

令和 2 年 7 月 14 日現在

機関番号：34401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11305

研究課題名（和文）子宮頸癌におけるCD24高分子ミセルを利用した硼素中性子補足療法の治療戦略

研究課題名（英文）Treatment strategy of boron neutron capture therapy in cervical cancer

研究代表者

恒遠 啓示 (Tsunetoh, Satoshi)

大阪医科大学・医学部・講師

研究者番号：70388255

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は子宮頸癌治療に対する放射線照射に代わる治療戦略として硼素中性子捕捉療法（BNCT：Boron Neutron Capture Therapy）が可能であるか・有効な治療方法であるかの検討を目指した。in vitroとiv vivoで4種類の子宮頸癌細胞株を使用し、細胞内に取り込まれる硼素の濃度を、様々な暴露濃度および暴露時間などで検討をおこなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

子宮頸癌患者は放射線照射後長期間経ってから起こる晩期障害が問題となる。また、放射線照射野内での再発に対しては追加放射線照射ができず、化学療法の奏効率も低く、予後不良とされている。放射線照射に代わる治療戦略として硼素中性子捕捉療法の抗腫瘍効果が確認できれば、臨床応用への進展につながる。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to examine whether boron neutron capture therapy (BNCT) is possible or an effective treatment method as an alternative treatment to radiation for cervical cancer treatment. Using the four types of cervical cancer cell lines in vitro and iv vivo, the concentration of boron is incorporated into the cells was performed a study with such a variety of exposure concentration and exposure time.

研究分野：婦人科腫瘍

キーワード：BNCT 子宮頸癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 硼素中性子捕捉療法 (BNCT: Boron Neutron Capture Therapy) は、脳腫瘍、頭頸部腫瘍などで臨床研究が進められている。近年、中性子源として原子炉を必要としない BNCT の開発が急速に進み、実践的な治療の確立が可能となりつつある。当大学施設でも平成 28 年度当時は建設中であり、平成 30 年に完成した。BNCT とは腫瘍細胞に中性子と反応しやすい硼素 (^{10}B) を取り込ませ、熱中性子線を照射することで、 ^{10}B を多く取り込んだ細胞内部で ^{10}B と熱中性子の核反応が起こり、高エネルギーの α 線が発生し ^{10}B を取り込んだ細胞を破壊する。この核分裂は、癌細胞の直径にも満たないごく狭い範囲での反応のため、周りの正常な細胞を損傷せず、殺細胞効果は ^{10}B を捕獲した細胞にのみ限られる。もちろん ^{10}B 単体では腫瘍細胞に取り込まれない。そこで腫瘍に選択的に集積する“ ^{10}B 化合物”を投与することで「癌細胞選択的治療」となる。

(2) 本邦では子宮頸癌は年間で約 1 万人が罹患し、20~30 歳代において急増している。早期子宮頸癌の 5 年生存率は 90 % 以上であるが、隣接臓器への浸潤を伴う進行癌では約 55 %、遠隔転移を認める場合は 10 % 未満と、進行子宮頸癌の予後は依然として不良で、年間 2700 人程度の方が死亡している。また、遠隔転移のない B 期以上の症例や局所再発は現在放射線照射治療が中心となるが、対象が他癌種に比べ若年患者が多く、放射線照射後長期間経ってから起こる晩期障害が問題となる。また、放射線照射野内での再発に対しては追加放射線照射ができず、化学療法の奏効率も低く、予後不良とされている。そこで放射線照射に代わる治療戦略を考えることが急務である。

2. 研究の目的

子宮頸癌において EMT を起こし予後に関与する CD24 陽性細胞に選択的に硼素を取り込ませる高分子ミセルを開発し、癌の浸潤を効率よく抑制させる治療法の確立が本研究の到達目標である。さらに、硼素内包 CD24 高分子ミセルを用いた BNCT の抗腫瘍効果を in vivo でも確認できれば、臨床応用への大きな一歩となる。

