

Работа выполнена в рамках конкурса 2021–2023 гг. на получение стипендии Президента РФ молодыми учеными и аспирантами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Balko J.M., Giltane J.M., Wang K., et al. Molecular profiling of the residual disease of triple-negative breast cancers after neoadjuvant chemotherapy identifies actionable therapeutic targets// *Cancer discovery*. 2014. Vol. 4, № 2. P. 232-45.
2. Loibl S., Treue D., Budczies J., et al. Mutational diversity and therapy response in breast cancer-a sequencing analysis in the neoadjuvant GeparSepto trial// *Clinical Cancer Research*. 2019. Vol. 25, № 13. P. 3986-3995.
3. Bignotti E., Tassi R.A., Calza S., et al. Differential gene expression profiles between tumor biopsies and short-term primary cultures of ovarian serous carcinomas: identification of novel molecular biomarkers for early diagnosis and therapy// *Gynecologic oncology*. 2006. Vol. 103, № 2. P. 405-16.
4. Li M., Yang X., Zhang J., et al. Effects of EHD2 interference on migration of esophageal squamous cell carcinoma// *Medical Oncology*. 2013. Vol. 30, № 1. P. 396.
5. Yang X., Ren H., Yao L., et al. Role of EHD2 in migration and invasion of human breast cancer cells// *Tumor Biology*. 2015. Vol. 36, № 5. P. 3717-26.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ БОР-НЕЙТРОНОЗАХВАТНОЙ ТЕРАПИИ В ОТНОШЕНИИ КОЛОРЕКТАЛЬНОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЧЕЛОВЕКА: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НА МЫШИНОЙ МОДЕЛИ

А.И. Касатова^{1,2}, С.Ю. Таскаев^{1,2}

Институт ядерной физики СО РАН, г Новосибирск, Россия¹

Новосибирский государственный университет, г Новосибирск, Россия²

Аннотация

Бор-нейтронозахватная терапия (БНЗТ) может быть перспективным методом лечения колоректальной аденокарциномы. Выполненные ранее на ускорительном источнике нейтронов *in vitro* эксперименты показывают эффективность в отношении клеток линии SW-620. В данном исследовании было проведено облучение мышей с подкожным ксенографтом SW-620. Борфенилаланин, боркапнат и липосомы с боркапнатом использовали как препараты доставки бора и вводили внутривенно. Наблюдение после БНЗТ проводилось в течение 60 дней: измеряли линейные размеры опухолей, вычисляли объем и индекс прироста опухоли (ИПО). Удовлетворительное состояние животных сохранялось в течение всего периода наблюдения, летальности не наблюдалось. Наилучший результат был достигнут в группе БНЗТ с борфенилаланином: первые достоверные отличия в объемах опухолей по сравнению с контролем были отмечены на 9-е сут после БНЗТ, в конце наблюдения наименьший средний объем ксенографта был также отмечен в этой группе, ИПО в первом периоде наблюдения был равен $5,23 \pm 2,32$, во втором периоде – $21,46 \pm 13,87$. Объемы в группах БНЗТ с боркапнатом и с липосомальным боркапнатом также имели достоверные отличия от контрольной группы: ИПО за первый период составил $5,42 \pm 0,87$ и $8,91 \pm 7,87$; за второй период – $19,47 \pm 10,18$ и $31,00 \pm 22,69$ соответственно. В группе облучения без препаратов также наблюдали уменьшение объемов ксенографтов по сравнению с контрольной группой, что может быть обусловлено присутствием доз от быстрых нейтронов, гамма облучения и азотной дозы. Более выраженный эффект замедления роста опухолей в группах БНЗТ наблюдался в первый месяц после проведения БНЗТ, что может быть следствием недостаточного накопления изотопа ^{10}B в опухоли. Так как во всех группах БНЗТ прогрессирование роста ксенографтов SW-620 было достоверно меньше, чем в контрольной, БНЗТ можно считать потенциально применимой методикой лечения колоректального рака. Дополнительные исследования необходимы, чтобы создать оптимальную концентрацию ^{10}B в опухоли и, соответственно, увеличить получаемую ею дозу.

