

厚生労働科学研究費補助金
医療機器開発推進研究事業

蛋白質セラピー法と中性子捕捉療法による
難治性がん治療法開発に関する研究

(H21-ナノ一般-004)

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 松井 秀樹

平成22(2010)年 5月

目 次

I. 総括研究報告	
蛋白質セラピー法と中性子捕捉療法による難治性がん治療法開発 に関する研究	----- 1
松井 秀樹	
II. 分担研究報告	
1. ボロン製剤の導入と効果測定に関する研究	----- 2
宮武 伸一	
2. 原子炉及び加速器による中性子源の開発に関する研究	----- 3
小野 公二	
3. 肺癌・悪性中皮腫モデル動物作製と治療に関する研究	----- 4
井口 東郎	
4. EGF受容体結合ペプチド合成に関する研究	----- 5
富澤 一仁	
5. 脳疾患動物モデル作製・培養細胞導入に関する研究	----- 6
伊達 勲	
6. ホウ素製剤の薬物動態測定に関する研究	----- 7
西木 禎一	
7. 抗体結合型リポソームの開発に関する研究	----- 8
妹尾 昌治	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 9

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）
総括研究報告書

蛋白質セラピー法と中性子捕捉療法による難治性がん治療法開発

研究代表者 松井 秀樹 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・教授

蛋白質セラピーを応用し、中性子捕捉療法に新規ホウ素製剤を開発することにより難治性がん治療法を検討する。新規ホウ素製剤の機能を脳腫瘍または肺癌・悪性中皮腫モデル動物で実証するとともに、それらの生体内薬物動態の測定や安全性試験を行い、臨床試験への橋渡しを行う。

研究分担者：

宮武伸一（大阪医大医学部・准教授）
小野公二（京都大原子炉実験所・教授）
井口東郎（四国がんセンター・臨床研究部長）
富澤一仁（熊本大院医学薬学研究所・教授）
伊達 勲（岡山大院医歯薬学総合研究科・教授）
西木禎一（岡山大院医歯薬学総合研究科・助教）
妹尾昌治（(株)ピークル・取締役）

A. 研究目的

これまでに我々が開発した蛋白質セラピー法を応用・高機能化し、ガン細胞に特異的に標的化され、しかも高効率に細胞内導入できる機能を有する中性子捕捉療法(BNCT)に用いるボロン（ホウ素）製剤を開発する。本研究全体では、開発したホウ素製剤の機能を脳腫瘍または肺癌・悪性中皮腫モデル動物で実証するとともに、それらの生体内薬物動態の測定や小動物を使った安全性試験を行い、臨床試験への橋渡しを行うことを目的とする。

B. 研究方法

ホウ素剤開発では、ホウ素のイオン集合体 BSH ($\text{Na}_2\text{B}_{12}\text{H}_{11}\text{SH}$)に膜透過性ペプチドを結合させて細胞導入効率を飛躍的に高めた BSH ペプチドと、ナノカプセル内部に BSH を封入し、抗体で標的化した抗体付加型ナノカプセル BSH (イムノリポソーム)の2種類を作製する。作製したホウ素製剤を培養腫瘍細胞や脳腫瘍モデル動物に投与し、中性子照射を行い効果を実証していく。

C. 研究結果

本年度、悪性脳腫瘍を特異的に標的化した抗体付加型ナノカプセル(イムノリポソーム)の作製に成功した。また、開発する新規

ホウ素製剤を評価する腫瘍モデル動物の作製を検討した。一方で、BNCTに用いる京都大学原子炉実験所で開発中のサイクロトロン中性子源の物理および生物特性を検証し、中性子照射の試験研究が開始できる準備が整った。

D. 考察

次年度は、このリポソームにホウ素化合物を封入し、BNCTへの応用を目指すとともに、引き続き、培養腫瘍細胞を導入して新規腫瘍動物モデルの検討を行う。

E. 結論

平成22年度は、開発した新規ホウ素製剤を培養腫瘍細胞で評価、さらに腫瘍モデル動物へ投与し、経時的な薬理学的体内ホウ素分布測定を行っていく。燃料交換・総点検のため長期間運転を停止していた原子炉が平成22年度6月より再稼働されることになり、再稼働後、BNCTの試験研究を進めていく予定である。

F. 健康危険情報

総括研究報告書参照

G. 研究発表

1. 論文発表

Feng et al., Delivery of sodium borocaptate to glioma cells using immunoliposome conjugated with anti-EGFR antibodies by ZZ-His. *Biomaterials* 30: 1746-1755, 2009.

