

201011004A

厚生労働科学研究費補助金

医療機器開発推進研究事業

：低侵襲・非侵襲医療機器

（ナノテクノロジー）研究

ホウ素ナノデバイス型中性子捕捉治療

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 中村 浩之

平成23（2011）年3月

厚生労働科学研究費補助金

医療機器開発推進研究事業

: 低侵襲・非侵襲医療機器

(ナノテクノロジー) 研究

ホウ素ナノデバイス型中性子捕捉治療

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 中村 浩之

平成23(2011)年3月

目 次

I.	総括研究報告	
	ホウ素ナノデバイス型中性子捕捉治療に関する研究 -----	1
	中村 浩之	
II.	分担研究報告	
1.	ホウ素ナノデバイスの脳腫瘍適応に関する研究 -----	10
	松村 明	
2.	ホウ素ナノデバイスの中皮腫適応に関する研究 -----	15
	李 千萬	
3.	ホウ素ナノデバイスの膀胱がん適応に関する研究 -----	19
	鈴木 実	
4.	トランスフェリン型ホウ素ナノデバイスの作成に関する研究 -----	23
	丸山 一雄	
5.	ホウ素ナノデバイスの肝腫瘍適応に関する研究 -----	26
	柳衛 宏宣	
II.	研究成果の刊行に関する一覧表 -----	31
IV.	研究成果の刊行物・別刷 -----	34

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進事業）
総括研究報告書

ホウ素ナノデバイス型中性子捕捉治療に関する研究

研究代表者 中村 浩之 学習院大学理学部・教授

研究要旨

中性子捕捉療法（BNCT）は、低エネルギーである熱・熱外中性子がホウ素との核反応により生ずる強力な粒子線を用いるものであり、低毒性のホウ素化合物を用いるため化学療法のような重篤な副作用はなく、また放射線療法のような照射場内の正常組織へのダメージもきわめて低い治療法で、治療後の患者への負担が極めて小さい特徴をもつ。現在、世界的にBNCT用加速器の開発が行われているが、中でも京都大学と住友重工（株）で共同開発している加速器からは、すでに原子炉と同等の中性子線量が得られており、近い将来病院併設型加速器BNCTの実現により本治療法は一般的放射線療法の1つとなると考える。本研究では、BNCT適応拡大を指向し、各腫瘍に最適なホウ素ナノデバイスの開発研究を進めてきた。本年度は、高集積性ホウ素ナノデバイスの開発に成功し、このコア技術を基に22年度より稼動した京都大学原子炉実験所において中性子照射による大腸がん移植マウスを用いたBNCT抗腫瘍効果、肝臓がんBNCTを目的として、肝腫瘍モデルウサギを用いた肝動注によるBNCT抗腫瘍効果および中皮腫BNCTを目的として中皮腫マウスモデルを用いたBNCT抗腫瘍効果を検討した。

研究分担者

松村 明 筑波大学大学院人間総合科学研究科・
教授、筑波大学付属病院副病院長
李 千萬 大阪大学大学院医学系研究科・准教授
鈴木 実 京都大学原子炉実験所・特定准教授
丸山一雄 帝京大学薬学部・教授
柳衛宏宣 東京大学大学院工学系研究科・
特任准教授

A. 研究目的

BNCTは、低エネルギーである熱・熱外中性子がホウ素との核反応により生ずる強力な粒子線を用いるものであり、がん部位へホウ素デリバリーと中性子線照射のダブルターゲティングが可能である。使用するホウ素化合物は低毒性であることから化学療法

のような重篤な副作用はなく、また放射線療法のような照射場内の正常組織へのダメージもきわめて低い治療法で治療後の患者への負担が極めて小さい特徴をもつ。高い治療効果を得るためには、腫瘍内ホウ素濃度が30 ppm以上、腫瘍/血液内ホウ素濃度比が5以上を満たす薬剤の開発が目標とされている。本研究ではアクティブターゲティング型多機能性ホウ素ナノデバイスを開発し、BNCT適用拡大を検討する。具体的には、ホウ素ナノデバイスにターゲティング機能リガンドを導入し、膀胱がん、脳腫瘍、肝臓がん、中皮腫を対象とし、これらの動物モデルで腫瘍内ホウ素濃度と治療効果に関して調べ、上記に示した目標値をクリアする適正なホウ素ナノデバイスを検討するとともに、BNCTへの実用化を目指す。

最終年度となる本年度は、実用化を踏まえて、ホウ素ナノデバイスの総投与用量をできるだけ

減らすための超効率的ホウ素デリバリーを達成するために、特にナノデバイスへのホウ素の高濃度集積化を検討した。具体的には、次に示す4つの課題に対して研究を進めた。(1)ナノデバイスのホウ素高集積化の検討、(2)調整した高集積化ホウ素ナノデバイスのがん移植マウスへの投与と各臓器内分布の検証、(3)高集積化ホウ素ナノデバイスのがん移植マウスに対する中性子照射とBNCT効果の検証、(4)標的がんへのアクティブターゲティングを可能とするリガンドの高集積化ホウ素ナノデバイスへの導入法の開発とBNCT抗腫瘍効果の検証。

B. 研究方法

1. ナノデバイスのホウ素高集積化の検討

生体リン脂質の構造に着目し、その水溶性部位にホウ素イオンクラスターを導入することでホウ素脂質の開発を行ってきた。21年度において、脂質の親水性部位に水溶性ホウ素クラスターを導入し、蛍光発光団を脂質二本鎖の一方に導入した蛍光標識化したホウ素脂質 **FL-SBL** の合成に成功し、そのナノデバイス化に成功している。この蛍光ホウ素脂質 **FL-SBL** と調製したリポソームを用いて、腫瘍組織内での分布について調べた。その結果、蛍光標識リポソーム低酸素状態にある部位にまで到達していないことが分かってきた。腫瘍組織においては、増殖が盛んなため、常に栄養・酸素を必要としている。そのような条件下では、腫瘍血管から離れた部位は、低酸素状態となっており、そのような条件で活性化される HIF (低酸素誘導因子) -1 は、新生血管などを誘導し、がんの悪性化や転移に深くかかわっている。したがって、低酸素状態にあるがん細胞を如何にして効率よく殺傷するかががん治療には重要となっている。このことは、ホウ素脂質ナノデバイスにさらにホウ素薬剤を内封させることで、間質などを経路してホウ素薬剤を低酸素領域まで送達させる必要性があることを示唆するものであった。

