qquad \textbf{Eq. 16}$$

γ線測定では、thermoluminescent dosimeterを個別に校正して使用した[79]。また、各ビームの中性子スペクトルの計算にはコンピュータ上での粒子線の散乱計算で一般的に用いられるMCNP 4C計算コードを使用した。

2.3 生物効果比の見積方法

BNCTで用いられる中性子ビームとその線量成分を放射線生物学的手法、物理測定や計算コードによって評価する目的は、生物効果を予測することである。Coderre *et al.*[16]に代表される荷重線量の推定法はfactor outによる方法と呼ばれており、各線量成分の物理線量についての測定あるいは計算によって知っていなければならない。その意味では間接的な算出法であり、*in vitro*実験条件や線量測定での誤差が何重にも含まれるている。一方、異なるホウ素化合物を用いたBNCTの生物効果を比較するための方法として、Bond *et al.* [4]はより直接的な評価法が提案している。Bondの方法では、①ホウ素投与・非投与の生存率から両者のγ線等価線量を求め、②その差をγ線等価なホウ素線量として用いており (direct subtraction)、必要な物理線量があたえられれば*RBE*または*CBE*についても算出できるとしている。最近では White *et al.* [76] が、ファントム内での MIT（Massachusetts Institute of

Technology)の熱外ビームの特性を評価しているが、生物効果による評価が適しているとしながらも、生存率や物理学的手法を基に各線量成分の RBE を計算しているため、X (γ) 線等価線量の算出は行っていない。本研究ではこれらのことを踏まえ、*RBE* または *CBE* の算出には factor out による方法は適用し、Gabel *et al.*の方法[27]に準じて D_0 値を用いた。また、連続的に各放射線の成分が変化するファントム内のビームの生物効果（e.g. X 線等価線量）の大小については direct subtraction を用いることとした。

2.3.1 *CBE* 及び *RBE* の見積方法

BNCT の際に発生する各線量成分に対する生物学的効果比は *CBE* 及び *RBE* を用いた。*in vitro* BNCT における実際の計算は Gabel *et al.*の方法[27]に準じ、(a)各線量成分は相加性を示し、全体の生存率変化 R_{total} は互いに依存しない各線量成分による生存率変化(ΔR_{boron}、$\Delta R_{neutron}$、ΔR_{gamma}) の積により示され、(b) BNCT の混合ビーム照射場に含まれるエネルギーの異なるγ線は、比較のために用いられる 250 kVp X 線または ^{137}Cs によるγ線と同等の生物学的効果を有する(DRF_{γ}=1)、と仮定して行った。

$$R_{total} = \Delta R_{boron} \times R_{beam} \qquad \text{Eq. 17}$$

$$R_{beam} = \Delta R_{neutron} \times \Delta R_{\gamma} \qquad \text{Eq. 18}$$

ここでホウ素線量に対応する生存率変化 ΔR_{boron} はホウ素投与群及び非投与群の細胞を一定時間照射し、ホウ素投与群で観察された生存率 R_{total}、を非投与群で観察されたビーム単独照射による生存率 R_{beam} で除して算出した (Eq.17)。ホウ素非投与群での中性子ビーム照射でもたらされる生存率 R_{beam} は、速中性子線量と窒素線量に対応する生存率変化 $\Delta R_{neutron}$ とγ線量に対応する生存率変化 ΔR_{γ} の積である(Eq.18)。したがって、$\Delta R_{neutron}$ は R_{beam} を ΔR_{γ} で除することで算出した。ΔR_{γ} は、^{137}Cs 照射に対する細胞生存率曲線をあらかじめ作成し、直線-二次式モデル(linear-quadratic model) [70]を用いて TLD によるγ線実測値をもとに算出した。各線量成分に対応する生存率変化 ΔR_{boron}、$\Delta R_{neutron}$、ΔR_{beam} それぞれに対する D_0 値 (D_{0boron}、$D_{0neutron}$、D_{0beam}) と比較し、生物学的効果比(CBE_{boron}、$RBE_{neutron}$、RBE_{beam}) を算出する[27]。

D_0 は生存曲線の最終傾斜 a の逆数で、生存曲線の直線部分で生存率を元の 37%（=1/e）に減らすのに要する線量の差 (D_2- D_1) として定義されており、250 kVp X 線では D_{0Xray} 値 (150 cGy)が一般的に用いられている。

$$D_0 \equiv (D_2 - D_1) = \frac{ln(1/e)}{-a} = \frac{1}{a} \qquad \text{Eq.19}$$

この 250 kVp X 線では D_{0Xray} 値(150 cGy)を用いると、生物学的効果比(CBE_{boron}、$RBE_{neutron}$、RBE_{beam})は、

$$RBE_{beam} = \frac{D_{0Xray}}{D_{0beam}} \qquad \text{Eq.20}$$

$$RBE_{neutron} = \frac{D_{0Xray}}{D_{0neutron}} \qquad \text{Eq.21}$$

$$CBE_{boron} = \frac{D_{0Xray}}{D_{0boron}} \qquad \text{Eq.22}$$

ここで用いた250 kVp X線の$D_{0\,Xray}$値は^{137}Csでのγ線に対する生存率曲線(直線-二次式モデル)では11.45 Gyでの値に相当する比較的低生存率域の値である。

2.3.2 γ線等価線量の見積方法

ホウ素投与群の生存率R_{total}及び非投与群の生存率R_{beam}の関係は、ホウ素を添加したことによる生存率変化ΔR_{boron}を用いて、Eq.17($R_{total} = \Delta R_{boron} \times R_{beam}$)で表される。γ線に対する生存率曲線を直線-二次式モデルによって近似できるとすると、任意の線量D_γと生存率R_γの関係は次式で表される。

$$R_\gamma = exp(-\alpha D_\gamma - \beta D_\gamma^{\,2}) \qquad \text{Eq. 23}$$

Eq. 23とγ線照射実験で観察される生存率R_γを比較して近似曲線を求めることで、α値及びβ値を推定することができる。

実験で得られる生存率R_iに対してEq.23を適用し、γ線等価線量D_{eqi}を直接求めることができる。算出されるD_{eqi}は荷重線量WDと同じようにγ線の線量を基準とした線量の1 unitとすることができる。

$$D_{eq_i} = \frac{-\alpha + \sqrt{\alpha^2 - 4\beta \cdot \ln R_i}}{2\beta} \qquad \text{Eq. 24}$$

これにより、実験で直接観察された生存率R_{total}、R_{beam}とEq. 9及びEq. 24を用いることで、γ線等価線量$D_{eq\text{-}total}$、$D_{eq\text{-}boron}$、$D_{eq\text{-}beam}$が算出される。

3. フリービーム細胞照射による *in vitro* 生物学的効果比

フリービーム照射実験は、実験細胞や物理線量測定のサンプルを可及的に裸に近い状態のままビーム孔位置で照射して測定を行うものである。中性子ビームが組織またはファントム内に入ると、散乱と減速により中性子エネルギーの低下とスペクトルパターンの偏移がおこり、生物効果の大きさも3 次元的に変化する。フリービーム条件では、各中性子ビーム施設間での被照射対象（ファントム、組織）の大きさや形状の違いによる影響を最小限に留めることができる。本実験ではJRR-4 各中性子ビームを用い、フリービーム条件での *in vitro* 細胞生存率測定（コロニー形成法）を行い、各線量成分についての生物学的効果比などの特徴を明らかにして、熱外ビームの有用性を検証する。BNCT の *in vitro* 実験では ^{10}B の細胞内微小分布により得られる生物学的効果が異なるため、基準となるホウ素化合物が必要であり、この目的でホウ酸が一般に用いられる[4,27]。したがって、本項ではホウ酸を用いた実験について述べ、異なるホウ素化合物による生物学的効果の違いについては「4. ホウ素化合物における Compound factor 測定」で後述する。

3.1 ホウ酸を用いた実験

3.1.1 細胞照射の実験条件

細胞照射実験には中性子ビームを用いた実験で一般的に用いられ、データの比較が容易な V79 Chinese hamster 細胞(以下、V79 細胞)を使用した。まず、exponential growth 下の V79 細胞を、10% fetal bovine serum を加えた Minimum Essential Medium (Sigma Chemical Co.)中で、37 ℃かつ 5% CO_2 の通常条件下で準備培養した。V79 細胞はリン酸緩衝液(PBS)で洗浄後、トリプシン処理を行い、5000 cell / ml medium または 10000 cell / ml medium の細胞懸濁液として凍結チューブ(MS4501、住友ベークライト)に充填した。ホウ素投与群では照射 6 時間前に 5 または 15μg^{10}B /g medium となるようホウ酸を投与し、調整を行った。ホウ素投与群での ^{10}B 濃度は PBS での洗浄、トリプシン処理、細胞計数、中性子照射の間、常に一定に維持した。中性子照射は JRR-4 の熱外ビームを用い、また比較のため同条件で混合ビーム及び熱ビーム照射もあわせて行った。照射後、V79 細胞の一部を直径 60mm のプラスチック製 dish に移し、7 日間培養を行った。90％メチルアルコールとメチレンブルーにより染色を行い、50 個以上の細胞を有するコロニーの数を計数した (コロニー形成試験)。

ホウ酸は medium に添加後すみやかに拡散し、1 時間後には細胞内及び medium 中の濃度が一定となるため、BSH や BPA 等の他のホウ素化合物と異なり、照射直前に投与しても実験が可能とされている[43]。このことを確認するため、ホウ酸及び BSH 投与後 24 時間、4 時間、直後に照射を行い、生存率の比較のための予備実験を行った。その結果、照射直前から 24 時間前までの範囲でホウ酸投与後時間による細胞生存率に有意な差がみられないことを確認した(図 3)。

また本実験での ^{10}B 濃度の調整には、即発γ線分析装置（PGA : Prompt Gamma-ray Analysis）を用いてあらかじめ 1500-3000μg/ml に調整した既知濃度の ^{10}B 濃縮型ホウ酸 ($^{10}B/B>0.9$、京都大学原子炉実験所　木梨友子助手より供与) 原液を作成して使用し、照射終了後の細胞懸濁液を再度 PGA により測定して確認の上、ホウ素線量の計算に使用した[78]。^{10}B 濃縮型ホウ酸は通常のホウ酸 ($^{10}B/B \fallingdotseq 0.2$) に比べ、同濃度の ^{10}B を得るのに必要なホウ酸総量を抑えることができるので、ホウ酸の細胞毒性による影響が最小限となり有用である。

in vitro の照射実験では、比較を行う群間でホウ素化合物投与後の培養時間や細胞調整後照射までの時間を一定にし、細胞の倍加時間に比して比較的短い時間内に実験を行うため、複数の試料を同時に照射する必要が生じる。

通常中性子ビームが照射試料に入射すると、減速や散乱によってエネルギー分布が変化し、試料表面近傍で熱中性子成分の割合が増加するが、このエネルギー低下による熱化の度合いは配置された試料の位置により異なる。また、試料とビーム孔の距離、試料間の遮蔽効果により複数の試料の照射は不均一になりやすい。Brookhaven National Laboratory における *in vitro* の照射実験では、同様の目的で電気モーター駆動による回転照射装置が使用されている [16,27]。そこで、均一な照射により細胞照射とこれに対応する物理線量測定を正確に行うため、回転照射装置を作成し、本実験に使用した。

今回用いた回転照射装置はJRR-4 の医療照射用ビーム孔に設置するもので、アクリル製の気送管の中に底部に回転翼をもつポリエチレン容器を吊り下げて回転させながら連続運転中に照射を行う(図 4)。容器内には凍結チューブを 8 本充填することができ、容器の出し入れに要する時間はそれぞれ 10 秒程度である。均一な照射を確認するため、ビーム孔中心に試料を 4 本ずつ 2 列に配置して、回転照射装置を用いた熱ビームによる照射を行い、細胞生存率、熱中性子フラックス、γ線量を測定した。照射時間は 30 分及び 60 分とし、同じ試料の配置で回転照射と非回転照射で比較を行った。熱中性子フラックスは回転照射では 5.02±0.04(x10^8 n cm^{-2} sec^{-1})、V79 細胞の照射による生存率の比較においては、ホウ素非存在下での 30 分照射を除き、回転照射で有意に測定値のばらつきが小さいことを確認している（付録参照）。

3.1.2 細胞生存率の統計処理

熱外ビーム 、混合ビーム、熱ビームを用いた *in vitro* 照射後の細胞生存率を図 5 に示した。ホウ素非投与群の生存率 R_{beam} の傾きは、熱外ビームで最も大きく、ついで混合ビーム、熱ビーム の順であった(p<0.001)。また、ホウ素投与群細胞の生存率 R_{total} は ^{10}B 濃度依存性に低下し、5、10、15 μg ^{10}B/ml medium 各濃度いずれにおいても、熱外ビームで最も傾きが大きく、ついで混合ビーム、熱ビームの順であった(p<0.001)。

3.2 ホウ酸に対する RBE、CBE の測定結果

各 ^{10}B 濃度での生存率の傾き(図 5)をもとに、^{10}B が添加された場合に得られる生存率変化 ΔR_{boron} に必要な熱中性子フルエンスを ^{10}B 濃度に対してプロットした（図 6）。同等の生存率変化に必要な熱中性子フルエンスは ^{10}B 濃度が増加するに従い、3 種の異なったビームいずれにおいても直線的に低下した。

図 7 は V79 細胞のγ線照射(^{137}Cs)に対する生存率、JRR-4 各ビームに対するホウ素非投与群細胞の生存率 R_{beam}、各ビーム中の速中性子及び窒素線量に対応する生存率変化 $\Delta R_{neutron}$ を示し、図 6 で確認したホウ素線量に対応する生存率変化 ΔR_{boron} も併記した。R_{beam} の D_0 値は、熱外ビームでは 1.23 ± 0.16Gy、混合ビームでは 1.22 ± 0.17Gy、熱ビームでは 1.24 ± 0.28Gy であり、これにより算出される RBE_{beam} はそれぞれ、熱外ビーム 1.22 ± 0.16、混合ビーム 1.23 ± 0.16、熱ビーム 1.21 ± 0.16 であった。R_{beam} に対してγ線成分 ΔR_{γ} の補正を行った $\Delta R_{neutron}$ の D_0 値は、熱外ビームでは 0.60 ± 0.08Gy、混合ビームでは 0.64 ± 0.09Gy、熱ビームでは 0.69 ± 0.15Gy であり、これにより算出される $RBE_{neutron}$ はそれぞれ熱外ビーム 2.50 ± 0.32、混合ビーム 2.34 ± 0.30、熱ビーム 2.17 ± 0.28 であった。ホウ素線量に

よってもたらされる生存率変化ΔR_{boron}に対する熱外ビーム、混合ビーム、熱ビームのD_0値は0.37±0.02Gy、0.50±0.03Gy、1.06±0.05Gyであり、CBE_{boron}はそれぞれ、熱外ビーム 3.99±0.24、混合ビーム 3.04±0.19、熱ビーム 1.43±0.08であった。

熱外ビームを用いた V79 細胞での生存率の傾きは混合ビーム及び熱ビームの傾きよりも大きいことが示され(図5)、^{10}B 存在・非存在下の全ての細胞生存率測定において、熱外中性子を高率に含むビームほど傾きが大きい傾向が認められた。図7の横軸として用いた物理線量は熱中性子フルエンス（<0.53eV）に基づく計算値である 。しかし、測定された熱中性子フルエンスが同値でも、 スペクトルの違い、特に熱外中性子域での中性子スペクトルに違いがあると、生物効果に差が生じる。なかでも図8に示すように1 keV から 0.5 MeVのエネルギー帯でのスペクトルの違いは測定に反映され難いにも関わらず、生物効果に影響が大きいため重要と考えられる[4,74]。表5に示されるカドミウム比はこのエネルギー帯を示す指標になるため、生物効果を調べる上で有用と思われる。

ビーム間で最も大きな違いが認められたのはホウ素線量で、熱外ビームに対するCBE_{boron}値(3.99) は熱ビームに比して2.8 倍に相当した。*in vitro* 照射でコロニー形成をendpointとした実験では、ホウ素線量のCBE_{boron}値は2.3 ～ 3.3、窒素線量のRBE値は1.9 ～ 2と報告されている[16,20,24,27,73]。我々が求めた混合ビームに対するCBE_{boron}値(3.04) は Davis *et al.* [20] が HeLa 細胞を用いた実験で報告した 3.7 とほぼ一致する。Davis の用いたビームに関して詳細な中性子スペクトルについてのデータは示されていないが、熱中性子に対する速中性子の混入率(0.92×10^{-12} Gy cm^2) は混合ビームでの値(1.08×10^{-12} Gy cm^2) と近い値であり、類似のスペクトルをもつものと考えられる。一方、熱外ビームのCBE_{boron} (3.99)は本実験とほぼ同様のV79細胞懸濁液を用いたGabel *et al.* [27] の*CBE* 値(2.3) よりも高い値となっている。Gabelの論文中で示されているカドミウム比 (~20) はJRR-4熱外ビーム (1.15) および混合ビーム (2.5) と比較して明らかに高い値であり (表5)、実験で使用したBrookhaven 国立研究所の中性子ビームがJRR-4 の熱外ビームに比べより多くの熱中性子を含有することが低い*CBE* 値に関係すると考えられる。

我々が求めた熱ビームの$RBE_{neutron}$ 値 (2.17) は、Zamenhof *et al.* [87] が ^{14}N(n, p)^{14}C 及び ^{1}H(n, n')p 反応に対して陽子線によるエネルギー放出の理論値を基に計算した RBE 値 (2.0)や、Gabel *et al.* [27] が熱中性子ビームとV79 cell を用い ^{14}N(n, p)^{14}C 反応について報告したRBE値 1.9 にほぼ一致する。熱外ビームに対する$RBE_{neutron}$ 値についてはCoderre *et al.* [16]が9LGS CellとBNLの熱ビームを用いて求めた値 (3.7-3.8) よりもかなり低いが、論文中に示された情報の範囲で実験細胞の違い以外の理由は明らかでない。

BNCTにおける各線量成分の生物学的効果比については異なる値の報告がなされているが、多くの場合用いられる中性子ビームのスペクトルの相違によって説明が可能と考えられる[30,74]。BNCTの生物効果の違いはこの他にも、線量やホウ素分布の不均一性や使用される *in vivo* あるいは *in vitro* の生物実験系での実験条件の違いによって起こってくるが、ホウ素化合物の投与条件を一定にし、照射方法を工夫することでより正確に評価することが重要である。また、「熱外ビーム」や「熱ビーム」といった名称は必ずしも中性子ビームの生物効果を表すものではなく、誤解を生じやすいため、厳密な定義が必要であると思われる。

4. ホウ素化合物の Compound factor 測定

$^{10}B(n,\alpha)^{7}Li$ 反応に対する生物学的効果比 CBE_{boron} は、等しい生物学的効果をもたらすのに必要なホウ素線量と X 線量(250 kVp)との比によって定義され、細胞へのホウ素化合物の移行や細胞内 ^{10}B 微小分布の違いに基づき、ホウ素化合物によって異なる値となる[6,16,86]。したがって生物効果を指標として BNCT の効果を判定し、ビームの評価や比較を行う際には、臨床または実験に用いたホウ素化合物のもつ CBE_{boron} の違いを明らかにしなくてはならない。また、同条件下の照射による CBE_{boron} を調べることで、ホウ素化合物間の比較を行う際の指標となる。

本項では一般的なホウ素化合物であるホウ酸、BNCT の臨床治療試験で使用されている BSH 及び BPA を中心に、筑波大学の Matsumura らが開発を進めているポリフィリン系の STA-BX900、STA-BX909、STA-BX929[45,46,47,48,49,50,65,66,67,80,81,84]について *in vitro* BNCT を行い、「3 フリービーム細胞照射による *in vitro* 生物学的効果比」で述べた CBE_{boron} を用いて各ホウ素化合物間の生物効果の違いを比較する。

特定のポルフィリン誘導体は腫瘍親和性を有することが示されており、光化学療法をはじめとした癌の治療や診断で用いられている。ポルフィリン環の中心にマンガンを有し、側鎖に DTPA を結合した ATN-10 は、光毒性をもたず、MRI での T 1 時間短縮能を有するなどの特徴を示す Mn 金属ポルフィリンである[82]。この ATN-10 を骨格として Gd を付加した Gd-ATN-10 や、ホウ素 ^{10}B を結合したホウ素ポルフィリン (STA-BX900、 STA-BX909、 STA-BX929) を用いることで、悪性脳腫瘍に対する中性子捕捉療法への応用が検討されている[45,46,47,48,49,50,65,66,67,80,81,84]。

