

令和 6 年 5 月 26 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K09599

研究課題名（和文）ホウ素中性子捕捉療法を用いた類上皮肉腫に対する新規治療方法の開発

研究課題名（英文）Development of New Treatment Method for Epithelioid Sarcoma by BNCT

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

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000 円

研究成果の概要（和文）：類上皮肉腫(ES)は、若年成人に好発する極めて稀な悪性軟部腫瘍である。抗癌剤および放射線療法には感受性が低く、手術による全切除が治療の基本である。一方で、ホウ素中性子線捕捉療法(BNCT)による良好な抗腫瘍効果が報告されている。そこで、ヌードマウスを用いてヒト由来のES細胞株(VA-ES-BJ)を右大腿部皮下に移植した動物モデルを作製し、BNCTによる抗腫瘍効果を検討した。動物モデルをA、B、Cの3群に分け、C群はBPAを静脈内投与後に、B群と共に照射を行った。照射後14日では、C群のみ腫瘍の退縮と破壊した腫瘍細胞を組織検査で認めた。類上皮肉腫に対してBNCTの効果が期待できる結果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

類上皮肉腫(ES)は、極めて稀な悪性軟部腫瘍である。しかし、通常の癌治療は効果なく腫瘍切除が治療の基本となるため、常に新たな治療法が求められている。ここで、近年、腫瘍細胞のみにホウ素製剤(BPA)を送達し、対外照射により腫瘍細胞内で熱中性子線とホウ素の核分裂反応を生じさせ腫瘍を選択的に死滅させるホウ素中性子捕捉療法(BNCT)の研究が進んでいる。そこで、ESに対するBNCTの適応を目指して、新たにヒト由来のES細胞株VA-ES-BJを用いた担がん動物モデルを作成しBNCTの治療効果を検討した。そして、ESに対するBNCTの抗腫瘍効果を初めて確認し、BNCTによる新たな治療方法の可能性を示した。

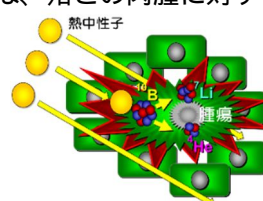
研究成果の概要（英文）：Epithelioid sarcoma (ES) is an extremely rare sarcoma that predominates in young adults. Because it is not sensitive to anticancer drugs and radiation therapy, wide surgical excision is the basis of treatment. Therefore, in this study, BNCT was performed with the use of human ES (VA-ES-BJ cell line)-bearing nude mice, and its antitumor effect was examined. After the tumor transplanted into the thigh grew, animals were divided into 3 groups of A, B, and C. In group C (BNCT), after intravenous administration of BPA, and in group B without administration of BPA, only the tumor of both groups was irradiated with epithermal neutrons. The tumor tissue was removed and histological examination was performed 14 days after irradiation. Histological examination revealed destroyed tumor cells only in group C. For the first time, it was clear that ES regressed with only one irradiation by BNCT in this study. Therefore, a new treatment method for ES by BNCT is expected to be developed in future.

研究分野：骨軟部腫瘍

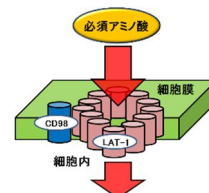
キーワード：類上皮肉腫 ホウ素中性子捕捉療法 BNCT 担がん動物モデル 細胞株 VA-ES-BJ