そこで、22年度は、ホウ素内封薬剤を種々検討す

ることとした。高集積化評価法には、ホウ素ナノデバイスの超遠心により分離・精製後、ホウ素濃度とリン濃度を測定することにより、リン脂質に対するホウ素分子の集積性についてホウ素/リン濃度比により算出し、比較することとした。

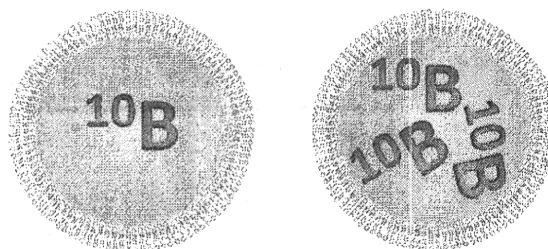


図1 高集積化ホウ素ナノデバイスのイメージ

左は従来のホウ素リポソーム、右は高集積化したホウ素ナノデバイス

高集積化ホウ素ナノデバイスの調製は、逆相蒸発法 (REV 法)で行った。さまざまな試薬原料を、混合比を変えながら各試薬を秤量し、ナスフラスコに入れた。そこに、クロロホルム：ジイソプロピルエーテル (1:1, 体積比) を加えて脂質を溶解させた後に、二つの溶媒と同じ体積のミリ Q 水を、溶液が二層になるように静かに入れた。次に、ULTRA SONIC HOMOGENIZER UH-50 を用いて、超音波処理することで溶液をエマルジョンにした。その後、約 50°C の水浴上で、ロータリーエバポレーターを用いて有機溶媒を除去することで、エマルジョンを転相させ、リポソーム懸濁液とした。調製したリポソームは、エクストリューダーを用いてフィルターを加圧通過させ粒子径を約 100 nm にした。この際、フィルとレーションの操作は 10 回行った。その後超遠心分離機によって 240,000 g 条件下精製し、高集積化ホウ素ナノデバイスをペレット上で得た。このペレット状の高集積化ホウ素ナノデバイスを生理食塩水にて溶液化し、その粒子径を動的光散乱法 (DLS) により測定した。

また、ホウ素/リン濃度比は誘導プラズマ発光分析法 (ICP) を用いてそれぞれの元素の濃度を測定し、

算出した。

得られた高集積化ホウ素ナノデバイスの生理食塩水中における安定性に関しては、4℃保存で一定の時間ごとにその溶液を超遠心分離機によって240,000 g 条件下上澄を取り除き、再度新鮮な生理食塩水に溶かした後、ホウ素およびリン濃度をICP法により測定することでホウ素/リン濃度比を求めた。また、粒子径をDLS法によって測定し、高集積化ホウ素ナノデバイスの粒子径が変化していないかどうか観察した。この操作を14日間行った。

(2) 調整した高集積化ホウ素ナノデバイスのがん移植マウスへの投与と各臓器内分布の検証

Balb/c マウス (female, 5 weeks old) の左腿部に、Colon 26 (5×10^7 cells/ml PBS solution) を50 μ L 植え付け、1週間育てたマウスを使用した。サンプルを尾静脈投与後、任意の時間毎にAvertinを用いて十分に麻酔をかけた後、血液、臓、肝臓、肺、腎臓、脾臓、筋肉、脳、腫瘍の組織を取り出し、生理食塩水(0.9%, NaCl)で洗った(血液以外)。水分を十分に拭き取った後、各臓器の重量を測定した。各臓器の灰化作業では、まず超微量分析用硝酸を1 mL ずつ各臓器の入ったチューブに入れて専用のブロックヒーターを用いて90℃で2時間温めながら溶解した。溶解した後、血液、肝臓、脾臓のサンプルではMilli Q waterで6 mLにメスアップし、心臓、肺、腎臓、筋肉、脳では4 mL、腫瘍は3 mLにメスアップした。その後、各サンプルを500 nmの疎水フィルターに通した。この溶液のホウ素濃度をICPにより測定した。測定の際には特に希釈はせずそのままの状態での測定した。

(3) 高集積化ホウ素ナノデバイスのがん移植マウスに対する中性子照射とBNCT効果の検証

Balb/c マウス (female, 5 weeks old) の左腿部に、Colon 26 (5×10^7 cells/ml PBS solution) を50 μ L

植え付け、1週間育てたマウスを使用した。腫瘍の大きさが直径およそ5 mmになったマウスを学習院大学動物実験施設においてホウ素ナノデバイスを尾静脈投与した後、空輸にて京都大学原子炉実験所へ搬入し、投与36時間後、麻酔をかけ中性子照射を行った。中性子照射は、京都大学原子炉実験所の原子炉KURにて1 MW 運転において行った。照射時間は50分、中性子照射線量 $1.5\text{--}1.8 \times 10^{12}$ n/cm²とした。このとき、 γ 線量は $4.4\text{--}5.4 \times 10^{-1}$ Gyであった。左腿部の腫瘍部位以外は、遮蔽した。

中性子照射後、京都大学原子炉実験所の動物実験施設にて観察し、腫瘍の大きさおよび体重を約3週間観察した。

(4) 標的がんへのアクティブターゲティングを可能とするリガンドの高集積化ホウ素ナノデバイスへの導入法の開発とBNCT抗腫瘍効果の検証

高集積化ホウ素ナノデバイスに対し、ヒアルロン酸(1, 100kDa)を我々が開発した手法により導入した。得られたヒアルロン酸修飾ホウ素ナノデバイスに対し、ゼータ電位を測定した後、胸膜中皮腫モデルマウスへ胸腔内注射により投与し、中性子照射を行った。詳細は研究分担者・李千萬の報告書を参照。

