

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K07717

研究課題名(和文) 骨腫瘍治療のためのガドリニウム中性子捕捉療法製剤の開発

研究課題名(英文) Development of gadolinium neutron capture therapy agent for next-generation radiation therapy applied for bone cancer

研究代表者

松川 岳久 (Matsukawa, Takehisa)

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号：60453586

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)：本研究では、中性子捕捉療法剤としてのGdテトラ(メチレンホスホン酸)キレート(Gd-EDTMP)の組織分布と効果を評価した。骨端線が閉じた高齢のマウスで発がんモデルを作成し同様の検討を進めた。中性子照射後、レーザーアブレーション誘導結合プラズマ質量分析法(LA-ICP-MS)を用いて、骨内および骨周辺の¹⁵⁷Gdの分布を分析した。20 mg/kgのGd-EDTMPを腹腔内に投与すると、24時間後には骨内に1000-2000 ppmのGd濃度が存在することがわかった。また、4T1乳腺腫瘍の骨転移モデルマウスにおいて、統計学的に有意ではないものの、中性子照射による腫瘍縮小効果が観察された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

治療に適した腫瘍抑制効果を得るためには、Gdを腫瘍領域でさらに濃縮する必要があることが示唆された。本研究で観察されたような、4T1細胞自体へのGdの蓄積メカニズムの解析が不可欠である。また、より効率的な投与方法を模索することが、治療成績の向上につながると考えられます。

研究成果の概要(英文)：In this study, we evaluated the tissue distribution and efficacy of Gd-tetra (methylene phosphonic acid) chelate (Gd-EDTMP) as a neutron capture therapy agent. We proceeded with the same study by creating a carcinogenesis model in elderly mice with a closed epiphyseal line. After neutron irradiation, the distribution of ¹⁵⁷Gd in and around the bone was analyzed by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS). 20 mg/kg of Gd-EDTMP administered intraperitoneally resulted in a Gd concentration of 1000-2000 ppm in the bone 24 hours later. The results of this study showed that the Gd concentration in the bone was 1000-2000 ppm. In addition, a tumor shrinking effect of neutron irradiation was observed in a mouse model of bone metastasis of a 4T1 mammary tumor, although it was not statistically significant.

研究分野：薬物動態学

キーワード：中性子補足療法 ガドリニウム LA-ICP-MS

1. 研究開始当初の背景

骨に発生する癌には、骨自体が原発巣となる原発性骨悪性腫瘍と、他の臓器に発生した癌が骨に転移する転移性骨腫瘍との2種類がある。原発性骨悪性腫瘍は、我が国では年間およそ200-300人が発症する。一般的な放射線療法は効果がないと言われていることから、現在の化学療法と手術に加え**次世代放射線療法の適応が期待されている**。一方、転移性骨腫瘍は我が国では年間およそ20万人が発症していると言われている。転移性骨腫瘍に対しての治療はこの10年間で骨修飾剤や内照射剤の実用により大きく進歩したものの、一般に原発巣の治療を行っている科で扱われることが多く、場合によっては治療が必要とされる骨転移への対応が遅れることがあるため、日常診療に際し**簡便な診断および適切な治療の選択**が必要である。内照射剤としてはβ線源であるストロンチウム89 (^{89}Sr)や、近年ではα線源であるラドン223 (^{223}Ra)が承認された。しかし ^{89}Sr は脊椎付近への転移がある場合に使えないこと、 ^{223}Ra の適応症は現在のところ骨転移のある去勢抵抗性前立腺癌のみである。以上のことから、癌種(原発・転移などを含む)や病気の進展程度など**症例ごとに最適な治療の選択肢を増やすためにも新たなメカニズムによる安全な治療法の確立**が望まれている。