Ключевые слова. Бор-нейтронозахватная терапия, колоректальная аденокарцинома человека SW-620, ускорительный источник эпителиевых нейтронов, препараты доставки бора.

EFFICACY OF BORON NEUTRON CAPTURE THERAPY ON HUMAN COLORECTAL ADENOCARCINOMA: EXPERIMENTAL STUDY IN THE MOUSE MODEL

A.I. Kasatova^{1,2}, S.Yu. Taskaev^{1,2}

Budker Institute of Nuclear Physics, Novosibirsk, Russia¹

Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia²

Annotation

Boron neutron capture therapy (BNCT) may be a promising method for the treatment of colorectal adenocarcinoma. Previous *in vitro* experiments at accelerator based neutron source show effectiveness on SW-620 cells. In current study, mice with subcutaneous xenograph SW-620 were irradiated. Boron delivery drugs: boronphenylalanine, sodium borocaptate and liposomes with borocaptate were administered intravenously. Follow-up period after BNCT lasted for 60 days: linear sizes of tumors were measured, volume and tumor growth index were calculated using formulas. Satisfactory condition of the animals was maintained throughout the observation period; no lethality was observed. The best result was achieved in BNCT with boronphenylalanine group: the first significant differences in tumor volume compared to the control were noted on the 9th day after BNCT; at the end of the observation, the smallest average xenograft volume was also noted in this group; tumor growth index was 23 ± 2.32 , in the second period it was 21.46 ± 13.87 . The volumes in BNCT groups with borocaptate and liposomes with borocaptate also had significant differences from the control group, tumor growth index for the first period was 5.42 ± 0.87 and 8.91 ± 7.87 ; for the second period - 19.47 ± 10.18 and 31.00 ± 22.69 , respectively. In the irradiation group, a decrease in xenograft volumes was also noticed compared to the control group, which may be due to the presence of fast, thermal neutrons and gamma irradiation in the epithermal neutron beam. A more pronounced effect of tumor growth inhibition in all BNCT groups was observed during the first month after BNCT, which may be due to insufficient concentration of ^{10}B isotope in the tumor. Since the progression of SW-620 xenograft in all BNCT groups was significantly slower than in the control group, BNCT can be considered a potentially applicable method for the treatment of colorectal cancer. Additional studies will increase the concentration of ^{10}B in the tumor and the dose it receives.

Key words. Boron neutron capture therapy, human colorectal adenocarcinoma SW-620, accelerator based epithermal neutron source, boron delivery drugs.

Актуальность. Бор-нейтронозахватная терапия (БНЗТ) является перспективным методом лечения многих онкологических заболеваний. Имеется клинический опыт проведения терапии пациентам с глиомами высокой степени злокачественности [1], меланомой [2], раком головы и шеи [3], метастазами печени [4], раком легкого [5], злокачественной мезотелиомой [6] и прочими нозологиями. Она основана на взаимодействии накопленного в опухолевой ткани изотопа ^{10}B и теплового нейтрона, в результате чего образуются α -частица и ядро лития, длина пробега которых не превышает размера клетки, что позволяет избирательно уничтожать клетки злокачественных опухолей [7].

Колоректальный рак является одним из лидеров по распространенности и причинам смертности среди онкопатологий [8]. Перспективным методом лечения этой злокачественной опухоли может стать бор-нейтронозахватная терапия при условии селективного уничтожения опухолевых клеток и интактности здоровых тканей. Ранее уже была доказана эффективность БНЗТ *in vitro* на клеточной линии колоректальной аденокарциномы SW-620 на источнике нейтронов ускорительного типа. Доля выживших клеток по данным клоногенного анализа в группах, облученных с борфенилаланином и с липосомами, содержащими боркапнат, составила 14 %, с боркапнатом – 11 % [9].

Цель исследования – определить эффективность бор-нейтронозахватной терапии, используя различные препараты доставки бора на модели подкожного ксенографта колоректальной аденокарциномы человека.