4.1 細胞照射の実験条件

exponential growth 下の V79 Chinese hamster 細胞を 10% fetal bovine serum を加えた Minimum Essential Medium (Sigma Chemical Co.)中で 37 ℃、5% CO_2 の通常条件下で準備培養した。V79 細胞は PBS で洗浄後、トリプシン処理を行い、5000 cell / ml medium または 10000 cell / ml medium の細胞懸濁液として凍結チューブ(MS4501、住友ベークライト)に充填した。ホウ素化合物としてホウ酸、 BSH、 BPA、 Mn 金属ポルフィリンである STA-BX900 ($C_{36}H_{48}{}^{10}B_{12}N_5O_6MnH_2O$、 MW:871.8)、STA-BX909 ($C_{37}H_{49}{}^{10}B_{12}N_8O_6SMnH_2O$、 MW:894.8)、STA-BX929 ($C_{60}H_{103}{}^{10}B_{24}MnN_8O_{16}S_2$、 MW:1551)を用いた。ホウ素化合物は照射の 18 時間前に投与し、0、 10、 20、 30、 40 μg ^{10}B /g medium となるよう調整を行ったのち、回転照射装置を用いて熱ビームによる 3.5MW での 30 分間の照射を行った。各群でのホウ素濃度は PBS での洗浄、トリプシン処理、細胞計数、中性子照射の間、常に一定に維持した。照射後、V79 細胞の一部を直径 60mm のプラスチック製 dish に移し、7 日間培養を行った。90%メチルアルコールとメチレンブルーにより染色を行い、50 個以上の細胞を有するコロニーの数を計数した。

各ホウ素化合物存在下の照射によって得られた生存率とホウ素非存在下の生存率の比をもとに、それぞれの化合物の ΔR_{boron} を算出した。ΔR_{boron} をホウ素線量に対してプロットして得られた直線の傾きから D_{0boron} 値を算出し、250 kVp X 線の $D_{0\gamma}$ 値である 150 cGy と比較し、生物学的効果比 CBE_{boron} を算出した[27]。また、各ホウ素化合物での CBE_{boron} の比較は、ホウ酸での $CBE_{boronBA}$ を基準として比較する化合物の $CBE_{boronTEST}$ との比 compound factor(CF) を算出して行った。

$$CF = \frac{CBE_{boronTEST}}{CBE_{boronBA}} \qquad \text{Eq. 25}$$

4.2 ホウ素化合物の Compound factor 測定結果と評価

各ホウ素化合物による V79 細胞の生存率をホウ素濃度に対してプロットしたものを図 9 に示す。最も大きな生存率の傾きを示したのは STA-BX900 であり、逆に最も傾きが小さいのは BSH であった。各化合物での測定値をもとに行った検定 (Wilcoxon's signed rank sum test) では明らかな有意差（p <0.05）を示すには至らなかった。

各ホウ素化合物の生存率をもとに算出した CBE_{boron} 及び CF を表 6 に示す。ホウ酸の CBE_{boron} 値は 1.41 であり、CF はホウ素を基準としているため 1 である。また、JRR-4 での臨床試験で用いられている BSH、及び BPA の CBE_{boron} はそれぞれ 0.61(CF=0.41) と 1.6 (CF=1.25) であった。Mn 金属ポルフィリンでは BSH と比較して、STA-BX900 及び STA-BX909 で高い CBE_{boron} 値を示し、それぞれ 1.35(CF=0.97) と 2.38(CF=1.21) であった。STA-BX929 の CBE_{boron} 値は 0.83(CF=0.52) であった。

これまでに BNCT の治療効果を改善する目的で開発され検討が加えられたホウ素化合物は多岐にわたるが、初期の治療研究以降現在までに新たに臨床研究に取り入れられたホウ素化合物は BSH と BPA の 2 種類の薬剤に過ぎない[3,82]。ホウ素化合物の開発においては、化学療法剤や選択的腫瘍造影剤等の基礎研究と同様に腫瘍選択性、悪性神経膠腫細胞の不均一性、組織(細胞)内絶対濃度、毒性、生理的安定性、薬剤生成過程の収率など全てが課題となる。ホウ素化合物研究の中でポルフィリン誘導体は比較的有望であるとされており、BOPP[2、4-bis-(α、β-dihudroxylethyl deutero-porphyrin IX)]は臨床試験段階にある[7]。今回用いた Mn 金属ポルフィリンは、BOPP の欠点である光毒性がなく、すでに報告されている Mn-TPPS と比較して正常脳への移行が極めて少ないという点で優れている。また Mn 金属ポルフィリンはそれ自体に T1 時間短縮能があるため MRI 造影剤として用いることができ、この診断兼治療剤としての特徴は *in vivo* 脳腫瘍モデルを用い、ATN-10 や STA-BX900 で確認されている[81]。

今回使用した 3 種の Mn 金属ポルフィリンのうち最も低い生存率を示したのは STA-BX909 であった。STA-BX909 は BSH に比べて BNCT での生物効果が高いのは、レセプターを介した細胞内移行が関与すると考えられる[50,82]。また、γ 線や中性子線照射で認められる 9LGS 細胞のアポトーシス誘導率は、STA-BX909 を用いた BNCT では低下しており、細胞障害機序と生物効果の大きさとの関連が示唆される[84]。

STA-BX929(MW: 1551)は、1 分子中に STA-BX900(MW: 894.8)や STA-BX909(MW: 871.8) の 2 倍にあたる 24 個の ^{10}B を有するが、分子量の大きさや ^{10}B の付加による親水性の変化が膜透過性に影響し、生物効果が低下したと思われた。ホウ素化 Mn 金属ポルフィリンだけでなく、新たに開発されたホウ素化合物のスクリーニングを行う際に、CBE_{boron} や CF は有用な指標になると思われる。

本実験で得られたホウ素の CBE_{boron} 値 (1.41) は、3.3 ホウ酸に対する RBE、CBE 測定結果で示した CBE_{boron} 値(1.43) とよく一致し、データの信頼性の高さを示している。Bond *et al.* [4] によれば、BSH に対しての CF は 0.3 で、本実験での値 (0.41) よりも若干低い値である。BPA と BSH の CF を直接比較した報告は少ないが、Sauerwein [63] によれば、動物モデルでの脳及び脳腫瘍組織に対する CF は BSH で 0.37 及び 0.8、BPA ではいずれも 1.1 であり、BPA での CF が *in vitro* (本実験では 1.25) と *in vivo*

で同程度の値であるのに対し、BSHでは違いが大きく、正常な脳血液関門の存在が脳組織内移行を低減させていると思われる(表4)[68]。ホウ酸、BSH、BPA、STA-BX900、STA-BX909、STA-BX929についてのCBE_{boron}、CFが明らかとなったことで、ホウ酸を用いた実験データから他のホウ素化合物の効果を推定しうる。今後、各化合物間で同条件の実験を行い、この推定法を検証することが必要となるであろう。

5. ファントム照射における *in vitro* 生物学的効果比

本項では、JRR-4の熱外ビーム、混合ビーム、及びKUR熱外ビームを用いて、ファントム内照射での線量測定、計算シミュレーション、生存率の測定を行う。これにより、熱外ビームの有用性を検証し、現在治療研究で使用されている混合ビームと今後導入が見込まれる熱外ビームの深部方向での生物効果の違いを明らかにする。

5.1 ファントム内細胞照射の実験方法

5.1.1 細胞照射の条件

exponential growth 下の V79 Chinese hamster 細胞を 10% fetal bovine serum を加えた Minimum Essential Medium (Sigma Chemical Co.) 中で 37 ℃、5% CO_2の通常条件下で準備培養した。V79 細胞は PBS で洗浄後、トリプシン処理を行い、100-200 cell / 120 μl medium の細胞懸濁液として 384-well plate (Nalge Nunc International Co.、 Ltd を modify) の各 well に分注した。384-well plate は 4.5mm x 4.5mm の正方形の底面をもつ容量 140 μl のコンパートメントからなり、ファントム表面近くの生存率変化を細かく調べるために一部改造して使用した(**図 10**)。

ホウ素投与群では照射 6 時間前に 5 または 15 μg ^{10}B /ml medium となるようホウ酸を加えて調整を行ってから分注した。ホウ素投与群での ^{10}B 濃度は PBS での洗浄、トリプシン処理、細胞計数、中性子照射の間、常に一定に維持した。照射後、V79 細胞懸濁液 100 μl を直径 60mm のプラスチック製 dish に移し、7 日間培養を行った。90%メチルアルコールとメチレンブルーにより染色を行い、50 個以上の細胞を有するコロニーの数を計数した。照射時間は予備実験データをもとに、各ビームでのファントム内熱中性子フラックスがピーク位置（JRR-4 熱外ビームでファントム表面より 20mm、JRR-4 混合ビームで 7mm、KUR 熱外ビームで 20mm）で 3.0 x 10^{12} n cm^{-2} または 4.0 x 10^{12} n cm^{-2} となるよう設定した。

使用した頭部水ファントムは外径 186 mm、厚さ 3mm の Polymethylmethacrylate (PMMA) 製の円柱型で、内部に蒸留水を満たして使用した(Water phantom、**図 10**)。ビーム孔平面とファントム表面の距離は 10 mm とし、直径 10cm 及び 15cm の 2 種のコリメータを用いて測定を行った。

5.1.2 統計処理

グラフ上の熱中性子フラックス、生存率は測定値の平均±標準偏差で表した。熱中性子フラックス測定値は各照射条件で最大値及び isodose 線の幅及びファントム表面からの距離について比較し、Wilcoxon's signed rank sum test を用いて有意差（ p <0.01）の判定を行った。生存率比較の際の検定にも同様の方法を用いた。

5.2 ファントム照射における *in vitro* 生物学的効果比の結果

5.2.1 ファントム内深度による生存率、熱中性子線量、γ線量の変化

JRR-4 熱外ビームによるファントム内深さ方向に対する生存率変化は、^{10}B の有無に関わらず表面より 20mm 付近に最低点をもつ凹型を示した (**図 11**)。JRR-4 混合ビームの生存率は JRR-4 熱外ビームにくらべて直線的で、最低点はファントム表面直下の測定点であった。JRR-4 熱外ビームは ^{10}B 存在

下では約10mmより深い位置で (p=0.0010)、また ^{10}B 非存在下では約5mmより深い位置で (p=0.0022) 混合ビームよりも低い生存率を示した。

KUR 熱外ビームの生存率変化は、^{10}B 存在下では凹型を示し、^{10}B 非存在下では直線状となった。^{10}B 存在下での生存率はどの深さにおいても JRR-4 熱外ビームよりも低値を示した (p=0.0004)。

細胞照射の際に同時に測定された熱中性子フルエンスは図 12 に示すようにピーク位置で、JRR-4 熱外ビーム 2.68×10^{12} n cm^{-2}、混合ビーム 2.69×10^{12} n cm^{-2}、KUR 熱外ビームで 2.66×10^{12} n cm^{-2} であり、各ビーム間で有意差を認めなかった。

γ線分布は、深度 10mm 以降では、混合ビームに比べて JRR-4 熱外ビーム及び KUR 熱外ビームで高値を示すが、JRR-4 熱外ビームと KUR 熱外ビームの間に明らかな違いは認めなかった。γ線量率の最大値は各ビームで約 2Gy であった。JRR-4 熱外ビーム及び KUR 熱外ビームのγ線分布は、熱中性子フルエンスのような凸型でより緩やかな曲線を示し、両ビーム間で有意差を認めなかった(図 12)。

細胞照射と別に行ったビーム中心軸上の熱中性子フラックス測定結果を図 13 に示した。単位出力 (MW) あたりの熱中性子フラックスが最も高いのは混合ビームであり、ピーク位置で 1.60×10^{9} n cm^{-2} sec^{-1} MW^{-1} であった。主としてカドミウムシャッターにより熱中性子を減少させている JRR-4 熱外ビーム及び KUR 熱外ビームでは熱中性子フラックスは低く、ピーク位置でそれぞれ 1.12×10^{9} n cm^{-2} sec^{-1} MW^{-1} 及び 1.18×10^{8} n cm^{-2} sec^{-1} MW^{-1} であった。Water phantom 表面からピーク位置までの深度 (0.5mm 刻み)は、JRR-4 熱外ビームで 17.5mm、JRR-4 混合ビームで 7.5mm、KUR 熱外ビームで 22.5mm であった。

ファントム内γ線量分布を図 14 に示した。γ線量率のピーク値は JRR-4 熱外ビームで 3.13 Gy h^{-1}MW^{-1}、JRR-4 混合ビームで 4.30 Gy h^{-1}MW^{-1}、KUR 熱外ビームで 0.31 Gy h^{-1}MW^{-1} であった。JRR-4 熱外ビーム及び KUR 熱外ビームのピーク値は、熱中性子フラックスでのピーク位置(図 13)と比べやや深部で観察されたが、本実験では有意差は認めなかった。

5.2.2 生物学的効果比の深部方向変化

JRR-4 熱外ビームでは ^{10}B の有無に関わらず、Water phantom 内細胞生存曲線の形状は凹型を示し、同時に測定された凸型の熱中性子フルエンス変化に対応した pattern を示した（図 11、図 12）。また ^{10}B 存在下の照射ではこの凹型の形状がさらに強くなる傾向が観察された。このことは、^{10}B 非存在下での生存率変化の主要な構成成分である窒素線量及びγ線量、^{10}B 存在下での生存率低下の原因であるホウ素線量のいずれもが、熱中性子分布と平行して変化するためと考えることができる(図 15)。

したがって、JRR-4 熱外ビームでの ^{10}B 非存在下の生存率にみられるように、熱中性子と異なる分布を示す速中性子の影響が相対的に小さい場合には熱中性子分布の mirror image となる凹型形状を示し、この傾向は ^{10}B 存在下でホウ素線量が加わることでより顕著になると考えられる。同様に、KUR 熱外ビームでの ^{10}B 存在下及び非存在下での生存率曲線の形状の違いは、速中性子線量によってもたらされると推定することができる。^{10}B 非存在下では相対的に速中性子線量の影響が表面近傍で大きく、凹状の生存率曲線が表面近傍で低下し、全体として直線状の生存率変化になると考えることができる(図 16)。

図 17、図 18 に各ビームの生存率から得られた生物学的効果比($RBE_{neutron}$ 、RBE_{beam} 、CBE_{boron})のファントム内深度による変化を示した。表面付近での $RBE_{neutron}$ は KUR 熱外ビーム ＞JRR-4 熱外ビーム ＞JRR-4 混合ビームの順であった。JRR-4 熱外ビームの $RBE_{neutron}$ は 30mm までは減少し、その後増

加し、KUR熱外ビームでは直線的に減少、JRR-4混合ビームでは直線的に増加した。

RBE_{beam}は40mmまではKUR熱外ビーム＞JRR-4熱外ビーム＞JRR-4混合ビームの順であり、どのビームともほぼ直線的に漸減した。JRR-4熱外ビーム、JRR-4混合ビームが深度方向で大きな変化がないのに対し、KUR熱外ビームの低下が大きかった。CBE_{boron}は各ビームで20mm付近に極小値を持つ凹型を示し、KUR熱外ビーム＞JRR-4熱外ビーム＞JRR-4混合ビームの順に小さい値を示した。

ファントム内照射による生物学的効果比($RBE_{neutron}$、RBE_{beam}、CBE_{boron})の深度変化についての報告は少なく、ビームによる違いについても議論の分かれるところである。White *et al.*[76]は熱外ビームを用いて行ったホウ素非存在下の生物学的効果比($RBE_{neutron}$とRBE_{beam})についての深度変化を報告しRBE_{beam}は深度とともに減少し、$RBE_{neutron}$は計算方法により、深度に対して有意な変化を示さない場合と増加を示す場合があるとした。本項の実験では、RBE_{beam}は各ビームとも深度とともに減少し、$RBE_{neutron}$はJRR-4混合ビームでは深度とともに増加したが、KUR熱外ビームでは逆に減少し、熱外ビームでは深度30mm付近までは減少して以降増加した。$RBE_{neutron}$が深度とともに増加する理由としてWhiteは、深度40mm付近を境に平均中性子エネルギーが増加(ビームの硬化)に転じることをあげた。平均中性子エネルギー変化は、各深度における高エネルギー中性子と低エネルギー中性子の減少率の差によって生じると考えられるが、ビーム中の速中性子成分はJRR-4混合ビーム＜JRR-4熱外ビーム＜KUR熱外ビームの順に増加するため、平均エネルギーの増減する位置に差が生じた可能性がある。

$RBE_{neutron}$の深度による変化がビームにより異なるのに対し、CBE_{boron}は各ビームで共通して凹型の変化を示した。CBE_{boron}では、$^{10}B(n,\alpha)^{7}Li$反応が^{10}Bの中性子捕捉断面積σに依存するため(図8参照)、エネルギーの高い速中性子の影響が小さく、平均エネルギーの増減により各ビームで同様の凹型になったものと推定された。

6. *in vitro* 細胞生存率に基づくγ線等価線量による評価

6.1 対象と方法

6.1.1 中性子ビーム

本実験で比較を行った中性子ビームは、JRR-4 の熱外ビーム、混合ビームの 2 種である。γ線等価線量を測定する実験では実験細胞を一つの測定子とみなして、Bond の方法によるγ線等価線量をファントム内の各深度で測定した。そのため予めピーク位置のフルエンスをそろえるよう照射時間を調整した上で照射を行い、熱外及び混合ビーム間での比較を試みた。

6.1.2 細胞照射

実験細胞として薬剤誘発性ラットグリオーマ系の 9LGS、C6 glioma (以下、C6)、マウス扁平上皮癌 SCCVII、Chinese hamster 肺細胞由来 V79 細胞を用いた。Exponential growth 下の実験腫瘍細胞を、10% fetal bovine serum を加えた Minimum Essential Medium (Sigma Chemical Co.)中で、37 ℃かつ 5% CO_2の通常条件下で準備培養した。細胞は PBS で洗浄後、トリプシン処理を行い、10000 cell / ml medium の細胞懸濁液として凍結チューブ(MS4501、住友ベークライト)に充填した。ホウ素投与群では照射 18 時間前に 5 または 15$\mu g^{10}B$ /ml medium となるよう BSH を添加した。ホウ素投与群での ^{10}B 濃度は PBS での洗浄、トリプシン処理、細胞計数、中性子照射の間、常に一定に維持した。照射後、細胞の一部を直径 60mm のプラスチック製 dish に移し、7 日間培養を行った。90％メチルアルコールとメチレンブルーにより染色を行い、50 個以上の細胞を有するコロニーの数を計数した。

細胞照射には、「5 ファントム照射における *in vitro* 生物学効果比」と同じ Water phantom を使用し、表面及び内部の深度 9mm、24mm、44mm、64mm、84mm、104mm、124mm のスペーサーに凍結チューブを固定して測定を行った。照射時間は予め測定した熱中性子フラックス分布を基に、ピーク位置で 5 x 10^{12} n cm^{-2} となるよう、両ビームで設定した。

6.1.3 統計処理

生存率は平均値±標準偏差で表し、生存率及びγ線等価線量の有意差の検定には Wilcoxon's signed rank sum test を用いた(p<0.05)。

6.2 *in vitro* 細胞生存率に基づくγ線等価線量の測定結果及び評価

γ線等価線量の算出に用いた各 cell line でのγ線に対する生存率曲線、及び直線-二次式モデルを用いて算出したα及びβ値を**図 19**、**表 8** に示した。

図 20 に各細胞種のファントム内照射による生存率変化を示した。熱外ビームでの生存率はホウ素の有無に関係なく凹型を示し、最下点は深度 9mm または 24mm であった。これに対し混合ビームでは V79 と SCCVII で最下点が深度 9mm の凹型を示し、9LGS 及び C6 ではより直線状であった。各細胞種での生存率の最下点はホウ素非投与時には約 0.1、15$\mu g^{10}B$ /ml では約 0.001 であったが、V79 と SCCVII でやや高い傾向を示した。熱外ビームでの 9LGS の生存率を例にとり SCCVII、V79 と比較した場合、ホウ素非投与時（SCCVII: p=0.050、 V79: p=0.050）、15$\mu g^{10}B$ /ml（SCCVII: p=0.046、 V79: p=0.037）いずれも有意に高値を示した。