また、多くのがん細胞表面でその受容体が高発現しているトランスフェリンをポストインサージョン法にて高集積化ホウ素ナノデバイスへ導入した。スクシンイミドでポリエチレングリコール鎖の末端が活性化されているジステアリルフォスファチジルエタノールアミン(DSPE)に対し、トランスフェリンを作用させた後、(1)で製造した高集積化ホウ素ナノデバイスを作用させ導入した。得られた高集積化ホウ素ナノデバイスに対し、鉄イオンを作用させトランスフェリンを活性化させた後、超遠心分離機によって240,000 g 条件下精製し、高集積化ホウ素ナノデバイスをペレット上で得た。このペレット状の高集積化ホウ素ナノデバイスを生理食塩水にて溶液化し、その粒子径を動的光散乱法(DLS)により測定し

た。得られたトランスフェリン修飾高集積化ホウ素ナノデバイスをウサギ VX-2 肝腫瘍モデルに対して全身麻酔下に肝動注し、投与 24 時間後、48 時間 72 時間、120 時間後における肝腫瘍内・正常肝組織内・血中ボロン濃度および各種臓器内ボロン濃度を ICP-Massspectroscopy を用いて測定した。ウサギ肉腫腫瘍 VX-2 を In vitro において培養した。VX-2 細胞をまずウサギ足部に注射後、腫瘍を形成した。その腫瘍を、麻酔下にウサギ肝臓に接種し、2 週間経過観察し、移植肝腫瘍モデルを形成した。このように調整したトランスフェリン修飾高集積化ホウ素ナノデバイスを肝動注し、投与 3 日後に、京都大学原子炉において熱中性子 $2 \times 10^{12} \text{ n/cm}^2$ を照射し、腫瘍増殖抑制効果を検討した。詳細は、研究分担者・柳衛宏宣の報告書を参照。

C. 研究結果

1. ナノデバイスのホウ素高集積化の検討

内封ホウ素薬剤の合成は文献既知法に従って合成を行った。高集積化ホウ素ナノデバイスの調製においては、逆相蒸発法 (REV 法) で行い、添加剤を種々検討した。添加剤なしでは、ホウ素薬剤の内封率は、ホウ素/リン比で 1.0 であるのに対し、本研究で見出した添加剤では、ホウ素/リン比が 2.3 以上へと飛躍的に向上させることに成功した。さらに、最終的なホウ素ナノデバイス溶液のホウ素濃度は、10,000ppm 以上を達成した。得られた高集積化ホウ素ナノデバイスの生理食塩水中における安定性に関しては、4℃保存で調整 1 日後、3 日後、7 日後、14 日後にそれぞれその溶液を超遠心分離機によって上澄を取り除き、再度新鮮な生理食塩水に溶かした後、ホウ素およびリン濃度を ICP 法により測定することでホウ素/リン濃度比を求めたが、ほとんど低下することはなく、安定であることが分かった。

(2) 調整した高集積化ホウ素ナノデバイスのがん移植マウスへの投与と各臓器内分布の検証

マウス大腸がん細胞を左腿部に移植したマウスに対し、このホウ素ナノデバイス (ホウ素濃度 10,000ppm) を尾静脈注射により 200 μL 投与したところ、この濃度 (ホウ素濃度 100mg/kg) でも毒性は全く見られず、腫瘍内ホウ素濃度も従来の 8~10 倍と前例のない高濃度集積性を達成した。

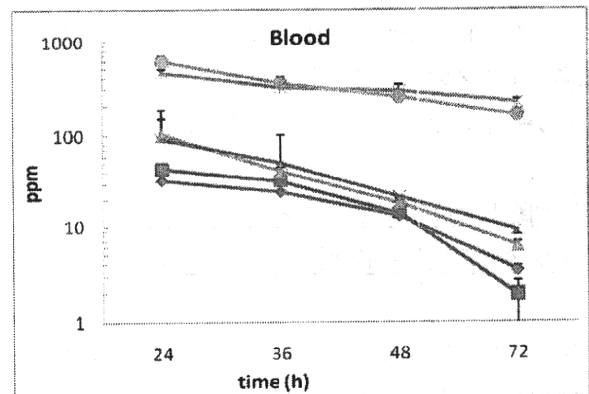
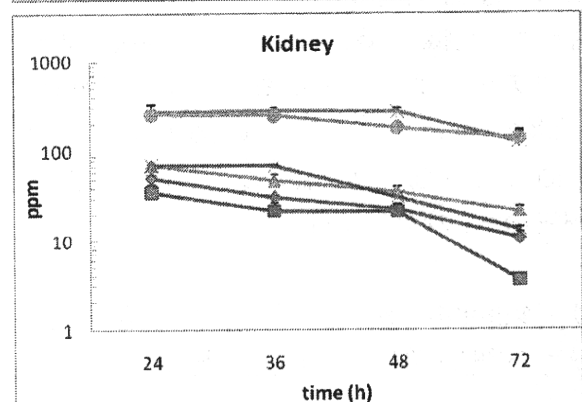
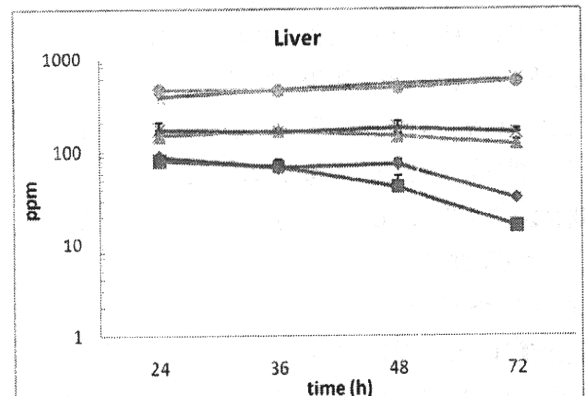