Материал и методы

Исследование выполнено на площадке ЦКП «SPF-виварий» ИЦиГ СО РАН на иммунодефицитных самцах мышей SCID (*SHO-Prkdc^{scid}Hrtm*) SPF-статуса в возрасте 8–10 нед. Все эксперименты проводили в соответствии с международными правилами работы с животными (European Communities Council Directive 86/609 EEC).

В работе использовали клеточную культуру колоректальной аденокарциномы человека (SW-620), полученную из криобанка ЦКП «SPF-виварий» ИЦиГ СО РАН. Клетки культивировали на среде DMEM/F12 (1:1), содержащей 10 % фетальной бычьей сыворотки. Для получения солидных опухолей каждому животному подкожно вводили 100 мкл суспензии, содержащей 10 млн клеток в область правого бедра. Эксперимент начинали через 3 нед после инокуляции опухолевых клеток при достижении объемов ксенографтов 20–90 мм³. Линейные размеры образований измеряли штангенциркулем трехкратно, объем рассчитывали по формуле: (длина средняя × ширина средняя²) × 0,52. Для вычисления индекса прироста опухоли использовали формулу: объем ксенографта в определенный день исследования / объем ксенографта в день начала эксперимента [10].

Контрольной группе (n=6) не вводили препараты, содержащие бор, и не облучали; 2-ю группу (n=4) облучали без введения борсодержащих препаратов; 3-й группе (n=4) вводили борфенилаланин (BPA) в дозе 350 мг/кг за 2 ч до БНЗТ; 4-й группе (n=4) вводили боркапнат натрия (BSH) в дозе 100 мг/кг также за 2 ч до БНЗТ; 5-й группе (n=5) вводили PEG-липосомы, содержащие BSH, в дозе 100 мг/кг за 24 ч до БНЗТ. Все препараты вводили внутривенно в ретроорбитальный синус. Анестезию проводили внутривенным введением домитора 0,1 % и золетила 99,9 %. Облучение проводили на источнике нейтронов ускорительного типа в ИЯФ СО РАН [11] в течение 90 мин, расчётная доза в опухоли для БНЗТ с BPA составила $14,7 \pm 5,9$ Гр-экв, для БНЗТ с BSH – $6,6 \pm 0,5$ Гр-экв, для БНЗТ с липосомами – $8,8 \pm 3,5$ Гр-экв. Укладку мышей осуществляли по описанной ранее методике [12].

Наблюдение проводили в течение 60 дней после БНЗТ. Запланированную эвтаназию проводили передозировкой CO₂, сопровождаемой цервикальной дислокацией.

Количественные данные выражали как среднее ± стандартное отклонение. Статистическую обработку полученных данных проводили при помощи программы STATISTICA 8.0, используя непараметрический U критерий Манна–Уитни при уровне достоверности 95 %.

Результаты

Достоверные различия в замедлении роста опухолей у животных из группы БНЗТ с BPA относительно контрольной впервые отметили на 9-е сут (p=0,019), из группы БНЗТ с BSH – на 28-е сут (p=0,033), из группы БНЗТ с липосомами, содержащими BSH, – на 23-и сут (p= 0,028) (рис. 1). Достоверность различий между объемами ксенографтов в группах БНЗТ и контрольной группе сохранялась в течение всего периода наблюдения. Наиболее заметная динамика роста опухолей была выявлена в контрольной группе, и, по этическим соображениям, животных с объемом ксенографта более 4 мм³ вывели из эксперимента на 30-е сут после БНЗТ.

