

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月16日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22591657

研究課題名（和文） ホウ素中性子捕捉療法を用いた明細胞肉腫の治療方法の開発

研究課題名（英文） New Method using Boron Neutron Capture Therapy for Clear Cell Sarcoma

研究代表者

藤本 卓也 (FUJIMOTO TAKUYA)

神戸大学・医学研究科・医学研究員

研究者番号：00397811

研究成果の概要（和文）：明細胞肉腫は、若年成人の四肢に好発する予後の悪い稀な悪性腫瘍である。しかし、治療は手術による切除以外に有効な治療方法が無いのが現状である。そこで、本研究では、ヒト由来の明細胞肉腫担がん動物モデルを作成して、近年、悪性黒色腫の臨床研究にて良好な治療成績が報告されているホウ素中性子捕捉療法(BNCT)を施行し、その抗腫瘍効果を検討した。その結果、ホウ素中性子捕捉療法により腫瘍細胞が選択的に死滅することが判明し、ホウ素中性子捕捉療法による明細胞肉腫への新たな治療方法の可能性が明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：Clear cell sarcoma (CCS) of tendons and aponeuroses is a rare malignant tumor of poor prognosis, with a predilection for young adults. Although the standard treatment is still wide surgical resection, neither chemotherapy nor radiotherapy is effective. Therefore, clearly new therapeutic strategies are required. Recently, boron neutron capture therapy (BNCT) with the use of *p*-boronophenylalanine (BPA) for malignant melanoma has provided good results. Because BPA is requisite for the production of melanin, boron is finally accumulated in tumor cells. CCS also produces melanin, and with the use of a cultured human CCS cell line and through human CCS-bearing animal studies, we have shown that the high accumulation of ¹⁰B is potentially favorable in BNCT. Therefore, we evaluated the short-term efficacy of BNCT for CCS with the use of human CCS cell line-bearing nude mice and have here, for the first time, demonstrated that BNCT is a potentially new option for the treatment of human CCS.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科学

キーワード：明細胞肉腫・ホウ素中性子捕捉療法・BNCT

1. 研究開始当初の背景

中性子捕捉療法の原理は1936年にLocherにより提唱された。ホウ素を用いた中性子捕捉療法(BNCT)は、先ず、それ自体では放射活性を持たないホウ素(¹⁰B)を腫瘍内に集積させ、続いて病巣部に生体障害性がきわめて低

い熱中性子を生体外から照射する。このとき熱中性子捕獲断面積の大きいホウ素が中性子捕獲反応を起こし、その際に放出される重荷電粒子で腫瘍を選択的に死滅させようとする治療方法である。BNCTでは、ホウ素化合物として1958年にSnyderらによって合成さ

れた *p*-boronophenylalanine (BPA) が主に用いられる。本格的な BNCT の臨床研究は、1980 年代に神戸大学・三嶋らのグループにより悪性黒色腫に対して行われ、非常に優れた治療成績が実証、報告された。これは、BPA が悪性黒色腫の腫瘍細胞に選択的に取り込まれやすい性質を有することによるが、悪性黒色腫ではチロシンを取り込みチロシナーゼなどの酵素系によりメラニン色素を合成するため、チロシン類似の構造を持つ BPA が選択的に取り込まれるのが大きな要因とされる。この事実から、逆にメラニン産生腫瘍細胞では、BPA の取り込みが期待でき BNCT による抗腫瘍効果が予想される。明細胞肉腫は、若年成人の四肢に発生し、経過は長いが一旦病状が活動的になると非常に急速に進行し予後が悪い腫瘍である。治療の基本は、手術により悪性腫瘍罹患部位を広く切除することである。しかし、手術的に切除困難な部位に発生した症例、肺転移などの遠隔転移を認める症例については、カフェインを併用した化学療法が奏功したとの報告もあるが、根本的に有効な治療手段は無く、新たな治療方法の開発が求められているのが実状である。

