

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 18 日現在

機関番号：34401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592146

研究課題名(和文) アミノ酸付加 BSHを用いた新規ホウ素中性子捕捉療法による治療効果向上の試み

研究課題名(英文) Therapeutic effect improvement by new boron neutron capture therapy with amino acid - BSH

研究代表者

川端 信司 (KAWABATA, Shinji)

大阪医科大学・医学部・講師

研究者番号：20340549

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：ホウ素中性子捕捉療法(BNCT)は、殺細胞効果の高い粒子を用いた腫瘍選択的粒子線治療であり、悪性脳腫瘍の克服が期待されている。BNCTの治療効果はホウ素化合物の種類・投与方法に左右される。悪性腫瘍では細胞内代謝が亢進し、アミノ酸要求性が高まることを利用し、新規ホウ素薬剤としてアミノ酸付加 BSHを開発した。中でも非天然合成アミノ酸ACBCは、アミノ酸トランスポーターに高い親和性を有する。我々はACBC-BSHをBNCT用ホウ素薬剤として開発研究し治療実験を実施したところ、既存のBPA単剤治療に劣らない結果となった。また両者の併用による効果向上を示し、新規の薬剤として有望であるとの結論を得た。

研究成果の概要(英文)：Boron neutron capture therapy (BNCT) is based on the nuclear capture and fission reactions that occur when non-radioactive Boron-10 is irradiated with low energy thermal neutrons to produce alpha-particles inside one cell level. The L-amino acid transport system in tumor cells is enhanced compared with normal cells. We designed, synthesized and tested boron carrying unnatural amino-acid, ACBC-BSH, as boron drug for BNCT. Curative effect of ACBC-BSH groups was approximately equal to BPA. The reason is that we think that extracellular accumulations of ACBC-BSH indicating that the seemingly high tumor boron concentrations did not represent the true tumor cellular uptake. And we did not compete for the curative effect by using ACBC-BSH together in BPA and accepted meaningful duration of survival time. Difference in drug distribution at the cell level was regarded as the cause. This study suggested the possibility that ACBC-BSH became the drug to add curative effect to.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：脳腫瘍学 悪性神経膠腫 放射線治療 ホウ素化合物 中性子捕捉療法 合成アミノ酸 ドラッグデリバリーシステム

1. 研究開始当初の背景

ホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) は、極めて殺細胞効果の高い粒子を用いて生物学的に腫瘍細胞を選択的に治療し得るため、正常組織に浸潤性に発育する悪性脳腫瘍の克服が期待されている。

我々は BNCT をさらに改善し、これまでに悪性神経膠腫および悪性髄膜腫患者の治療に BNCT を適用し、従来の放射線治療を用いた成績を上回る治療成績を示している。これは BNCT の有する腫瘍細胞選択的粒子線治療という特徴が、浸潤性に発育する悪性脳腫瘍に対して、浸潤部においても周囲正常脳細胞と明らかなコントラストを保った細胞選択的な治療が効果を高めたためである。BNCT においては、生命予後・機能予後を含めた治療成績の向上には、いかにしてホウ素化合物を腫瘍細胞に選択的に集積させるかが重要となり、現在臨床で使用経験のあるホウ素化合物では未だ不十分であると考える。

近年、代謝による構造変化を受けない種々の 4 級炭素構造を有した β -非天然型アミノ酸に顕著な生理活性が見出されている。中でも、側鎖に飽和環状構造を有した β -amino-cyclobutane-1-carboxylic acid (ACBC) 等は、アミノ酸トランスポーターに高い親和性を有し、代謝の影響を受けず、タンパク質合成に利用されないことから腫瘍組織に高集積することが知られている。これまでも ACBC の ^{18}F 標識体は高い選択的腫瘍集積性 (T/N 比) を示すことから、神経膠芽腫の陽電子断層撮影法 (PET) 用トレーサーとして有用であることも臨床例で報告されている。

2. 研究の目的

BNCT の臨床研究の歴史は決して新しいものではないが、BNCT の治療効果はホウ素化合物の種類・投与方法などにも大きく左右される。現在までに臨床試験に用いられてきたホウ素化合物 (BPA, BSH) では、ある程度の治療効果が示せてはいるが、未だ不十分である。