放射線療法の一つである**中性子捕捉療法 (Neutron capture therapy: NCT)**は、ホウ素 ^{10}B やガドリニウム ^{157}Gd 製剤を癌細胞に集積させ、体外から熱中性子を照射することで癌細胞の近傍のみに放射線を発生させ癌を治療する方法である(図1)。通常の内照射剤では癌細胞のみならず広い範囲に製剤が分布し、正常組織にも大量の放射線が照射されてしまう。一方、中性子捕捉療法では薬剤を取り込んだ癌細胞だけを少ない線量で選択的に破壊することができる。**これまで治療が困難であった正常細胞と癌細胞が入り組んでいるような悪性の高い癌に効果的**である。

骨腫瘍に対しても有効性が確立されれば現在の治療に加えて選択肢を与える次世代の粒子線治療として期待されている。

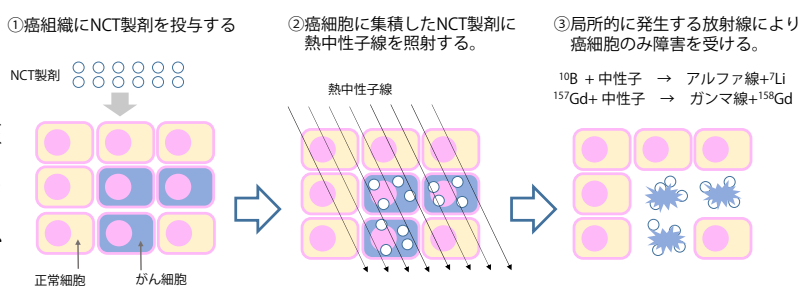


図1 中性子捕捉療法

2. 研究の目的

本研究の目的は、骨腫瘍治療のための新規ガドリニウム中性子捕捉療法製剤として ^{157}Gd -EDTMP 製剤の腫瘍集積性を定量的に評価し、中性子照射による癌治療効果を検証することである。中性子捕捉療法の治療効果を高める上で最も重要なことは、『照射前に製剤を十分に癌に集積させること』である。申請者らは地球惑星科学分野での元素イメージングに用いられてきたレーザーアブレーション誘導結合プラズマ質

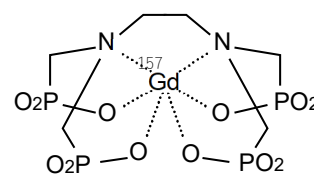


図2 ^{157}Gd -EDTMP 構造式

量分析法 (LA-ICP-MS) を生体試料に応用することで、**世界に先駆けて ^{157}Gd 製剤の癌組織内外における分布の定量的可視化を 10 μm オーダーで可能とした**。さらにこの手法を用いた基礎検討により、**新たな中性子捕捉療法製剤の候補物質**である ^{157}Gd の ethylene-diamine tetra(methylene phosphonic acid)キレート: ^{157}Gd -EDTMP (図2) の骨腫瘍集積が非常に高い可能性を動物組織レベルでの検討で明らかにした。

3. 研究の方法

Gd-EDTMP 溶液は、塩化ガドリニウムと EDTMP から調製した。雌の BALB/cAJcl マウス (12 週齢) を 1 週間馴化させた後、ルシフェラーゼ発現 4T1 マウス乳腺腫瘍細胞株 JCRB1447 を右脛骨に移植した。さらに 1 週間の馴化と腫瘍の定着確認後、マウスを以下の 3 群に分けた (n=3 または 4): Gd-EDTMP 処理および中性子照射 (Gd+/Nu+)、Gd-EDTMP 処理および中性子照射なし (Gd+/Nu-)、リン酸緩衝液処理および中性子照射 (Gd-/Nu+)。Gd+/Nu+ および Gd-/Nu- マウスは、20mg/kg 体重の Gd-EDTMP (1mg Gd/ml PBS) の腹腔内投与を 1 回行った (n=3)。Gd-/Nu+ マウス (n=4) には、同量の PBS を投与した。Gd-EDTMP または PBS 投与 24 時間後に、Gd+/Nu+ マウスおよび Gd-/Nu+ マウスについて下肢に、京都大学原子炉実験所 (KUR, 5MW) で熱中性子を 15 分間、照射フルエンス $3.6 \times 10^{12} \text{cm}^2$ で照射した。照射後、マウスは 14 日間、餌と水を自由に摂取できる状態で観察された。安楽死後、右大腿部と脛骨を採取し、腫瘍重量を測定し、川本式で非脱灰凍結切片を作製した。 ^{157}Gd の分布は、以前に確立された方法論に従って、LA-ICP-MS (LA: NWR213, ICP-MS: Agilent 8800) により画像化した。さらに、下肢のヘマトキシリン・エオシン (H.E.) 染色した切片の顕微鏡写真を用いて、腫瘍の状態を評価した。