図21に基づき各細胞種で算出したγ線等価線量を図20に示した。$D_{eq\text{-}beam}$では熱外ビームでの最大値は細胞種によって深度9mmまたは24mmで、混合ビームでは深度24mmであった。$D_{eq\text{-}beam}$を全体として見ると、各深度において熱外ビームが混合ビームに比して有意に高値を示した (p=0.0017)。一方、15μg^{10}B /mlに対応する$D_{eq\text{-}boron}$は24mmより深い位置では熱外ビームが混合ビームに比して有意に高値を示したが(p=0.0012)、9mmでは明らかな差はなかった。V79と9LGSで比較を行うと、両ビームの$D_{eq\text{-}beam}$ではV79が9LGSと比較して各深度で高値であるのに対し(熱外ビーム: p=0.0431、混合ビーム: p=0.0431)、$D_{eq\text{-}boron}$では明らかな差を認めなかった。

図22にV79を用いて行った「5ファントム照射における *in vitro* 生物学的効果比」の測定値に基づく荷重線量を示す。JRR-4熱外ビームと混合ビームを比較した場合、深度20mmよりも深い位置での総線量 $D_{eq\text{-}total}$ 及びホウ素線量 $D_{eq\text{-}boron}$ は熱外ビームで有意に高かった($D_{eq\text{-}total}$: p=0.0026、$D_{eq\text{-}boron}$: p=0.0309)。また、KUR熱外ビームの$D_{eq\text{-}neutron}$はJRR-4熱外ビームと比較して高値を示し(p=0.0026)、特に浅い部分 (<10mm)でこの傾向が強かった。

6.2.1 γ線等価線量と細胞種による違い

γ線等価線量の評価は、BNCTにおける生物効果を他の放射線と比較するために必要である。しかしその方法については、BNCTの生物効果が複雑な線量成分の総和であることや、「5.2.2 生物学的効果比の深部方向変化」で示した生物学的効果比の深度による変化、物理線量測定の不確実性とりわけ速中性子線量測定、各線量成分の相加性などいくつかの点で議論が分かれており、一定の見解は得られていない。生存率により等価線量を比較する方法は、詳細なBNCT各線量成分を測定することなく比較が行える簡便な方法である。この方法はもともと異なるホウ素化合物間の比較に際し、照射時間と原子炉出力を一定条件として、細胞内微小分布や取り込みの違いによる効果判定に用いられた[4]。本実験のように、ファントム内ピーク位置の熱中性子フラックスが予め分かっていれば、ファントム内 *in vitro* 生存率による各線量成分のγ線等価線量の比較も可能である。

一方、生存率から直接γ線等価線量を算出する方法は便利な反面、実験細胞のγ線と中性子線やα線に対する感受性が、細胞種や線量域の高低で異なる点に注意が必要である。したがって得られたγ線等価線量は、その絶対値による評価は避け、同一の細胞種を用いた相対的な比較に限定すべきである。本実験においても、9LGSで算出した$D_{eq\text{-}beam}$はV79で求められた値よりも高値となった。中性子ビーム中の高LET成分に対する9LGSとV79の感受性の差が小さく、γ線に対して9LGSがV79よりも低感受性であることにより、中性子ビームに対する同等の生存率変化が観察された場合の$^{\gamma}D_{eq\text{-}beam}$が9LGSで相対的に高値になるものと推定される。

6.2.2 BNCTでの各線量成分のγ線等価線量

本法で算出した $D_{eq\text{-}beam}$ に対し、細胞照射実験で測定されたγ線量の補正を行うことにより、$^{\gamma}D_{eq\text{-}beam}$を$D_{eq\text{-}neutron}$と$D_{eq\text{-}\gamma}$とに分けて評価することができる。JRR-4熱外ビームと混合ビームを比較した場合、深度20mmよりも深い位置での総線量及びホウ素線量は熱外ビームでより高く、γ線等価線量の評価からも深部での熱外ビームの有効性が示唆された。また、KUR熱外ビームの$D_{eq\text{-}neutron}$はJRR-4熱外ビームと比較して高値を示し、特に浅い部分 (<10mm)でこの傾向が強いことは、「5.2 ファントム照射における *in vitro* 生物学的効果比の結果」で得られた$CBE_{neutron}$がKUR熱外ビームでより高値である結果を支持するものであった。生存率からγ線等価線量を直接比較する方法により、物理線量測定や生物学的効果比の算出を介さずビーム間の比較が可能であることが示されたが、BNCT線量の絶対値比較のためには、細胞間の比較、線量による反応性の違いに関しての詳細な検討が必要である。

7. 臨床研究からみた考察

従来熱ビームの深部線量不足を補うために用いられてきた開頭 BNCT 手技の有効性については、基礎実験による裏づけがなされておらず、混合ビームや熱外ビームにおいても同様である。頭皮の反転と骨弁除去により遮蔽効果を減じてビーム孔と照射術野を近接させることにより深部線量が増加することは容易に推定される。これに対し、腫瘍摘出後腔を空気や発泡スチロールなどの低密度物質で置換する手技での深部線量の変化は中性子散乱による複雑な変化を伴うものであるため、これまで明らかにされていない。本実験の範囲であるが臨床医学的見地より分析を行った。

7.1 ファントム照射実験結果からみた臨床 BNCT

血管ホウ素線量(vascular boron dose)を基準とした開頭 BNCT のプロトコールでは、異なる施設で共通の線量計画が用いられる場合がある。しかし、JRR-4 熱外ビーム、混合ビーム及び KUR 熱外ビームの実験結果を見る限り、血管ホウ素線量が等しくても各ビームの生物効果は大きく異なるため、従来の熱ビームでの血管ホウ素線量を基準とした線量計画(上限 13Gy)を用いた場合、ビームの選択によっては過線量となる危険がある。今後 *in vivo* データや臨床データをもとに各線量成分に対する *WD* (weighted dose)を用いた分析を進めることで、異なるビームに対しての評価を正確に行い、それぞれのビームに適した線量計画が行われるようにしなくてはならない。

熱ビーム及び混合ビームを用いた開頭 BNCT では、照射時間の決定及び線量評価は脳表や摘出後腔に配置した金線の測定によって行われる[53]。本実験の結果から明らかなように、熱外ビームを開頭 BNCT に用いた場合、熱中性子フラックスのピーク値は脳組織深部に形成されるため、金線測定で高線領域を検知することは不可能であることが確かめられた。BNCT での熱中性子フラックスの最大値は正常脳での耐容線量の範囲で照射を行う上で重要であり、線量計画ソフト及びハードウエアの構築や、照射時の線量測定法の改善が熱外ビーム導入の前提条件になるものと考えられる。

7.2 ビーム中心軸上の物理線量と熱外ビームによる熱中性子分布の改善

熱外中性子ビームを用いる最も大きな利点は、深部における熱中性子フルエンスの増加であり、熱外中性子が組織内で減速され熱中性子化することで、照射された表面より約 2cm で熱中性子のピークを形成する。この特性を利用して、Brookhaven Medical Research Reactor (BNL) 及び High Flux Reactor (Petten)、Finnish Research Reactor (VTT) での BNCT 臨床試験では非開頭照射に熱外ビームが使用された[9,63,64]。熱外ビームの特性を利用した非開頭照射 BNCT が、従来の開頭照射による熱ビーム BNCT と比較して低侵襲であるのは言うまでもない。一方、熱外ビームに対する Monte Carlo 計算結果では、深度約 2cm 以降での各線量成分は比較的速やかに低下することが示されている[75]。したがって治療効果の面で、非開頭 BNCT での熱外ビームの使用が、皮膚反転、骨弁除去、void 処置による熱ビーム BNCT での利点を超えられるかどうかについては疑問が残る。事実 Brookhaven Medical Research Reactor で行われた非開頭熱外ビーム BNCT の phase I/II 臨床試験では、一回照射により通常放射線治療と同等の成績が得られたが、Ono[56]や Nakagawa *et al.*[53]の報告した熱ビーム BNCT の臨床成績を凌駕するものではなかった。本実験で測定された生存率曲線や熱中性子フラックスをもとにすれば、JRR-4 熱外ビーム及び KUR 熱外ビームは混合ビームに比して少なくとも 10mm 以上深さ方向に対する gain が認められる（**図 12、図 13**）。皮膚反転及び骨弁除去により取り除かれる組織（=遮蔽体）の

厚さは約20mm前後と見込まれるため、ビーム中心軸上の評価だけからみてもJRR-4またはKUR熱外ビームにより非開頭照射を行ったと仮定した場合、深部線量は混合ビームにより開頭照射を行った場合と同程度ないし減少する可能性がある。

8. 結論

8.1 フリービーム条件での RBE 及び CBE

JRR-4 各ビームのフリービーム条件に対して、V79 細胞を用いてホウ酸投与、非投与の生存率変化 を測定し、これら生存率変化から D_0 値を求め、RBE_{beam}、$RBE_{neutron}$、CBE_{boron} を決定した。

1）JRR-4 熱外ビーム： $RBE_{beam}=1.22\pm0.16$、$RBE_{neutron}=2.50\pm0.32$、$CBE_{boron}=3.99\pm0.24$

2）JRR-4 混合ビーム： $RBE_{beam}=1.23\pm0.16$、$RBE_{neutron}=2.34\pm0.30$、$CBE_{boron}=3.04\pm0.19$

3）JRR-4 熱ビーム ： $RBE_{beam}=1.21\pm0.16$、$RBE_{neutron}=2.17\pm0.28$、$CBE_{boron}=1.43\pm0.08$

熱ビームに対する $RBE_{neutron}$ 値 (2.17) は、$^{14}N(n, p)^{14}C$ 及び $^{1}H(n, n')p$ 反応に対して理論値に求められる RBE 値 (2.0)や、Gabel *et al.* [27] が熱ビームと V79 cell を用い $^{14}N(n, p)^{14}C$ 反応について報告した RBE 値 1.9 にほぼ一致している。

熱外ビームに対する CBE_{boron} 値 (3.99) は熱ビームに比して 2.8 倍に相当し、*in vitro* 照射でコロニー形成を endpoint とした実験としては、一般に知られているホウ素線量の CBE_{boron} 値は 2.3 ～ 3.3 より高い値を示した。臨床研究に用いている混合ビームに対する CBE_{boron} 値(3.04) は Davis *et al.* [20] が HeLa 細胞をもちいた実験で報告した 3.7 とほぼ一致した。これは JRR-4 の熱中性子に対する速中性子の混入率(1.08×10^{-12} Gy cm^2) が Davis *et al.*の用いた中性子ビームの混入率 (0.92×10^{-12} Gy cm^2) と近いためと考えられる。

熱中性子フルエンスが同値であっても、測定された生物学的効果を示す RBE 等が各ビームによって異なるのは、熱外中性子域での中性子スペクトルの違いから生じるものと考えられる。1 keV から 0.5 MeV のエネルギー帯でのスペクトルの違いは測定に反映され難いにも関わらず、生物効果に影響が大きいため重要である。カドミウム比は熱外中性子域を示す指標になるため、今後、生物効果を調べる上で有用となる。

8.2 臨床に用いられるホウ素化合物の CBE

臨床に用いられているホウ素化合物についても、熱ビームのフリービーム条件下で、ホウ素化合物投与、非投与の生存率変化をから D_0 値を求め、CBE_{boron} 及び CF を決定した。

1）BSH ： $CBE_{boron}=0.61$、$CF=0.41$

2）BPA ： $CBE_{boron}=1.6$、$CF=1.25$

ホウ酸、BSH、BPA 並びに開発中の STA-BX900、STA-BX909、STA-BX929 についての CBE_{boron} 、CF が明らかとなったことで、ホウ酸を用いた *in vitoro* 実験データから他のホウ素化合物の効果をある程度推定することが可能となった。今後、各化合物間で同条件の *in vitoro* 実験データを行い、この推定法を検証し、*in vivo* 実験・臨床試験へつなげることも必要となる。

8.3 ファントム内の RBE 及び CBE の分布

各ビームに対するファントム内の生物学的効果比($RBE_{neutron}$ 、RBE_{beam} 、CBE_{boron})のファントム表面からの深さによって変化する。

表面付近で比較した場合、以下の順となる。

$RBE_{neutron}$ ： KUR 熱外ビーム ＞JRR-4 熱外ビーム ＞JRR-4 混合ビーム（20ｍｍ以下）
RBE_{beam} ： KUR 熱外ビーム ＞JRR-4 熱外ビーム ＞JRR-4 混合ビーム（40mm 以下）
CBE_{boron} ：KUR 熱外ビーム ＞JRR-4 熱外ビーム ＞JRR-4 混合ビーム（20mm に極小値）

JRR-4 熱外ビームの $RBE_{neutron}$ は 30mm までは減少し、その後増加しているのに対し、KUR 熱外ビームでは直線的に減少している。RBE_{beam} は、どのビームともほぼ直線的に漸減した。JRR-4 熱外ビーム、JRR-4 混合ビームが深度方向で大きな変化がないのに対し、KUR 熱外ビームの低下が大きかった。CBE_{boron} は各ビームで 20mm 付近に極小値を持つ凹型を示した。

各深度における高エネルギー中性子と低エネルギー中性子の減少率の差によって平均中性子エネルギー変化が生じ、ビーム中の熱外中性子成分及び速中性子成分の効果が強調され、JRR-4 混合ビーム＜JRR-4 熱外ビーム＜KUR 熱外ビームの順に増加し、結果として平均エネルギーの増減する位置に差が生じたものと考えられる。ファントム内照射による生物学的効果比($RBE_{neutron}$ 、RBE_{beam} 、CBE_{boron})の深度変化についての報告は少なく、今後の中性子スペクトルの変化を考慮した評価が必要となる。

8.4 ファントム内のγ線等価線量の評価

物理測定によらなγ線等価線量を用いてγ線等価総線量、γ線等価中性子線量、γ線等価ホウ素線量とに分けて評価することができる。JRR-4 熱外ビームと混合ビームを比較した場合、γ線等価線量の評価からも深部での熱外ビームの有効性が示された。また、KUR 熱外ビームのγ線等価中性子線量は JRR-4 熱外ビームと比較して高値を示し、特に浅い部分 (<10mm)でこの傾向が強く、$CBE_{neutron}$ が KUR 熱外ビームでより高値であった。

荷重線量を用いた評価は、BNCT における生物効果を定量的に評価できるが、BNCT の生物効果が複雑な線量成分の総和であることや、生物学的効果比の深度による変化、物理線量測定の不確実性とりわけ速中性子線量測定、各線量成分の相加性などについて、一定の見解は得られていない。一方のγ線等価線量による評価方法は、各物理線量成分を推定することなく比較が簡便に行えることから異なるビーム間及びホウ素化合物間の生物学的効果の定性的な比較法として用いることができる。また、ファントム内ピーク位置の熱中性子フラックスが予め分かっていれば、ファントム内 *in vitro* 生存率による各線量成分のγ線等価線量の比較も可能となる。BNCT 線量の絶対値比較のためには、細胞間の比較、線量による反応性の違いに関してのγ線等価線量による評価方法が妥当であるかについて今後、詳細な検討が必要である。

8.5 臨床研究からの評価

従来型の開頭 BNCT のプロトコールでは血管ホウ素線量を基準としており、異なるビーム間でも共通の線量計画が用いられるている。しかし、JRR-4 熱外ビーム、混合ビーム及び KUR 熱外ビームの実験結果を見る限り、血管ホウ素線量が等しくても各ビームの生物効果は大きく異なるため、従来の熱ビームでの血管ホウ素線量を基準とした線量計画(上限 13Gy)を用いた場合、ビームの選択によっては過線量となる危険性がある。今後、*in vitro* 及び *in vivo* 実験データもとに各線量成分に対する等価線量の研究を進め、異種ビームに対して適切な線量計画が行なわくてはならない。また、正常脳の耐容

線量を見積もるためには荷重線量を取り入れた線量計画ソフトが必須であり、これまでの臨床データを細かく分析し、荷重線量についてプロトコールに反映すべきと考える。

熱外中性子ビームを用いる最も大きな利点は、深部における熱中性子フルエンスの増加であり、熱外中性子が組織内で減速され熱中性子化することで、照射された表面より約2cmで熱中性子のピークを形成する浸透性にある。従来型の熱ビームによるBNCTでの開頭手術では皮膚反転、骨弁除去、void処置によって線量の改善を行っており、Ono[56]やNakagawa *et al.*[53]の報告している熱ビームBNCTの臨床成績はこうした技術の上に成立しており、熱外中性子ビームの浸透性の優位性だけでこの成績を超えられるか、科学的に分析しなければならない。実際にBMRRで行われた非開頭熱外ビームBNCTのphase I/II臨床試験は、日本の熱ビームBNCTの臨床成績を超えるものではなかった。皮膚反転及び骨弁除去により取り除かれる組織（=遮蔽体）の厚さは約20mm前後と見込まれるため、ビーム中心軸上の評価だけからみてもJRR-4またはKUR熱外ビームにより非開頭照射を行ったと仮定すると、深部線量は混合ビームにより開頭照射を行った場合と同程度ないし減少する可能性がある。

8.6 まとめ

これまで述べたJRR-4各ビームの線量成分に対応する生存率及び生物学的効果比、物理線量測定結果等の基礎データは今後の基礎実験を行う上で、また他施設の中性子ビーム特性を理解する際にも利用することができる。本実験により、各線量成分に対する生物学的効果比は用いるビームによって、また深度によっても変化することが明らかとなった。今回示されたJRR-4熱外ビームに対する生物学的効果比は、臨床BNCTで熱外ビームを利用する他施設からの主要な報告と測定法、実験腫瘍細胞種等について共通しており、施設間の臨床結果の理解と比較を行う際に有用な情報となる。

また、JRR-4での混合ビームを用いたBNCTや、今後導入される熱外ビームを用いる場合の線量計算の指標となりうる。しかし、腫瘍組織や正常組織の全体の生物効果は深部方向での物理線量変化やスペクトル変化に対応し、連続的に変化している。したがってこれらの評価には*in vivo*、ファントム内*in vitro*などでの放射線生物学的線量評価が今後も必要となるであろう。最終的な目標は実際の臨床BNCTでの生体反応の予測と評価であるが、得られた基礎データを用いて線量を計算し、さらに臨床データをフィードバックして検証することで、BNCTにおける線量計画システムの開発と適正化に役立つことが期待される。

従来BNCTで用いられてきた熱ビームに比べ、JRR-4熱外ビームは高い生物効果を示しており、治療可能な領域が約10 mm深い位置まで拡大できることから、治療成績の向上に結びつく可能性がある。今後、開発中のJAERI Computational Dosimetry System (JCDS) [37,38,39,40,41]により、これまでの臨床BNCT症例におけるこれら生物学的効果について検証し、これらより臨床例での熱外ビームの有効性を予測するとともに、臨床BNCTでの線量計画に対応した適切な生物学的効果比の算出を行っていきたいと考えている。

謝　辞

稿を終えるにあたり、研究炉部　桜井文雄氏、高田準太郎氏、京都大学原子炉実験所　小野公二教授、古林　徹助教授、増永慎一郎助教授、櫻井良憲助手、木梨友子助手、小野昌子氏、筑波大学　吉田文代氏、張　天氏、黒羽真弓氏、東京ニュークリアサービス　大竹真一氏のご指導に深く感謝いたします。

参考文献

1. Barth RF, Matalka KZ, Bailey MQ, Staubus AE, Soloway AH, Moeschberger ML, Coderre JA, Rofstad EK: A nude rat model for neutron capture therapy of human intracerebral melanoma. **Int J Radiat Oncol Biol Phys** 28: 1079-1088, 1994.

2. Barth RF, Yang W, Rotaru JH, Moeschberger ML, Joel DD, Nawrocky MM, Goodman JH, Soloway AH: Boron neutron capture therapy for brain tumors: enhanced survival following intracarotid injection of either sodium borocaptate or boronophenylalanine with or without blood-brain barrier disruption. **Cancer Res** 57: 1129-1136, 1997.

3. Barth RF, Soloway AH, Goodman JH, Gahbauer RA, Gupta N, Blue TE, Yang W, Tjarks W: Boron neutron capture therapy of brain tumors: An emerging therapeutic modality. **Neurosurgery** 44: 433-451, 1999.

4. Bond VP, Laster BH, Wielopolski L: The equal effectiveness ratio: A quantitative approach to the evaluation of compounds for boron neutron capture therapy. **Radiat Res** 141: 287-293, 1995.

5. BNL 325 3rd edition, SF Mughab and DI Garber Ntis Eds, US department of Commerce Springfield, Vol1, 1973.

6. Capala J,Maker MS,Coderre JA: Accumulation of boron in malignent and normal cells incubated *in vitro* with boronophenylalanine, mercaptoborane or boric acid. **Radiat Res** 146: 554-560, 1996.