そこで本研究では、腫瘍選択的粒子線治療である BNCT のさらなる治療成績向上を目指し、理想的な新規ホウ素キャリアーとして開発したアミノ酸付加 BSH の有用性に関し検討し、臨床応用への可能性を探る。

3. 研究の方法

BNCT における理想的な新規ホウ素キャリアーとして開発したアミノ酸付加 BSH の有用性に関し検討し、臨床応用への可能性を探るため、以下の研究計画・方法を立案した。

候補となる新規化合物の腫瘍細胞への集積性

中性子照射による殺腫瘍細胞効果の確認

動物モデルを用いた薬物動態および最適な投与方法・照射条件の探索

動物モデルを用いた中性子照射による安全性および治療効果の確認。

これらの研究を通じて、BNCT 用の新規ホウ素化合物としてアミノ酸付加 BSH の有用性に関し詳細な検討を加える。なお、本研究の準備段階として試作した合成アミノ酸 ACBC (β -aminocyclobutane-1-carboxylic acid) に、ホウ素化合物 (BSH 骨格) を導入した新規ホウ素キャリアーを元に研究を計画し、期間内に探索した新規アミノ酸付加 BSH についても随時同様の実験を実施し有用性を検討することとした。

4. 研究成果

国内研究協力者である切畑光統教授 (大阪府立大学・生命環境科学) とともに、BNCT 用新規ホウ素化合物として数種のアミノ酸付加 BSH を作成した。これらの薬剤を用いて悪性神経膠腫培養細胞に対し、*in vitro* での集積について確認し、その結果から ACBC-BSH ほか、ホウ素含有合成アミノ酸に数種類の薬剤で目標を上回る腫瘍集積がみられ有望視される薬剤が作成できている。

初年度は、各薬剤について、細胞内への停留時間、暴露濃度・時間の変化による薬剤細胞集積の特性を確認した。

F98 グリオーマ移植担脳腫瘍モデルラットに対し、Convection Enhanced Delivery (CED) によりアミノ酸付加 BSH を投与した後、組織内ホウ素濃度を測定した。組織内ホウ素濃度は ICP-AES を用いて腫瘍および腫瘍側脳、対側脳など組織別に行うこととし、摘出組織に対する BSH 特異的免疫染色 (大阪府立大学・切畑) を加え、これらの実験によりアミノ酸付加 BSH の CED 投与時の薬物動態の解明と至適投与条件の検討を加えた。培養細胞でのホウ素集積は、臨床応用されているアミノ酸ホウ素化合物 (BPA; ボロノフェニルアラニン) が $10.9 \pm 0.2 \text{ ng} / 10^6 \text{ cells}$ であったのに対し、*cis*-ACBC (合成アミノ酸) では 18.2 ± 0.9 と高値を示し、*trans*-ACBC では 9.9 ± 0.4 にとどまった。また、新規の合成アミノ酸 C4、C5 および C8 において同様の実験を行った結果、それぞれ 28.4 ± 4.0 、 19.6 ± 1.0 、 10.6 ± 1.0 と良好な結果を示す化合物が存在した。

BNCT での治療効果は、集積薬剤の絶対量のみならず細胞内・外の局在にも左右されるため、中性子照射実験を行い実際の薬剤の殺腫瘍細胞効果を計画・実施したが、実際のホウ素中性子捕捉反応による殺細胞効果は、細胞集積から理論的に算出された効果を下回った。これらの結果から、比較的 low molecular weight の合成アミノ酸による薬剤送達は、脳腫瘍においてもおおいに期待できると考えられ、動物実験への応用へ向けては、より収集効率の良い化合物という視点からも選定すべきである。

F98 グリオーマ移植担脳腫瘍モデルラットに対し、Convection Enhanced Delivery (CED) によりアミノ酸付加 BSH を投与した後、組

織内ホウ素濃度を測定した。組織内ホウ素濃度は ICP-AES を用いて腫瘍および腫瘍側脳、対側脳など組織別に行うこととし、摘出組織に対する BSH 特異的免疫染色（大阪府立大学・切畑）を加え、これらの実験によりアミノ酸付加 BSH の CED 投与時の薬物動態の解明と至適投与条件の設定を行った。

