

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462330

研究課題名(和文) 明細胞肉腫の肺転移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の開発

研究課題名(英文) Development of boron neutron capture therapy (BNCT) for metastatic lung clear cell sarcoma.

研究代表者

藤本 卓也 (Fujimoto, Takuya)

神戸大学・医学部附属病院・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) 3,800,000円

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稀な悪性軟部腫瘍である。明細胞肉腫は、化学療法あるいは放射線治療に抵抗性であるため、治療は手術による全切除が基本である。しかし、特に肺に転移した症例では、手術不能である場合が多く有効な治療方法は無い。そこで、新たに明細胞肉腫をヌードマウスの肺に移植した肺転移動物モデルを作成してホウ素中性子捕捉療法(BNCT)による抗腫瘍効果を調べた。その結果、肺転移動物モデルの明細胞肉腫に選択的にホウ素製剤が集積し、BNCTによる全肺照射にて明細胞肉腫の肺転移部のみが選択的に死滅することが明らかとなった。手術不能な肺転移例に対しBNCTによる局所制御の可能性を初めて示した。

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. Its standard treatment is still wide surgical resection, since neither chemotherapy nor radiotherapy is effective. Furthermore, in the course of treatment, CCS often metastasizes to the lung, and such tumors are, at present, not even amenable to surgical resection. In this study, therefore, boron neutron capture therapy (BNCT) was evaluated through the treatment of lung metastasis in a human CCS-bearing animal model. Here, for the first time, the results showed that the metastatic CCS tumor mass in the lung of the animal model was selectively destroyed by subjecting the whole lung to the irradiation involved in BNCT, which demonstrates great potential as a new option for the treatment of human metastatic lung CCS.

研究分野：骨・軟部腫瘍

キーワード：ホウ素中性子捕捉療法 明細胞肉腫 肺転移 担がん動物モデル 全肺照射

### 1. 研究開始当初の背景

中性子捕捉療法( BNCT )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(  $^{10}\text{B}$  )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、悪性黒色腫に対して非常に優れた治療成績が実証、報告されている。一方で、明細胞肉腫は軟部悪性黒色腫とも呼ばれ、多くの明細胞肉腫症例においてメラニンの産生を認める。そこで、平成 22-24 年度基盤研究 C ( 課題：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。課題番号 22591657 )において、ヒト由来の明細胞肉腫の細胞株をヌードマウスの四肢皮下に移植した担がん動物モデルを作成し、BPA を投与したところ、腫瘍細胞への選択的なホウ素の集積を認め、さらに、同担がん動物モデルに対して BNCT を施行したところ、照射後 3 週で腫瘍がほぼ消失し BNCT の明細胞肉腫に対する抗腫瘍効果が明らかとなった。ここで、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範囲に切除することである。しかし、進行した明細胞肉腫は多くが肺転移を生じるため、体力のある若年者がほとんどをしめる明細胞肉腫では、肺転移は長期におよぶ呼吸苦など身体への侵襲が大きい。このような症例では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。

### 2. 研究の目的

明細胞肉腫は、悪性軟部腫瘍の 2~3% を占め日本では年間約 20 症例と稀な疾病であるが、海外を含めると相当数の症例が予想される。臨床上的特徴は、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、一旦病状が進行すると多くが再発・転移を来し 5 年生存率は約 50% と予後不良である。進行例では多くが肺への転移を来し死に至る。腫瘍の全切除が治療の基本となるが、体幹部あるいは肺に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。体力のある若年成人の場合では、肺転移への進展とともに長期にわたり非常な苦痛を伴い、治療方法の無い中でただ対症療法しか打つ手がなく非常に過酷な状況となる。その様な背景をもとに、我々は先ず四肢に生じたヒト由来の明細胞肉腫の担癌動物モデルを作成して BNCT が抗腫瘍効果を示すことを初めて明らかにした。そこで、さらに BNCT 解析に適し

た明細胞肉腫の肺転移動物モデルを開発し、BNCT の抗腫瘍効果が同様に得られるかどうか検討した。効果が確認できれば、明細胞肉腫の肺転移に対する BNCT の臨床応用への可能性が示めされ非常に有意義な研究である。

### 3. 研究の方法

明細胞肉腫の肺転移動物モデルにて BNCT による優れた治療効果が明らかとなれば肺転移臨床症例への応用が可能となる。そこで、先ず BNCT 解析に適した肉腫の肺転移動物モデルを作成した。次いで、この動物モデルにホウ素製剤 BPA を投与してホウ素の体内動態を明らかにした。そして、最後に BNCT を施行してその効果を検討した。