7. Ceberg CP, Brun A, Kahl SB, Koo MS, BRR Persson, LG Salford: A comparative study on the pharmacokinetics and biodistribution of boronated porphyrin (BOPP) and sulfhydryl boron hydride (BSH) in the RG2 rat glioma model. **J Neurosurg** 83: 86-92, 1995.

8. Chanana AD: Boron neutron capture therapy of glioblastoma multiforme at the Brookhaven Medical Research Reactor. A phase I/II study (FDA IND #43,317) Protocol #4, 1992.

9. Chanana AD, Capala J, Chadha M, Coderre JA, Diaz AZ, Elowitz EH, Iwai J, Joel DD, Liu HB, Ma R, Pendzick N, Peress NS, Shady MS, Slatkin DN, Tyson GW, Wielopolski L: Boron neutron capture therapy for glioblastoma multiforme: Interim results from the phase I/II dose-escalation studies. **Neurosurgery** 44: 1182-1193, 1999.

10. Coderre JA, Glass JD, Fairchild RG, Roy U, Cohen S, Fand I: Selective targeting of boronophenylalanine to melanoma for neutron capture therapy. **Cancer Res** 47: 6377-6383, 1987.

11. Coderre JA, Glass JD, Fairchild RG, Micca PL, Fand I, Joel DD: Selective delivery of boron by the melanin precursor analog *p*-boronophenylalanine to tumors other than melanoma. **Cancer Res** 50: 138-141, 1990.

12. Coderre JA, Slatkin DN, Micca PL, Ciallella JR: Boron neutron capture therapy of a murine melanoma with *p*-boronophenylalanine: Dose-response analysis using a morbidity index. **Radiat Res** 128: 177-185, 1991.

13. Coderre JA, Joel DD, Micca PL, Nawrocky MM, Slatkin DN: Control of intracerebral gliosarcomas in rats by boron neutron capture therapy with *p*-boronophenylalanine. **Radiat Res 129**: 290-296, 1992.

14. Coderre JA, Packer SG, Greenberg D, Micca PL, Joel DD, Saraf S: Boron neutron capture therapy of ocular melanoma and intracranial glioma using *p*-boronophenylalanine. In: **Progress in Neutron Capture Therapy for cancer**. Eds. Allen BJ, Moore DE and Harrington BV. Plenum Press, New York, 1992, pp.463-468.

15. Coderre JA, A phase I distribution study of *p*-boronophenylalanine. In: **Boron neutron capture therapy: Towards clinical trials of glioma with BNCT**. DS. Moss R and Gabel D, Plenum Press, New York, pp.111-121, 1992.

16. Coderre JA, Makar MS, Micca PL, Nawrocky MM, Liu HB, Joel DD, Slatkin DN, Amols HI: Derivations of relative biological effectiveness for the high-LET radiations produced during boron neutron capture irradiations of the 9L rat gliosarcoma *in vitro* and *in vivo*. **Int.J.Radation Oncology Biol Phys 27**, 1121-1129, 1993.

17. Coderre JA, Button TM, Micca PL, Fisher CD, Nawrocky MM, Liu HB: Neutron capture therapy of the 9L rat gliosarcoma using the *p*-boronophenylalanine-fructose complex. Int **J Radiat Oncol Biol Phys** 30: 643-652, 1994.

18. Coderre JA, Elowitz EH, Chadha M, Bergland R, Capala J, Joel DD, Liu HB, Slatkin DN, Chanana AD: Boron neutron capture therapy for glioblastoma multiforme using *p*-boronophenylalanine and epithermal neutrons: trial design an early clinical results. **J Neuro-Oncol** 33:141-152, 1997.

19. Coderre JA, Chanana AD, Joel DD, Elowitz EH, Micca PL, Nawrocky MM, Chadha M, Gebbers J-O, Shady M, Peress NS, Slatkin DN: Biodistribution of boronophenylalanine in patients with glioblastoma multiforme: Boron concentration correlates with tumor cellularity. **Radiat Res** 149: 163-170, 1998.

20. Davis MA, Little JB, Ayyangar KMMS, Reddy AR: Relative biological effectiveness of the $^{10}B(n,\alpha)^{7}Li$ reaction in HeLa cells. **Radiat Res** 43:534-553, 1970.

21. Deutsch OL, Murray BW: Monte Carlo dosimetry calculations for boron neutron capture therapy in the treatment of brain tumors. **Nucl Technol** 26: 320-339, 1975.

22. Elowitz EH, Bergland RM, Coderre JA, Joel DD, Chadha M, Chanana AD: Biodistribution of *p*-boronophenylalanine in patients with glioblastoma multiforme for use in boron neutron capture therapy. **Neurosurgery** 42:463-469, 1998.

23. Fairchild RG, Bond VP: Current status of ^{10}B-neutron capture therapy: Enhancement of tumor dose via beam filtration and those rate, and the effects of these parameters on minimum boron content: A theoretical evaluation. **Int Radiat Oncol Biol Phys** 11: 831-840, 1985.

24. Fukuda H, Kobayashi T, Matsuzawa T, Kanda K, Ichihashi M, Mishima Y: RBE of a thermal neutron beam and the $^{10}B(n,\alpha)^{7}Li$ reaction on cultured B-16 melanoma cells. **Int J Radiat Biol** 51:167-175,1987.

25. Fukuda H, Hiratsuka J, Honda C, Kobayashi T, Yoshino K, Karashima H, Takahashi J, Abe Y, Kanda K, Ichihashi M, Mishima Y: Boron neutron capture therapy of malignant melanoma using ^{10}B-paraboronophenylalanine with special reference to evaluation of radiation dose and damage to the normal skin. **Radiat Res** 138:435-442, 1994.

26. Fukuda H, Mishima Y, Hiratsuka J, Honda C, Wadabayashi N, Kobayashi , Yoshino K, Takahashi HK, Abe Y, Kanda K, Ichihashi M: BNCT of malignant melanoma: Radiobiological analysis and data comparison with conventional radiotherapy. In: **Cancer Neutron Capture Therapy**, Ed. Mishima Y, Plenum Press, New York, pp.663-671, 1996.

27. Gabel D, Fairchild RG, Larsson B, Börner HG: The relative biological effectiveness in V79 Chinese hamster cells of the neuron capture reactions in boron and nitrogen. **Radiat Res:** 98, 307-316, 1984.

28. Gabel D, Preusse D, Haritz D, Grochulla F, Haselsberger K, Frankhauser H, Ceberg C, Peters H-P, Klotz U: Pharmacokinetics of $Na_2B_{12}H_{11}SH$ (BSH) in patients with malignant brain tumours as prerequisite for a phase I clinical trial of boron neutron capture. **Acta Neurochir** 139: 606-612, 1997.

29. Gahbauer R, Gupta N, Blue T, Carpenter D, Sauerwein W, Wambersie A: Reporting a BNCT irradiation. Application of the ICRU recommendations to the specific situation in BNCT. In: Frontiers in Neutron Capture Therapy vol.2, Hawthorne, Shelly and Wiersema eds., Plenum, pp.565-569, 2001.

30. Hall EJ, Novak JK, Kellerer AM, Rossi HH, Marino S, Goodman LJ: RBE as a function of neutron energy: I. Experimental observations. **Radiat Res** 64:245-255, 1975.

31. Hatanaka H, Nakagawa Y: Clinical results of long-surviving brain tumor patients whih underwent boron neutron capture therapy. **Int J Radiat Oncol Biol Phys** 28: 1061-1066, 1994.

32. Horn V, Pharm D, Slansky J, Janku I, Strouf O, Sourek K, Tovarys F: Disposition and tissue distribution of boron after infusion of borocaptate sodium in patients with malignant brain tumors. **Int J Radiat Oncol Biol Phys** 41: 631-638, 1998.

33. Javid M, Brownell GL, Sweet WH: The possible use of neutron capture isotopes such as boron-10 in the treatment of neoplasm: II-Computation of the radiation energy and estimates of effects in normal and neoplastic brain. **J Clin Invest** 31:604-610, 1952.

34. Joel D, Slatkin D, Fairchild R, Micca P, Nawrocky M: Pharmacokinetics and tissue distribution of the sulhydryl boranes (monomer and dimmer) in glioma-bearing rats. **Strahlenther Onkol** 165: 167-170, 1989.

35. Kobayashi T, Kanda K: Analytical calculation of boron-10 dosage in cell nucleus for neutron capture therapy. **Radiat Res** 91:77-94, 1982.

36. Kota C, Maughan RL, Tattam D, Beynon D: Use of low pressure tissue equivalent proporsal counters for the dosimetry of neutron beams used in BNCT and BNCEFNT. **Med Phys** 27: 535-548, 2000.

37. Kumada T, Torii Y, Yokoo K, Yamaguchi K, Saito K, Matsumura A, Nakagawa Y, Sakurai H: A

Development of Computational Dosimetry System for BNCT at JRR-4. In: Hawhornw ed.., Frontiers in Neutron Capture Therapy, pp.611-614, 2001.

38. 熊田博明, 鳥居義也, 山口泰弘, 斎藤公明, 桜井文雄, 中川義信, 松村明：BNCT のための線量評価システムの開発, （社）日本原子力学会, 日本原子力学会 1999 年（第 37 回）春の年会要旨集第 II 分冊, pp.347, 1999.

39. 熊田博明: BNCT 線量評価システムの開発, JAERI-Conf 2000-013, pp.33-36, 2001.

40. Kumada T, Yamamoto K, Torii Y, Matsumura A, Yamamoto T, Nakagawa Y, Horiguchi Y: Development of Computational Dosimetry System and Measurement of Dose Distribution in Water Head Phantom for BNCT in JAERI, JAERI-Conf 2001-017, pp.357-362, 2001.

41. 熊田博明：BNCT 用線量評価システムに関する各国のシステム開発及び運用状況調査（委託調査）, 熊田博明（編）, JAERI-Tech 2001-004, pp.1-4, 2001.

42. Locher GL: Biological effects and therapeutic possibilities of neutrons. Am J **Roentgenol/Radium Ther** 36:1-13, 1936.

43. Maki H. Lethal effect and potentially lethal damage recovery in cultured mammalian cells irradiated by neutron-capture meams. **Int J Radiat Biol Oncol Phys** 55:397-409, 1989.

44. Matalka KZ, Bailey MQ, Barth RF, Staubus AE, Soloway AH, Moeschberger ML, Coderre JA, Rofstad EK: Boron neutron capture therapy of intracerebral melanoma using boronophenylalanine as a capture agent. **Cancer res** 53: 3308-3313, 1993.

45. Matsumura A, Shibata Y, Nakagawa K, Yamamoto T, Yoshizawa T, Yoshii Y, Nose T, Sakata I, Nakajima S, Miwa N: Boron-, Gadolinium-porphyrin derivatives for neutron capture therapy: MRI and ICP study. In: **Cancer Neutron Capture Therapy**. Mishima ed., Plenum Press, New York, pp245-250, 1996.

46. Matsumura A, Shibata Nakagawa Y K, Yamamoto T, Yasuda S, Nakajima S, Sakata I, Yoshizawa T, Nose T: Mn-metalloporphyrin conjugated with Gd-DTPA (Gd-ATN10): tumor enhancement agent for magnetic resonance imaging. **Neurol Med Chir (Tokyo)** 37: 327-333, 1997.

47. Matsumura A, Shibata Y, Yamamoto T, Fujimori H, Nakai K, Sakata I, Miwa N, Nakajima S, Nose T: Pharmacokinetic study of boronated metalloporphyrin (STA-BX900) and BSH in the 9L rat glioma model. In: **Advances in Neutron Capture Therapy -Vol. 2 Chemistry and Biology**, Larsson, Crawford and Weinreich ed., Elsevire, pp.158-162, 1997.

48. Matsumura A, Shibata Y, Yamamoto T, Yoshida F, Nakai K, Kiriya M, Shimojo N, Nose T, Nakajima S, Sakata I, Miwa N, Ito Y: Radiobiological Effects of Boronated porphyrin (STA-BX909) as a compound for neutron capture therapy. An *in vitro* study. Recent Progress of Photodynamic Therapy. In: **Proceedings of the 7th Annual Conference of JCIPA**. Ionics, Tokyo, pp125-130, 1997.

49. Matsumura A, Shibata Y, Yamamoto T, Yoshida F, Nakai K, Nose T, Sakata I, Nakajima S, Miwa N:

Development of new boronated porphyrins for neutron capture therpay. Porphyrins 7: 150-157, 1998.

50. Matsumura A, Shibata Y, Yamamoto T, Yoshida F, Isobe T, Nakai K, Hayakawa Y, Kiriya S, Shimojo N, Ono K, Sakata I, Nakajima S, Okumura M, Nose T: A new boronated porphyrin (STA-BX909) for neutron capture therapy: An *in vitro* survival assay and *in vivo* tissue uptake study. **Cancer Letters** 141:203-209, 1999.

51. Mishima Y, Ichihashi M, Nakanishi N, Tsui M, Ueda M, Nakagawa T, Suzuki T. Cure of malignant melanoma by single thermal neutron capture treatment using melanoma seeking compounds: ^{10}B/melanogenesis interaction to *in vitro/ in vivo* radiobiological analysis to preclinical studies, In: **Proceedings of the First International Symposium on Neutron capture Therapy**, Eds. Fairchild RG and Brownell G, Brookhaven National Laboratory, Upton, New York, pp355-364, 1983.

52. Mishima Y, Ichihashi M, Honda C, Shiono M, Nakagawa T, Obara H, Shirakawa J, Hiratsuka J, Kanda K, Kobayashi T, Nozaki T, Aizawa O, Sato T, Karashima H, Yoshimoto K, Fukuda H. Advances in the control of cutaneous primary and metastatic melanoma by thermal neutron capture therapy. In: **Progress in Neutron Capture Therapy for cancer**. Eds. Allen BJ, Moore DE and Harrington BV. Plenum Press, New York, pp.577-583, 1992.

53. Nakagawa Y, Hatanaka H: Boron neutron capture therapy: Clinical brain tumor studies. **J Neurooncol** 33: 105-115, 1997.

54. Nakagawa Y, Pooh K, Kageji T, Kitamura K, Uyama S: Boron neutron capture therapy in Japan-combination of surgical procedure and epithermal neutron, In: **Proceedings of Ninth International Symposium on Neutron capture therapy for Cancer**, pp33-34, 2000.

55. 新見嘉兵衛：**神経解剖学**, 朝倉書店, 1976.

56. 小野公二：悪性神経膠腫のホウ素中性子捕捉療法(原子炉医療), **脳神経外科速報 6**：429-434, 1996.

57. Ono K, Masunaga S, Kinashi Y, Takagaki M, Akaboshi M, Kobayashi T, Akuta K: Radiobiological evidence suggesting heterogeneous microdistribution of boron compound in tumors: Its relation to quiescent cell population and tumor cure in neutron capture therapy. **Int J Radiat Oncol Biol Phys** 34: 1081-1086, 1996.

58. Pöller F, Bauch W, Sauerwein W, Böcker W, Wittig A, Streffer C: DNA damage and repair in tumor cells after boron neutron capture irradiation with d(14)+Be-neutrons. In: **Advances in Neutron Capture Therapy -Vol. 2 Chemistry and Biology**, Larsson, Crawford and Weinreich ed. Elsevire, pp507-511, 1997.

59. Raaijmakers CPJ, Konijnenberg MW, Verhagen HW, Mijnheer BJ: Determination of dose components in phantoms irradiated with an epithermal neutron beam for boron neutron capture therapy. **Med Phys** 22: 321-329, 1995.

60. Raaijmakers CPJ, Konijnenberg MW, Mijnheer BJ: Clinical dosimetry of an epithermal neutron beam for

neutron capture therapy: Dose distributions under reference conditions. **Int J Radiat Oncol Biol Phys** 4: 941-951, 1997.

61. Rose OF (ed.): ENDF-201; ENDF/B-VI summary documenation, BNL-NCS-17541, 4th edition, 1991.

62. Rydin RA, Deutsch OL, Murray BW. The effect of geometry on capillary wall dose for boron neutron capture therapy. **Phys Med Biol** 21: 134-138, 1976.

63. Sauerwein W: Postopetrative treatment of glioblastoma with BNCT at the Petten irradiation facility. Phase I clinical trial. Protocol 11961, 1997.

64. Sauerwein W: The clinical project at HFR Petten. A status report. In Larsson B, Crawford J, Weinreich R (eds): In: **Advances in Neutron capture Therapy: Medicine and physics**. Amsterdam, Elsevier, vol 1, pp 77-84, 1997.

65. Shibata Y, Matsumura A, Nakagawa K, Yamamoto T, Yoshii Y, Nose T, Sakata I, Nakajima S: The measurement of gadolinium concentration in rat brain tumor with NMR analyzer for neutron capture therapy. In: **Cancer Neutron Capture Therapy**. Mishima ed., Plenum Press, New York, pp251-255, 1996.

66. Shibata Y, Matsumura A, Yamamoto T, Nakagawa K, Yoshii Y, Nose T, Sakata I, Nakajima S, Hayakawa Y, Ono K: Histlogic changes in the rat 9L glioma after BNCT with a BSH-porphyrin compound. In: **Advances in Neutron Capture Therapy -Vol. 2 Chemistry and Biology**, Larsson, Crawford and Weinreich ed. Elsevire, pp501-506, 1997.

67. Shibata Y, Matsumura A, Yamamoto T, Nakagawa K, Yoshii Y, Nose T, Sakata I, Nakajima S, Hayakawa Y, Ono K: Neutron Capture Therapy with a new boron compound in the rat 9L glioma model. **J Exp Clin Cancer Res** 17: 285-289, 1998.

68. Soloway AH, Hatanaka H, Davis MA: Penetration of brain and brain tumor. VII. Tumor-binding sulfhydryl boron compounds. **J Med Chem** 10: 714-717, 1967.

69. Soloway AH, Barth RF, Gahbauer RA, Blue TE, Goodman JH: The rationale and requirements for the development of boron neutron capthre therapy of brain tumors. J **Neurooncology** 33: 9-18, 1997.

70. Steel GG: **Basic Clinical Radiobiology: 2nd edition**, Arnold, 1997.

71. Taylor HJ and Goldhaber M: Detection of nuclear disintegration in a photographic emulsion. **Nature** 135: 341-348,1935..

72. Tolpin EI, Wellum GR, Dohan FC, Kornblith PL, Zamenhf RG: Boron neutron capture therapy of cerebral gliomas: II-Utilization of the blood-brain barrier and tumor-specific antigens for the selective concentrations of boron in gliomas. Oncology 32: 223-246, 1975.

73. Vroegindeweij C, Wheeler FJ, Huiskamp R, Rasmussen FS: Theoretical estimation of the effectiveness function and RBE values based on microdosimtric data, in Larsson B, Crawford J, Weinreich R (eds):

Advances in Neutron capture Therapy: Chemistry and Biology. Amsterdam, Elsevier, Vol 2, pp 599-603, 1997.

74. Watkins P, Moss RL, Stecher-Rasmussen F, Voorbraak W: Dosimetry for BNCT in theory and practice, in Larsson B, Crawford J, Weinreich R (eds): In: **Advances in Neutron capture Therapy: Medicine and physics**. Amsterdam, Elsevier, Vol 1, pp 141-146, 1997.

75. Wheeler FJ, Nigg DW, Capala J, Watkins PRD, Vroegindeweij C, Auterinen I, Seppälä T, Bleuel D: Boron neutron capture therapy (BNCT): Implication of neutron beam and boron compound characteristics. **Med Phys** 26: 1237-1244, 1999.

76. White SM, Held KD, Palmer MR, Yanch JC: Biological dosimetry for epithermal neutron beams. **Radiat Res** 155: 778-784, 2001.

77. Yamamoto K, Yamamoto T, Kumada H, Torii Y, Kishi T, Matsumura A, Nose T, Horiguchi Y: Evaluation of JRR-4 Neutron Beam using Tumor Cells. JAERI-Tech 2001-017, 2001.

78. Yamamoto K, KishiT, Hori N, Kumada H, Torii Y, Horiguchi Y: Measurement of Boron-10 Concentration in the Blood Sample for BNCT by Prompt Gamma-ray Analysis Equipment of JRR-4, JAERI-Tech 2001-016, 2001.

79. 山本和喜, 熊田博明, 鳥居義也, 堀直彦, 高田準太郎, 大竹真一：TLD による水ファントム内のガンマ線線量分布の測定, （社）日本原子力学会, 日本原子力学会 2000 年秋の大会要旨集第 I 分冊, pp.60, 2000.