腫瘍へのホウ素集積は、ACBC-BSH 経静脈投与 (iv) では $2.7 \mu\text{g}^{10}\text{B}/\text{mg}$ （腫瘍/正常脳 (T/N)=14.9）、ACBC-BSH の CED 24 時間投与では $21.2 \mu\text{g}^{10}\text{B}/\text{mg}$ （腫瘍/正常脳 (T/N)=14.2）となった。これらの実験により、担脳腫瘍動物モデル (F98 グリオーマ移植担脳腫瘍モデルラット) を用いた中性子照射治療実験を行った。

生存期間中央値は未治療群 (26.5 日) に対し、ACBC-BSH CED24 時間投与群で +11 日、BPA iv 群で +10 日、ACBC-BSH CED24 時間投与 + BPA iv 群で +16 日間の生存期間延長を認めた。

免疫染色の結果では、BPA は細胞内に均質に分布する一方で、ACBC-BSH ではより核の周囲に集積し高い治療効果を期待した。中性子照射治療実験では、ACBC-BSH CED24 時間投与と BPA iv による BNCT はほぼ同等の生存期間延長にとどまったが、ACBC-BSH を BPA に併用することで、治療効果は拮抗せず有意な生存期間延長を認めた。細胞レベルでの薬剤分布の違いが作用を拮抗させない原因と考えられ、本薬剤は悪性脳腫瘍に対する硼素中性子捕捉療法用の新薬として期待し得ると結論付けた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 14 件)

- 1) 悪性神経膠腫の放射線治療後再発例に対するホウ素中性子捕捉療法の成績. 川端信司ほか、*定位放射線治療* 18: 147-152. 2014
- 2) Identification of early and distinct glioblastoma response patterns treated by boron neutron capture therapy not predicted by standard radiographic assessment using functional diffusion map. Hiramatsu R, Kawabata Sほか、*Radiat Oncol.* 8: 192. 2013
- 3) Boron neutron capture therapy for recurrent high-grade meningiomas. Kawabata Sほか、*J Neurosurg.* 119: 837-844. 2013
- 4) シリーズ 硼素中性子捕捉療法による治療症例 (1) 熱外中性子と 2 種類の硼素化合物併用による本邦初の脳腫瘍治療例. 川端信司, 小野公二. *PET journal* 24: 10-11. 2013
- 5) 悪性脳腫瘍に対するホウ素中性子捕捉

療法と PET のかわり. 川端信司, 黒岩敏彦, 切畑光統, 小野公二, 宮武伸一ほか、*CI 研究* 34: 119 - 125. 2012

- 6) ホウ素中性子捕捉療法による悪性髄膜腫の治療成績. 川端信司, 平松 亮ほか *定位放射線治療* 17: 75-81. 2013
- 7) 放射線治療の進歩・硼素中性子捕捉療法の現状と今後. 川端信司, 粟飯原輝人 *PET journal* 22: 16-19. 2013
- 8) ホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) について ~ 難治性脳腫瘍治療への取り組み ~. 川端信司. *放射線治療かたろう会誌* 18: 126-135. 2013
- 9) 悪性脳腫瘍の治療. 放射線治療のトピックス. ホウ素中性子捕捉療法. 川端信司, 平松亮, 宮武伸一. *Clinical Neuroscience* 31: 1174-1176, 2013
- 10) Boron neutron capture therapy (BNCT) selectively destroys human clear cell sarcoma in mouse model. Fujimoto T, Kawabata S, Kirihata M, Ono K ほか、*Appl Radiat Isot.* 2013 Mar;73:96-100.
- 11) Current status of boron neutron capture therapy of high grade gliomas and recurrent head and neck cancer. Barth RF, Kawabata S ほか、*Radiat Oncol.* 2012 Aug 29;7:146.
- 12) BNCT と PET による脳腫瘍の治療. 川端信司, 松下葉子, 平松亮. *PET journal* (18): 28-30, 2012.
- 13) Phase II clinical study of boron neutron capture therapy combined with X-ray radiotherapy / temozolomide in patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme - Study design and current status report. Kawabata S, Miyatake S, Kuroiwa T, Kirihata M, Ono K ほか、*Appl Radiat Isot.* 2011 Dec;69(12):1796-9.
- 14) Convection enhanced delivery of carboranylporphyrins for neutron capture therapy of brain tumors. Kawabata S ほか、*J Neurooncol.* 2011 Jun;103(2):175-85.