2. 研究の目的

明細胞肉腫は、日本では年間約 20 症例と稀な疾病で、悪性軟部腫瘍の 2~3% を占める。臨床的な特徴としては、20~40 歳ぐらいの若年成人の四肢に好発し経過は比較的長い。しかし、多くが再発・転移を来し、5 年生存率は約 50% と予後不良である。再発を繰り返す過程で肺、リンパ節、骨への転移を来し死に至る。治療は、腫瘍の切除が基本となるが再発を繰り返した症例、或いは転移を来した手術不能例では治療方法が無いのが現状である。一方で、近年、悪性黒色腫に対し、ホウ素を放射線増感剤とした熱中性子線捕捉療法 (BNCT) による良好な治療成績が報告されている。これは、悪性黒色腫がメラニン産生する際にホウ素製剤を取り込むことによる。明細胞肉腫も同様に別名、軟部悪性黒色腫と呼ばれるように多くがメラニンを産生する。この事実は、明細胞肉腫でもホウ素製剤の取り込みを期待できれば BNCT による治療効果が得られる可能性を示唆する。そこで、本研究では、明細胞肉腫に対して BNCT を用いた新たな治療方法が可能かどうか検討した。

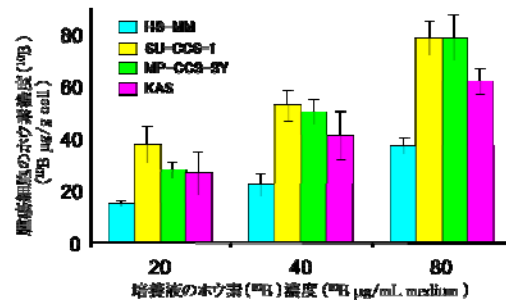
3. 研究の方法

悪性黒色腫のホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) では、メラニン産生のために取り込まれたホウ素化合物に熱中性子線が反応し、腫瘍細胞が死滅することが明らかとなっている。

- (1) 明細胞肉腫も同様にメラニンを産生するので、先ず、異なる 4 種類のヒト由来の明細胞肉腫の細胞株 (HS-MM, SU-CCS-1, MP-CCS-SY, KAS) にホウ素化合物 *p*-boronophenylalanine (BPA) を作用させ、その細胞毒性と細胞へのホウ素の取り込み量を確認した。
- (2) 次に、細胞株を移植したヌードマウスを作成した。そして、その担がん動物モデルにホウ素化合物を投与して各臓器のホウ素の経時的なホウ素の取り込み量を計測した。
- (3) 担がん動物モデルの腫瘍内の経時的なホウ素濃度から最適な熱中性子線の照射時間を設定した。そして、京都大学原子炉実験所 (KUR) にてこの担がん動物モデルにホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) を施行し、経時的に腫瘍サイズを計測してその抗腫瘍効果を確認した。また、組織検査にても抗腫瘍効果を確認した。

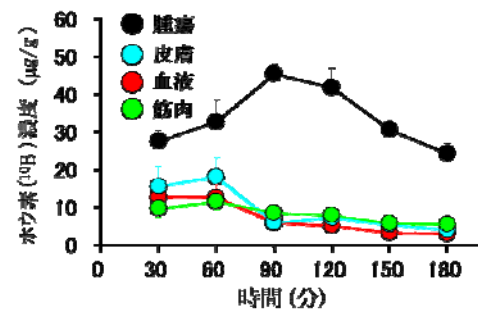
4. 研究成果

- (1) 異なる 4 つのヒト由来の明細胞肉腫の細胞株 (HS-MM, SU-CCS-1, MP-CCS-SY, KAS) への、ホウ素製剤 BPA の取り込みの評価。



全ての明細胞肉腫細胞株にて、ホウ素濃度の増大とともにホウ素の取り込みが増大した。

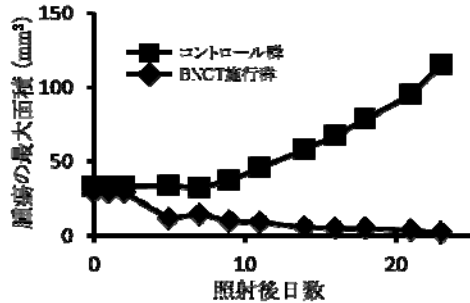
- (2) 明細胞肉腫細胞株 (MP-CCS-1) 担がん動物モデルの腫瘍および各臓器へのホウ素製剤 BPA 作用によるホウ素取り込みの評価。