H. 知的財産権の出願・登録状況

- 1) 「膜透過性NFAT阻害ペプチド」
松井秀樹 他、2010年2月9日取得
PCT・EPC特許 / 03 743 030.3
- 2) 「膜透過性NFAT阻害ペプチド」
松井秀樹 他、2010年2月9日取得
アメリカ特許 / 7,659,249

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）
分担研究報告書

1. ボロン製剤の導入と効果測定

分担研究者 宮武 伸一 大阪医科大学 脳神経外科学・准教授

新規ホウ素製剤を脳腫瘍モデル動物に投与し、京都大学原子炉実験所でサイクロトロン中性子源により照射を行い、新規ホウ素製剤の治療実験を行う。

分担研究者：

省略

A. 研究目的

検討し最適化した新規ホウ素製剤を至適量、脳腫瘍モデル動物に投与し、京都大学原子炉にて中性子線源を確保し照射を行い、その効果を調べる。我々は、長年にわたって動物を使った前臨床研究や患者に対する臨床研究を行ってきており、中性子源を利用した中性子捕捉療法を行ってきた。そのノウハウを利用し、今回の共同研究への参加を行う。

B. 研究方法

ヒト由来の悪性脳腫瘍細胞株をヌードマウスの脳内に移植し、脳腫瘍を形成させ、臨床像に近い悪性脳腫瘍モデルを作製する。この脳腫瘍モデルマウスに、開発した新規 BSH ペプチド、あるいは、ナノカプセル内部に BSH を封入し、抗体で標的化した抗体付加型ナノカプセル BSH（以下、イムノリポソーム）のいずれかを投与する。経時的な濃度測定を行い、照射までの至適時間や至適量を決定する。投与前に京都大学原子炉実験所でシミュレーションを行い、濃度にあった中性子照射時間を検討する。

サイクロトロン中性子源により照射を行い、腫瘍縮小効果、生存期間を調べる。

C. 研究結果

共同研究者らにより、腫瘍モデル動物の検討、および、新規ホウ素製剤の最適化が行なわれている。また、ヒトグリオーマ患者に対して中性子捕捉療法を開始しており中性子照射や治療のメソッドを本研究に応用するようそのノウハウを利用する。

D. 考察

燃料交換・総点検のため長期間運転を停止していた原子炉が平成22年度6月より再稼働されることになり、再稼働後、実験を進めていく予定である。

E. 結論

平成22年度にはサイクロトロン中性子による癌モデル動物を用いた新規ホウ素製剤の治療実験が開始出来る準備が整った。

F. 健康危険情報

総括研究報告書参照

G. 研究発表

1. 論文発表

S-I Miyatake et al., Survival benefit of boron neutron capture therapy for recurrent malignant gliomas. *J Neuro Oncol* 91: 199-206, 2009.

H. 知的財産権の出願・登録状況

現在のところ無し。

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）
分担研究報告書

2. 原子炉及び加速器による中性子源の開発

分担研究者 小野 公二 京都大学 原子炉実験所・教授

現在、京都大学原子炉実験所で開発中のサイクロトロン中性子源からの中性子強度、物理特性および生物特性を検索する。

分担研究者：

省略

A. 研究目的

ホウ素中性子捕捉療法は1~2回の照射によって治療が完了する。治療が多数回にわたる通常のX線治療とは異なり、途中での補正が適わないので、中性子出力・強度と言った物理線量は言うに及ばず、生物効果も勘案した線量を正確に推定することが殊の外重要になる。中性子の生物効果はそのエネルギースペクトルによって異なるので、中性子源毎にこれらを正確に把握すること無しに、安全で効果的な中性子照射やホウ素中性子捕捉療法は存在し得ない。本研究では、現在、京都大学原子炉実験所で開発中のサイクロトロン中性子源からの中性子強度、物理特性および生物特性を検索する。

B. 研究方法

(1)中性子ビームの物理学的特性の検証と分布のモデレーション

加速器中性子ビーム入射時の生体内の中性子線量分布を放射化法によるファントム実験により評価し、結果をシミュレーション計算データと比較することで、既に得ている加速器中性子ビームの物理学的特性の検証を行う。また、分布モデレーション手法に関するファントム実験を行い、その有効性を確認する。