80. Yamamoto T, Matsumura A, Shibata Y, Yoshida F, Nakai K, Nose T, Hayakawa Y, Horiguchi Y, Sakata I, Nakajima S, Miwa N: Incidence of apoptosis in neutron capture therapy using boron-porphyrin compound (STA-BX909). In: **Recent Progress of Photodynamic Therapy. Proceedings of the 7th Annual Conference of JCIPA**. Ionics, Tokyo, pp131-135, 1997.

81. Yamamoto T, Matsumura A, Shibata Y, Yoshizawa T, Fujimori T, Nakagawa K, Nakai K, Yoshii Y, Nose T, Sakata I, Nakajima S: MR imaging using boronated Mn-metalloporphyrin (STA-BX900) in BNCT. In: **Advances in Neutron Capture Therapy -Vol. 2 Chemistry and Biology**, Larsson, Crawford and Weinreich ed., Elsevire, pp267-270, 1997.

82. Yamamoto T, Matsumura A, Shibata Y, Fujimori H, Nakai K, Yoshida F, Nose T, Sakata I, Nakajima S, Miwa N: Mn-Metalloporphyrin (ATN-10) as a Tumor-localizing agent-MRI and ICP-AES study in experimental brain tumor, **Neurosurgery** 45: 1332-1338, 1998.

83. Yamamoto T, Matsumura A, Nose T, Shibata Y, Nakai K, Sakurai F, Kishi T, Kumada H, Yamamoto K, Torii Y: Medical setup of boron neutron capture therapy (BNCT) for malignant glioma at the Japan Research Reactor (JRR)-4, In: **Current Status of Neutron Capture Therapy**, IAEA, pp.233-239, 2001.

84. Yamamoto T, Matsumura A, Shibata Y, Yoshida F, Nakai K, Nose T, Horiguchi Y, Aizawa M, Nakajima S, Sakata I: Apoptosis of tumor cells in response to boron neutron capture therapy. In: **Frontiers in Neutron**

Capture Therapy vol.2, Hawthorne, Shelly and Wiersema eds., Plenum, pp.1293-1297, 2001.

85. Yoshida D, Cornell-Bell A, Piepmeier JM: Selective antimitotic effects of estramustine correlate with its antimicrotubule properties on glioblastoma and astrocytes. **Neurosurgery** 34: 863-867, 1994.

86. Yoshida F, Matsumura A, Shibata Y, Yamamoto T, Nose T, Okumura M: Cell cycle dependence of boron uptake in various boron compounds used for neuron capture therapy, In: **Proceedings of Ninth International Symposium on Neutron capture therapy for Cancer, pp57-58**, 2000.

87. Zamenhof BW, Murray GL, Brownell GR, Wellum GR, Tolphin EI. Boron neutron capture therapy for the treatment of cerebral gliomas. I: Theoreticalevaluation of the efficacy of various neutron beams. **Med Phys** 2: 47-60, 1975.

表 1　生体・非生体元素の熱中性子に対する反応断面積 (σ) [5]

Nuclide	Cross section (σ)	Elements in tissue	Cross section (σ)
^{10}B	3837	^{1}H	0.332
^{11}B	5.5×10^{-3}	^{23}Na	930×10^{-3}
^{6}Li	940	^{39}K	1.96
^{155}Gd	61000	^{24}Mg	0.052
^{157}Gd	254000	^{12}C	3.4×10^{-3}
^{113}Cd	19910	^{14}N	0.0750*
		^{31}P	0.180
		^{16}O	0.178×10^{-3}

単位は barn at 2200ms^{-1} (1 barn = 10^{-24}cm^2)； *(n, γ)でのσを示す。

表 2　Glioblastoma と脳内の代表的な細胞の大きさ [55,85]

Cell	Diameter (μm)
Glioblastoma	15-125
Oligodendroglia	10
Neuron	20-100
Erythrocyte	7.5-8
Astrocyte	30-50

表 3　BNCT で一般に用いられる主な線量成分

線量成分	主な成因、反応
ホウ素(^{10}B)線量	$^{10}B(n, \alpha)^{7}Li$
速中性子線量	$^{1}H(n, n')p$
窒素線量	$^{14}N(n, p)^{14}C$
γ線量	Core γ, $^{1}H(n, \gamma)^{2}H$

表 4　BSH (sodium borocaptate) と BPA (*p*-boronophenylalanine) の比較 [63]

	BSH	BPA
***In vitro* (cell culture)**		
Firm binding	No	No
Intracellular uptake	Low	High
Radiobiological	Low	High (due to intracellular uptake)
CBE factor	2.8-3.4	6.7-9.8
***In vivo* (animals)**		
Tumor/blood ratio	0.5-1	3
Therapeutic effectiveness	Yes	Yes
Clinical data in patients		
Tumor/blood ratio	0.56-2	1.6 (2-4)
Blood ^{10}B level at	30 μg^{10}B/g	10-15 μg^{10}B/g
Brain ^{10}B level at irradiation	5% of blood	50-100% of blood
Tumor ^{10}B level at	130% (50-800%) of blood	210% (130-290%) of blood
Intracellular ^{10}B uptake	Yes	Yes
Intranuclear uptake in tumor	Yes	Probably not
Projected dose ratio	1.3-2.5(concentration ratio 1-2.8)	1.5-2 (concentration ratio 2-4)

表 5　ビーム孔位置での JRR-4 各中性子ビームの中性子フラックスおよびγ線量率

Items		ENB	TNB-1	TNB-2
重水タンク内の重水厚		8 cm	12 cm	33 cm
カドミウムシャッター		on	off	off
ビスマスフィルター厚		18 cm	18 cm	18 cm
中性子フラックス n cm^{-2}sec^{-1}	Thermal < 0.53eV	3.6 x 10^{8}	2.0 x 10^{9}	6.5 x 10^{8}
	Epithermal 0.53eV-10keV	2.2 x 10^{9}	9.0 x 10^{8}	3.2 x 10^{7}
	(Epithermal / Thermal)	(6.111)	(0.450)	0.049
	Fast > 10keV	1.1 x 10^{8}	7.6 x 10^{7}	4.6 x 10^{5}
	(Fast / Thermal)	(0.305)	(0.038)	(0.007)
カドミウム比		1.15	2.5	13.5
γ線量率		1.86 cGy/min	2.79 cGy/min	0.54 cGy/min

計算および測定値は出力 3.5MW での値を示す。ENB (Epithermal neutron beam mode: 熱外ビーム)、TNB-1 (Thermal neutron beam mode 1: 混合ビーム)、TNB-2 (Thermal neutron beam mode 2: 熱ビーム)。

表 6 京都大学原子炉熱外ビームの(CO-0000) フリービーム特性

Cadmium ratio	1.0		
Neutron energy	Thermal <0.6eV	Epithermal 0.6eV-10keV	Fast >10keV
Neutron fluence rate (n/cm^{2}sec)	-	8.0×10^8	4.7×10^7
KERMA dose rate (cGy/hr)	-	23.8	168
γ -ray dose rate (cGy/hr)	70		

表 7 各ホウ素化合物の Do 値(cGy) および生物学的効果比 CBEboron

	BA	BSH	BPA	STA-BX900	STA-BX909	STA-BX929
D_0 値*	106	248	94	111	63	181
CBE_{boron}	1.41	0.61	1.6	1.35	2.38	0.83
CF	1	0.41	1.25	0.97	1.21	0.52

*単位 cGy CF は BA(ホウ酸)の CBE_{boron} を基準として算出した。

表 8 各 Cell line でのγ線照射 L-Q モデルによるαおよびβ値

Cell line	α	β
9L Gliosarcoma	0.1443	0.0222
C6 glioma	0.1360	0.0209
SCCVII	0.268	0.0134
V79	0.0384	0.0256

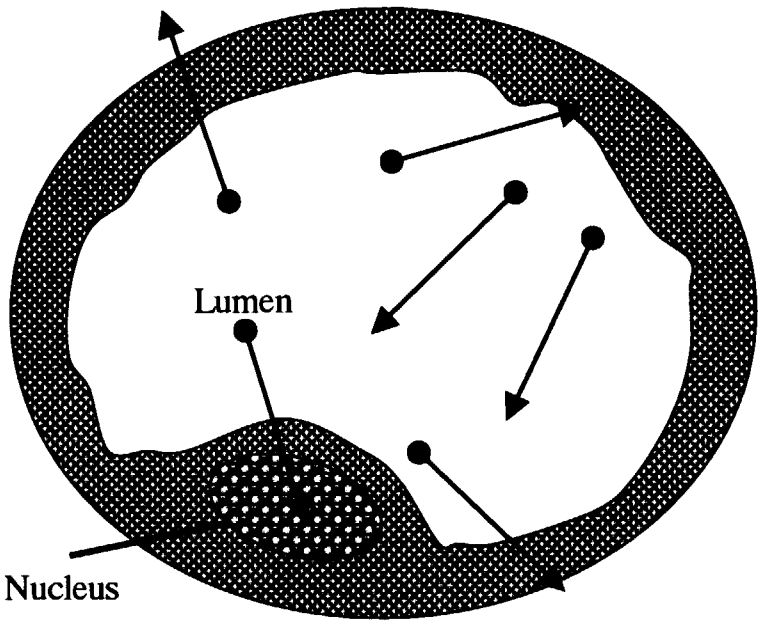


図 1　　毛細血管内皮細胞でのホウ素線量分布の模式図

α線および ^{7}Li 粒子線の飛程に比して管腔内径が大きく一部分のみが内皮細胞核に到達するため(geometric sparing)、内皮細胞のホウ素線量は血液 ^{10}B 濃度をもとにした場合よりも小さくなり、その比は約３：１とされる。

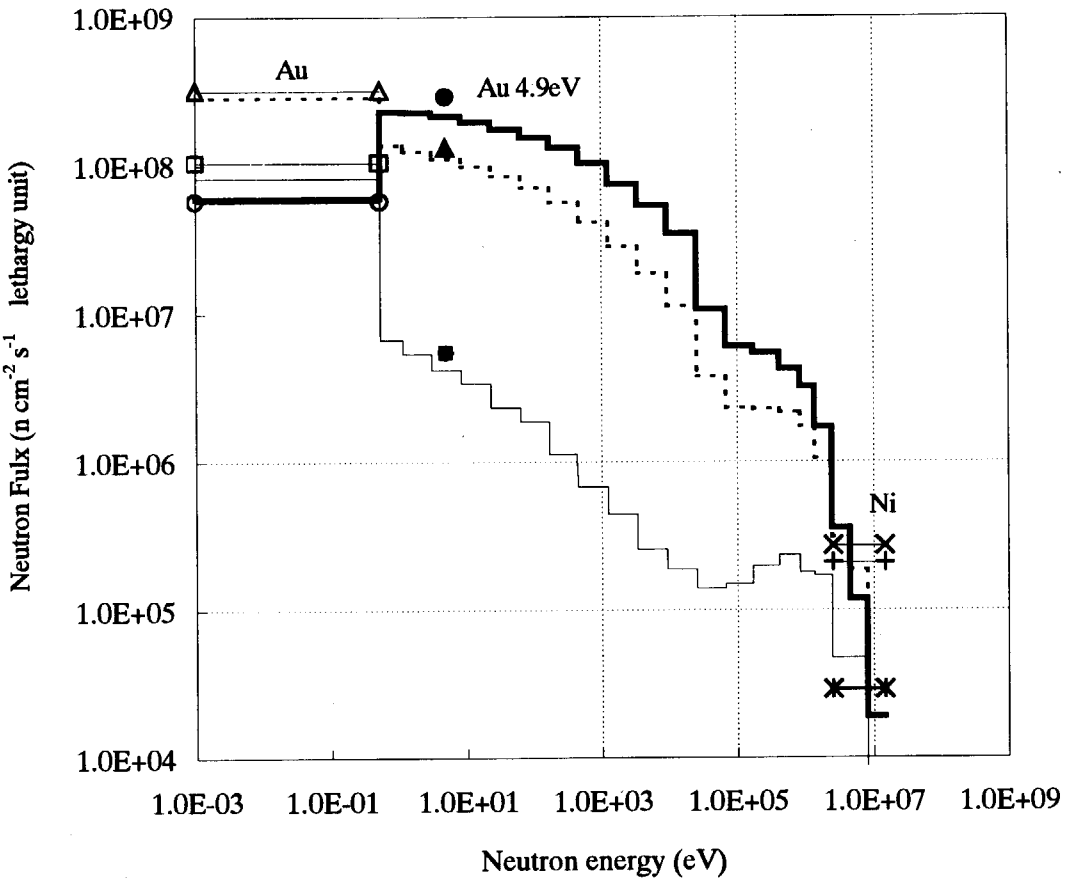


図 2　MCNP 計算に基づく照射孔位置での中性子スペクトル

熱外ビーム（━）、混合ビーム（- -）、熱ビーム（－）での各エネルギーに対する中性子スペクトル分布 (lethargy 単位)。X 軸は中性子エネルギー(eV)。^{197}Au (<0.53eV ; ○-○ : 熱外ビーム、△-△ : 混合ビーム、□-□ : 熱ビーム)、^{197}Au (4.9eV ; ● : 熱外ビーム、▲ : 混合ビーム、■ : 熱ビーム)、Ni (2.6-14.9MeV ; X-X : 熱外ビーム、+-+ : 混合ビーム、＊-＊ : 熱ビーム) による各実測値についてもプロットした。

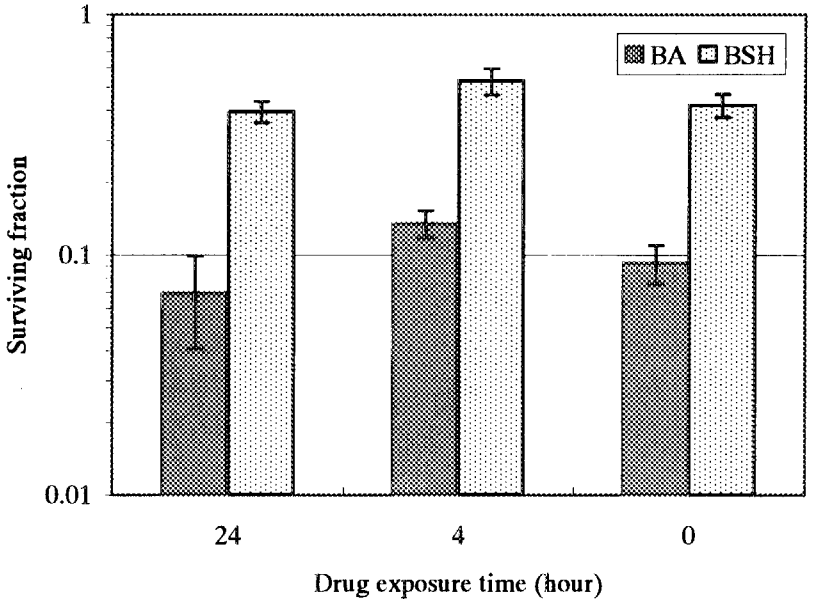


図 3　　ホウ素化合物投与後照射までの時間と細胞生存率の関係

BA (ホウ酸)、BSH(sodium borocaptate)いずれのホウ素化合物においても、ホウ素投与時間の違いによる生存率に有意な差は観察されない (Mann-Whitney's U-test)。

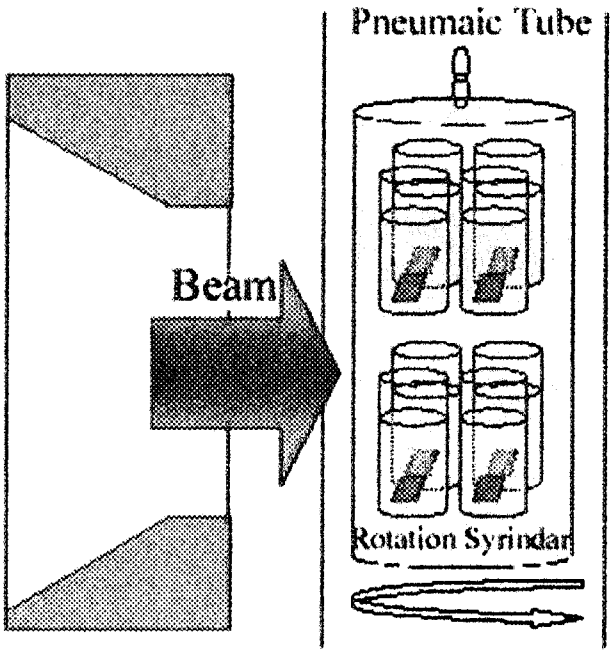


図 4　　回転照射装置の模式図

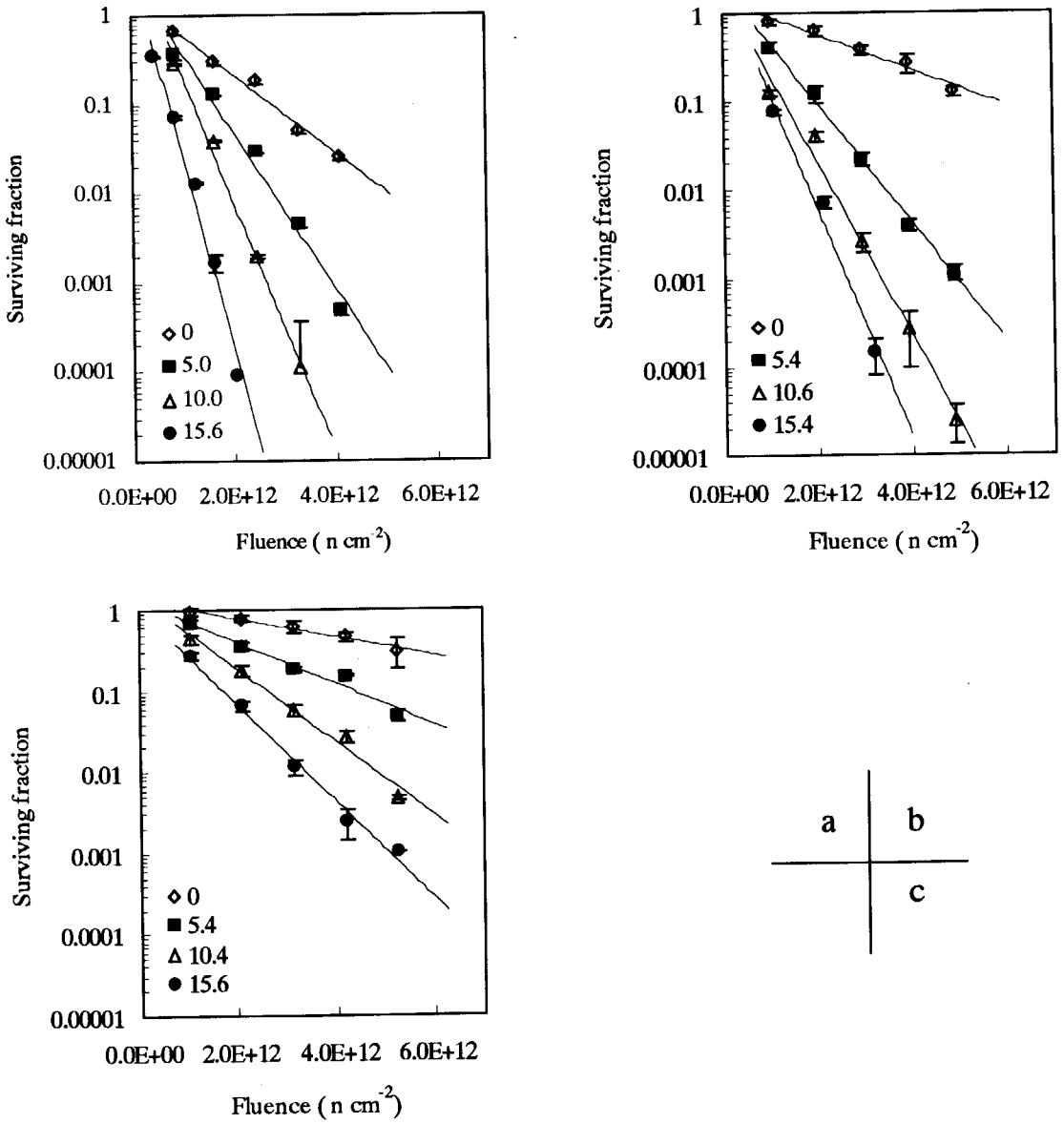


図 5　　各ビームによるホウ素存在下、非存在下の生存率比較

^{10}B 存在下（■、△、●）および非存在下（◇）による熱外ビーム(a)、混合ビーム(b)、熱ビーム(c)照射後の細胞生存率と linear fit による生存曲線。X 軸は熱中性子フルエンス n cm^{-2}、Y 軸は細胞生存率を示す。グラフ中の数値は即発γ線分析(PGA)による培養液中の ^{10}B 濃度（$\mu g^{10}B/g$ medium）の実測値を示す。測定値は 5 つの測定値の平均値、誤差線は標準偏差を示す。