#### (1) ヒト由来の明細胞肉腫の細胞株

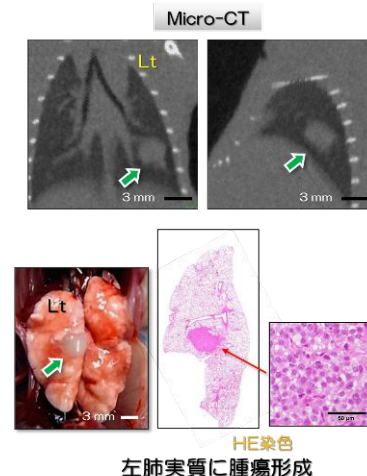
( MP-CCS-SY ) を培養した後にヌードマウスの左肺実質に 29G インシュリンシリンジを用いて直接に穿刺し移植した。そして、腫瘍形成をマイクロ CT で確認した後に摘出し病理組織学的に確認した。

(2) 肺転移動物モデルにホウ素化合物( BPA )を投与後、所定時間後にそれぞれ、腫瘍組織、各臓器を摘出し、腫瘍内、正常肺、血液および各臓器内のホウ素濃度を誘導結合プラズマ発光分光分析装置( ICP-AES )にて評価し、腫瘍および各臓器での経時的なホウ素濃度の変化を調べた。

(3) ホウ素製剤を投与した明細胞肉腫肺転移モデルへの熱中性子線照射。明細胞肉腫肺転移モデルに上記の実験結果を基に全肺野に正常肺組織に障害が生じない程度の低線量で熱中性子線照射を行い腫瘍細胞への影響を評価した。BNCT 群、熱中性子線のみ照射した Hot control 群、ホウ素製剤のみを投与した Cold control 群、そして、正常肺に BNCT と同じ物理線量のガンマ線を照射した 4 群を用いて検討した。最終的に組織検査にても検討した。

### 4. 研究成果

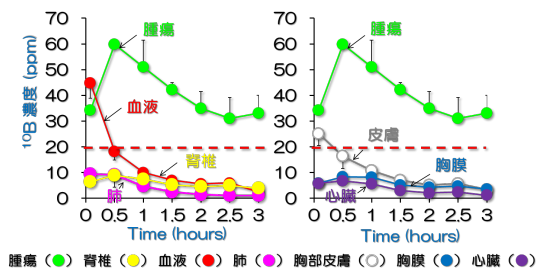
#### (1) 明細胞肉腫の肺転移モデルの作成。



左肺実質に、マイクロ CT にて腫瘍の形成を認め、摘出した標本の組織検査にても明細

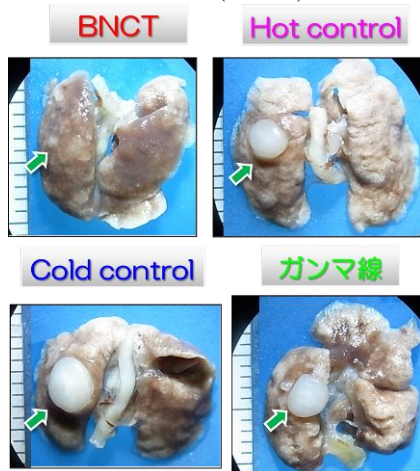
胞肉腫の腫瘍細胞を認めた。左肺への単発肺転移モデルが作成可能となった。

(2)明細胞肉腫の肺転動物モデルに対する、腫瘍および各臓器のホウ素取り込みの評価。



明細胞肉腫の肺実質の腫瘍形成部では、各臓器と比較してホウ素製剤投与後、30分で、ホウ素中性子捕捉療法に必要な約20ppm以上の約60ppmと非常に高いホウ素の腫瘍選択的な集積を認めた。