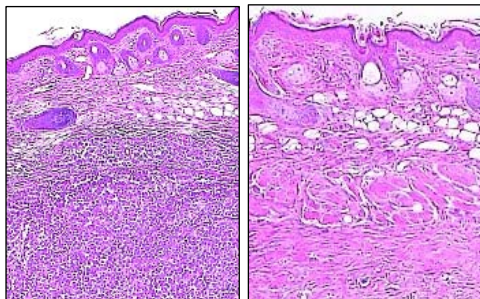
担がん動物モデル (MP-CCS-1) では、各臓

器と比較して腫瘍細胞選択的に、ホウ素中性子捕捉療法に必要な高濃度のホウ素の集積を認めた。

- (3) 明細胞肉腫担がん動物モデルに対するホウ素中性子捕捉療法 (BNCT)。



ホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) を施行した群は、照射後に腫瘍の縮小を認めた。



組織学的に、ホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) 施行群では腫瘍細胞 (***) のみが選択的に死滅しており、その周囲の正常な組織 (*) には照射による影響は認めなかった。この様に、動物実験レベルであるが、四肢に生じた明細胞肉腫に対して BNCT による抗腫瘍効果が初めて明らかとなった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 6 件)

- ① Boron neutron capture therapy (BNCT) selectively destroys human clear cell sarcoma in mouse model.
Fujimoto T, Andoh T, Sudo T, Fujita I, Moritake H, Sugimoto T, Sakuma T, Akisue T, Kawabata S, Kirihata M, Suzuki M, Sakurai Y, Ono K, Fukumori Y, Kurosaka M, Ichikawa H
Appl Radiat Isot. 2013;73:96-100. 査読有
<http://dx.doi.org/10.1016/j.apradiso.2012.12.001>
- ② Short-Term Outcome of BNCT for Human Clear Cell Sarcoma in Mouse Model.
Fujimoto T, Andoh T, Sakurai Y, Suzuki M, Ichikawa H, Ono K
KURRI Progress Report 2011. 2012, p

263. The research reactor Institute, Kyoto University. 査読無

<http://www.rri.kyoto-u.ac.jp/PUB/report/PR/ProgRep2011/ProgRep2011.html>

- ③ 悪性骨・軟部腫瘍におけるホウ素中性子捕捉療法 (BNCT). 臨床整形外科 46 巻 6 号 p534-541, 2011 年. 藤本卓也、鈴木実、市川秀喜. 査読無
<http://medicalfinder.jp/ejournal/1408102014.html?>

- ④ Evaluation of BPA uptake in clear cell sarcoma (CCS) in vitro and development of an in vivo model of CCS for BNCT studies. Fujimoto T, Andoh T, Sudo T, Fujita I, Imabori M, Moritake H, Sugimoto T, Sakuma Y, Takeuchi T, Sonobe H, Epstein AL, Akisue T, Kirihata M, Kurosaka M, Fukumori Y, Ichikawa H
Appl Radiat Isot. 2011;69:1713-6. 査読有

<http://dx.doi.org/10.1016/j.apradiso.2011.02.006>

- ⑤ Boron neutron capture therapy for clear cell sarcoma (CCS): biodistribution study of p-borono-L-phenylalanine in CCS-bearing animal models.
Andoh T, Fujimoto T, Sudo T, Fujita I, Imabori M, Moritake H, Sugimoto T, Sakuma Y, Takeuchi T, Kawabata S, Kirihata M, Akisue T, Yayama K, Kurosaka M, Miyatake S, Fukumori Y, Ichikawa H
Appl Radiat Isot. 2011;69:1721-4. 査読有

<http://dx.doi.org/10.1016/j.apradiso.2011.02.005>

- ⑥ Development of BNCT for Clear Cell Sarcoma.
Fujimoto T, Andoh T, Sakurai Y, Kawabata S, Suzuki M, Ichikawa H, Ono K
KURRI Progress Report 2010. 2011, p 236. The research reactor Institute, Kyoto University. 査読無
<http://www.rri.kyoto-u.ac.jp/PUB/report/PR/ProgRep2010/ProgRep2010.html>

[学会発表] (計 17 件)

- ① 安藤 徹、明細胞肉腫 (CCS) に対する新たな治療法としてのホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) - 深部への浸潤を想定した CCS 担がんモデルに対する BNCT の検討、日本薬学会・第 133 年会、2013 年 3 月 27~30