図 2. 血中ホウ素濃度の時間変化



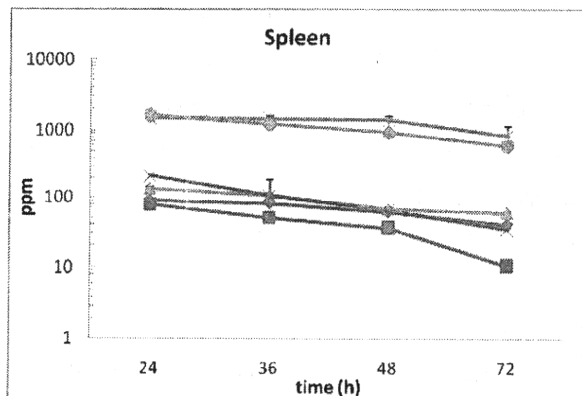


図3. 各臓器内ホウ素濃度の時間変化

その一方で、血中滞留性も高く、24時間後では、~600ppm、72時間後でもおよそ200ppmであった。高い蓄積を示したのは、肝臓、腎臓、脾臓で72時間後においてもそれぞれ400、200、900ppmであった(図2)。

(3) 高集積化ホウ素ナノデバイスのがん移植マウスに対する中性子照射と BNCT 効果の検証

マウス大腸がん細胞を左腿部に移植したマウスに対し、このホウ素ナノデバイス(ホウ素濃度10,000ppm)を尾静脈注射により200μL投与し、36時間後中性子照射を行った。左腿部の腫瘍部位以外は、遮蔽し、京都大学原子炉実験所の原子炉におけるレーン照射設備により行った。照射時間は50分、中性子照射線量 $1.5-1.8 \times 10^{12}$ n/cm² とした。このとき、γ線量は $4.4-5.4 \times 10^{-1}$ Gy であった。

照射後の時間経過と腫瘍体積の変化を図4のようにグラフに示した。照射のみを行った群およびホウ素ナノデバイス(ホウ素濃度で100mg/kg)のみを投与した腫瘍移植マウス群では、腫瘍の増殖に対し阻害効果は全くみられなかったのに対し、ホウ素ナノデバイスをホウ素濃度で100mg/kg投与し中性子照射を行った腫瘍移植マウス群では、照射8日後には腫瘍の委縮がみられ、約2週間後には全てのマウスにおいて腫瘍が完全に消失した。

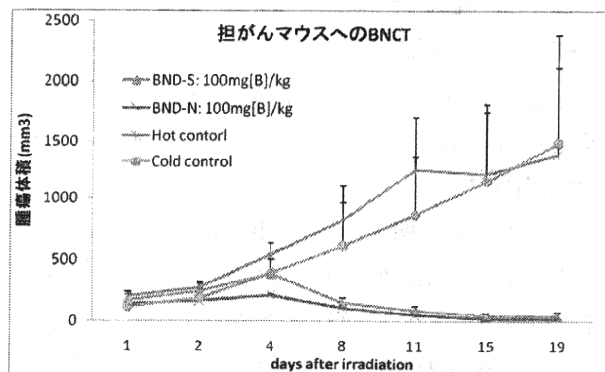


図4. 中性子照射後のマウス腫瘍の大きさの変化
2種のホウ素ナノデバイス(BND-S, BND-N)において腫瘍の完全な消失が認められた。

(4) 標的がんへのアクティブターゲティングを可能とするリガンドの高集積化ホウ素ナノデバイスへの導入法の開発と BNCT 抗腫瘍効果の検証

ヒアルロン酸修飾ホウ素ナノデバイスに対し、ゼータ電位を測定した結果、ヒアルロン酸修飾前に比べて正電荷の方に大きくシフトしていることが分かった。ヒアルロン酸結合型ホウ素ナノデバイスを用い、胸膜中皮腫モデルマウスに BNCT 治療実験を JRR-4 ならびに KUR にて行った。BALB/c マウスの胸腔にマウス中皮腫細胞株を 5×10^6 個注入後、5日目にヒアルロン酸結合型ホウ素ナノデバイスを胸腔に注入し、24時間後に $0.7-1.1 \times 10^{12}$ n/cm² の熱中性子を照射した。各群の平均生存期間は、コントロールが15.1日、中性子照射のみが15.3日であり、BSH 10,000 ppm 群が19.8日、HA-BSH DSBL 2,000 ppm と HA-BND-S BSH 2,000 ppm がともに18.2日であり、コントロールと差を認めなかったのに対し、HA-BND-S BSH 10,000 ppm 群は28日間の観察期間において5匹全例が生存しており、有意に生存率の延長を認めた(p<0.001)。また、28日目にその胸腔内を観察すると5匹中3匹において腫瘍を認めず、ほぼ治癒させることに成功した。詳細は研究分担者・李千萬の報告書を参照。

トランスフェリン修飾ホウ素ナノデバイスでは、

ウサギの肝腫瘍モデルを用いて肝動注することにより腫瘍内ボロン濃度を正常肝組織より高めることができた。すなわち投与 72 時間後に、腫瘍ボロン濃度 25ppm、正常肝濃度 10~15ppm と腫瘍内ボロン濃度を正常肝組織より高めることができた。投与 72 時間までであれば、腫瘍ボロン濃度と正常肝ボロン濃度の濃度比を 2 倍に維持できることがわかった。ホウ素ナノデバイスの肝動注による臨床応用へ向けた BNCT 抗腫瘍効果の検証した結果、ホウ素ナノデバイス投与群では顕著な肝腫瘍萎縮効果を見出した。詳細は研究分担者・柳衛宏宣の報告書を参照。

また、ヒト膀胱がん細胞を KU7 細胞に対して、トランスフェリン修飾ホウ素ナノデバイスを 10, 30, 100, 300, 1, 000 ppm を 1 時間曝露後 2 回洗浄後、ICP により細胞内ホウ素濃度を測定した結果、ヒト膀胱癌細胞の極めて高い細胞内への取り込み (3.5、5.0・g/10x10⁶ cells) が確認された。また、細胞実験と同条件で施行したマウス膀胱照射実験において、照射 3 カ月後の時点でマウス膀胱に線維化の所見は確認されなかった。詳細は研究分担者・鈴木実の報告書を参照。