1. 研究開始当初の背景

骨・軟部腫瘍を専門とする整形外科医が扱う悪性腫瘍は、転移を除けば、殆どが筋肉、脂肪などの非上皮性組織から生じた肉腫である。肉腫は癌と比較して発生頻度が非常に低く、また組織形態も多種多様であるため、手術による全切除が不可であれば、殆どの肉腫に対する有効な治療方法が定まっていないのが現状である。そこで、我々は、近年、脳腫瘍あるいは頭頸部領域に生じた癌に対し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（Boron Neutron Capture Therapy, BNCT）を用いて、難治性の極めて稀な悪性軟部腫瘍である明細胞肉腫について、その担がん動物モデルを作成して BNCT による腫瘍制御について検討を行ってきた。この新たながん放射線療法である BNCT は、主として腫瘍細胞内へホウ素 (^{10}B)（ホウ素製剤(BPA)）を選択的に取り込ませた後に、体外から熱外中性子を照射し、体内で生じた熱中性子と腫瘍細胞内のホウ素 ^{10}B との核反分裂応により重荷電粒子を発生させ、周囲の正常組織にはほとんど影響を与えることなく腫瘍細胞のみを選択的に死滅させる(図 1)。明細胞肉腫を用いた検討では、腫瘍細胞への高度のホウ素集積と、その担がん動物モデルに対する BNCT により腫瘍細胞選択的な腫瘍の消失を初めて確認した(論文)。この基礎検討結果を基に、足部に生じた原発性の明細胞肉腫患者に対して BNCT を施行したところ、完全に腫瘍細胞は消滅し社会復帰が可能となった(論文)。また、すでに BNCT による抗腫瘍効果が症例報告されている悪性末梢神経鞘腫瘍(MPNST)についても、その担がん動物モデルを用いた検討から腫瘍細胞へのホウ素の選択的な取り込みと BNCT の抗腫瘍効果が確認された(論文)。この様に、腫瘍細胞へホウ素が選択的に集積すれば、BNCT による抗腫瘍効果が得られ、治療方法が限られた悪性軟部腫瘍でも BNCT による治療効果が期待できることが示されている。ここで、腫瘍細胞へのホウ素の選択的な取り込み機構についてであるが、細胞膜上には蛋白質合成の原材料であるアミノ酸を細胞内へ輸送する多くのアミノ酸トランスポーターが存在しており、その一つである癌細胞膜に著しく発現する LAT1(L-type amino acid transporter1)が(図 2)、このホウ素の腫瘍細胞への選択的な取り込みも担っていることが明らかとなっている(論文)。実際に、BNCT による抗腫瘍効果を認めた明細胞肉腫の臨床症例についても、免疫組織化学により、LAT1 の強い発現を認めた(論文)。さらに、我々は鼠径部に生じた類上皮肉腫の臨床症例においても、免疫組織化学の検討にて LAT1 の強い発現を確認し報告した(論文)。つまり、これらの事実は、切除以外に有効な治療方法が無い類上皮肉腫の症例でも、BNCT による腫瘍制御が得られる可能性を強く示唆する。そこで、本研究では、BNCT の類上皮肉腫への臨床応用を目指して、その細胞株を用いて担がん動物モデルを作成し、BNCT による抗腫瘍効果について検討を行うことを目指した。



(図 1) 腫瘍細胞内で放出される重荷電粒子は飛程が短く腫瘍のみを破壊。



(図 2) LAT1 は腫瘍細胞膜で CD98 と二量体をなし、必須アミノ酸を取り込む。

2. 研究の目的

類上皮肉腫は、Enzinger により 1970 年に名付けられた悪性軟部腫瘍で若年成人に好発し、多くが四肢(遠位型)に発生する極めて稀な軟部肉腫である。また、1997 年にはその亜型として、体幹部に発生する近位型類上皮肉腫が報告されている。類上皮肉腫患者の 5 年生存率は、遠位型が 51-61%、近位型が 25-52%と高悪性度であり、特に近位型では予後不良とされている。治療方法は、広範切除術による腫瘍の全切除が基本である。しかし、類上皮肉腫の半数近くが遠隔転移を生じるため、補助療法として一般的な化学療法が施行されるが、その効果については未だ不明である。従って、手術困難な部位に発生した場合、再発・転移症例では、有効な治療法が無く新たな治療方法が求められているのが現状である。そこで、本研究は、BNCT の類上皮肉腫に対する新たな治療法の可能性について、担がん動物モデルを用いて検討することを目的とした。