(3)明細胞肉腫の肺転動物モデルに対するホウ素中性子捕捉療法(BNCT)。



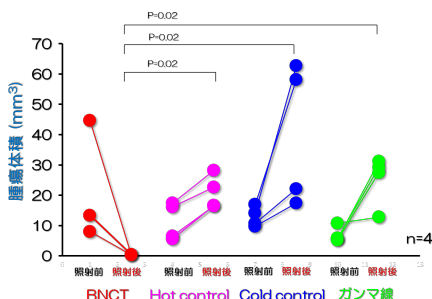
BNCT群のみ腫瘍の縮小を認めた。

(4)明細胞肉腫の肺転動物モデルに対する照射線量。

	物理学的線量 (Gy)	
	腫瘍	正常肺
Hot Control	0.7	0.7
BNCT	5.2	1.1
ガンマ線	0.9	0.9

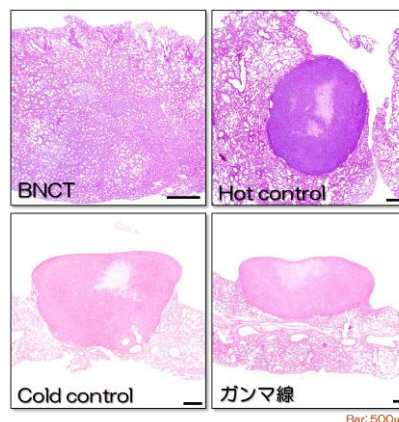
BNCT群の腫瘍のみに線量の集中を認めた。

(5)照射前後の腫瘍径の変化。



BNCT群のみが照射後に腫瘍径が縮小した。

(6)照射後の腫瘍組織検査。



組織学的に、BNCT施行群では腫瘍細胞のみが選択的に死滅しており、その周囲の肺正常組織には照射の影響は殆ど認めなかった。

この様に、動物実験レベルであるが、明細胞肉腫の肺転移モデルについてBNCTによる腫瘍選択的な抗腫瘍効果が初めて明らかとなった。また、この結果は、肺転移に対しても正常肺への影響を少なくしてBNCTによる全肺照射による腫瘍制御が可能であることを示した初めての報告である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 8 件)

Fujimoto T., Andoh T., Sudo T., Fujita I., Fukase N., Takeuchi T., Sonobe H., Inoue M., Hirose T., Sakuma T., Moritake H., Sugimoto T., Kawamoto T., Fukumori Y., Yamamoto S., Atagi S., Sakurai Y., Kurosaka M., Ono K., Ichikawa H., Suzuki M., Potential of boron neutron capture therapy (BNCT) for malignant peripheral nerve sheath tumors (MPNST), *Appl Radiat Isot.*2015;106:220-225.doi:10.1016/j.apradiso.2015.07.060. 査読有り。

Andoh T., Fujimoto T., Suzuki M., Sudo T., Sakurai Y., Tanaka H., Fujita I., Fukase N., Moritake H., Sugimoto T., Sakuma T., Sasai H., Kawamoto T., Kirihata M., Fukumori Y., Akisue T., Ono K., Ichikawa H., Boron neutron capture therapy (BNCT) as a new approach for clear cell sarcoma (CCS) treatment: Trial using a lung metastasis model of CCS, *Appl Radiat Isot.* 2015;106:195-201.doi:10.1016/j.apradiso.2015.07.060. 査読有り。

Fujimoto T., Andoh T., Sakurai Y., Ono K., Ichikawa H., Suzuki M., Boron Neutron Capture Therapy Selectively Destroys Human Clear Cell Sarcoma (CCS) Metastasis of Lung in CCS-bearing Animal Model, KURRI Progress Report 2014.

2015, p88. The research reactor Institute, Kyoto University. 査読無し.  
<http://www.rri.kyoto-u.ac.jp/PUB/report/PR/ProgRep2014/ProgRep2014.html>

鈴木実,藤本卓也,安藤徹,市川秀喜,教育研修講座 悪性骨・軟部腫瘍に対するホウ素中性子捕捉療法(BNCT), 日整会誌 2015(89), 504-513. 査読無し.

Fujimoto T., Andoh T., Sakurai Y., Suzuki M., Ichikawa H., Boron Neutron Capture Therapy for Lung Metastasis and Biodistribution of p-borono-L-phenylalanine in Lung of Human Clear Cell Sarcoma (CCS)-bearing Animal Model, Progress Report 2013. 2014, p 272. The research reactor Institute, Kyoto University. 査読無し.  
<http://www.rri.kyoto-u.ac.jp/PUB/report/PR/ProgRep2013/ProgRep2013.html>

Andoh T., Fujimoto T., Sudo T., Suzuki M., Sakurai Y., Sakuma T., Moritake H., Sugimoto T., Takeuchi T., Sonobe H., Epstein A.L., Fukumori Y., Ono K., Ichikawa H., Boron neutron capture therapy as new treatment for clear cell sarcoma: Trial on different animal model, Appl Radiat Isot. 2014;88:59-63. doi: 10.1016/j.apradiso.2013.12.007. 査読有り.