(2)加速器中性子の生物効果の特性の実験動物およびヒト試料による検索

BNCT適応の拡大を視野に入れ、ヒト由来線維芽細胞、マウスの正常組織に対する中性子ビームの生物学的効果比（RBE）を検討する。また、放射線の影響を血液試料を用いて検討する。

C. 研究結果

(1)中性子ビームの物理学的特性の検証と分

布のモデレーション

熱中性子線量は、既に得ているデータ結果をほぼ支持する結果が得られたが、高速中性子線量では+10~15%、γ線線量では+20%程度の補正が必要であった。物理的吸収線量率分布の結果、高速中性子、中性子、γ線線量の3成分のうち、ファントム内中心軸上ではγ線の寄与が大きく、表面近傍では高速中性子の寄与が大きかった。

(2)加速器中性子の生物効果の特性の実験動物およびヒト試料による検索

ヒト癌細胞では、γ線と中性子のデータの比較から中性子のRBEは2.4となった。放射線口腔死のLD50はγ線が19.26Gyであるのに対し、加速器中性子では18.2Gyとなり、RBEは2.2であった。

D. 考察

開発中のサイクロトロン中性子ビームの調整が完了し、物理データや生物学データを取得した。その結果、中性子ビームのRBEは従来の原子炉中性子ビームよりもやや小さかった。原子炉中性子ではRBEが約3.0であったが、サイクロトロンでは生物反応の指標にも依るが平均すると2.5以下となる。これは、物理データが示唆する中性子のエネルギースペクトルが高い方へシフトしていることを勘案すると自然に理解可能なRBEである。

E. 結論

平成22年度にはサイクロトロン中性子による、ヒト癌患者を対象とした臨床試験研究が開始出来る準備が整った。

F. 健康危険情報；総括研究報告書参照

G. 研究発表

1. 論文発表

G. KASHINO, and K. ONO. A Simple and Rapid Method for Measurement of ¹⁰B-para-Boronophenylalanine in the Blood for Boron Neutron Capture Therapy Using Fluorescence Spectrophotometry. *Journal of Radiation Research*, 50:377-382, 2009.

H. 知的財産権の出願・登録状況

現在のところ無し。

3. 肺癌・悪性中皮腫モデル動物作製と治療

分担研究者 井口 東郎（独）国立病院機構四国がんセンター・内科学
（四国がんセンター臨床研究部） | 臨床研究部長

モデル動物作製の成功は、治療実験において大きな意味合いを持つ。肺ガンモデル、及び悪性中皮腫モデルや難治性悪性腫瘍疾患である悪性脳腫瘍や膵臓癌などの担癌動物を作製し、テーラーメイド医療につながるモデルを作製する。

分担研究者：

省略

A. 研究目的

膵臓癌（膵がん）の予後は画像診断や治療法が発達した今日でも未だ十分ではない。予後不良の原因として、早期診断が難しい、治療抵抗性や進展が早いといった膵がん自体の生物学的悪性度がある。これらの背景から、本研究は膵がんの予後改善につながる診断・治療体系の確立を目的とする。

B. 研究方法

膵がん早期発見を目指した検診システムの開発は緒についたばかりで費用対効果の点からも実際に機能するかは不明である。四国がんセンターはがん専門病院であるため、他院で膵がんを疑われた症例の診療が主体となり、このような症例に対する膵精査プロトコールとして造影 CT を組み合わせた PET/CT（以下、造影 PET/CT）を行っている。これだけで存在診断、質的診断、局所診断、転移診断が完結する“one-step shopping”の画像モダリティとして活用している。本研究では、この造影 PET/CT の膵がん診療における位置づけ、即ち(1)診断、(2)治療法決定（進展度評価）、(3)治療効果判定における有用性を検討する。

C. 研究結果

PET単体では膵腫瘍性病変の良悪性鑑別にSUV値が有用とする報告もあるが、今回の検討ではSUV値は悪性疾患で高値をとる傾向があるものの、基本的に良性疾患のSUV値とオーバーラップしており、SUV値か

らの良悪性鑑別は困難と考えられた。造影 PET/CT による良悪性鑑別では、造影 CT 部分での血管や周囲臓器への浸潤に加え PET での FDG 集積の有無をもう一つの判断材料として診断している。一方、造影 PET/CT による膵がんの進展度評価では、手術症例における組織学的進展度との比較より正診率を算出するとともに、造影 PET/CT で診断された StageIVb 膵がんの遠隔転移内訳を、現在、進展度評価の画像モダリティとして頻用されている腹部造影 CT のそれと比較した。その結果、T 因子及びN因子の正診率では造影 PET/CT と腹部造影 CT とで差はなかったが、M 因子の診断は造影 PET/CT が優っていた。

