

氏 名	寺田 信一
(ふりがな)	(てらだ しんいち)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第78号
学位審査年月日	令和5年7月12日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題名	Boron uptake of boronophenylalanine and the effect of boron neutron capture therapy in cervical cancer cells (子宮頸癌細胞におけるボロノフェニルアラニンのホウ素の取り込みとホウ素中性子捕捉療法の抗腫瘍効果)
論文審査委員	(主) 教授 二瓶 圭二 教授 大須賀 慶悟 教授 藤阪 保仁

学位論文内容の要旨

《目的》

局所進行子宮頸癌に対する主な治療法は放射線治療であるが、放射線腸炎や膀胱炎、瘻孔形成などの副作用により QOL の低下を引き起こす。また局所制御が困難となる場合や照射野内再発が生じた場合に副作用のリスクから再照射ができず治療困難となることがあり、子宮頸癌に対する新たな治療法が求められる。

ホウ素中性子捕捉療法(BNCT : boron neutron capture therapy)は正常細胞にほとんど損傷を与えずに腫瘍細胞を選択的に死滅させる治療法である。BNCT は腫瘍細胞に取り込まれたホウ素と中性子の核反応で発生する細胞の径を越えない α 粒子線とリチウム粒子線により細胞を破壊することが可能な治療法である。ホウ素化合物により腫瘍に選択的にホウ素が集積し、正常組織に集積しなければ腫瘍を選択的に破壊することが可能となる。現

在、他癌腫においてホウ素化合物である boronophenylalanine (BPA) や sodium borocaptate (BSH) を用いた BNCT の効果が実臨床においても示されてきている。

BNCT が子宮頸癌に対して有効な治療法であるかどうかは不明である。本研究では、子宮頸癌に対する BPA を用いたホウ素の集積の評価および BNCT の抗腫瘍効果を検討した。

《方法》

1. 子宮頸癌細胞の LAT-1 の発現について

BPA は L 型アミノ酸トランスポーター1 (LAT-1 : L-type amino acid transporter1) を介して腫瘍細胞内にホウ素を集積させるため、子宮頸癌細胞における LAT-1 の発現を Western blotting 法で確認した。4 種類の子宮頸癌細胞株 (SKG-II、SiHa、C4-1、Hela) を用いた。SKG-II・C4-1 は Human Papillomavirus (HPV)18 型陽性子宮頸部扁平上皮癌、SiHa は HPV16 型陽性子宮頸部扁平上皮癌、Hela は子宮頸部腺癌の細胞株である。

2. BPA を用いた子宮頸癌細胞のホウ素の集積について

BPA による子宮頸癌細胞株へのホウ素の集積の程度を確認するため、異なる濃度 (5、10、20 $\mu\text{g }^{10}\text{B/mL}$) で 3 時間曝露し、また異なる時間 (1、3、6 時間) で 20 $\mu\text{g }^{10}\text{B/mL}$ の BPA を 4 種類の子宮頸癌細胞株に曝露を行い、それぞれのホウ素濃度を ICP-AES で測定した。

3. 子宮頸癌細胞における BPA を用い集積されたホウ素の保持時間について

細胞内に取り込まれたホウ素がどの程度の時間残存するかを確認するため、BPA (20 $\mu\text{g }^{10}\text{B/mL}$) を 3 時間曝露後に一定時間 (0.5、1、4 時間) 経過した子宮頸癌細胞株のホウ素濃度を測定した。

4. 子宮頸癌細胞に対する BNCT の効果について

2種類の子宮頸癌細胞株(SiHa、Hela)に BPA (10 $\mu\text{g}^{10}\text{B/mL}$)を 3 時間曝露した後に中性子の照射を行い、抗腫瘍効果を colony forming assay で BPA 非曝露群と比較した。