4. 研究成果

Gd-EDTMP を腹腔内に投与したところ、24 時間後には骨内に 1000-2000 ppm と高濃度の Gd が存在することが明らかとなった。また、4T1 乳腺腫瘍の骨転移モデルマウスにおいて、統計学的に有意ではないものの、中性子照射による腫瘍縮小効果が観察された。この結果は、今後の治療への応用の可能性を示唆している。LA-ICP-MS による下腿部分の元素イメージングの結果、Gd は骨に蓄積していることが明らかとなった。骨が分布する領域では非常に高い Gd の信号強度であるため、これをマスクして観察すると、骨以外の Gd 濃度の分布が観察できるようになる。この画像処理により、Gd は 4T1 腫瘍細胞自体にも分布していることがあきらかとなった。この Gd 濃度の分布が腫瘍縮小効果に寄与している可能性があると考えられる。

治療に適した腫瘍抑制効果を得るためには、腫瘍領域に Gd をさらに濃縮することが必要であることも示唆された。今後、本研究で観察されたような、4T1 細胞自体への Gd の蓄積メカニズムの解析が不可欠である。中性子補足療法に向けて、より効率的な投与方法を模索することが、治療成績の向上につながると考えられる。

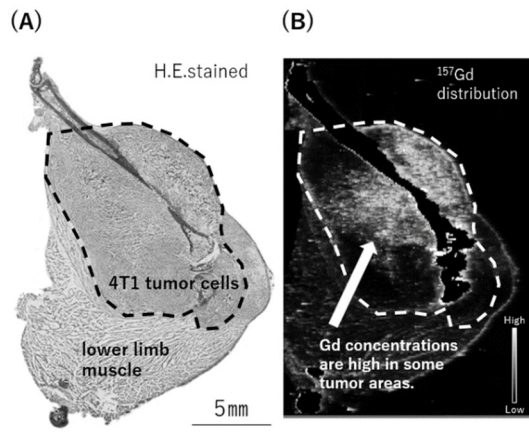


図 3 Gd tetra (methylene phosphonic acid) chelate (Gd-EDTMP) (20 mg/kg)を投与した 4T1 乳腺腫瘍細胞移植マウスの 14 日後の脚部切片。(A)はヘマトキシリン・エオシン (H&E) 染色像。(B)はレーザーアブレーション誘導結合プラズマ質量分析 (LA-ICP-MS) により得られた、骨部を除いた 157 個の Gd 分布像である。点線内の領域は、4T1 腫瘍細胞領域であり、骨の Gd 信号強度をマスクしたところ、4T1 領域の骨周辺に Gd が集積していることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kubota A., Matsukawa T., Yanagie H., Yanagawa M., Hirata T., Shinohara A., Yokoyama K.	4. 巻 65
2. 論文標題 Quantitative bio-imaging of Gadolinium-157 in tissues through laser-ablation ICP-MS for neutron capture therapy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Juntendo Medical Journal	6. 最初と最後の頁 461-467
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.14789/jmj.2019.65.JMJ19-0A12	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 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 2件／うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Matsukawa T., Takeno S., Iwasaki R., Suzuki M., Yokoyama, K
2. 発表標題 Comparison of CR-39 autoradiography and laser ablation ICP-MS imaging to assess 10B distribution of tibia bone in 10BPA-treated mice.
3. 学会等名 The 19th International Congress on Neutron Capture Therapy (ICNCT 19), (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yanagie Y., Yanagie H., Hou X., Yanagawa M., Matsukawa T., Kubota A., Suzuki M., Masunaga S., Sakurai Y., Tanaka H., Nashimoto M., Takahashi H.
2. 発表標題 Tumor growth suppression by gadolinium-neutron capture therapy with intra-tumoral injection of gadolinium-liposome complex (Gd-plex) to pancreatic cancer model in vivo.