安藤徹,藤本卓也,市川秀喜,明細細胞肉腫に対するホウ素中性子捕捉療法の適応を旨とした前臨床研究. 薬剤学 74 巻 2 号 p114-120, 2014. 査読無し.  
[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpstj/74/2/74\\_114/\\_article/-char/ja/](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpstj/74/2/74_114/_article/-char/ja/)

Fujimoto T., Andoh T., Sakurai Y., Suzuki M., Ichikawa H., Ono K., Long-term result of BNCT for different types of human clear cell sarcoma in mouse model. KURRI Progress Report 2012. 2013, p 269. The research reactor Institute, Kyoto University. 査読無し.  
<http://www.rri.kyoto-u.ac.jp/PUB/report/PR/ProgRep2012/ProgRep2012.html>

[学会発表](計 20 件)

Fujimoto T., Application of Boron Neutron Capture Therapy to Musculoskeletal Sarcoma, International Seminar on the Boron Neutron Capture Therapy Research and Clinical Collaboration in Asian Countries, The research reactor Institute, Kyoto University, Osaka (Japan), 2016, Feb. 24-25.

藤本卓也,ホウ素中性子捕捉療法(BNCT)-明細細胞肉腫での検討を中心に-,第 2 回宮崎小児血液・がん学術講演会, 2016 年 3 月 4 日, ニューウエルシテイ宮崎(宮崎県).

藤本卓也,前川陽子,高尾信太郎,堀篤史,安藤徹,藤田郁夫,藤本望,櫻井良憲,増永慎一郎,田中浩基,堀信一,小野公二,市川秀喜,鈴木実,乳癌の腋窩リンパ節転移症例に対するホウ素中性子捕捉療法(BNCT), 第 12 回日本中性子捕捉療法学会学術大会, 2015 年 9 月 4 - 5 日, 神戸学院大学(兵庫県).

藤本卓也,前川陽子,高尾信太郎,堀篤史,須藤保,佐久間淑子,安藤徹,深瀬直政,藤田郁夫,藤本望,櫻井良憲,田中浩基,市川秀喜,堀信一,小野公二,鈴木実,リンパ節転移に対するホウ素中性子捕捉療法(BNCT)の可能性 - 乳癌の腋窩リンパ節転移症例からの検討. 第 48 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会, 2015 年 7 月 9 - 10 日, かがわ国際会議場(香川県).

鈴木実,近藤夏子,榎林正流,藤本望,仲川洋介,櫻井良憲,田中浩基,高田卓志,木梨友子,増永慎一郎,藤本卓也,安藤徹,市川秀喜,骨・軟部腫瘍に対するホウ素中性子捕捉療法(BNCT). 第 310 回日本医学放射線学会関西地方会, 2015 年 6 月 13 日, ホテルエルセラール大阪(大阪府).

藤本卓也,骨・軟部悪性腫瘍に対するホウ素中性子捕捉療法(BNCT)の可能性,第 2 回 BNCT なかもずセミナー, 2014 年 8 月 22 日, 大阪府立大学(大阪府).

藤本卓也,安藤徹,須藤保,佐久間淑子,藤田郁夫,深瀬直政,竹内保,園部 宏,秋末敏宏,廣瀬隆則,井上匡美,山本聡美,安宅信二,小野公二,黒坂 昌弘,市川秀喜,鈴木実,悪性末梢神経鞘腫瘍(MPNST)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, 第 47 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会, 2014 年 7 月 18 ~ 19 日, 大阪国際会議場(大阪府).

鈴木実,藤本卓也,市川秀喜,骨・軟部腫瘍に対するホウ素中性子捕捉療法,第 47 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会, 2014 年 7 月 18 ~ 19 日, 大阪国際会議場(大阪府).

藤本卓也,整形外科領域の悪性骨軟部腫瘍に対するホウ素中性子捕捉療法(BNCT)の可能性,第 11 回日本中性子捕捉療法学会学術大会, 2014 年 7 月 5 ~ 6 日, 大阪大学(大阪府).

藤本卓也,安藤徹,佐久間淑子,藤田郁



夫, 深瀬直政, 竹内保, 園部宏, 廣瀬隆則, 井上匡美, 山本聡美, 安宅信二, 櫻井良憲, 小野公二, 鈴木実, 市川秀喜, 悪性末梢神経鞘腫瘍 (MPNST) に対する臨床例および担がん動物モデルを用いたホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) の検討, 第 11 回日本中性子捕捉療法学会学術大会, 2014 年 7 月 5 ~ 6 日, 大阪大学 (大阪府).