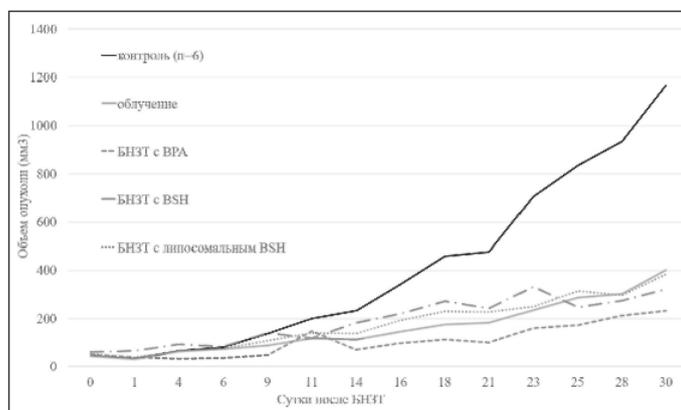


Рис. 1. Динамика роста подкожных опухолей SW-620 в разных группах в первый период наблюдения. Ось абсцисс – сутки после БНЗТ; ось ординат – объем опухоли (мм³)

Таким образом, период наблюдения разделили на 2: первые 30 сут, 31–60 сут после БНЗТ. Во втором периоде наблюдения замедление роста опухолей в опытных группах было менее выражено в сравнении с контролем (рис. 2).

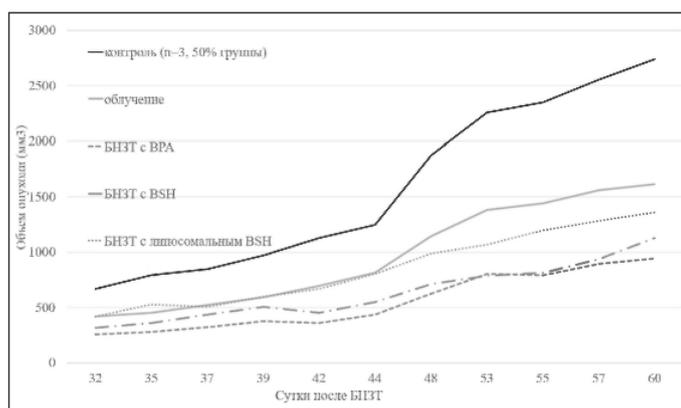


Рис. 2. Динамика роста подкожных опухолей SW-620 в разных группах во второй период наблюдения. Ось абсцисс – сутки после БНЗТ; ось ординат – объем опухоли (мм³)

ИПО увеличился с 5 до 20 в группах БНЗТ с борфенилаланином и боркаптатом за второй период наблюдения. Быстрее прогрессировали новообразования в группе БНЗТ с липосомальным BSH: ИПО составил $31 \pm 22,7$. В группе облучения индекс прироста опухоли также увеличился в 4 раза по сравнению с первым периодом наблюдения и был равным $44,39 \pm 24,9$. В группе облучения также наблюдалось уменьшение объемов опухолей по сравнению с контрольной группой. Это можно объяснить присутствием быстрых, тепловых нейтронов и гамма-облучения в пучке эпитепловых нейтронов. Благодаря укладке животных в специальный контейнер из литиевого полиэтилена общая доза, полученная телом мыши, была снижена. Состояние в течение всего периода наблюдения было удовлетворительным, двигательная активность и аппетит сохранялись, никаких серьезных осложнений отмечено не было.

Заключение

Прогрессирование объёмов ксенографтов SW-620 в группах БНЗТ достоверно отличалось от скорости роста опухолей в контрольной группе в течение всего периода наблюдения, что говорит о перспективности использования методики БНЗТ для лечения колоректального рака. Более выраженный эффект, однако, был отмечен в первый месяц после проведения БНЗТ. Причиной этого может быть недостаточная концентрация изотопа ^{10}B в опухоли, вследствие чего доза, полученная ксенографтом, могла быть недостаточной для полного контроля над опухолью. Требуется проведение дополнительных исследований по повышению дозировок борсодержащих препаратов и выбору пути их введения.