3. 研究の方法

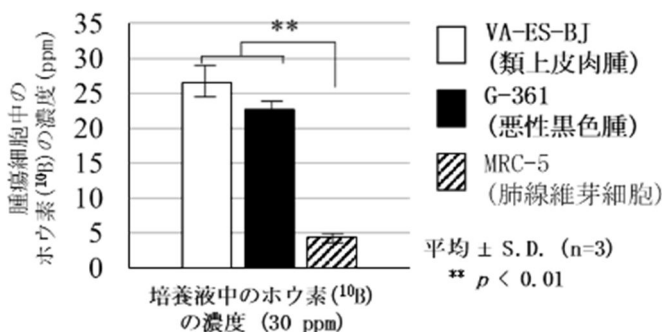
ヒト由来の類上皮肉腫の細胞株(VA-ES-BJ)を用いて類上皮肉腫の担がん動物モデルを作成した。そして、その動物モデルに対して BNCT を施行し、類上皮肉腫に対する BNCT の抗腫瘍効果を評価した。

- (1) ヒト由来の類上皮肉腫の細胞株(VA-ES-BJ)と、すでにホウ素 (^{10}B) の高い取り込みを認め BNCT の効果が示されている悪性黒色腫の細胞株(G-361)を用いて、培養細胞におけるホウ素 (^{10}B) (ホウ素製剤(BPA)) の取り込みを正常肺線維芽細胞(MRC-5)と比較検討を行った。
- (2) VA-ES-BJ 細胞株をヌードマウスの下肢の皮下に移植し、類上皮肉腫の担がん動物モデルを作成した。
- (3) 作成した類上皮肉腫の担がん動物モデルを用いて、ホウ素製剤(BPA)を投与し、ホウ素 (^{10}B) の体内動態を計測した。具体的には、ホウ素製剤を投与後に各時間経過ごとに正常組織および腫瘍組織を取り出し、正常組織および腫瘍内のホウ素濃度を計測し、正常組織内および腫瘍組織内のホウ素製剤投与後のホウ素 (^{10}B) 濃度の経時的な体内動態を評価した。
- (4) 担がん動物モデルにおけるホウ素製剤の体内動態の計測結果から、BNCT を施行時の熱外中性

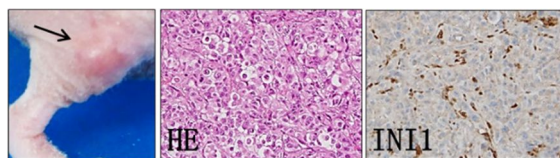
- 子線の照射時間を検討した。その検討結果を基に、京都大学複合原子力科学研究所(KURNS)にて類上皮肉腫の担がん動物モデルに対して BNCT を施行した。動物の群分けは、照射を施行していない(A)コールドコントロール群、腫瘍細胞のみに照射を行った(B)ホットコントロール群、そしてホウ素製剤 BPA を投与後に照射を施行した(C)BNCT 群の3群について検討した。
- (5) KURNS での照射時に計測した中性子線量から、(B)ホットコントロール群と(C)BNCT 群の腫瘍への照射線量を算出した。
- (6) 照射後の各動物群の腫瘍の増大を計測・比較検討し、BNCT 群の抗腫瘍効果について検討した。
- (7) 照射後 2 週間で各動物群の担がん動物モデルから組織を採取し組織標本を作製した。BNCT を施行した担がん動物モデルから作製した組織標本とコントロール群を比較することで BNCT による類上皮肉腫に対する抗腫瘍効果を組織学的に検討した。