[学会発表](計 32 件)

- 1) Boron neutron capture therapy as a treatment modality for malignant brain tumors. S. Kawabata. 5th Trilateral Meeting on BNCT Research among KURRI, Taipei VGH and Tsing Hua University, Clock Tower of Kyoto University, Kyoto, JAPAN 2013/04/06
- 2) Boron neutron capture therapy as a treatment modality for brain malignancies. S. Kawabata. 6th Trilateral BNCT meeting between Taiwan and Japan. Medical Science & Technical Building, Taipei Veterans

- General Hospital, Taiwan 2013/12/13
- 3) 大阪医科大学における脳腫瘍治療例の報告(悪性神経膠腫). 川端信司. 平成 25 年度京都大学原子炉実験所専門研究会 ~大阪 2013/12/11
 - 4) 大阪医科大学における脳腫瘍治療例の報告(悪性髄膜腫). 川端信司. 平成 25 年度京都大学原子炉実験所専門研究会 ~大阪 2013/12/11
 - 5) ホウ素中性子捕捉療法による悪性神経膠腫の予後不良因子打開の可能性. 川端信司, 平松亮, 古瀬元雅, 黒岩敏彦, 近藤夏子, 櫻井良憲, 田中浩基, 鈴木実, 小野公二, 宮武伸一. 第 31 回日本脳腫瘍学会学術集会 ~宮崎 2013/12/8
 - 6) 悪性脳腫瘍に対する原子炉中性子源による BNCT の治療成績. 川端信司, 平松亮, 松下葉子, 古瀬元雅, 黒岩敏彦, 鈴木実, 小野公二, 宮武伸一. 第 51 回日本癌治療学会学術総会 ~ 京都 2013/10/24
 - 7) 新規診断膠芽腫に対するホウ素中性子捕捉療法を用いた多施設共同試験. 川端信司, 平松亮, 松下葉子, 古瀬元雅, 黒岩敏彦, 近藤夏子, 鈴木実, 小野公二, 宮武伸一. 日本脳神経外科学会第 72 回学術大会 ~横浜 2013/10/18
 - 8) 悪性脳腫瘍克服へ向けたホウ素中性子捕捉療法の試み. 川端信司, 平松亮, 古瀬元雅, 松下葉子, 宮武伸一, 黒岩敏彦, 鈴木実, 増永慎一郎, 近藤夏子, 小野公二. 第 72 回日本癌学会学術総会 ~横浜 2013/10/03
 - 9) 新規診断悪性神経膠腫に対する BNCT の治療成績と多施設共同研究の近況報告. 川端信司, 平松亮, 二村元, 弘田祐己, 古瀬元雅, 松下葉子, 黒岩敏彦, 宮武伸一, 近藤夏子, 鈴木実, 小野公二, 田中浩基, 櫻井良憲, 切畑光統. 第 10 回日本中性子捕捉療法学会 ~岡山 2013/9/7
 - 10) 悪性神経膠腫の放射線治療後再発例に対するホウ素中性子捕捉療法の成績. 川端信司, 平松亮, 古瀬元雅, 二村元, 大西宏之, 黒岩敏彦, 宮武伸一, 近藤夏子, 鈴木実, 小野公二. 第 22 回日本定位放射線治療学会 長島・三重 2013/5/25
 - 11) 病態診断にもとづいたホウ素中性子捕捉療法の適応と治療. 川端信司, 平松亮, 松下葉子, 古瀬元雅, 宮武伸一, 黒岩敏彦, 鈴木実, 小野公二. 第 32 回日本脳神経 CI 学会総会 広島 2013/2/22
 - 12) 初発膠芽腫の医療照射症例報告. 川端信司. 平成 24 年度京都大学原子炉実験所専門研究会 ~大阪 2013/2/15
 - 13) 初発膠芽腫多施設共同研究のプロトコールについて. 川端信司. 平成 24 年度京都大学原子炉実験所専門研究会 ~大阪 2013/2/15