Работа поддержана грантом РФФ (проект № 19-72-30005) с использованием оборудования ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» ФИЦ ИЦиГ СО РАН, поддержанного Минобрнауки России (Уникальный идентификатор проекта RFMEFI62117X0015). Авторы выражают благодарность А.Н. Макарову, Д.А. Касатову, И.М. Щудло, Я.А. Колесникову, Е.О. Соколовой, А.М. Кошкарёву, Т.А. Быкову, С.С. Савинову за обеспечение генерации нейтронов, Т.В. Сычевой за проведение дозиметрических расчетов, В.В. Каныгину, Е.Л. Завьялову, И.А. Разумову, А.И. Кичигину за помощь в организации биологических исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Yamamoto T., Nakai K., Tsurubuchi T., Matsuda M., Shirakawa M., Zaboronok A., Endo K., Matsumura A. Boron neutron capture therapy for newly diagnosed glioblastoma: a pilot study in Tsukuba // Appl Radiat Isot. 2009. Vol. 67, N 7-8 P 25-6.
2. Hiratsuka J., Kamitani N., Tanaka R., Tokiya R., Yoden E., Sakurai Y., Suzuki M. Long-term outcome of cutaneous melanoma patients treated with boron neutron capture therapy (BNCT) // J Radiat Res. 2020. Vol. 61, N 6. P. 945-951.
3. Koivunoro H., Kankaanranta L., Seppala T., Haapaniemi A., Makitie A., Joensuu H. Boron neutron capture therapy for locally recurrent head and neck squamous cell carcinoma: An analysis of dose response and survival // Radiotherapy and Oncology. 2019. V. 137. P. 153-158.
4. Zonta A., Pinelli T., Prati U., Roveda L., Ferrari C., Clerici A.M., Zonta C., Mazzini G., Dionigi P., Altieri S., Bortolussi S., Bruschi P., Fossati F. Extra-corporeal liver BNCT for the treatment of diffuse metastases: what was learned and what is still to be learned // Applied Radiation and Isotopes. 2009. Vol. 67 N 7-8. P. 67-75.
5. Suzuki M. Reirradiation for locally recurrent lung cancer in the chest wall with boron neutron capture therapy (BNCT): A case report // In: Presented at the 15th international congress on neutron capture therapy. Tsukuba, Japan. 2012
6. Alberti D., Deagostino A., Toppino A., Protti N., Bortolussi S., Altieri S., et al. An innovative therapeutic approach for malignant mesothelioma treatment based on the use of Gd/boron multimodal probes for MRI guided BNCT // J Control Release. 2018. Vol. 280. P. 31-8.
7. Таскаев С.Ю. Бор-нейтронозахватная терапия злокачественных опухолей: основы, история и текущее состояние // Онкологический журнал: лучевая диагностика, лучевая терапия. 2019. Т. 2, № 2. С. 66-83.
8. ВОЗ [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
9. Каныгин В.В., Касатова А.И., Разумов И.А., Завьялов Е.Л., Кичигин А.И., Мухамадияров Р.А., Таскаев С.Ю. Оценка эффективности воздействия бор-нейтронозахватной терапии на различные опухолевые и нормальную клеточные культуры // Сибирский онкологический журнал. 2021. Т. 20, № 3. С. 56–66.
10. Соловьева О.И., Завьялов Е.Л., Теплякова Т.В., Лебедев Л.Р., Разумов И.А. Эффект экстракта мицелия *duddingtonia flagrans* на подкожные ксенографты клеток с33а карциномы шейки матки человека // Сибирский онкологический журнал. 2020. Т. 19, № 6. С.93-98.
11. Taskaev S., Berendeev E., Bikchurina M., Bykov T., Kasatov D., Kolesnikov I., Koshkarev A., Makarov A., Ostreinov G., Porosev V., Savinov S., Shchudlo I., Sokolova E., Sorokin I., Sycheva T., Verkhovod G. Neutron Source Based on Vacuum Insulated Tandem Accelerator and Lithium Target // Biology. 2021. Vol. 10, “350”.
12. Zayjalov E., Zaboronok A., Kanygin V., Kasatova A., Kichigin A., Mukhamadiyarov R., Razumov I., Sycheva T., Mathis B.J., Maezono S.E.B., Matsumura A., Taskaev S. Accelerator based boron neutron capture therapy for malignant glioma: a pilot neutron irradiation study using boron phenylalanine, sodium borocaptate and liposomal borocaptate with a heterotopic U87 glioblastoma model in SCID mice // Int. J. Radiat. Biol. 2020. Vol. 96, N 7. P. 868-878.