D. 考察

今回、膵腫瘍性病変の良悪性鑑別及び膵がんの進展度評価における造影 PET/CT の有用性について検討した。その結果、造影 PET/CT は有用な画像モダリティであることが示唆された。

E. 結論

今後、肺ガンや悪性中皮腫、難治性悪性腫瘍（悪性脳腫瘍、膵臓癌）等の担癌モデル動物が作製できれば、この造影 PET/CT は癌評価に有用であると考えられる。

F. 健康危険情報：総括研究報告書参照

G. 研究発表

1. 論文発表

Doi H. et al., Primitive Neuroectodermal Tumor of the Pancreas. *Intern Med* 48(5): 329-333, 2009.

H. 知的財産権の出願・登録状況 現在のところ無し。

4. EGF受容体結合ペプチド合成

分担研究者 富澤 一仁 熊本大学大学院生命科学研究部・教授

神経膠芽腫に高発現しているバリエントⅢ型EGF受容体の特異的に認識するモノクローナル抗体の作製を行った。作製した抗体がヒトバリエントⅢ型EGF受容体を認識することを確認した。さらにこの抗体を肝炎ウイルスの外殻から成る中空リポソームに付加したイムノリポソームの作製を行った。

分担研究者：

省略

A. 研究目的

神経膠芽腫を標的化するボロン製剤の開発。

B. 研究方法

ヒトバリエントⅢ型EGF受容体を昆虫細胞に発現させ、細胞膜成分を可溶化し、カラムクロマトグラフィー法にて組換え蛋白質を精製した。精製した蛋白質をマウスに注射し、4週後脾臓を摘出した。抗体産生細胞からハイブリドーマ細胞を作製しヒトバリエントⅢ型EGF受容体に対する抗体を産生しているハイブリドーマ細胞をクローン化した。このクローン細胞を大量培養し、抗体を精製した。精製した抗体にてU87ΔEGFR細胞ならびにU87WT細胞のSDS可溶画分を用いてウエスタンブローディングを行った。

従来我々が開発したバイオナノカプセルのL-蛋白質を組換えZZ-Hisに置換した。この作製した中空リポソームと作製したヒトバリエントⅢ型EGF受容体抗体を反応させ、抗体が付加したイムノリポソームの作製を行った。

（倫理面への配慮）

該当事項無し。

C. 研究結果

ヒトバリエントⅢ型EGF受容体に対するモノクローナル抗体は、同受容体を発現しているU87ΔEGFR細胞ではウエスタンブローディング法で同受容体を認識

したが、正常EGF受容体を発現しているU87WT細胞では、バンドが検出されなかった。ヒトバリエントⅢ型EGF受容体抗体を付加したイムノリポソームが得られた。

D. 考察

ヒトバリエントⅢ型EGF受容体の特異的に認識する抗体作製に成功した。この抗体は、腫瘍細胞にのみ強く発現しているバリエントⅢ型を認識するが、野生型EGF受容体は認識しないため、本抗体を付加したイムノリポソームは、脳腫瘍を標的化することが期待できる。

E. 結論

神経膠芽腫に高発現しているバリエントⅢ型EGF受容体の特異的に認識するモノクローナル抗体の作製と同抗体を付加したイムノリポソームを作製した。次年度は、このリポソームにBSHの封入を行う。

F. 健康危険情報

総括研究報告書参照

G. 研究発表

1. 論文発表

Feng et al., Delivery of sodium borocaptate to glioma cells using immunoliposome conjugated with anti-EGFR antibodies by ZZ-His. *Biomaterials* 30: 1746-1755, 2009.