D. 考察

ホウ素ナノデバイスの生体内挙動および分布を組織学的に追跡することは、臨床応用を視野に入れた場合非常に重要となる。21 年度では、蛍光標識化ホウ素ナノデバイスの作成として、蛍光標識部位を有するホウ素脂質 (FL-SBL) により生体内で追跡可能となった。蛍光標識リポソームを用いた組織学的解析の結果、ホウ素ナノデバイスはそれ自身では、腫瘍血管周辺組織へ集積するものの、がんの悪性化に深くかかわっている低酸素領域へは送達されていないことが明らかとなった。22 年度では、それを克服すべく研究の結果、高集積化ホウ素ナノデバイスを新たに開発することに成功した。マウス大腸がん移植マウスにおけるパッシブターゲティング (がん細胞と親和性をもつリガンドを修飾していない) ホウ素ナノデバイスにおいて、腫瘍への高濃度集積性と

照射後腫瘍の完全な消失を達成できたこと、さらにヒアルロン酸修飾ホウ素ナノデバイスにおいて、胸膜中皮腫モデルマウスへの中性子照射によって 5 匹中 3 匹において腫瘍の消失を達成できたことは、腫瘍血管から離れた腫瘍組織へのホウ素デリバリーが上手く行っていることを示唆するものである。

E. 結論

本研究の目指す BNCT では、DDS により腫瘍組織に運ばれたホウ素のみが中性子と核反応を起こし、細胞致死効果の高い α 線のがんを破壊する組織選択的な放射線療法である。現在、日本では世界に先駆け BNCT 用加速器の開発が行われている。2010 年には、京都大学と住友重機械工業 (株) との共同研究により BNCT 用加速器が完成し、動物実験により安全性試験が行われてきた。BNCT には、BPA と BSH の 2 つのホウ素薬剤が臨床に用いられているが、2011 年度中には、BPA の治験が始まる予定であり、近い将来病院併設型加速器 BNCT が実現することにより本治療法は一般的放射線療法の 1 つとなると考える。高い治療効果および適応がん拡大のためには、BPA のみでは万能ではないことから、本研究によって、開発した高集積化ホウ素ナノデバイスは、BPA が認可された後に候補となる有力なホウ素薬剤の一つとなりうると思われる。

今後、臨床研究を目指し非臨床試験に向けた安全性試験およびホウ素ナノデバイスの GMP 製造を計画して行く。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hypoxia-Inducible Factor Inhibitors: A Survey of Recent Patented Compounds (2004-2010)
H. S. Ban, Y. Uto, H. Nakamura, **Expert Opinion**

- on Therapeutic Patents**, 21(2), 131-146 (2011).
- 2) ホウ素の中性子捕捉反応を利用した低侵襲細胞選択的放射線療法
中村浩之、**Yakugaku Zasshi**, 130, 1687-1694 (2010).
 - 3) リボソームを用いる中性子捕捉治療
上野学、潘鉉承、中村浩之、**Drug Delivery System**. 25(5), 474-482 (2010).
 - 4) Undecahydro-closo-dodecaborates as good leaving groups in organic synthesis: Generation of substituted styrenes via elimination of aryethyl dodecaborates,
A. R. Genady, H. Nakamura, **Org. Biomol. Chem.** 8, 4427-4435(2010)
 - 5) 中性子捕捉治療のためのナノカプセル型ホウ素薬剤送達システム (BDS) の開発
中村浩之、**Pharm. Tech. Japan** (invited) 26, 1005-1012 (2010).
 - 6) Dodecaborate Lipid Liposomes as New Boron Delivery Vehicles for Neutron Capture Therapy of Cancers.
M. Ueno, H. S. Ban, K. Nakai, Y. Kaneda, A. Matsumura, H. Nakamura, **Bioorg. Med. Chem.** 18, 3059-3065 (2010).
2. 学会発表
- 1) イオン性ホウ素クラスターのクリック型環化反応の開発と細胞内イメージング
M. E. El-Zaria, A. R. Genady, 潘鉉承、中村浩之、日本ケミカルバイオロジー学会 第 5 回年会 (横浜)、2010 年 5 月 18-19 日
 - 2) 脱 SUMO 化酵素 SENP-1 阻害剤の発見と低酸素誘導因子抑制作用
中村浩之、宇野正治、潘鉉承、日本ケミカルバイオロジー学会 第 5 回年会 (横浜)、2010 年 5 月 18-19 日
 - 3) 低酸素誘導因子(HIF)-1 α 阻害剤の開発
高麗洋佑、宇野正治、潘鉉承、中村浩之、第 59 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム (東京)、2009 年 5 月 22 日
 - 4) Boron-Containing Phenoxyacetanilide
Hypoxia-Inducible Factor (HIF)-1 α Inhibitors
H. Nakamura、Boron in the Americas XII、Michigan (アメリカ合衆国) 2010 年 6 月 6-10 日
 - 5) Liposomal Boron Delivery System for Neutron Capture Therapy of Cancers
中村浩之、第 49 回日本生体医工学会大会、招待講演、(大阪)、2010 年 6 月 25-27 日
 - 6) 脱 SUMO 化酵素 SENP-1 阻害剤の発見
○中村浩之、宇野正治、潘鉉承、第 14 回日本がん分子標的治療学会学術集会、東京、2010 年 7 月 6-8 日
 - 7) 低酸素誘導因子(HIF) 阻害剤 GN26361 の作用機序の解明
潘鉉承、清水一希、峯岸秀充、中村浩之、第 14 回日本がん分子標的治療学会学術集会、東京、2010 年 7 月 6-8 日
 - 8) カルボラン含有小分子化合物 GN26361 による低酸素誘導因子(HIF)阻害と作用機序
潘鉉承、清水一希、峯岸秀充、中村浩之、第 7 回日本中性子捕捉療法学会学術集会、東京、2010 年 8 月 5-6 日
 - 9) トランスフェリン修飾ホウ素リボソームによる BNCT 効果
○猪俣竜、上野学、立川将士、三好達郎、Mohamed E. El-Zaria、潘鉉承、小田雄介、鈴木亮、丸山一雄、中村浩之、第 7 回日本中性子捕捉療法学会学術集会、東京、2010 年 8 月 5-6 日
 - 10) New Strategy for Synthesis of Mercaptoundecahydrododecaborate Derivatives via Click Chemistry: Possible Boron Carriers and Visualization in Cells for Neutron Capture Therapy
M. E. El-Zaria, A. R. Genady 中村浩之、第 7 回日本中性子捕捉療法学会学術集会、東京、2010 年 8 月 5-6 日
 - 11) がんの低酸素環境応答に着目した創薬アプローチ
中村浩之、日本化学会第 4 回関東支部大会