4. 研究成果

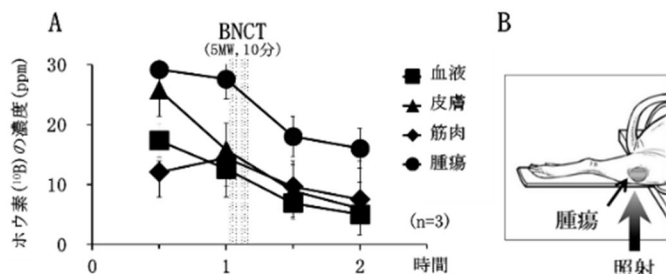
- (1) 培養液中のホウ素(^{10}B)濃度が 30ppm では、類上皮肉腫細胞と悪性黒色腫の細胞は、正常の細胞である肺線維芽細胞と比較して腫瘍細胞内への高いホウ素(^{10}B)の取り込みを認めた(図 3)。
- (2) VA-ES-BJ 細胞株の担がん動物モデルでは、ヌードマウス下肢の皮下に腫瘍形成を認め、その組織検査でも類上皮肉腫の腫瘍細胞特徴的な INI1 欠損を認めた(図 4)。
- (3) 作成した類上皮肉腫の担がん動物モデルを用いた、ホウ素製剤(BPA)投与後のホウ素(^{10}B)の体内動態の計測では、BPA 投与後 60 分過ぎまで腫瘍細胞選択的にホウ素(^{10}B)の集積を認めた(図 5A)。
- (4) ホウ素の体内動態の結果から KURNS にて BNCT を下肢のみに BPA 投与後 60 分から 10 分間施行した(図 5B)。
- (5) (B)ホットコントロール群および(C)BNCT 群に照射された線量は、等価線量(Gy-Eq)それぞれ、腫瘍には 1.4 Gy-Eq と 20.7 Gy-Eq、皮膚には、1.4Gy-Eq と 8.7 Gy-Eq となり腫瘍選択的に線量を認めた(表 1)。



(図 3) 類上皮肉腫の腫瘍細胞にも悪性黒色腫と同等のホウ素 ^{10}B の取り込みを認めた。



(図 4) 担がん動物モデルでは下肢の皮下に腫瘍形成を認めた。その組織検査では、類上皮肉腫に特徴的な INI1 の欠損を認めた。

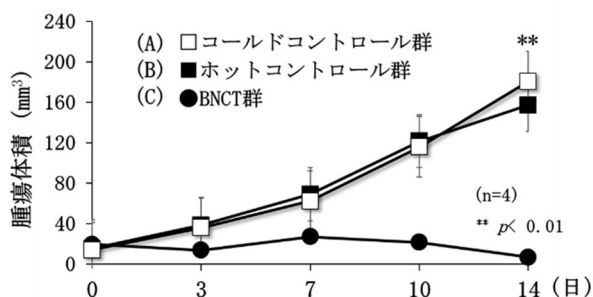


(図 5) A: ホウ素製剤 BPA 投与後 60 分過ぎまで、腫瘍細胞選択的なホウ素(^{10}B)の集積を認めた。B: BPA 投与後 60 分から 10 分間 BNCT を施行した。

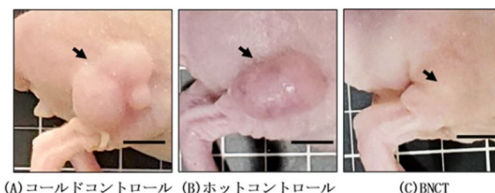
	等価線量 (Gy-Eq)	
	腫瘍	皮膚
(B) ホットコントロール群	1.4	1.4
(C) BNCT 群	20.7	8.7

(表 1) BNCT 群の腫瘍選択に線量を認めた。

- (6) 腫瘍体積の経時的な計測では、照射後の(C)BNCT 群のみ、照射後に腫瘍体積が縮小した。他の群は腫瘍の増大を認めた(図 6)。
- (7) 照射後 14 日の腫瘍の肉眼的な観察では、BNCT 群のみが腫瘍の縮小を認めた(図 7)。