- 日、横浜
- ② 安藤 徹、明細胞肉腫に対する新たな治療法としてのホウ素中性子捕捉療法、平成24年度京都大学原子炉実験所専門研究会、2013年2月15～16日、熊取
 - ③ Andoh T, Boron neutron capture therapy (BNCT) as a new therapeutic approach for treatment of clear cell sarcoma (CCS): BNCT trial for different type of CCS-bearing animal model、15th International Congress on Neutron Capture Therapy、2012年9月10-14日、Tsukuba, Japan
 - ④ 安藤 徹、明細胞肉腫に対する新たな治療法としてのホウ素中性子捕捉療法、日本薬剤学会・第27年会、2012年5月24～26日、神戸
 - ⑤ 安藤 徹、明細胞肉腫に対する新たな治療法としてのホウ素中性子捕捉療法、日本薬学会・第132年会、2012年3月28～31日、札幌
 - ⑥ 安藤 徹、ホウ素中性子捕捉療法による明細胞肉腫の治療: 3種の明細胞肉腫細胞株間におけるL-BPAの体内動態評価、日本薬学会・第132年会、2012年3月28～31日、札幌
 - ⑦ Andoh T, Boron neutron capture therapy using *p*-borono-L-phenylalanine for clear cell sarcoma、8th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology、2012年3月19-22日、Istanbul, Turkey
 - ⑧ 安藤 徹、明細胞肉腫 (CCS) に対する新たな治療法としてのホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) — *p*-borono-L-phenylalanine を用いた BNCT による CCS 担がん動物での抗腫瘍効果、日本薬学会第48回近畿支部大会、2011年10月22日、神戸
 - ⑨ 藤本卓也、明細胞肉腫に対するホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) の効果、第8回日本中性子捕捉療法学会学術集会、2011年9月16～17日、徳島
 - ⑩ 藤本卓也、ホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) を用いた明細胞肉腫に対する新しい治療方法、第44回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会、2011年7月14～15日、京都
 - ⑪ 安藤 徹、明細胞肉腫におけるホウ素中性子捕捉療法用化合物の細胞内取込と体内動態、日本薬剤学会・第26年会、2011年5月29～31日、東京
 - ⑫ 安藤 徹、ホウ素中性子捕捉療法による明細胞肉腫の治療のための L-BPA の細胞取込挙動および体内動態の評価、日本薬学会・第131年会、2011年3月28～31日、静岡
 - ⑬ Fujimoto T, Evaluation of BPA Uptake in

Clear Cell Sarcoma (CCS) In Vitro and Development of an In Vivo model of CCS for BNCT Studies、14th International Congress on Neutron Capture Therapy、2010年10月25-29日、Buenos Aires, Argentina

- ⑭ Andoh T, Boron neutron capture therapy as a new therapeutic approach for treatment of clear cell sarcoma: Biodistribution study of L-BPA、14th International Congress on Neutron Capture Therapy、2010年10月25-29日、Buenos Aires, Argentina
- ⑮ 藤本卓也、明細胞肉腫細胞の BPA 取り込みの評価および明細胞肉腫担癌動物モデルの作成、第7回日本中性子捕捉療法学会学術集会、2010年8月5～6日、東京
- ⑯ 安藤 徹、明細胞肉腫に対する新たな治療法としてのホウ素中性子捕捉療法:L-BPAの担癌動物での体内動態評価、第7回日本中性子捕捉療法学会学術集会、2010年8月5～6日、東京
- ⑰ 藤本卓也、明細胞肉腫に対するホウ素中性子捕捉療法を用いた新たな治療方法開発の試み、第43回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会、2010年7月15～16日、東京

[その他]

論文⑥が、GLOBAL MEDICAL DISCOVERY 社のホームページに Key Scientific Articles (重要な科学記事) として紹介。
<http://globalmedicaldiscovery.com/key-scientific-articles/boron-neutron-capture-therapy-bnct-selectively-destroys-human-clear-cell-sarcoma-in-mouse-model/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤本 卓也 (FUJIMOTO TAKUYA)
神戸大学・医学研究科・医学研究員
研究者番号: 00397811

(2) 研究分担者

秋末 敏宏 (AKISUE TOSHIHIRO)
神戸大学・医学研究科・講師
研究者番号: 90379363

市川 秀喜 (ICHIKAWA HIDEKI)
神戸学院大学・薬学部・教授
研究者番号: 00248105