安藤徹, 藤本卓也, 鈴木実, 須藤保, 盛武浩, 杉本徹, 佐久間淑子, 櫻井良憲, 田中浩基, 佐々井 浩志, 切畑光統, 秋末敏宏, 福森義信, 小野公二, 市川秀喜, 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: 肺転移動物モデルに対する BNCT, 第 11 回日本中性子捕捉療法学会学術大会, 2014 年 7 月 5 ~ 6 日, 大阪大学 (大阪府).

Fujimoto T., Andoh T., Tokunaga Y., Sudo T., Fujita I., Fukase N., Takeuchi T., Sonobe H., Inoue M., Hirose T., Sakuma T., Yamamoto S., Atagi S., Sakurai Y., Ichikawa H., Ono K., Suzuki M., Potential of Boron Neutron Capture Therapy for Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumor, 16th International Congress on Neutron Capture Therapy, Helsinki (Finland), June 14-19, 2014.

Andoh T., Fujimoto T., Suzuki M., Sudo T., Sakurai Y., Tanaka H., Fujita I., Fukase N., Moritake H., Sugimoto T., Sakuma T., Sasai H., Akisue T., Kirihata M., Fukumori Y., Ono K., Ichikawa H., Boron neutron capture therapy as new treatment for clear cell sarcoma: Trial on a lung metastasis model of clear cell sarcoma, 16th International Congress on Neutron Capture Therapy, Helsinki (Finland), June 14-19, 2014.

藤本卓也, 安藤徹, 鈴木実, 須藤保, 深瀬直政, 藤田郁夫, 秋末敏宏, 佐久間淑子, 福森義信, 黒坂昌弘, 市川秀喜, ホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) を用いた転移性肺腫瘍に対する新たな治療法の開発 - 明細胞肉腫の単発性肺転移モデルを用いた検討 -, 第 87 回日本整形外科学会学術総会, 2014 年 5 月 22 日 ~ 25 日, 神戸国際会議場 (兵庫県).

Fujimoto T., Study on Application of Boron Neutron Capture Therapy to Musculoskeletal Sarcoma, 1<sup>st</sup> KURRI International Workshop on Neutron Capture Therapy, The research reactor Institute, Kyoto University, Osaka (Japan), March 28-29, 2014.

Andoh T., Fujimoto T., Suzuki M., Sudo T., Fujita I., Moritake H., Sugimoto T., Sakuma T., Sakurai Y., Sasai H., Kirihata M., Akisue T., Fukumori Y., Ono K., Ichikawa H., Boron neutron capture therapy (BNCT) as a new

therapeutic approach for treatment of clear cell sarcoma (CCS): Basic study on a lung metastasis model of CCS for BNCT, 7<sup>th</sup> Young Researcher's Boron Capture Therapy Meeting, Granada (Spain), September 22-26, 2013.

藤本卓也, 安藤徹, 徳永佑亮, 鈴木実, 藤田郁夫, 深瀬直政, 角田雅也, 佐久間淑子, 福森義信, 小野公二, 須藤保, 市川秀喜, 粘液線維肉腫に対するホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) の可能性 - 新たに樹立した粘液肉腫細胞株を用いた検討, 第 10 回日本中性子捕捉療法学会学術集会, 2013 年 9 月 7 ~ 8 日, 岡山大学 (岡山県).

徳永佑亮, 藤本卓也, 安藤徹, 須藤保, 竹内保, 園部宏, 福森義信, 市川秀喜, 悪性末梢神経鞘腫瘍に対するホウ素中性子捕捉療法のための基礎的検討: L-BPA の培養細胞での取込評価および担がん動物での体内動態評価, 第 10 回日本中性子捕捉療法学会・学術集会, 2013 年 9 月 7 ~ 8 日, 岡山大学 (岡山県).

安藤徹, 藤本卓也, 鈴木実, 須藤保, 盛武浩, 杉本徹, 佐久間淑子, 櫻井良憲, 田中浩基, 佐々井浩志, 切畑光統, 秋末敏宏, 福森義信, 小野公二, 市川秀喜, 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: 肺転移動物モデルでの基礎的検討, 第 10 回日本中性子捕捉療法学会・学術集会, 2013 年 9 月 7 ~ 8 日, 岡山大学 (岡山県).

## 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

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

鈴木 実 (SUZUKI, Minoru)  
京都大学・原子炉実験所・特定准教授  
研究者番号: 00319724

秋末 敏宏 (AKISUE, Toshihiro)  
神戸大学・保健学研究科・教授  
研究者番号: 90379363