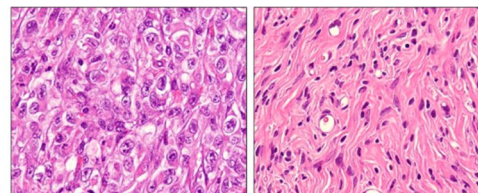


(図 6) BNCT 群のみ、照射後に腫瘍体積の縮小を認めた。



(図 7) 照射後 14 日の腫瘍の外観。BNCT 群のみ腫瘍の縮小を認めた。bar: 5 mm

(8)照射後 14 日後に摘出した腫瘍の組織検査では、BNCT により、腫瘍細胞のみが選択的に死滅した(図 8)。



(A) コールドコントロール (C) BNCT

(図 8) 組織検査では、BNCT により、腫瘍細胞のみが選択的に破壊し結合組織に置換していた。

近年、再発した悪性の頭頸部腫瘍については、保険診療下での BNCT による治療が認可され、他の難治性の悪性腫瘍についてもその適応の拡大が期待されている。特に、皮膚科領域では、皮膚に生じた血管肉腫に対して加速器を用いた BNCT が施行され良好な局所制御が報告されている(文献)。そこで、整形外科領域でも癌と比べて治療方法の限られている肉腫について BNCT による抗腫瘍効果が期待されている。

本研究では、類上皮肉腫に対する BNCT の適応を目指して、新たにヒト由来の類上皮肉腫細胞株 VA-ES-BJ を用いて担がん動物モデルを作成し類上皮肉腫に対する BNCT の効果を検討した。その結果、BNCT による抗腫瘍効果を認め、組織検査にて BNCT の腫瘍細胞選択的な壊死が確認された。動物実験段階であるが、この BNCT による抗腫瘍効果は、例えば、体幹部などの手術による切除が困難な部位に発生した類上皮肉腫でも、完全な抗腫瘍効果を目指した BNCT が可能になることを示唆する。さらに、BNCT が部分的な奏功しか認めない場合でも、腫瘍を縮小させることで、照射部位の正常組織にはほぼ障害を与えないという BNCT の特徴から、BNCT 後に切除を行うという類上皮肉腫に対する新たな局所の治療方法の可能性が示唆された。

BNCT は、手術と同様に、局所の治療のみが可能である。従って、類上皮肉腫の全身的な治療については、薬物療法の開発が必須である。そのような状況下で近年、類上皮肉腫については、タゼメトスタットという新たな分子標的製剤が開発され、臨床研究では良好な治療効果が報告され(文献)、現在では、化学療法による全身治療も模索されている。つまり、従来の方法では、治療が困難であった類上皮肉腫に対し、BNCT、手術、化学療法を組み合わせた今後の新たな治療方法の可能性が示唆され、類上皮肉腫の制圧を目指した今後の更なる研究が必要である。