5. *In vivo* での子宮頸癌腫瘍に対する BPA のホウ素の集積について

2種類の子宮頸癌細胞株(SiHa、Hela)により皮下腫瘍モデルマウスを作成し、BPA (24 mg B/kg body weight)を腹腔内投与し、1、2.5、6 時間後に腫瘍、各臓器、血液におけるホウ素濃度をそれぞれ測定し、さらに BPA 投与後の腫瘍と血液・子宮・皮膚とのホウ素濃度の比率を算出した。

《結果》

1. 4種類の子宮頸癌細胞株すべてにおいて LAT-1 の発現がみられ、BPA によるホウ素の集積が期待される結果であった。
2. BPA を曝露した4種類の子宮頸癌細胞株のホウ素濃度は BPA の曝露濃度依存性に有意に増加したが、曝露時間には依存していなかった。
3. BPA を曝露していない状態では、いずれの細胞株においてもホウ素は 30 分後に癌細胞から排出されていた。先の実験により、BPA は曝露時間に依存せず子宮頸癌細胞内に比較的早期に取り込まれたが、BPA の曝露を継続していないと早期に細胞外に排出された。
4. colony forming assay では BPA 曝露群は BPA 非曝露群と比較して中性子照射後の colony 数が減少した。
5. 2種類の子宮頸癌細胞株(SiHa、Hela)による皮下腫瘍モデルマウスのいずれにおいても BPA を腹腔内投与することで腫瘍に選択的にホウ素の集積が高くなり、腎臓を除く

各臓器、血液へのホウ素の集積は低かった。ホウ素濃度の腫瘍と血液・子宮・皮膚の比率は2.5時間で最大となった。

《結論》

本研究では子宮頸癌に対する BPA を用いたホウ素の集積の評価と BNCT の効果を確認した。*In vitro*において BNCT は子宮頸部扁平上皮癌・腺癌のいずれに対しても抗腫瘍効果が期待される結果が得られた。また *in vivo*においても BPA により腫瘍選択的にホウ素の取り込みが確認された。腫瘍と正常組織のホウ素濃度の比率が最も高い BPA の腹腔内投与後 2.5 時間が BNCT を行う際に最も効果的な時間であることがわかった。

これらの結果は臨床面においても BNCT が子宮頸癌に対して効果が期待できる結果であり、子宮頸癌に対する治療法の一つとしての可能性が示唆された。

(様式 甲6)

論文審査結果の要旨

局所進行子宮頸癌に対する標準的な放射線化学療法では、QOLの低下を来したり、再発時の再照射が困難などの課題があり、その克服のための新たな治療戦略が必要である。今回申請者は、ホウ素中性子捕捉療法(BNCT: boron neutron capture therapy)に着目した。BNCTは正常細胞への損傷が少なく選択的に腫瘍細胞を破壊する治療法で、頭頸部癌や脳腫瘍でその効果が示されている。本研究は、子宮頸癌に対するBNCTの抗腫瘍効果を *in vitro* で、また、ホウ素化合物である boronophenylalanine (BPA)によるホウ素の集積を *in vivo* で確認したものである。

申請者は、まず4種類の子宮頸癌細胞株(SKG-II、SiHa、C4-1、Hela)でのL型アミノ酸トランスポーター1 (LAT-1: L-type amino acid transporter1)が発現していることをWestern blotting法で確認し、BPAを用いることで子宮頸癌細胞へのホウ素の高集積が可能であることを見出した。また、4種類すべての細胞株においてホウ素の集積がBPAの曝露濃度依存的に増加し、曝露時間に依存しないことを明らかにした。さらに、BPAを曝露後に中性子を照射することでBNCTの抗腫瘍効果が得られる可能性を示した。*In vivo* では2種類の子宮頸癌細胞株(SiHa、Hela)による皮下腫瘍モデルマウスを作成し、BPAを腹腔内投与することで、腫瘍に選択的にホウ素が集積できることを示した。以上の結果から、BNCTは子宮頸癌に対する新たな治療法となりえる可能性が示唆され、臨床的に重要な知見と考えられる。

以上により、本論文は本学大学院学則第13条第1項に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Applied Radiation and Isotopes, 197: 110792. 2023 April