H. 知的財産権の出願・登録状況

現在のところ無し。

5. 脳疾患動物モデル作製・培養細胞導入

分担研究者 伊達 勲 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 脳神経外科・教授

悪性脳腫瘍、特に神経膠芽腫と呼ばれる疾患は、実際は脳へ浸潤する形態を有する。しかしながら、その形態をモデル動物で再現することは困難である。今回我々は、ヒト悪性脳腫瘍細胞をマウスに移植し、新規の悪性脳腫瘍モデルを作製する。

分担研究者：

省略

A. 研究目的

悪性脳腫瘍、特に神経膠芽腫と呼ばれる疾患は、実際は脳へ浸潤する形態を有する。しかしながら、その形態をモデル動物で再現することは困難である。今回我々は、ヒト悪性脳腫瘍細胞をマウスに移植し、新規の悪性脳腫瘍モデルを作製、開発する。

B. 研究方法

ヒトバリエントⅢ型EGF受容体を発現させたU87ΔEGFR細胞ならびにU87 Parental cell lineを利用して、動物実験を行う。ヌードマウスは8週齢メスを使用する。これらのセルラインに対して、浸潤増殖因子を導入したセルラインを作製する。その後、ヌードマウス脳内へ移植しその経過をみる。脳腫瘍が形成されたのちに、脳を摘出し正常脳への浸潤の程度や脳損傷についての検討を行う。病理組織における検討を免疫染色やin situ hybridizationなどにより行い、臨床像に近い悪性脳腫瘍モデルを作製する。

C. 研究結果

ヒトEGF受容体に対するモノクローナル抗体は、同受容体を発現しているU87ΔEGFR細胞において、ウエスタンブローディング法や免疫染色で同受容体を認識した。

現在、U87ΔEGFR細胞株やU87 parental cell lineに新規の浸潤関連遺伝子を導入した、新しい細胞株を樹立し、細胞浸潤効果や細胞増殖効果についての検討を行っている。

D. 考察

ヒトバリエントⅢ型EGF受容体は、悪性脳腫瘍においてその発現が強くみられる遺伝子である。この遺伝子を発現させた細胞株は、全世界の研究室にて使用されている。しかしながら、EGF受容体はヒト細胞株を脳内で発現させる作用を増強させるものの、浸潤能を高める作用はない。今回我々は、ホウ素中性子捕捉療法を行うに当たって、臨床の脳腫瘍患者に近い疾患モデル動物を作製することを試みる。今後、このようなモデルを作製することにより、臨床での治療効果を予測した実験を行うことが可能となると考える。

E. 結論

U87細胞株を利用した新規脳腫瘍モデルの作製とその発展について検討を行う。

F. 健康危険情報

総括研究報告書参照

G. 研究発表

1. 論文発表

Yasuhara T, Date I. Gene therapy for Parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl*.73:301-309, 2009.

H. 知的財産権の出願・登録状況

現在のところ無し。

6. ホウ素製剤の薬物動態測定

分担研究者 西木 禎一 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 細胞生理学
・助教

新規ホウ素製剤を細胞レベル及び動物担癌モデルに手投与を行い、細胞内ボロン濃度の測定、ボロンの細胞内局在確認、及び、
In vitro 毒性試験を行う。

分担研究者：

省略

A. 研究目的

脳腫瘍以外の難治性ガンに対する新規ボロン剤を用いた中性子補足療法の開発を目指し、モデル動物を作製するとともに投与した新規ボロン剤の薬物動態を明らかにする。

B. 研究方法

難治性ガンのひとつ卵巣ガンでは ErbB2 が過剰発現している。分担者の妹尾らは、ErbB2 の特異的人工ペプチドリガント EC-1 を付加した EGFP が ErbB2 発現細胞に結合する細胞内に移行することを示した。これらから、EC-1 をタンパク質セラピー法に応用すれば、卵巣ガン細胞に新規ボロン剤を特異的に導入できると考えられる。本年度は、卵巣ガン由来株化細胞 SKOv3 をヌードマウスに接種し、異処性モデルマウスが作製できるか検討した。

細胞培養：SKOv3 培養細胞を用いた。

イムノプロットティング(IB)：細胞タンパク質を SDS 電気泳動法で分離後 PVDF 膜に転写し、抗 ErbB2 抗体を用い IB 法により解析。

EC-1 付加キメラタンパク質の精製：目的タンパク質発現ベクターで大腸菌を形質転換後、常法に従い発現を誘導し、カラムクロマトグラフィーを用いて精製。

マウスへの細胞接種と剖検：細胞 (5×10^6 個)をメス無胸腺ヌードマウス(BALB/c Slc-nu/nu, 7 週齢) に腹腔内接種し、30 日後に麻酔下で開腹し、腹腔内諸臓器を肉眼で観察。