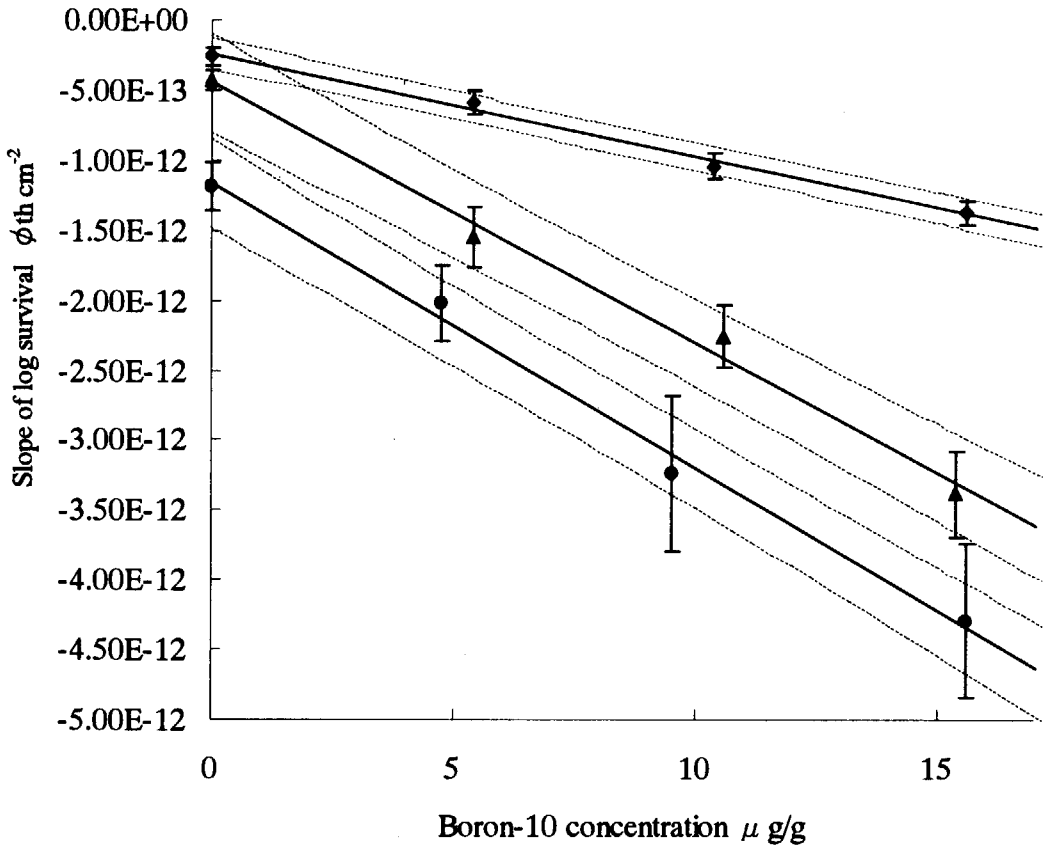


図 6 JRR-4 各ビームにおける生存率曲線と ^{10}B 濃度との関係

各直線の傾きから得られる D_0 値は熱外ビーム(-●-)で 0.37 ± 0.02Gy、混合ビーム(-▲-)で、0.50 ± 0.03Gy 熱ビーム(-◆-)で、1.06 ± 0.05Gy であった。各計算値と誤差線は 4 つの計算結果の平均値と標準偏差を示す。点線は 95%信頼区間を表す。

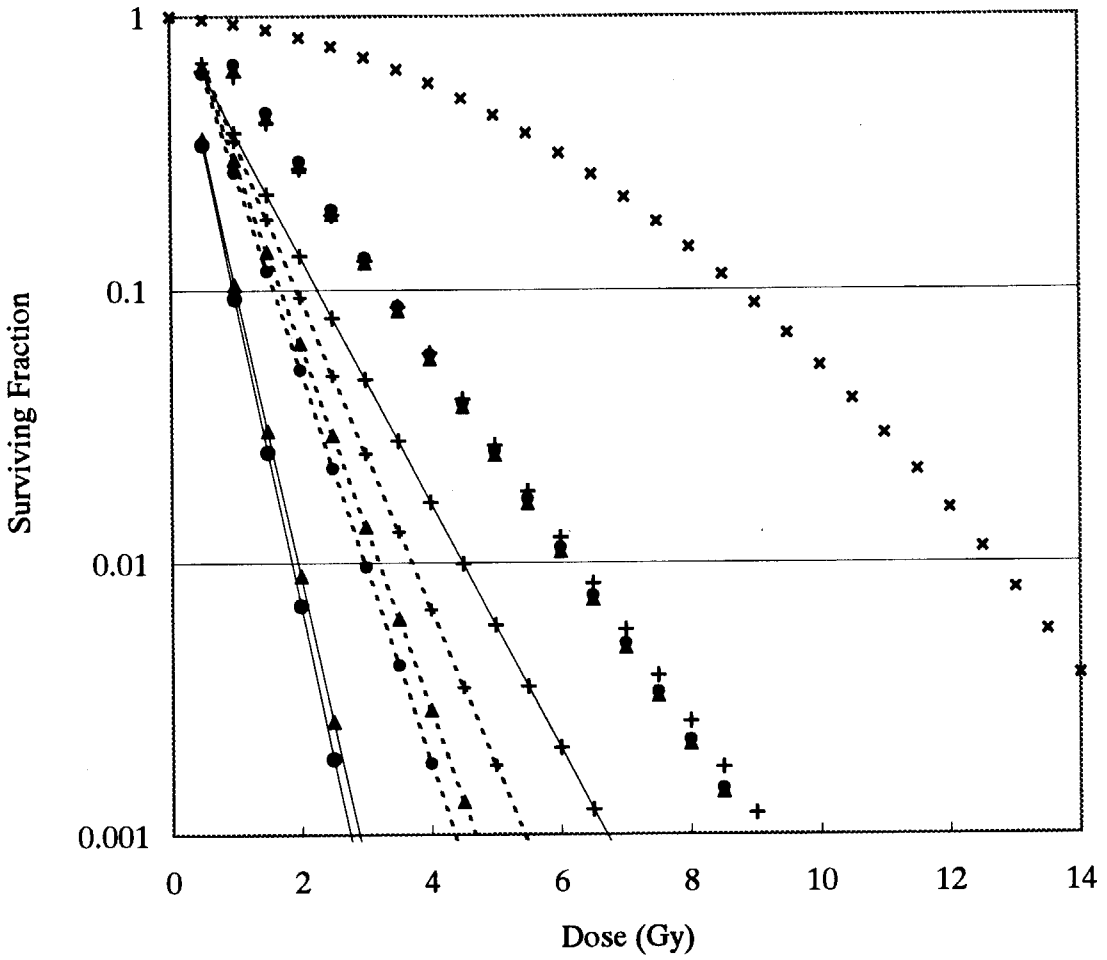


図 7　ホウ素投与・非投与群間およびγ線補正による各線量成分に対する生存率

ホウ素線量に対する生存率変化ΔR_{boron} (－)、ビーム中の速中性子および窒素線量に対する生存率変化$\Delta R_{neutron}$ (- - -)、ホウ素非投与下のビーム全体の生存率R_{beam} (線なし)、γ線に対する生存率変化ΔR_{γ}(xxx)を示す。●は熱外ビーム、▲は混合ビーム、+ は熱ビームを示す。生存率は物理線量 (Gy) に対してプロットした。

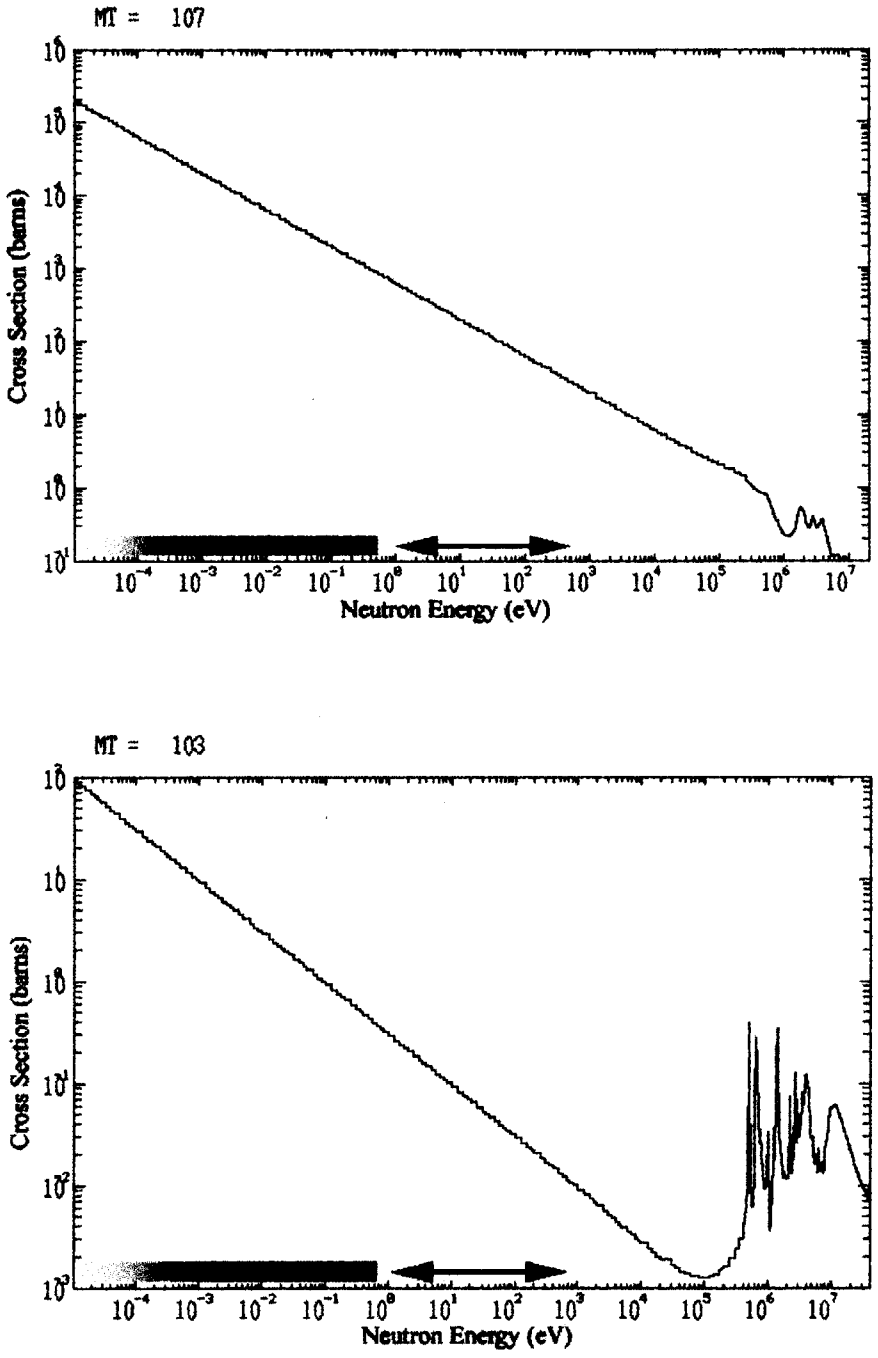


図 8　^{10}B、^{14}N の反応断面積（σ）と熱中性子測定範囲

^{10}B(左)、^{14}N(右)の反応断面積（σ)を示す。金線では0.53eV以下の熱中性子が測定される(左下bar)。矢印は熱中性子として実測されない部分で ^{10}B、^{14}N に対するσが比較的高いエネルギー帯を示し、この部分が生物効果に影響することを示す。この影響はσがより高値である ^{10}B で顕著である。

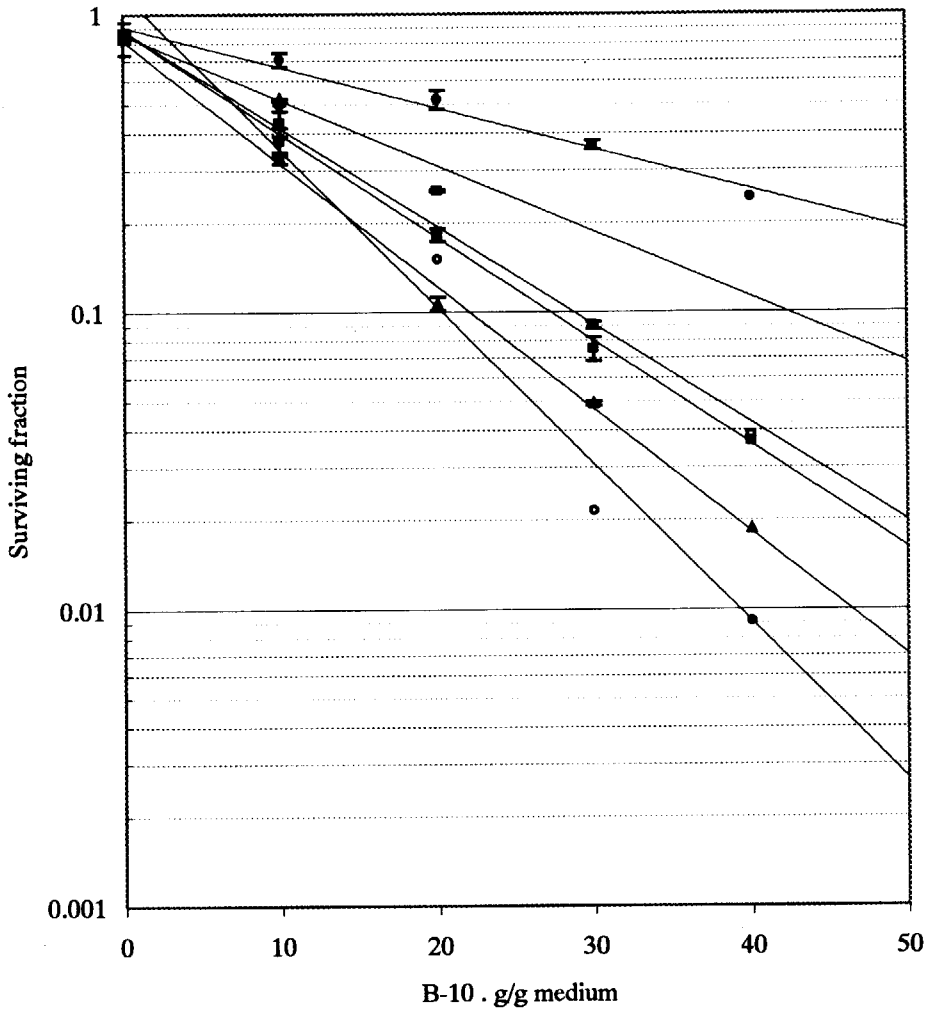


図 9　各ホウ素化合物存在下での熱中性子ビーム照射による生存率の比較

ホウ素化合物としてホウ酸 （■）、BSH（●）、BPA（▲）、STA-BX900（□）、STA-BX909（○）、STA-BX929（△）投与後に BNCT を行った場合の細胞生存率の比較。測定値は 3 つの測定値の平均値、誤差線は標準偏差を示す。

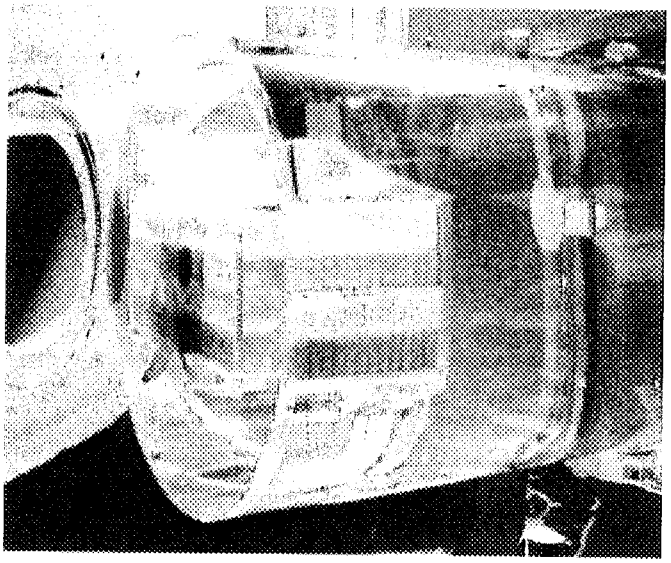


図 10　頭部水ファントム

384-well plate を用いて照射を行うところを示す。金線による熱中性子測定、void を有する場合(Void-in phantom)の測定も同じ規格の水ファントムを用いた。

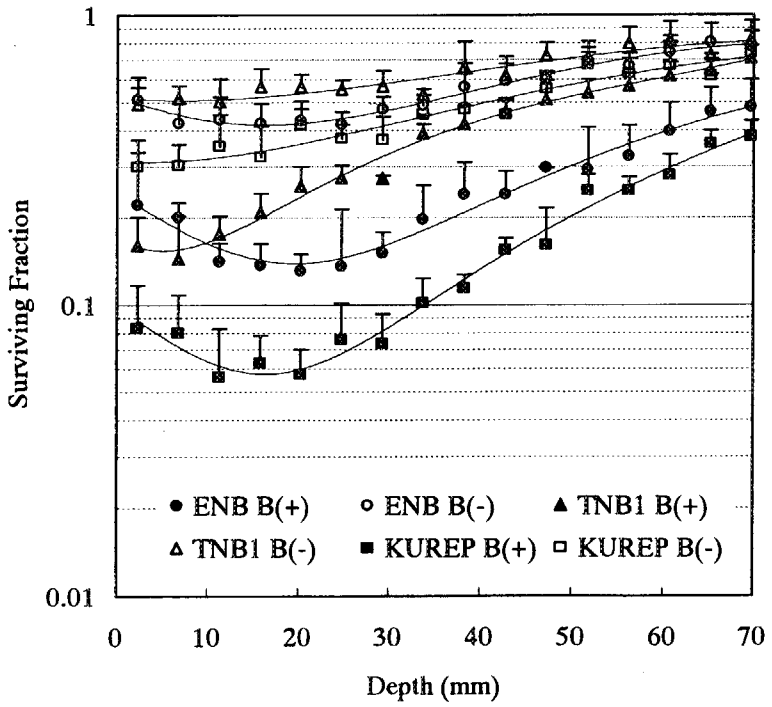
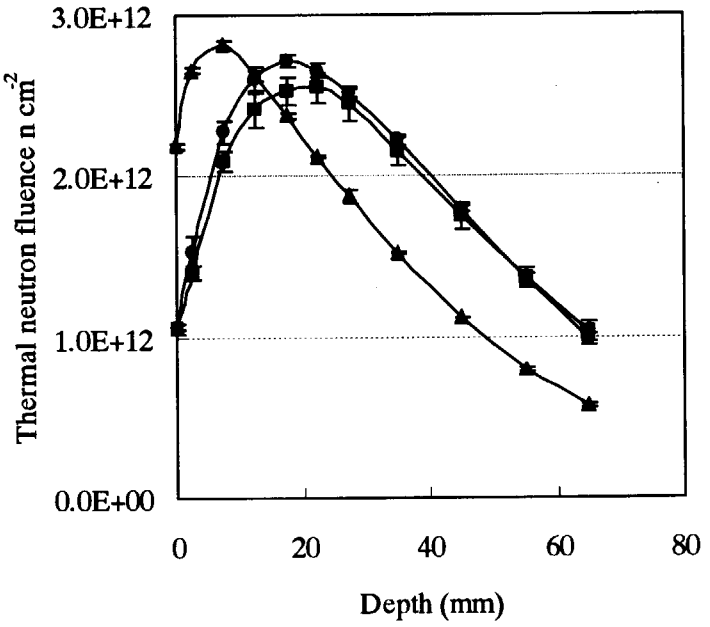


図 11 V79 細胞での BNCT での水ファントム内深度による生存率の変化

生存率は隣り合う 6 つの well に対する測定値の平均値、誤差線は標準偏差を示す。－●－: ENB (JRR-4 熱外ビーム)、5μg^{10}B/g; －▲－: TNB-1 (JRR-4 混合ビーム)、5μg^{10}B/g; －■－: KUREP (KUR 熱外ビーム) boron 5μg^{10}B/g; －○－: ENB boron (-)、－△－: TNB-1 boron (-)、－□－: KUREP boron (-)