- (2010)、**依頼講演**、筑波、2010年8月30-31日
- 12) ホウ素の力でがんを挑む
中村浩之、学習院大学生命科学シンポジウム『生命の秘密を解く鍵をもとめて』(第8回)、**依頼講演**、東京、2010年10月9日
- 13) HIF-1 を標的としたベンゾオキサゾール骨格を有するカルボラン化合物の合成と生物活性評価
○安井友香、清水一希、丸山美菜子、潘鉉承、中村浩之、第40回複素環化学討論会、仙台、2010年10月14-16日
- 14) Development of Boron-Containing Protoporphyrin IX Derivatives for Boron Neutron Capture Therapy and Photodynamic Therapy
○R. Inomata, M. E. El-Zaria, H. S. Ban, H. Nakamura, 14th International Congress Neutron Capture Therapy, Buenos Aires (アルゼンチン)、2010年10月25-29日
- 15) Boron Lipid Liposomes: EPR Effect and Fluorescence Imaging
H. Nakamura, N. Ueda, H. S. Ban, K. Maruyama, M. E. El-Zaria, 14th International Congress Neutron Capture Therapy, Buenos Aires (アルゼンチン)、2010年10月25-29日
- 16) HIF 阻害剤 GN26361 の標的分子 HSP60 の同定
潘鉉承、清水一希、峯岸秀充、中村浩之、第29回メディシナルケミストリーシンポジウム、京都、2010年11月17-19日
- 17) ホウ素含有コレステロールの開発: クリック反応によるイメージングとリポソーム化
三好達郎、Mohamed E. El-Zaria、潘鉉承、中村浩之、第29回メディシナルケミストリーシンポジウム、京都、2010年11月17-19日
- 18) 低酸素誘導因子シグナルを標的とした創薬研究の現状
中村浩之、日本放射線腫瘍学会第23回学術大会、**招待講演**、東京、2010年11月20日
- 19) Development of boron lipid liposomes for neutron capture therapy
H. Nakamura, M. Ueno, N. Ueda, R. Inomata, H. Ban, 2010 環太平洋国際化学会議、Honolulu (ハワイ)、2010年12月15-20日
- 20) Action mechanism of HIF-1 α inhibitor GN26361: Identification of target protein with multifunctional molecular probe
H. Ban, K. Shimizu, H. Minegishi, H. Nakamura, 2010 環太平洋国際化学会議、Honolulu (ハワイ)、2010年12月15-20日
- 21) Development of closo-dodecaborates for liposomal boron delivery of neutron capture therapy
S. Tachikawa, H. Nakamura, 2010 環太平洋国際化学会議、Honolulu (ハワイ)、2010年12月15-20日
- 22) Synthesis and liposome formation of dodecaborate-coniugated cholesterols for efficient boron delivery system on neutron capture therapy
T. Miyoshi, H. Ban, H. Nakamura, 2010 環太平洋国際化学会議、Honolulu (ハワイ)、2010年12月15-20日
- 23) ホウ素ナノ粒子で中性子捕捉療法に挑む
中村浩之、第20回インテリジェント材料/システムシンポジウム、**招待講演**、東京、2011年1月6日
- 24) がんの血管新生に着目した創薬アプローチ
中村浩之、東京工業大学工学部講演会、**依頼講演**、東京、2011年1月19日
- 25) ホウ素でがんを挑む - 低酸素応答と新生血管に着目して -
中村浩之、日本農芸化学会関東支部例会シンポジウム「有機合成の可能性・生命現象を探る」**招待講演**、東京、2011年1月22日
- 26) HIF 阻害剤 GN26361 の作用機序の解明
潘鉉承、清水一希、峯岸秀充、中村浩之、第8回がんハイポキシア研究会、札幌、2011年1月29-30日
- 27) YC-1 の簡便な合成法と標的タンパク同定のた

別紙 3

めのケミカルプローブ合成

竹内彩乃、潘鉉承、中村浩之、第 8 回がんとハイポキシア研究会、札幌、2011 年 1 月 29-30 日

- 28) 脱 SUMO 化酵素 SENP1 阻害剤の発見と HIF-1・抑制作用

宇野正治、高麗洋佑、潘鉉承、中村浩之、第 8 回がんとハイポキシア研究会、札幌、2011 年 1 月 29-30 日

- 29) Dodecaborate Lipid Liposomes as New Vehicles for Boron Delivery System of Neutron Capture Therapy

H. Nakamura、International Conference on Biomaterials Science 2011、招待講演、筑波、2011 年 3 月 15-19 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進事業）
分担研究報告書

ホウ素ナノデバイス型中性子捕捉治療

研究分担者 国立大学法人 筑波大学人間総合科学研究科 松村 明 教授

研究要旨

中性子捕捉療法は、細胞選択性を有する放射線治療の概念である。新規ホウ素化合物の開発は、適応拡大、治療効果の向上のために必要な研究開発のひとつに位置づけられる。悪性脳腫瘍におけるホウ素中性子捕捉療法の臨床研究は、本邦が世界に先がけて良好な成績を報告している。しかしなお、腫瘍の再発は免れず、これは悪性脳腫瘍の浸潤性及び放射線抵抗性によるものと考えられる。成績向上のための基礎的検討として、ホウ素化合物代謝への介入的治療効果改善、ホウ素ナノ粒子の薬物動態、治療成績検討を見据えた実験系を確立し検討をおこなった。

A. 研究目的

悪性脳腫瘍はホウ素中性子捕捉療法の適応疾患としてすでに臨床研究がおこなわれている。神経膠芽腫(グリオブラストーマ)に代表される悪性脳腫瘍は、その浸潤性と放射線抵抗性により、きわめて予後不良な疾患であり、手術加療、放射線治療、化学療法をもちいた集学的治療を行っても治癒は得難い。平均生存期間はおよそ1年数か月であり、1年生存率50%ときわめて予後不良である。ホウ素中性子捕捉療法は、浸潤する腫瘍細胞に対して細胞選択性をもち、理論上浸潤細胞を対象とした治療で、臨床研究が行われ、その全生存期間の延長効果が本学から報告されている。しかし、現在もなお治癒には至らず、再発や播種を生じ、最終的には死の転機をとる。