C. 研究結果

SKOv3細胞をIB法で解析するとErbB2の高発現が確認された。EC-1を付加した約23kDa

の組換えキメラタンパク質にSKOv3細胞を暴露すると特異的に細胞内に取込まれた。

SKOv3細胞を接種後30日目のヌードマウスでは、大網および腸間膜に乳白色の米粒大の腫瘍が多数観察された。ErbB2の発現が認められないヒト胎児腎臓由来HEK293細胞を同数接種した対照群ではこのような病変は観察されなかった。SKOv3細胞接種マウスは接種60日後も外観上変化が認められず、一般健康状態も異常はなかった。

D. 考察

本研究で用いた EC-1 付加キメラタンパク質は、妹尾らの EC-1 付加 EGFP とは構造・機能が大きく異なる。このことから、EC-1 は付加した高分子を普遍的に ErbB2 発現細胞内に移行させる働きがあると考えられ、新規ボロン剤を卵巣ガン細胞に導入する際の有望な候補となりうる。

ヌードマウスの腹腔内に接種した SKOv3 細胞は、大網や腸間膜などの血管が豊富な漿膜に接着後増殖し、腫瘍を形成したと考えられる。今後腫瘍を病理組織学的に解析し、腫瘍であることを確認する必要がある。また、接種後 60 日以降も観察を続け、生存率を調べなければならない。

E. 結論

SKOv3 細胞をヌードマウスに腹腔内接種することにより異処性卵巣ガンモデルマウスを作製できる可能性が示された。EC-1 を用いたタンパク質セラピー法により ErbB2 を標的とし卵巣ガン細胞に特異的に高分子が導入できることが示された。

F. 健康危険情報

総括研究報告書参照。

G. 研究発表

1. 論文発表；なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況
現在のところ無し。

7. 抗体結合型リポソームの開発

分担研究者 妹尾 昌治 株式会社ビークル・取締役

ガンに特異的に親和性を有する特徴を持つDDSベクターは、腫瘍の細胞表面の特徴を詳細に知る必要が有る。本研究では、腫瘍特異性を持つ抗体を結合させた、抗体結合型リポソームを作成し、その内部にホウ素製剤を封入した新規ホウ素製剤の開発を目指す。

分担研究者：

省略

A. 研究目的

ガンにはその腫瘍組織が成長するための栄養分を必要とするため血管を新生するという特徴がある。腫瘍における血管は通常の臓器に比較すると脆弱であり血管内皮細胞の間隙が比較的広く透過性が高いと考えられている。また、腫瘍内はリンパ管が発達していないため、血管から漏出した物質が回収されず腫瘍に蓄積する傾向がある。これを EPR (Enhanced Permeability and Retention) 効果と呼んで DDS では重要な基本的概念となっている。リポソーム製剤ではこの効果を利用していることが多いが、本研究ではさらにこの様な腫瘍部位に特徴的に発現している分子標的として、E-セ렉チンを取り上げてこれを標的とするシステムを構築した。E-セ렉チンは通常血管内皮細胞が炎症性サイトカインにより刺激されて発現する細胞表面抗原である。E-セ렉チンが腫瘍内血管においても発現していることを明らかにし、SLX で表面を修飾したリポソームを用いて腫瘍標的を試みる。

B. 研究方法

リポソームの作製のためにジパルミトイルフォスファチジルコリン(DPPC)、コレ

ステロール(Chol)、ガングリオシド、ジセチルフォスフェート(DCP)およびジパルミトイルフォスファチジルエタノールアミン(DPPE)を 分子比35:40:5:15:5 (総脂質量 456 mg) を混ぜ、コール酸(469 mg)を加えてミセルを形成し易くした。これを30 mLのメタノール/クロロホルム(1:1, v/v)に溶かした。溶媒をロータリーエバポレーターにより37°Cで気化後、フィルムを形成させ、真空下で乾燥させた。

内包物としては、以前より使用しているCDDPを使った。腫瘍細胞及び担癌モデルにおける検討を行い、腫瘍組織内にて特異的な薬物の蓄積を認めた。

D. 考察

今回は、水溶性薬物の代表的な化合物であるCDDPを実験に使用し良好な精製をおさめた。次回はホウ素製剤を利用してBNCTの発展を目指す。

E. 結論

細胞表面抗原を利用した腫瘍特異的ターゲットングリポソームの作製に成功した。BSHを運ぶキャリアをして使用する。

F. 健康危険情報

総括研究報告書参照

G. 研究発表

1. 論文発表

Otani T, et al., Production of biologically active IgG hinge-tag soluble epidermal growth factor receptors (ErbB). *Biotechnol Lett* 32: 361-366, 2010.