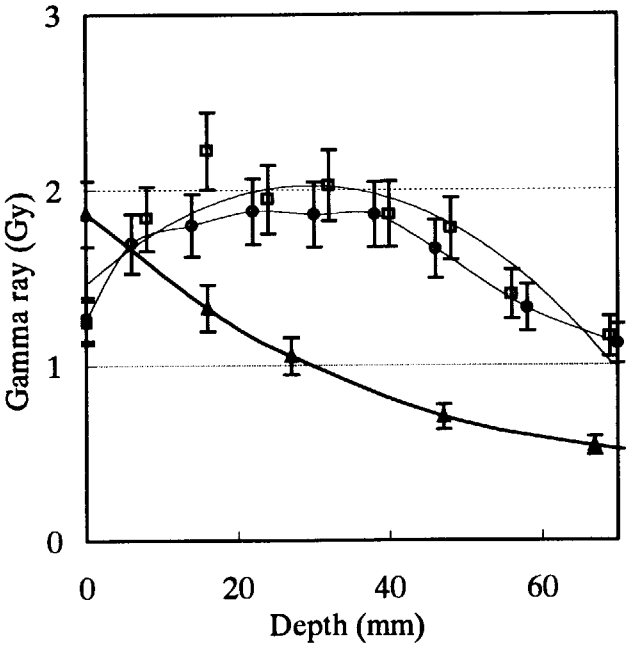
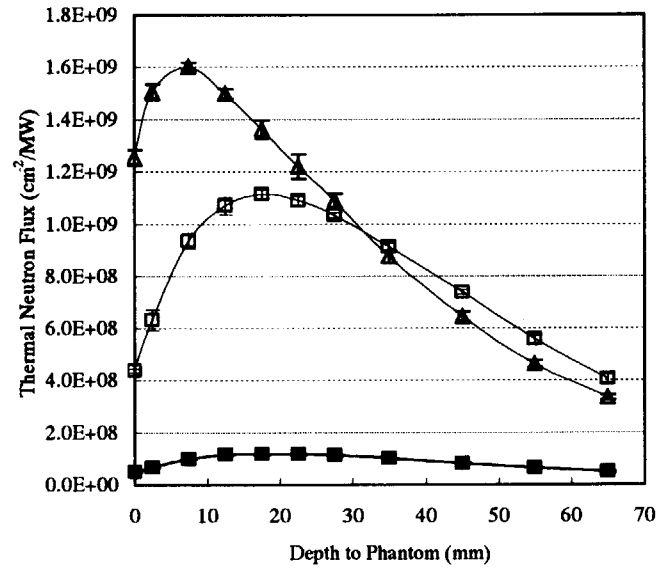


図 12　細胞照射時の熱中性子フルエンスおよびγ線分布のファントム内深度による変化

細胞照射は JRR-4 熱外ビームでは 18min/2.0MW、混合ビームでは 13min/2.0MW、KUR では 73min/5MW とし、熱中性子フルエンスの最大値で 2.7×10^{12} n cm^{-2} を予定した。熱中性子フルエンスは 4 つの測定値の平均値、誤差線は標準偏差を示す。TLD の測定は 1 つの測定値で、誤差線に標準誤差を併記した。

熱中性子フルエンス：-○-JRR-4 熱外ビーム、-△-混合ビーム、-□-KUR 熱外ビーム、

γ線：-●-JRR-4 熱外ビーム、-▲-混合ビーム、-■- KUR 熱外ビーム



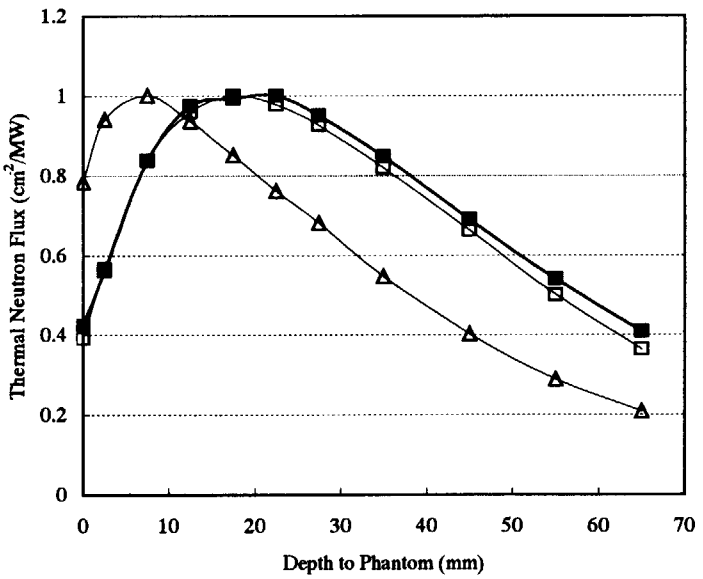


図 13　Water phantom 内ビーム中心軸上の熱中性子フラックス測定値

JRR-4 熱外ビーム (□) および混合ビーム (△)の最大出力は 3.5MW、KUR 熱外ビーム(■)での最大出力は 5.0MW とそれぞれ異なるため、1MW あたりの熱中性子フラックス（上）およびのピーク値で標準化したフラックス（下）を示す。左図で熱中性子フラックスは 4 つの測定値の平均値、誤差線は標準偏差を示す。

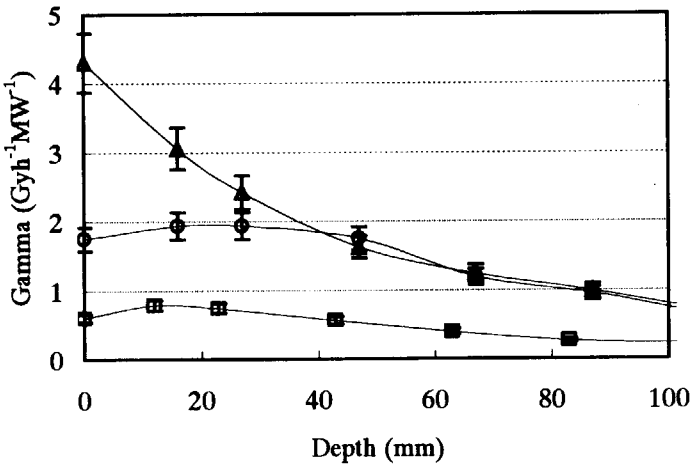


図 14　Water phantom 内ビーム中心軸上のγ線量率変化

1MW あたりのγ線線量を示す。JRR-4 熱外ビーム (◇)；混合ビーム (△)；KUR 熱外ビーム(□)。誤差線は標準偏差を示す。

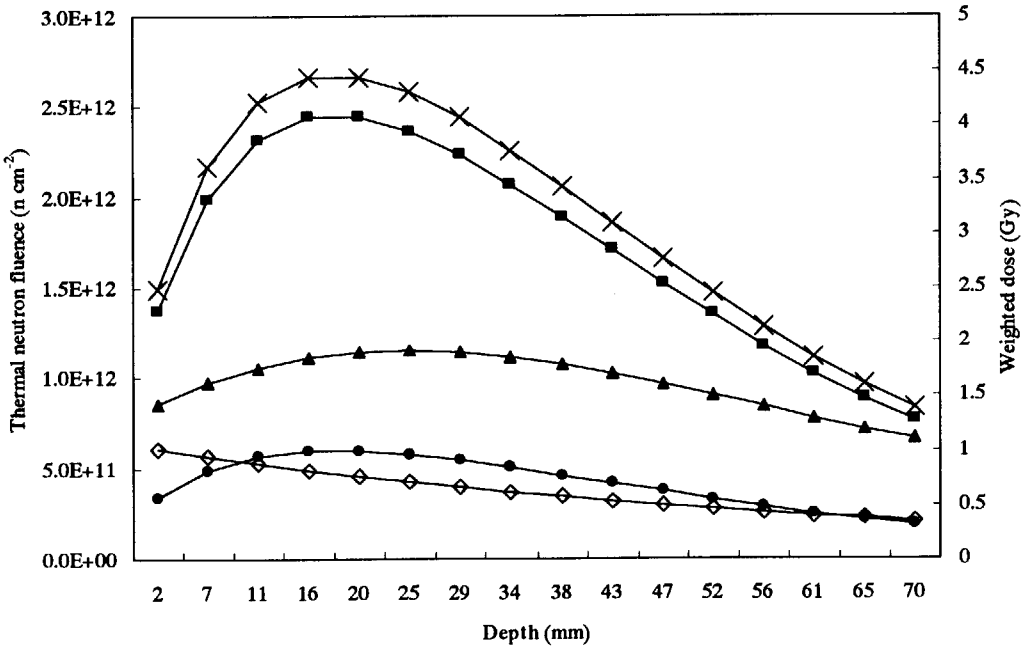


図 15　JRR-4 熱外ビームでのファントム内各線量成分分布

Water phantom での物理線量測定結果をもとに、細胞照射時の各線量成分の荷重線量（Weighted dose）(Gy)を算出し、熱中性子分布の変化(-×-) と比較した。*RBE* および *CBE* はフリービーム照射実験で得られた値を使用した。各線量成分のうち、窒素線量 (-●-)、γ線量 (-▲-)、ホウ素線量 (-■-)は熱中性子フルエンスと同じ凸型の分布を示すのに対し、速中性子線量(-◇-)は表面近傍より、指数関数的に減少する。ホウ素線量はホウ素濃度 5μg^{10}B/g に対する値である。

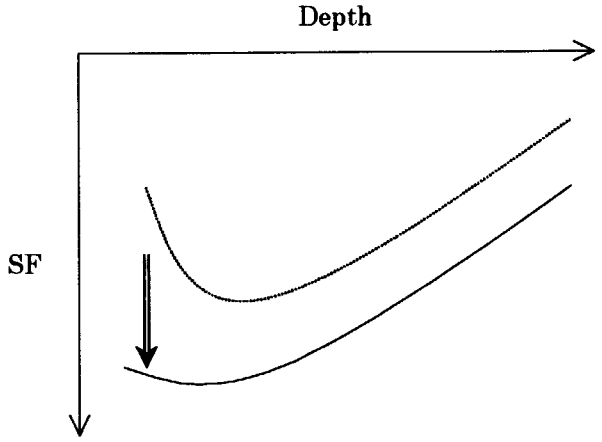


図 16　ホウ素非存在下の生存率に対する速中性子線量の影響についての予想図

速中性子線量は他の線量成分と異なり、表面近傍で高く指数関数的に減少する。速中性子の影響が相対的に大きい場合(実線)の生存率(SF)は、小さい場合(点線)に比べ直線的となる。

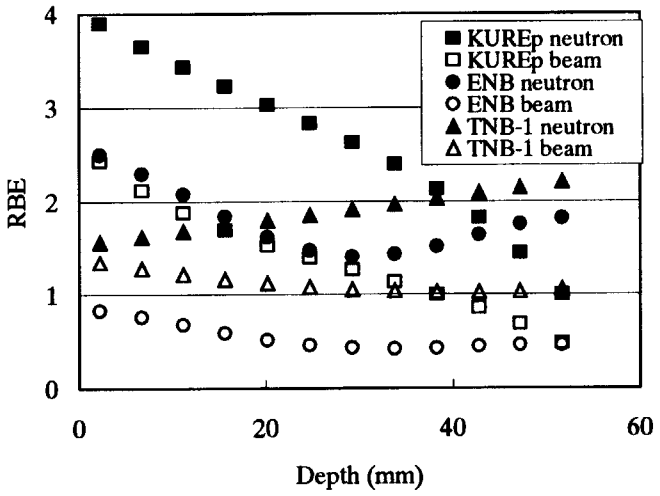


図 17　ファントム内中心軸上の $RBE_{neutron}$ 、RBE_{beam} の深度変化

■、□＝KUR 熱外ビームの $RBE_{neutron}$ および RBE_{beam}；●、○＝JRR-4 熱外ビームの $RBE_{neutron}$ および RBE_{beam}；▲、△＝JRR-4 混合ビームの $RBE_{neutron}$ および RBE_{beam}

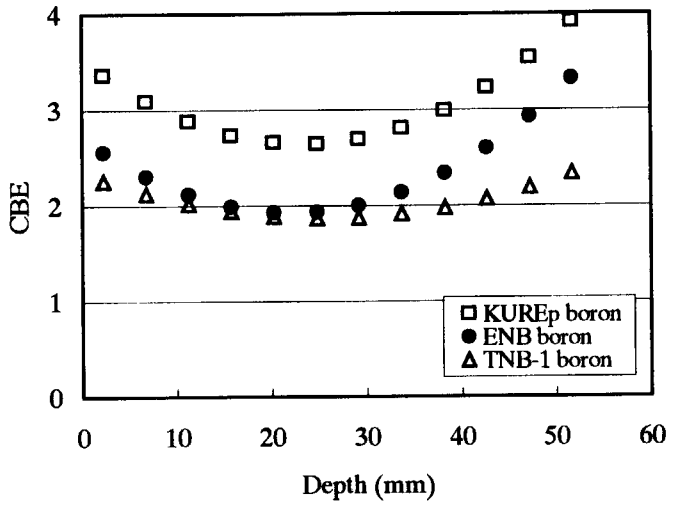


図 18　ファントム内中心軸上の CBE_{boron} の深度変化
□ KUR 熱外ビーム；● JRR-4 熱外ビーム；△ JRR-4 混合ビーム

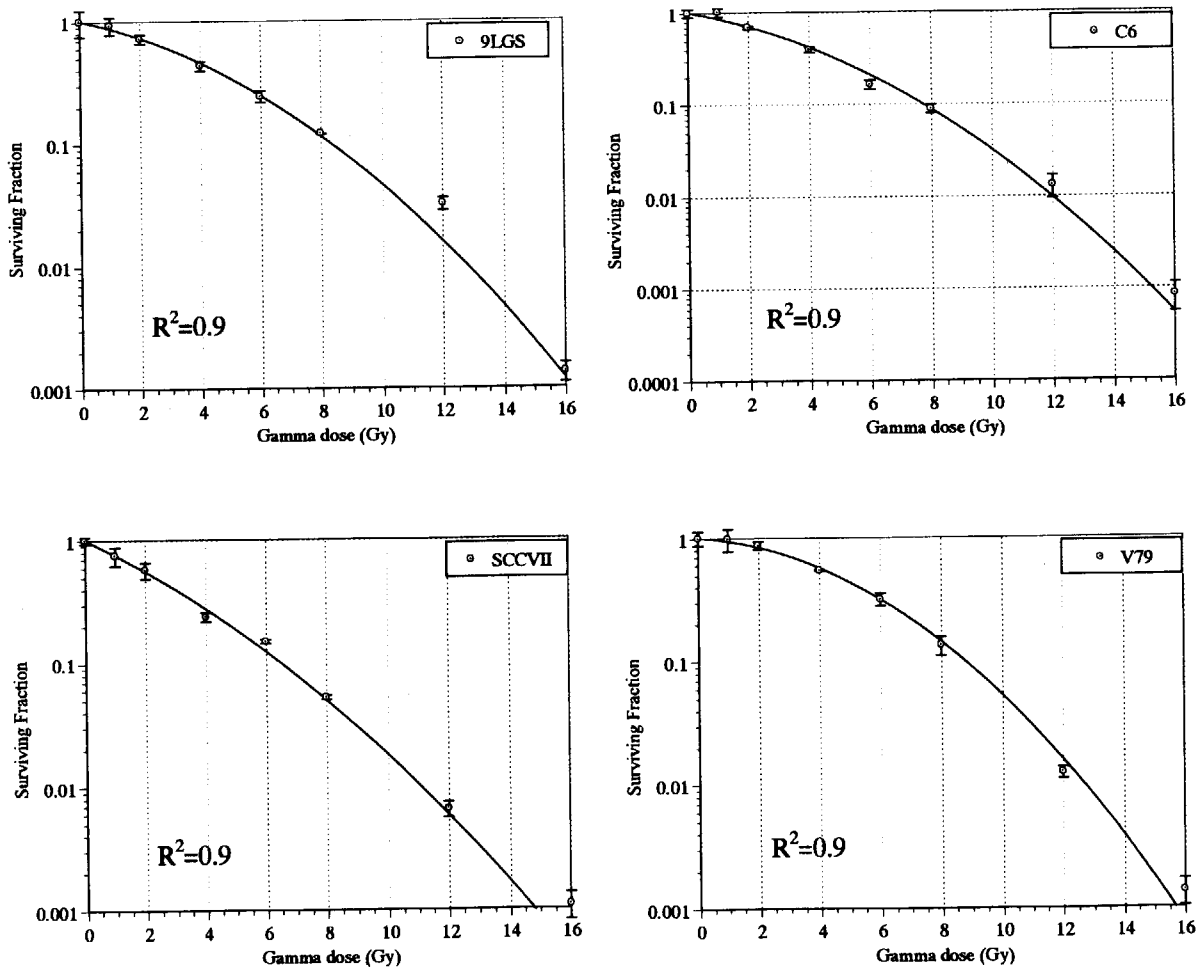


図 19　γ線に対する各細胞種の生存率および回帰曲線
R^2 は回帰曲線の決定係数を示す。

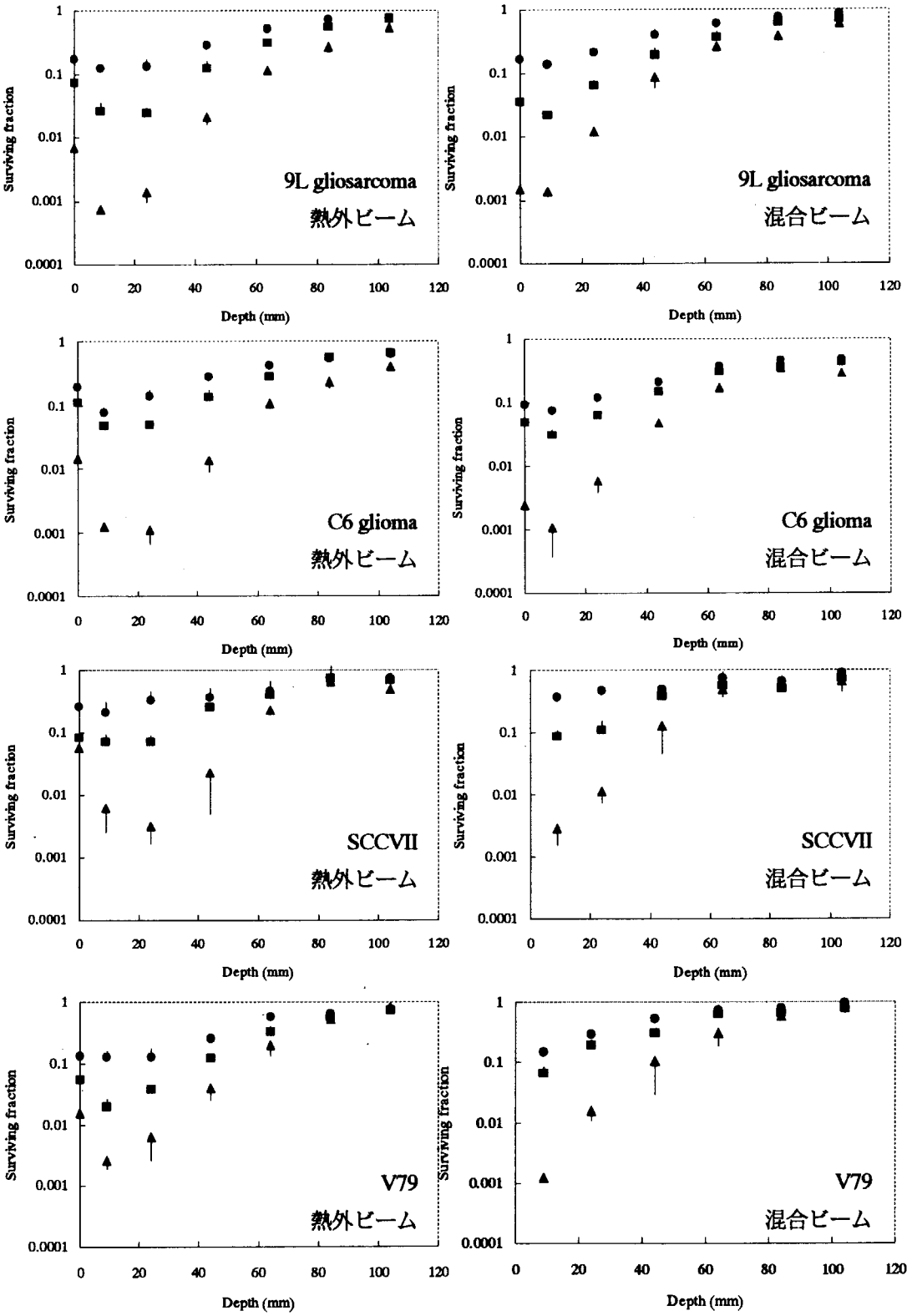


図 20　各細胞種のファントム内深度による生存率の変化

生存率は3つの平均値、誤差線は標準偏差を示す。各グラフ右下に、使用した細胞種と中性子ビームを付記した。●: ^{10}B (-)、■: 5μg^{10}B /g、▲: 15μg^{10}B /g