 - 14) これまでに実施した医療照射の工夫. 川端信司. 平成 24 年度京都大学原子炉実験所専門研究会 ~大阪 2013/2/15
 - 15) 病態診断にもとづいたホウ素中性子捕捉療法の適応と治療. 川端信司, 宮武伸一, 松下葉子, 宮田至朗, 平松亮, 黒岩敏彦, 切畑光統, 鈴木実, 小野公二. 第 36 回 日本脳神経 C I 学会総会 ~広島 2013/2/22-23
 - 16) 加速器中性子源に向けた原子炉 BNCT の臨床経験の解析. 川端信司, 宮武伸一, 平松亮, 松下葉子, 古瀬元雅, 黒岩敏彦, 櫻井良憲, 鈴木実, 小野公二. 第 30 回 日本脳腫瘍学会学術集会 ~広島 2012/11/25
 - 17) 悪性脳腫瘍に対するホウ素中性子捕捉療法 10 年の経験と近未来像. 川端信司, 宮武伸一, 平松亮, 松下葉子, 古瀬元雅, 黒岩敏彦, 鈴木実, 田中浩基, 櫻井良憲, 切畑光統, 小野公二. 第 50 回 日本癌治療学会学術集会 ~京都 2012/10/25-27
 - 18) Convection Enhanced Delivery (CED) が切り開く高分子ホウ素化合物の BNCT への応用. 川端信司, 平松亮, 宮田至朗, 大西恭子, 弘田祐己, 横山邦夫, 宮武伸一, 黒岩敏彦, 小野公二, Vicente MGH, Barth RF. 第 50 回 日本癌治療学会学術集会 ~京都 2012/10/25-27
 - 19) 放射線治療後の再発悪性神経膠腫に対するホウ素中性子捕捉療法. 川端信司, 平松亮, 古瀬元雅, 松下葉子, 宮武伸一, 黒岩敏彦, 小野公二. 第 71 回 日本癌学会学術総会 ~札幌 2012/9/19-21
 - 20) Background and trial design of the Phase I, open label, dose escalation study for safety and tolerability of boron neutron capture therapy (BNCT) using boronophenylalanine (SPM-011) / accelerator BNCT system (BNCT30) for the patients with recurrent malignant glioma. S. Kawabata, M Suzuki, S-I Miyatake, H Tanaka, Y Sakurai, K Uehara, T Hayashi, T Mitsumoto, Y Kikuchi, K Ono. The 15th International Congress on Neutron Capture Therapy, Tsukuba, JAPAN 2012/9/10-14
 - 21) Boron neutron capture therapy for the patients with malignant meningioma. S. Kawabata, S-I Miyatake, R Hiramatsu, Y Matsushita, Y Tamura, T Kuroiwa, Y Sakurai, K Ono. The 15th International Congress on Neutron Capture Therapy, Tsukuba, JAPAN 2012/9/10-14
 - 22) ホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) について ~ 難治性脳腫瘍治療への取り組み ~. 川端信司 (教育講演). 第 113 回 放射線治療かたろう会 ~大阪 2012/9/8
 - 23) High grade glioma に対するホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) ~ 10 年のまとめと加