< 参考文献 >

- Fujimoto T, Andoh T, et al., Appl Radiat Isot. 2013;96-100.
- Fujimoto T, Suzuki M, et al., Appl Radiat Isot. 2020 Dec;166:109324.
- Fujimoto T, Andoh T, et al., Appl Radiat Isot. 2015:220-225.
- Wongthai P, Hagiwara K, et al., Cancer Sci. 2015:279-286.
- Yahiro S, Fujimoto T, et al., SAGE Open Med Case Rep. 2022 Jan 8;10:2050313X211067917.
- Igaki H, Murakami N, et al., Clin Transl Radiat Oncol. 2022:128-133.
- Gounder M, Schöffski P, et al., Lancet Oncol. 2020:1423-1432.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 T. Fujimoto, T. Andoh, Y. Sakurai, M. Suzuki	4. 巻 1
2. 論文標題 Development of New Treatment Method for Epithelioid Sarcoma by BNCT	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 KURNS PROGRESS REPORT 2021	6. 最初と最後の頁 179-179
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yahiro S, Fujimoto T, Fujita I, Takai T, Sakuma T, Sudo T, Morishita M, Takigami S, Kawamoto T, Hara H, Akisue T, Kuroda R, Hirose T	4. 巻 -
2. 論文標題 Proximal-type epithelioid sarcoma in pubic region expressing L-type amino acid transporter 1: A case report.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 SAGE Open Medical Case Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/2050313X211067917. eCollection 2022.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Andoh Tooru, Ichikawa Hideki, Fujimoto Takuya, Suzuki Minoru	4. 巻 35
2. 論文標題 Current status and potential of neutron capture therapy as a new treatment option for malignant soft tissue tumors	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Drug Delivery System	6. 最初と最後の頁 137 ~ 145
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2745/dds.35.137	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 安藤徹、市川秀喜、藤本卓也、鈴木実	4. 巻 35
2. 論文標題 悪性軟部腫瘍への新たな治療オプションとしての中性子捕捉療法の現状と可能性（特集 線治療とDDS）	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Drug Delivery System	6. 最初と最後の頁 137-145
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2745/dds.35.137	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 藤本卓也	4. 巻 10
2. 論文標題 特集記事2: BNCT の適応とがん種 -悪性骨・軟部腫瘍に対するBNCT-	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 NCT letter	6. 最初と最後の頁 15-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件(うち招待講演 5件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 藤本 卓也, 鈴木 実, 田中 浩基, 櫻井 良憲, 高田 卓志, 安藤 徹, 藤田 郁夫, 森下 雅之, 河本 旭哉, 秋末 敏宏, 黒田 良祐
2. 発表標題 肉腫に対する加速器を用いたホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) の可能性
3. 学会等名 第95回 日本整形外科学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤本卓也, 安藤徹, 佐久間淑子, 藤田郁夫, 森下雅之, 藤田昌秀, 河本 旭哉, 黒田良祐, 秋末敏宏, 廣瀬隆則, 鈴木実
2. 発表標題 類上皮肉腫に対するホウ素中性子捕捉療法(BNCT)を用いた新たな治療方法の開発
3. 学会等名 第55回 日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤本 卓也, 安藤 徹, 須藤 保, 佐久間 淑子, 田中 浩基, 櫻井 良憲, 藤田 郁夫, 森下 雅之, 竹森俊幸, 河本 旭哉, 黒田 良祐, 秋末敏宏, 廣瀬 隆則, 鈴木 実
2. 発表標題 類上皮肉腫に対するホウ素中性子捕捉療法(BNCT)を用いた新たな治療方法の開発
3. 学会等名 第18回日本中性子捕捉療法学会学術大会
4. 発表年 2022年

1．発表者名 藤本卓也
2．発表標題 骨軟部腫瘍に対する原子炉BNCTの経験
3．学会等名 骨軟部腫瘍BNCTセミナー、骨軟部腫瘍に対する革新的がん治療BNCTの可能性を探る（招待講演）
4．発表年 2022年

1．発表者名 藤本 卓也，安藤 徹，櫻井 良憲，田中 浩基，須藤 保，二瓶 圭二，藤田 郁夫，佐久間 淑子，市川 秀喜，竹森 俊幸，河本 旭哉，秋末 敏宏，黒田 良祐，小野 公二，鈴木 実
2．発表標題 肉腫に対するホウ素中性子捕捉療法(BNCT)適応の可能性と課題
3．学会等名 第6回日本サルコーマ治療研究学会学術集会（招待講演）
4．発表年 2023年

1．発表者名 Takuya Fujimoto
2．発表標題 Application of BNCT to sarcoma in the field of orthopedics. - From basic study to clinical trial of clear cell sarcoma -
3．学会等名 IAEA (International Atomic Energy Agency), Training Workshop on Advances in Boron Neutron Capture Therapy.（招待講演）（国際学会）
4．発表年 2023年

〔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	鈴木 実	京都大学・複合原子力科学研究所・教授	
	(Suzuki Minoru)		
	(00319724)	(14301)	

6．研究組織（つづき）

	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	河本 旭哉 (Kawamoto Teruya) (30420558)	神戸大学・医学部附属病院国際がん医療・研究センター・医学研究員 (14501)	
研究 分担者	原 仁美 (Hara Hitomi) (40437489)	神戸大学・医学部附属病院・助教 (14501)	
研究 分担者	安藤 徹 (Andoh Tooru) (50639226)	神戸学院大学・薬学部・助教 (34509)	

7．科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8．本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------