3. 研究の方法

(1) 研究計画発案時は CD24 高分子ミセルを作成し、それを用いての検討をする予定であったが、検討方法の見直しをし、脳腫瘍で主に使われている BPA (boronophenylalanine) を用いた。子宮頸癌細胞株 (扁平上皮癌 3 種類: SiHa、SKG、C4-1、腺癌 1 種類: HeLa) にそれぞれ一定時間暴露し、細胞株内のホウ素濃度を測定した。暴露させる BPA を様々な濃度、暴露時間で検討した。

(2) がん細胞は正常細胞とは異なる、癌特有の LAT-1 というアミノ酸トランスポーターが著しく発現上昇することが言われている。子宮頸癌細胞において LAT-1 抗体を使用しウエスタンブロッティング (Western Blotting) を施行した。

(3) ニードマウスの皮下に子宮頸部がん細胞を移植し、腫瘍を形成させた。ラットにも同様の方法で皮下に子宮頸癌細胞株を移植し、腫瘍を形成させた。その後 BPA を尾静脈より注入した。その後に腫瘍を摘出し、腫瘍細胞内のホウ素濃度を測定した。尾静脈注射からの時間も検討に加えた。

4 . 研究成果

(1) 検討したすべての子宮頸がん細胞株で、高いホウ素濃度の取り込みを認めた。

暴露時間に応じて取り込みが増加したが、短時間でも十分な濃度の取り込みがあることがあきらかになった。BPA 濃度が濃度 10ppm ($\mu\text{g/ml}$)であった際は、ホウ素濃度は SiHa 細胞： $188 \pm 46.7 \text{ ng B/ } 10^6 \text{ cells}$ 、SKG 細胞： $252 \pm 36.9 \text{ ng B/ } 10^6 \text{ cells}$ 、C4-1： $142 \pm 22.4 \text{ ng B/ } 10^6 \text{ cells}$ 、HeLa 細胞： $202.5 \pm 12.5 \text{ ng B/ } 10^6 \text{ cells}$ であった。

(2)子宮頸癌細胞株(扁平上皮癌 3 種類：SiHa、SKG、C4-1、腺癌 1 種類：HeLa)に対し、LAT-1 抗体を使用しウエスタンブロッティング (Western Blotting) を施行した。いずれの細胞にも LAT-1 の発現がみられた。

(3)子宮頸癌細胞株の移植はヌードマウスに子宮頸癌細胞懸濁液を 1×10^7 を皮下注した。(4 か所) 腫瘍径が 1.5cm 程度になるまで、2 3 週間後に BPA を尾静脈より注入後に皮下腫瘍を摘出し、ホウ素濃度を測定した。1 種の子宮頸部細胞株に対し、4 匹のヌードマウスを使用し、子宮頸癌細胞株(扁平上皮癌 3 種類：SiHa、SKG、C4-1、腺癌 1 種類：HeLa)をそれぞれ行い、すべての細胞株においてホウ素の取り込みが確認できた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	林 正美 (Hayashi Masami) (00551748)	大阪医科大学・医学部・准教授 (34401)	
研究分担者	大道 正英 (Ohmichi Masahide) (10283764)	大阪医科大学・医学部・教授 (34401)	
研究分担者	田中 良道 (Tanaka Yoshimichi) (10625502)	大阪医科大学・医学部・講師 (34401)	
研究分担者	田辺 晃子 (Tanabe Akiko) (70454543)	大阪医科大学・医学部・非常勤講師 (34401)	
研究分担者	佐々木 浩 (Sasaki Hiroshi) (80432491)	大阪医科大学・医学部・講師 (34401)	
研究分担者	兪 史夏 (Yu Saha) (80625674)	大阪医科大学・医学部・非常勤医師 (34401)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	寺井 義人 (Terai Yoshito) (90278531)	大阪医科大学・医学部・非常勤講師 (34401)	
研究分担者	田中 智人 (Tanaka Tomohito) (90411363)	大阪医科大学・医学部・講師 (34401)	
研究分担者	藤原 聡枝 (Fujiwara Satoe) (90707960)	大阪医科大学・医学部・講師 (34401)	