- 速器中性子源に向けて～. 川端信司, 平松亮, 宮武伸一, 黒岩敏彦, 鈴木実, 櫻井良憲, 田中浩基, 小野公二. 日本脳神経外科学会 第71回学術総会～大阪 2012/10/17
- 24) ホウ素中性子捕捉療法について. 川端信司(特別講演). 第3回 Japan Brain Tumor Alliance (JBTA) 関西地区セミナー～大阪 2012/11/3
- 25) Recent progress of boron neutron capture therapy (BNCT) for malignant glioma. S. Kawabata, R. Hitamatsu, S.-I. Miyatake, T. Kuroiwa. Union for International Cancer Control (UICC) 2012 World Cancer Congress, Montreal, CANADA 2012/8/27-30
- 26) ホウ素中性子捕捉療法による悪性髄膜腫の治療成績. 川端信司, 宮武伸一, 黒岩敏彦, 小野公二. 第21回 日本定位放射線治療学会～群馬 2012/6/1
- 27) Re-irradiation for recurrent malignant glioma by boron neutron capture therapy. S. Kawabata, S-I Miyatake, R Hiramatsu, S Miyata, Y Matsusita, T Kuroiwa, M Kirihata, K Ono. 103rd American Association for Cancer Research (AACR) Annual Meeting, Chicago, U.S.A. 2012/3/31-4/4
- 28) 悪性脳腫瘍に対する BNCT 施行症例の解析. 川端信司, 宮武伸一, 平松亮, 宮田至朗, 松下葉子, 古瀬元雅, 黒岩敏彦, 切畑光統, 丸橋晃, 小野公二. 第8回 日本中性子捕捉療法学会～徳島 2011/09/16-17
- 29) ホウ素中性子捕捉療法を用いた悪性髄膜腫克服への挑戦. 川端信司, 宮武伸一, 平松亮, 宮田至朗, 松下葉子, 古瀬元雅, 田村陽史, 黒岩敏彦, 切畑光統, 小野公二. 第29回日本脳腫瘍学会学術集会～下呂 2011/11/27-29
- 30) 悪性脳腫瘍とBNCT.(シンポジウム4「腫瘍選択的ホウ素中性子捕捉療法(BNCT) - 現在地からの挑戦 -」). 川端信司, 宮武伸一, 平松亮, 宮田至朗, 松下葉子, 古瀬元雅, 黒岩敏彦, 切畑光統, 丸橋晃, 小野公二. 第24回 日本放射線腫瘍学会～神戸 2011/11/17-19
- 31) ホウ素中性子捕捉療法を中心とした多施設共同第2相臨床試験の背景と進捗状況. 川端信司, 宮武伸一, 古瀬元雅, 松下葉子, 平松亮, 黒岩敏彦, 切畑光統, 小野公二. 第49回 日本癌治療学会学術集会～名古屋 2011/10/27-29
- 32) ホウ素中性子捕捉療法は悪性神経膠腫に対する集学的治療の一角を担えるか? 川端信司, 宮武伸一, 平松亮, 宮田至朗, 松下葉子, 古瀬元雅, 黒岩敏彦, 切畑光統, 丸橋晃, 小野公二. (社)日本脳神経外科学会 第70回学術総会～横浜 2011/10/12-14

〔図書〕(計 2件)

- 1) Boron Neutron Capture Therapy for Malignant Meningiomas. S. Kawabata and S-I Miyatake. Pp399 - 406. In *Neutron Capture Therapy; Principles and Applications*, Sauerwein, W.A.G.; Wittig, A.; Moss, R.; Nakagawa, Y. (Eds.), (Springer Heidelberg New York Dordrecht London, 2012), ISBN 978-3-642-31334-9, 978-3-642-31334-9 (eBook)
- 2) Boron Neutron Capture Therapy as a Treatment Modality for High-Grade Gliomas. Rolf F. Barth, M. Graca H. Vicente, Otto K. Harling, Kent J. Riley, Peter J. Binns, W. S. Kiger III, and Shinji Kawabata. Pp209 - 226. In *Malignant Gliomas: RMR V3 12; Series: Radiation Medicine Rounds Volume 3 Issue 2*, Arnab Chakravarti, Martin Fuss, Charles Thomas, Jr. (Eds.), (demomedical publishing, New York, 2012), ISBN 978-1-936287-76-5, 978-1-61705-148-7 (eBook)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0件)

取得状況 (計 0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

川端 信司 (KAWABATA, Shinji)
大阪医科大学・医学部・講師
研究者番号：20340549

(2)研究分担者

古瀬 元雅 (FURUSE, Motomasa)
大阪医科大学・医学部・講師
研究者番号：70340560

池田 直廉 (Ikeda, Naokado)
大阪医科大学・医学部・非常勤講師
研究者番号：50434775

松下 葉子 (MATSUSHITA, Yoko)
大阪医科大学・医学部・助教
研究者番号：70512094