演題名： BPA の細胞外流出抑制が BNCT 治療効果に与える影響

演者氏名：倉田　晴都
所属先：大阪大学大学院 医学系研究科 保健学専攻 放射線治療生物学研究室

倉田　晴都、勝木翔平[1]、日谷 稜[1]、中村 哲志[2]、奥内 絢香[1]、柿木 大樹[1]、
津田 朱琳[1]、皆巳 和賢[1]、井垣 浩[2]、小川 和彦[3]、高橋 豊[1]
1：大阪大学大学院 医学系研究科 保健学専攻 生体物理工学講座
2：国立がん研究センター中央病院
3：大阪大学大学院 医学系研究科 医学専攻 放射線治療学

【背景】
ホウ素中性子捕捉療法（BNCT）は、腫瘍に選択的に取り込ませたホウ素製剤（BPA）と中性子線との核反応によって発生する α 線を用いて、腫瘍を局所的に傷害する治療法である。したがって、BPA が細胞内に高濃度に取り込まれ、かつ中性子照射時まで維持されることが重要となる。我々はこれまでに、細胞実験における寡分割照射による細胞傷害性の増強を報告してきた。しかし、in vitro の BNCT 実験系では、BPA 曝露終了から中性子照射まで、あるいは照射中に一定の時間経過を伴うため、一度取り込まれた BPA がその間にどの程度細胞内に保持され、細胞外へいつ流出するかは解明されておらず、これが殺細胞効果の適切な評価に影響する可能性があった。そこで本研究では、寡分割照射等の作用機序の検討に先立ち、細胞内 BPA の流出動態とその抑制方法を評価し、流出抑制が中性子線照射時の細胞生残率に及ぼす影響を検討した。
【方法】
ヒト肺胞基底上皮腺がん細胞 A549、ヒト膵管腺がん細胞 MiaPaCa-2 を用いた。各細胞に対し BPA（培地中濃度 25ppm）を暴露し、BPA 暴露後にアミノ酸を含む培地である DMEM 又はアミノ酸を含まない HBSS で 15 分から 120 分間 37°C、5%CO_2 下で培養し、^{10}B の取り込み量及び流出量を経時的に ICP-MS で測定した。また、BPA 暴露後の DMEM 及び HBSS でのインキュベートが細胞生残率に及ぼす影響をコロニーアッセイで評価した。中性子線照射は国立がん研究センター中央病院にて実施した。
【結果】
1 時間（25 ppm）の BPA 曝露で、10^4 細胞あたりの細胞内のホウ素濃度（ppb：ng/g 相当）は A549 で 9.5 ppb 、MIA PaCa-2 は 1.9 ppb であり、BPA 非暴露群に比べ有意に取り込みが多かった（いずれも $P<0.001$）。しかし、BPA 曝露後に DMEM でインキュベートすると、A549 では 30 分で約 90%、1 時間で約 96%の ^{10}B が流出した。MIA PaCa-2 でも 30 分で約 60%が流出し、1 時間で検出限界となった。一方、HBSS でインキュベートした場合、A549 では 30 分で約 25%、1 時間で約 70%の ^{10}B の流出まで抑制されたが、MiaPaCa-2 では 30 分間で検出下限になった。中性子照射前に BPA を取り込ませた細胞の DMEM 培地から HBSS に置換した場合の 25 分間の中性子を照射した細胞生存率は A549 では 50%有意に低下した（$p<0.0001$）。一方、MIA PaCa-2 では HBSS 置換による有意な生残率の低下はみられなかった。
【結論】
細胞に取り込まれた BPA は 1 時間以内に大部分が流出することが示唆された。HBSS への置換でその流出が抑制される細胞種が存在することが示唆された。本研究は、今後の in vitro 実験において BNCT 本来の効果を適切に評価するためには、ホウ素の流出動態を考慮し、細胞種に応じた実験条件の設定が重要と考えられた。また、この急速なホウ素流出の知見は、臨床において持続的な BPA 投与を投与することの妥当性を支持するものである。