3. 学会等名 The 19th International Congress on Neutron Capture Therapy (ICNCT 19), (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yanagie H., Yanagawa M., Hou X., Yanagie Y., Matsukawa T., Kubota A., Suzuki M., Masunaga S., Sakurai Y., Tanaka H., Nashimoto M., Takahashi H.
2. 発表標題 Application of intra-tumoral injection of cationic polymers mixed with Gd compounds for Neutron Capture therapy to pancreatic cancer model
3. 学会等名 The 19th International Congress on Neutron Capture Therapy (ICNCT 19), (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松川岳久, 横山和仁
2. 発表標題 医薬品開発へのLA-ICP-MSの実践的応用
3. 学会等名 第8回レーザーアブレーションワークショップ-どうするどうなるLA-ICP-MS- (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松川岳久, 鈴木実, 久保田章乃, 篠原厚子, 横山和仁
2. 発表標題 ガドリニウム中性子捕捉療法製剤のマウスin vivoでの用量依存性に関する基礎検討
3. 学会等名 メタルバイオサイエンス研究会2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 篠原厚子, 松川岳久, 鈴木実, 久保田章乃, 梶野一徳, 横山和仁
2. 発表標題 マウス悪性黒色腫骨転移モデルにおけるガドリニウム中性子捕捉療法の検討
3. 学会等名 第36回希土類討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松川岳久, 鈴木実, 久保田章乃, 篠原厚子, 横山和仁
2. 発表標題 LM8骨腫瘍マウスモデルにおけるGd-EDTMP中性子捕捉療法による効果の検討
3. 学会等名 第90回日本衛生学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松川岳久, 横山和仁
2. 発表標題 メタロミクスの積極的な医学応用=メディカルメタロミクス=
3. 学会等名 メタルバイオサイエンス研究会2019 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 古田直紀, 鈴木和浩, 山尾契, 松川岳久, 篠原厚子, 鈴木道生
2. 発表標題 化学形態別分析によるセレン代謝機構の解明.
3. 学会等名 メタルバイオサイエンス研究会2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松川岳久, 鈴木実, 久保田章乃, 篠原厚子, 横山和仁
2. 発表標題 骨腫瘍治療のためのガドリニウム中性子捕捉療法製剤の開発
3. 学会等名 第16回日本中性子捕捉療法学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松川岳久, 久保田章乃, 柳衛宏宣, 柳川将志, 平田岳史, 篠原厚子, 横山和仁
2. 発表標題 LA-ICP-MSによるガドリニウム157中性子補足製剤の定量的バイオイメージング
3. 学会等名 第16回日本中性子捕捉療法学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Matsukawa T., Suzuki M., Kubota A., Shinohara A., Yokoyama K.
2. 発表標題 Neutron irradiation after administration of Gd-EDTMP to a mouse model of mammary tumor bone metastasis: Effects and distribution of Gd formulation as a novel neutron capture therapy agent
3. 学会等名 The 8th International Symposium on Metallomics
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松川岳久, 鈴木実, 久保田章乃, 篠原厚子, 横山和仁
2. 発表標題 ガドリニウム中性子捕捉療法の骨転移担癌モデルマウスにおける腫瘍抑制効果とガドリニウム分布
3. 学会等名 第33回日本微量元素学会学術集会
4. 発表年 2022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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------