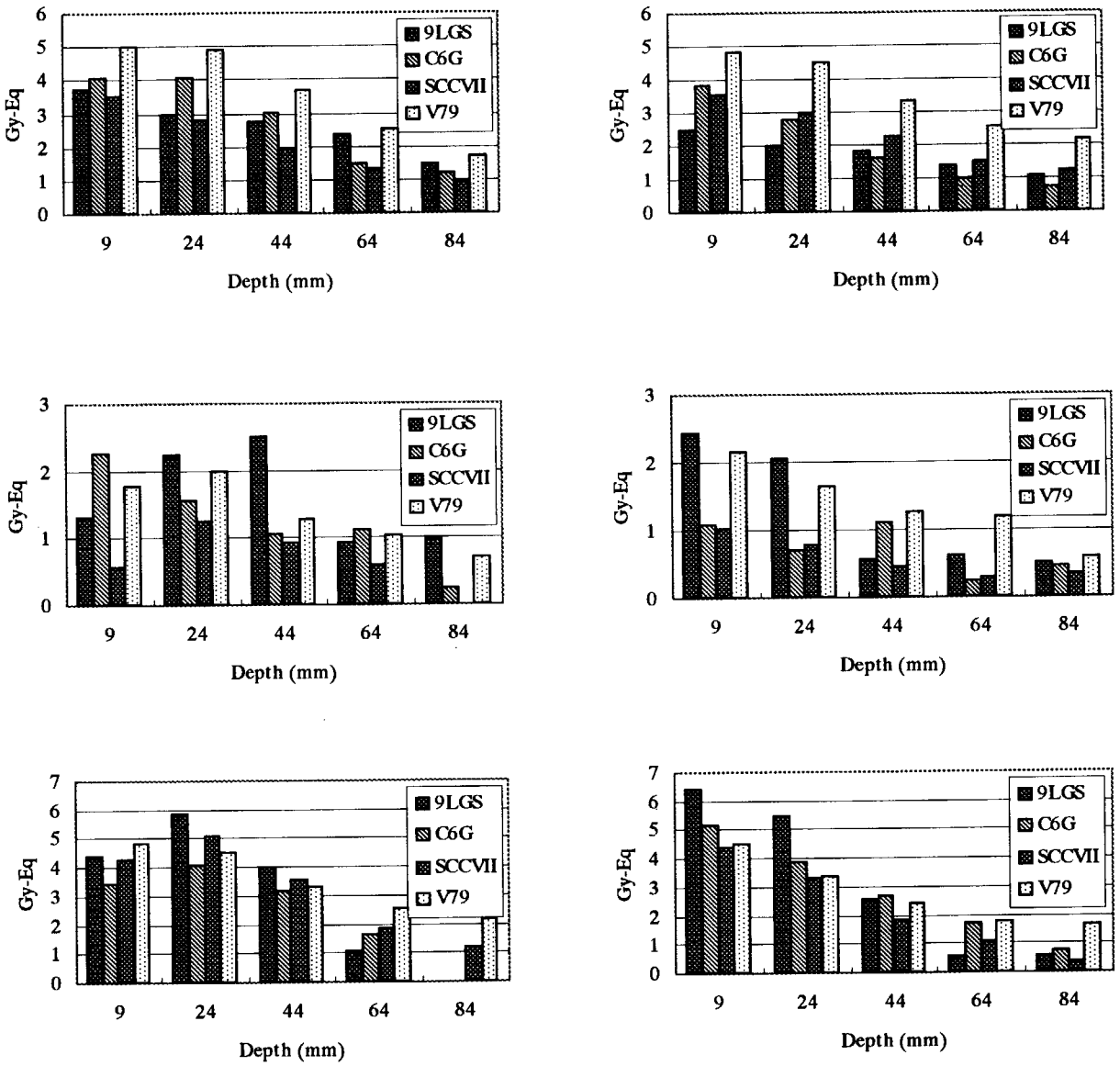


図 21　各 cell line で算出した熱外ビーム、混合ビームのγ線等価線量

熱外ビーム (a、 c、 e) 、混合ビーム (b 、d、 f)による各細胞種でのγ線等価線量を示す。a、bは$^{\gamma}WD_{beam}$ 、c、dは5μg^{10}B /mlでの$^{\gamma}WD_{boron}$ 、e、fは15μg^{10}B /mlでの$^{\gamma}WD_{boron}$を表している。

a	b
c	d
e	f

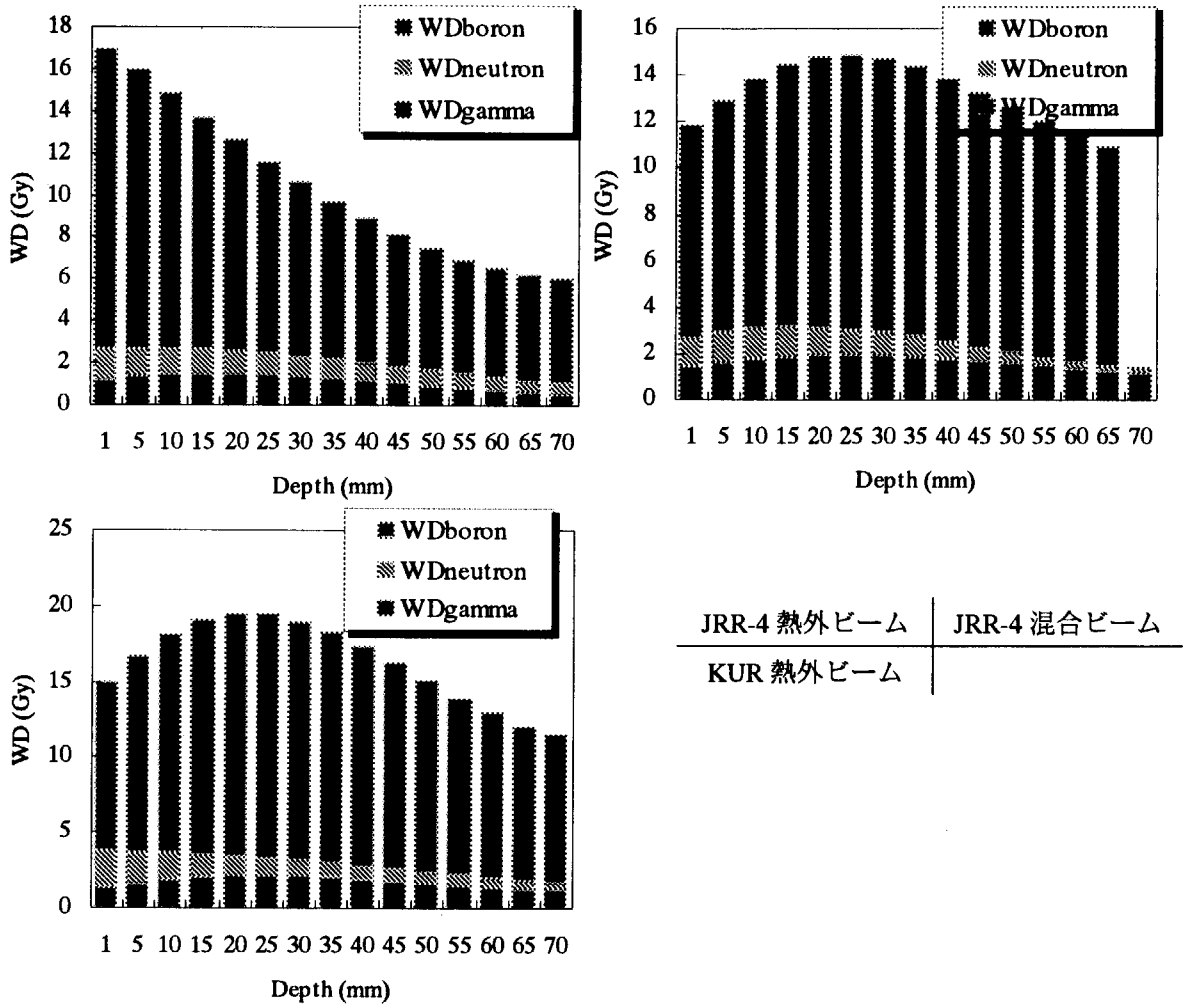


図 22　各線量成分に関するγ線等価線量

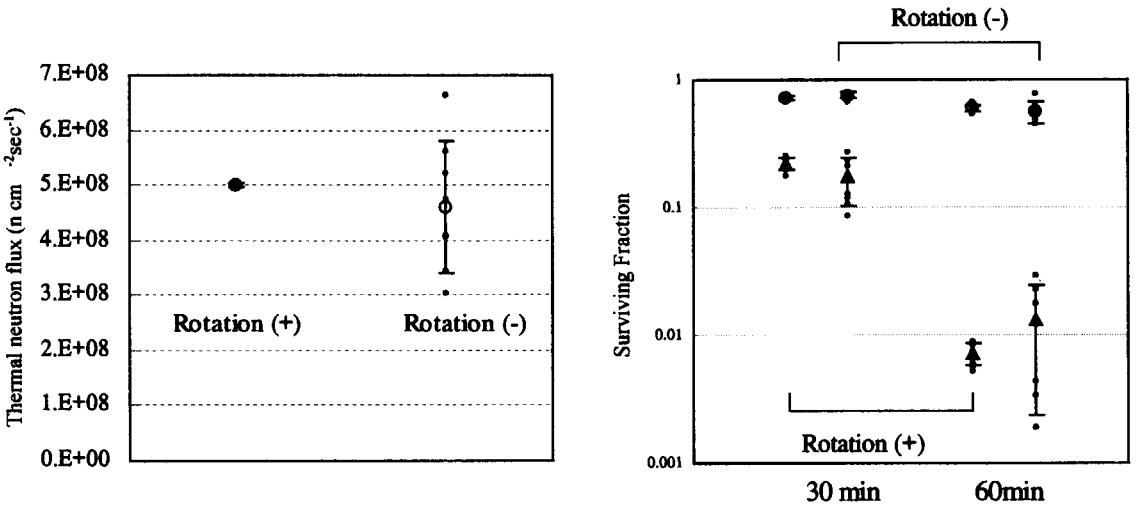
「5.2ファントム照射における *in vitro* 生物学的効果比の結果」の測定値を基に算出されたJRR-4混合ビーム、熱外ビーム、KUR熱外ビームの各線量成分に対するγ線等価線量 WD_{boron}、$WD_{neutron}$、WD^{γ}を示す。WD_{boron}は治療に必要な腫瘍内ホウ素濃度30μg^{10}B/gに対する値である。

付録　回転照射装置の均一照射性能評価

今回用いた回転照射装置はJRR-4の医療照射用ビーム孔に設置するもので、アクリル製の気送管の中に底部に回転翼をもつポリエチレン容器を吊り下げて回転させながら連続運転中に照射を行う(**図3**)。容器内には凍結チューブを8本充填することができ、容器の出し入れに要する時間はそれぞれ10秒程度である。均一な照射を確認するため、ビーム孔中心に試料を4本ずつ2列に配置して、回転照射装置を用いた熱ビームによる照射を行い、細胞生存率、熱中性子フラックス、γ線量を測定した。照射時間は30分及び60分とし、同じ試料の配置で回転照射と非回転照射で比較を行った。

付図1に回転照射装置での測定結果を示した。熱中性子フラックスは回転照射では5.02 ± 0.04 (10^8 n cm^{-2} sec^{-1})、通常照射では4.61 ± 1.20 (10^8 n cm^{-2} sec^{-1})であり、回転照射で測定値のばらつきが有意に小さかった (p=3.5 x 10^{-10})。V79細胞の照射による生存率の比較においては、ホウ素非存在下での30分照射を除き、回転照射で有意に測定値のばらつきが小さかった (ホウ素存在下での30分照射:p=0.0041、ホウ素存在下での60分照射：p=0.000013、ホウ素非存在下での60分照射：p=0.0044)。またγ線線量率は回転照射で10.97 ± 0.36 (Gy min^{-1})、通常照射では11.09 ± 0.69 (Gy min^{-1})と回転照射でばらつきが小さい傾向はあるものの、TLD自体の測定誤差が大きく有意差を認めなかった(p=0.0509)。

均一な細胞照射を目的としたシステムは、サンプルの取替えが簡便なビームシャッターのある施設では報告があるが、JRR-4のようなビームシャッターのない原子炉で本システムのような気送管によってサンプルの出し入れを行うとした報告はない[27,15]。回転照射システムを用いることで、例えば新しいホウ素化合物での効果を既存のものと比較するような場合において、より信頼性の高い比較評価が可能となるであろう。回転照射を行わない場合でも、個々のサンプル全てについて金箔やTLDを用いた線量測定を行うことで評価が可能である。この場合実験が煩雑になる上、測定子による線量分布変化や、サンプルを置く位置の相違による中性子スペクトルの違いについても補正が必要であるため、今回のような何らかの照射装置の工夫が有用となる。



付図 1　回転照射装置での熱中性子フラックス及び生存率測定結果

回転照射装置使用時、非使用時の試料容器内での熱中性子フラックス測定結果（左）及び V79 細胞の生存率 (右)を示す。記号及び誤差線は８個の容器内での測定値の平均値及び標準偏差を示す。熱中性子フラックス測定(左)では回転照射で有意に偏差が小さい(F-test、p=3.5 x 10^{-10})。生存率での比較 (右)では、測定値の偏差はホウ素非投与群(○、 ●)に比して投与群(△、 ▲)で大きく、 30 分照射群に比して 60 分照射群で大きい。また非回転に比して回転照射で有意に偏差が小さい(F-test、 30 分照射ホウ素非投与：p=0.05、30 分照射ホウ素投与：p=0.0041、60 分照射ホウ素投与：p=0.000013、60 分照射ホウ素非投与：p=0.0044)。

国際単位系 (SI) と換算表

表1　SI基本単位および補助単位

量	名称	記号
長さ	メートル	m
質量	キログラム	kg
時間	秒	s
電流	アンペア	A
熱力学温度	ケルビン	K
物質量	モル	mol
光度	カンデラ	cd
平面角	ラジアン	rad
立体角	ステラジアン	sr

表2　SIと併用される単位

名称	記号
分，時，日	min，h，d
度，分，秒	°，′，″
リットル	l，L
トン	t
電子ボルト	eV
原子質量単位	u

1 eV = 1.60218 × 10^{-19} J

1 u = 1.66054 × 10^{-27} kg

表3　固有の名称をもつSI組立単位

量	名称	記号	他のSI単位による表現
周波数	ヘルツ	Hz	s^{-1}
力	ニュートン	N	$m \cdot kg/s^2$
圧力，応力	パスカル	Pa	N/m^2
エネルギー，仕事，熱量	ジュール	J	N·m
工率，放射束	ワット	W	J/s
電気量，電荷	クーロン	C	A·s
電位，電圧，起電力	ボルト	V	W/A
静電容量	ファラド	F	C/V
電気抵抗	オーム	Ω	V/A
コンダクタンス	ジーメンス	S	A/V
磁束	ウェーバ	Wb	V·s
磁束密度	テスラ	T	Wb/m^2
インダクタンス	ヘンリー	H	Wb/A
セルシウス温度	セルシウス度	℃	
光束	ルーメン	lm	cd·sr
照度	ルクス	lx	lm/m^2
放射能	ベクレル	Bq	s^{-1}
吸収線量	グレイ	Gy	J/kg
線量当量	シーベルト	Sv	J/kg

表4　SIと共に暫定的に維持される単位

名称	記号
オングストローム	Å
バーン	b
バール	bar
ガル	Gal
キュリー	Ci
レントゲン	R
ラド	rad
レム	rem

1 Å = 0.1 nm = 10^{-10} m

1 b = 100 fm^2 = 10^{-28} m^2

1 bar = 0.1 MPa = 10^5 Pa

1 Gal = 1 cm/s^2 = 10^{-2} m/s^2

1 Ci = 3.7 × 10^{10} Bq

1 R = 2.58 × 10^{-4} C/kg

1 rad = 1 cGy = 10^{-2} Gy

1 rem = 1 cSv = 10^{-2} Sv

表5　SI接頭語

倍数	接頭語	記号
10^{18}	エクサ	E
10^{15}	ペタ	P
10^{12}	テラ	T
10^{9}	ギガ	G
10^{6}	メガ	M
10^{3}	キロ	k
10^{2}	ヘクト	h
10^{1}	デカ	da
10^{-1}	デシ	d
10^{-2}	センチ	c
10^{-3}	ミリ	m
10^{-6}	マイクロ	μ
10^{-9}	ナノ	n
10^{-12}	ピコ	p
10^{-15}	フェムト	f
10^{-18}	アト	a

（注）

1. 表1－5は「国際単位系」第5版，国際度量衡局 1985年刊行による。ただし，1 eVおよび1 uの値はCODATAの1986年推奨値によった。
2. 表4には海里，ノット，アール，ヘクタールも含まれているが日常の単位なのでここでは省略した。
3. barは，JISでは流体の圧力を表わす場合に限り表2のカテゴリーに分類されている。
4. EC閣僚理事会指令ではbar，barnおよび「血圧の単位」mmHgを表2のカテゴリーに入れている。

換算表

力

N(=10^5 dyn)	kgf	lbf
1	0.101972	0.224809
9.80665	1	2.20462
4.44822	0.453592	1

粘度　1 Pa·s(N·s/m^2) = 10 P(ポアズ)(g/(cm·s))

動粘度　1 m^2/s = 10^4 St(ストークス)(cm^2/s)

圧力

MPa(=10 bar)	kgf/cm^2	atm	mmHg(Torr)	lbf/in^2(psi)
1	10.1972	9.86923	7.50062 × 10^3	145.038
0.0980665	1	0.967841	735.559	14.2233
0.101325	1.03323	1	760	14.6959
1.33322 × 10^{-4}	1.35951 × 10^{-3}	1.31579 × 10^{-3}	1	1.93368 × 10^{-2}
6.89476 × 10^{-3}	7.03070 × 10^{-2}	6.80460 × 10^{-2}	51.7149	1

エネルギー・仕事・熱量

J(=10^7 erg)	kgf·m	kW·h	cal(計量法)	Btu	ft·lbf	eV
1	0.101972	2.77778 × 10^{-7}	0.238889	9.47813 × 10^{-4}	0.737562	6.24150 × 10^{18}
9.80665	1	2.72407 × 10^{-6}	2.34270	9.29487 × 10^{-3}	7.23301	6.12082 × 10^{19}
3.6 × 10^6	3.67098 × 10^5	1	8.59999 × 10^5	3412.13	2.65522 × 10^6	2.24694 × 10^{25}
4.18605	0.426858	1.16279 × 10^{-6}	1	3.96759 × 10^{-3}	3.08747	2.61272 × 10^{19}
1055.06	107.586	2.93072 × 10^{-4}	252.042	1	778.172	6.58515 × 10^{21}
1.35582	0.138255	3.76616 × 10^{-7}	0.323890	1.28506 × 10^{-3}	1	8.46233 × 10^{18}
1.60218 × 10^{-19}	1.63377 × 10^{-20}	4.45050 × 10^{-26}	3.82743 × 10^{-20}	1.51857 × 10^{-22}	1.18171 × 10^{-19}	1

1 cal = 4.18605 J (計量法)
= 4.184 J (熱化学)
= 4.1855 J (15 °C)
= 4.1868 J (国際蒸気表)

仕事率　1 PS (仏馬力)
= 75 kgf·m/s
= 735.499 W

放射能

Bq	Ci
1	2.70270 × 10^{-11}
3.7 × 10^{10}	1

吸収線量

Gy	rad
1	100
0.01	1

照射線量

C/kg	R
1	3876
2.58 × 10^{-4}	1

線量当量

Sv	rem
1	100
0.01	1

（86年12月26日現在）

JRR-4熱外中性子ビームのin vitro生物学的効果
—フリービーム条件並びにファントム条件での測定—
（協力研究）

R100
古紙配合率100%
白色度70%再生紙を使用しています