H. 知的財産権の出願・登録状況

現在のところ無し。

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
宮武 伸一	F-BPA-PET による脳腫瘍の病態解析と細胞選択的粒子線治療への応用	玉木長良	PET /CT Book	デジタルメディスン	東京	2009	95-98
宮武伸一 他	“Pseudoprogression”と「硼素中性子捕捉療法」	松谷雅生、黒岩俊彦	脳 21	金芳堂	京都	2009	71-74
宮武伸一 他	グリオブラトーマに対する治療戦略 (BNCT, PET による治療効果の検討および Tailor-made 化学療法を用いて)	河本圭司	脳腫瘍の外科	メディカ出版	大阪	2009	38-44
井口 東郎	3.切除不能例に対する治療 B.インフォームド・コンセントのポイント	奥坂拓志、羽鳥隆	膀胱癌診療ポケットガイド	医学書院	東京	2010	154-164

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Feng B., <u>Tomizawa K.</u> , <u>Miyatake S.</u> , <u>Matsui H.</u> , et al	Delivery of sodium borocaptate to glioma cells using immunoliposome conjugated with anti-EGFR antibodies by ZZ-His.	Biomaterials	30	1746-1755	2009
Feng B., <u>Tomizawa K.</u> , <u>Miyatake S.</u> , <u>Matsui H.</u> , et al	Development of a bifunctional immunoliposome system for combined drug delivery and imaging in vivo.	Biomaterials	31	4139-4145	2010
Nishiyama Y., <u>Tomizawa K.</u> , <u>Matsui H.</u> , et al	Effects of purified newly developed botulinum neurotoxin type A in rat prostate.	Urology	74	436-439	2009
Takayama K., <u>Tomizawa K.</u> , <u>Matsui H.</u> , et al	Enhanced intracellular delivery using arginine-rich peptides by the addition of penetration accelerating sequences (Pas).	J Control Release	138(2)	128-133	2009
Araki D., <u>Tomizawa K.</u> , <u>Matsui H.</u> , et al	Cell-penetrating D-isomer peptides of p53 C-terminus: Long-term inhibitory effect on the growth of bladder cancer.	Urology	75(4)	813-819	2010
Wu Y., <u>Tomizawa K.</u> , <u>Matsui H.</u> , et al	Amphiphysin I and regulation of synaptic vesicle endocytosis.	Acta Med. Okayama	63(6)	305-323	2010

Kawabata S., <u>Miyatake S.</u> et al	Boron neutron capture therapy for newly diagnosed glioblastoma.	J Rad Res	50	51-60	2009
<u>Miyatake S.</u> et al	Survival benefit of boron neutron capture therapy for recurrent malignant gliomas.	J Neuro-Oncol	91	199-206	2009
<u>Miyatake S.</u> et al	Pseudoprogression in boron neutron capture therapy for malignant gliomas and meningiomas.	Neuro-Onocology	11	430-436	2009
Kimura Y., <u>Miyatake S.</u> et al	Boron Neutron Capture Therapy for Papillary Cystadenocarcinoma in the Upper Lip: A Case Report.	International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery.	38	293-295	2009
川端信司、宮武 伸一 他	ホウ素中性子捕捉療法による悪性神経腫瘍の治療成績	定位放射線治療	13	23-30	2009
Aoki T, <u>Miyatake S.</u> et al	Phase II study of ifosfamide, carboplatin, and etoposide in patients with a first recurrence of glioblastoma multiforme	J Neurosurg	112	50-56	2010
<u>Miyatake S.</u> et al	Intraoperative photo-dynamic diagnosis of brain tumors.	Brain Nerve	61	835-842	2009
Kawabata S., <u>Miyatake S.</u> et al	Survival benefit from boron neutron capture therapy for the newly diagnosed glioblastoma patients.	Appl Radiat Isot.	67	S15-18	2009
<u>Miyatake S.</u> et al	Survival benefit of boron neutron capture therapy for recurrent malignant gliomas.	Appl Radiat Isot.	67	S22-24	2009
Kimura Y., <u>Miyatake S.</u> et al	Boron neutron capture therapy for recurrent oral cancer and metastasis of cervical lymph node.	Appl Radiat Isot.	67	S47-49	2009
Ito Y. , <u>Miyatake S.</u> et al ⁶	Disposition of TF-PEG-Liposome-BSH in tumor-bearing mice.	Appl Radiat Isot.	67	S109-110	2009
Kashino G., <u>Ono K.</u> et al	A Simple and Rapid Method for Measurement of ¹⁰ B-para-Boronophenylalanine in the Blood for Boron Neutron Capture Therapy Using Fluorescence Spectrophotometry.	Journal of Radiation Research	50	377-382	2009
Suzuki M., <u>Ono K.</u> et al	Impact of accelerator-based boron neutron capture therapy (AB-BNCT) on the treatment of multiple liver tumors and malignant pleural mesothelioma.	Radiotherapy and Oncology	92	89-95	2009
Tanaka H., <u>Ono K.</u> et al	Characteristics comparison between a cyclotron-based neutron source and KUR-HWNIF for boron neutron capture therapy.	Nuclear Instruments and Methods in Physics Research	B267	1970-1977	2009