ホウ素化合物の細胞選択性をさらに向上することは、浸潤細胞への線量を増加させ、治療効果を延長することが期待できる。現在用いられている Boronophenylalanine (BPA) および Borocaptate Sodium (BSH) のホウ素化合物の問題点は、①腫瘍/正常ホウ素濃度比率が十分でないこと、腫瘍の多形性ゆえに、腫瘍内でも不均一な分布を生じることである。

新規ホウ素化合物の前臨床研究においてはさらに、②浸潤能を有する脳腫瘍モデルが小動物で十分確立されていないこと、③さらに浸潤部分での薬物動態を腫瘍塊をわけて解明することが難しいことである。本研究平成22年度においては、1新規ナノデバイスの脳腫瘍モデルにおける動態の解析、2thiol化合物であるグルタチオンを用いたホウ素化合物代謝の修飾により、腫瘍/血液比の向上を図る手段の探索、3.新規ホウ素化合物の合成を合わせて検討した。

B. 研究方法

1 新規ナノ粒子の脳腫瘍内動態の解析

マウスグリオーマ細胞 GL261 を用いた脳腫瘍モデルで解析を行った。あらかじめ、全身麻酔下に脳内 (1×10^6) に定量的に腫瘍細胞を接種し、さらに皮下にも 1×10^7 個の細胞懸濁液を接種する。そののち、皮下腫瘍がおおよそ 10mm 大になるまで一定期間飼育し脳腫瘍モデルとした。新規ホウ素ナノデバイスを、ホウ素濃度 40mg/kg の用量で尾静脈より経静脈投与を行い、24, 36, 48, 72 時間で血液 (全血)、脳、皮下腫瘍、肝臓、腎臓、脳腫瘍を経時的に採取し、各組織のホウ素濃度を湿性灰化の後、inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (ICP-AES, HORIBA, Japan) で計測した。各群は $n=5$ として平均を求めた。脳腫瘍は 2 例に

認められた。

2 thiol 化合物であるグルタチオンを用いたホウ素化合物代謝の修飾：ラット（フィッシャー344）腹腔内に BSO を 5 mmol/kg および BSH 100mg/kg を同時、ないりは連続投与し、6時間後の組織内 GSH を測定した。

薬剤の投与順を、以下のように設定した。

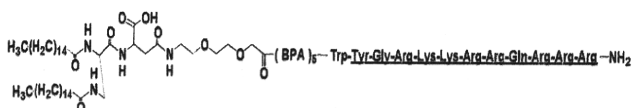
1. BSO 投与後 3 時間で BSH 投与
2. BSH 投与後 1 時間で BSO 投与
3. BSH, BSO 同時投与
4. BSO 非投与群

投与後の各組織（脳、筋肉、肝臓）は 5% スルホサリチル酸（SSA）0.8 ml 中でホモジナイズし、8000×g、4℃ で 10 分間遠心し、上清をサンプルとした。血液は、ヘパリン採血し、1000×g、4℃で 10 分間遠心して血球を分離し、4 倍量の 5% SSA を加えて溶血させ、8000×g、4℃ で 10 分間遠心した上清をサンプルとした。（n=3）グルタチオン測定は、Total Glutathione Quantification Kit（株）同仁化学研究所）を使用した。

3 新規ホウ素ペプチドの合成

3 種類の異なるアミノ酸誘導体と 2 つの脂肪酸から成る新規リン脂質類似体（リポペプチド）を Fmoc 固相合成法により合成し、さらに優れた膜透過性を有する HIV-TAT を表面修飾したホウ素含有のペプチド修飾リポソームの開発を行った。さらに、DSPE-PEG-BSH の較正からなるホウ素脂質の合成を試みた。

a. B5-TAT-lipopeptide



リポソームへの新規脂質アナログの修飾

B5-TAT-lipopeptide を DSPC 45% , cholesterol 45% , DSPE-PEG 5% で混合し、脂質白膜法で作製した。作製した Liposome をサイズ排除クロマトグラフィーにより、Liposome 画分、micelle 画分、単分子画分に分離し Lipopeptide の含量を定量した。蛍光分光光度計により Lipopeptide の指標である Trp を測定した。合成のスケールアップをすることで動物での腫瘍内動態の測定を行った。

B5-TAT-liposome の in vivo における毒性評価、腫瘍細胞取り込みを確認する目的で、CT26 マウス大腸癌細胞株（ 5×10^6 cells）を 100 μ L をマウス（Bala/c mice）腹部に皮下注射し、モデルマウスとした。リポソームを脂質濃度 100 mmol/L に PBS を用いて調製し、リポソーム 100 μ L を尾静注により添加後、2, 24, 48 時間ののちに解剖し、各種臓器を採取した。組織のホウ素濃度を経時的に確認した。

（倫理面への配慮）

本研究における動物実験は、いずれもあらかじめ実験計画書を、筑波大学生命科学動物資源センターに申請し、動物実験審査委員会の承認を得て行われた。

C. 研究結果

1 新規ナノデバイスの腫瘍内動態の解析

新規ナノデバイスは、少なくとも 40mg/kg の用量で静脈投与を行った限りでは、観察される限り急性期毒性は示さなかった。手技に伴う死亡や、明らかな深頸脱落症状は認めなかった。ホウ素濃度の経時変化を下図に示す。血中濃度は 24 時間で $114.27 \pm 47.19 \cdot \text{g/g}$ 、36 時間で $68.95 \pm 22.30 \cdot \text{g/g}$ 、48 時間で $26.37 \pm 17.44 \cdot \text{g/g}$ と、血液滞留性は 36 時間までは 40mg/kg 投与で少なくとも 70 ppm の血中ホウ素濃度を維持しており、良好な血液滞留性を示した。