Noda M., <u>Iguchi H.</u> et al	The role of immune cells in brain metastasis of lung cancer cells and neuron-tumor cell interaction	Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova	95	1386-1396	2009
Maruta S., <u>Iguchi H.</u> et al	A role for leukemia inhibitory factor in melanoma-induced bone metastasis	Clin Exp Metastasis	26	133-141	2009
Doi H., <u>Iguchi H.</u> et al	Primitive Neuroectodermal Tumor of the Pancreas	Intern Med	48	329-333	2009
仁科智裕、井口東郎	【ジェネラリストのためのがん診療エッセンス】知っておきたい7大がん 胃がん	JIM Journal of Integrated Medicine	19	868-871	2009
仁科智裕、井口東郎	2章 分子標的薬の副作用マネジメント 9 消化器症状	消化器がん化学療法看護完全マスターBOOK (消化器外科NURSING)	臨時増刊	224-225	2010
仁科智裕、井口東郎	2章 分子標的薬の副作用マネジメント 10 消化器穿孔	消化器がん化学療法看護完全マスターBOOK (消化器外科NURSING)	臨時増刊	234-238	2010
井口東郎	診断と治療 (8)電解質異常	コンセンサス癌治療	9	36-39	2010
Kondo A., <u>Date I.</u> et al	Erythropoietin exerts anti-epileptic effects with the suppression of aberrant new cell formation in the dentate gyrus and upregulation of neuropeptide Y in seizure model of rats.	Brain Res.	1296	127-136	2009
Jing M., <u>Date I.</u>	The combined therapy of intrahippocampal transplantation of adult neural stem cells and intraventricular erythropoietin-infusion ameliorates spontaneous recurrent seizures by suppression of abnormal mossy fiber sprouting.	Brain Res	1295	203-217	2009
<u>Date I.</u> , et al T.	Neurological disorders and neural regeneration, with special reference to Parkinson's disease and cerebral ischemia.	J Artif Organs	12	11月16日	2009
Yasuhara T., <u>Date I.</u> et al	Gene therapy for Parkinson's disease.	J Neural Transm Suppl.	73	301-309	2009
Kadota T., <u>Date I.</u> et al	Continuous intraventricular infusion of erythropoietin exerts neuroprotective/rescue effects upon Parkinson's disease model of rats with enhanced neurogenesis.	Brain Res.	1254	120-127	2009
Hirai M., <u>Seno M.</u> et al	E-selectin targeting to visualize tumors in vivo.	Contrast Media Mol Imaging	WEB 公開中		2010

Hirai M., <u>Seno M.</u> et al	Novel and simple loading procedure of cisplatin into liposomes and targeting tumor endothelial cells.	Int J Pharm	WEB 公開中		2010
Otani T., <u>Seno M.</u> et al	Production of biologically active IgG hinge-tag soluble epidermal growth factor receptors (ErbB).	Biotechnol Lett.	32	361-366	2010
Kodera T., <u>Seno M.</u> et al	Administration of Conophylline and Betacellulin-delta 4 Increases the beta-cell Mass in Neonatal Streptozotocin-treated Rats	Endocrine Journal	56	799-806	209
Fukuda F., <u>Seno M.</u> et al	Human eosinophil cationic protein enhances stress fiber formation in Balb/c 3T3 fibroblasts and differentiation of rat neonatal cardiomyocytes	Growth Factors	27	228-236	2009