皮下腫瘍濃度については、24 時間、36 時間、48 時間、72 時間でそれぞれ、 $29.86 \pm 10.61 \cdot \text{g/g}$ 、

27.91 ± 11.48 · g/g, 29.57 ± 17.64 · g/g and 7.08 ± 6.45 · g/g を示した。脳腫瘍については、有鉤検出濃度限界以下で、測定不能であった。

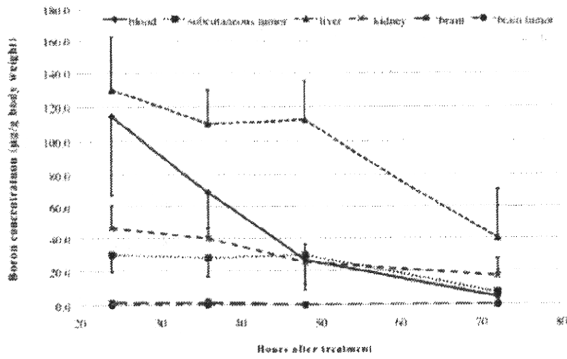


図1 各臓器のホウ素濃度の経時変化

腫瘍のホウ素濃度は低下するが、腫瘍選択性の指標となる腫瘍血液比は、経時的に増加する傾向を認め、72時間でも平均1を超えている。

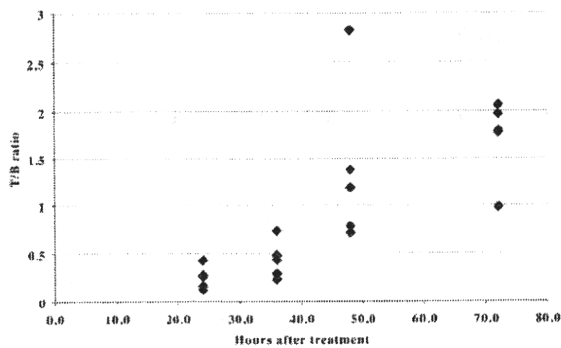
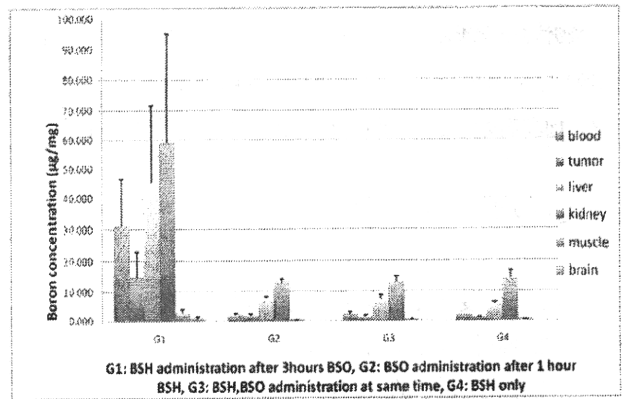


図2 腫瘍/血液比

2 thiol 化合物であるグルタチオンを用いたホウ素化合物代謝の修飾:

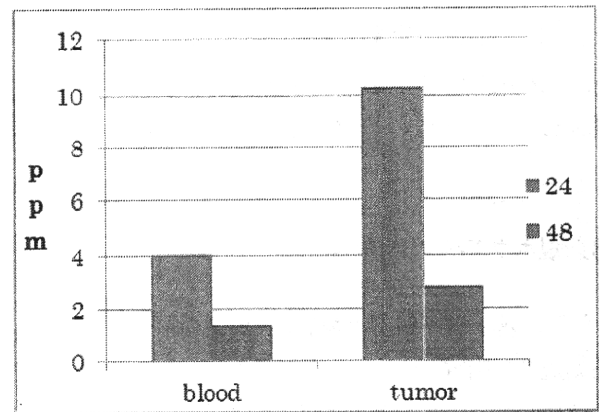
各組織におけるホウ素濃度を図3に示す。



グループ1でのみホウ素濃度の向上が認められ、グルタチオン枯渇がBSH集積増強をもたらすことが示された。

3 新規ホウ素化合物の合成

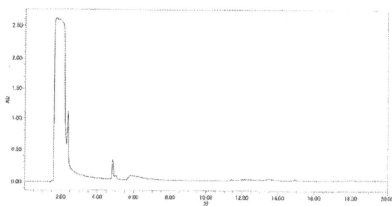
B5-TAT-liposome の動物投与実験結果



24 時間後に T/B 比は約 2.5 となったが、腫瘍集積濃度は 10ppm 程度と治療可能域に至らなかった。48 時間後にはさらに濃度は低下し、細胞実験で認められた選択的ホウ素濃度上昇が持続しない結果であった。

DSPE-PEG-BSH の合成

クルードの HPLC 上にて 5 分に検出されたピーク (※) は、MS にて 1000 以下の分子量のみで 3000 付近にピークが全くなかったため、目的物でないと判断した。



D. 考察

1 新規ナノ粒子の腫瘍内動態の解析

BSH を内包することで、血中濃度を高く保つことには成功しているが、腫瘍に接種したグリオーマ細胞のホウ素濃度は検出不可能であった。BSH の単独投与と比較し、血中のホウ素濃度は高値である。皮下腫瘍のホウ素濃度は血液に比較して濃度の低下が緩やかであるため、T/B 比で検討すると、48 時間で 1.21 と血中よりも濃い値となる。したがって、腫瘍選択性を重視した照射タイミングは、本ナノデバイスにおいては、48 時間以降であることが推察される。実験腫瘍においてホウ素濃度が検出できなかったことについては、liposome の主たる腫瘍選択性にかかわるパッシブターゲティング、すなわち脆弱な腫瘍血管からの漏出というメカニズムが十分にはたらかなかつたためと推察される。腫瘍周囲の環境の違いによる増殖過程の差によるものかは今後の検討を要する。

2 thiol 化合物であるグルタチオンを用いたホウ素化合物代謝の修飾

BSO 投与により、グルタチオンが枯渇する。今回の実験結果では、BSO 投与後に BSH 投与した群のみが、いずれのホウ素濃度も上昇がみられた。SH 基の動態に関連していると推察されるが詳細な機序については今後の検討を要する。このような手法で既存のホウ素化合物を用いた治療においても、さらにホウ素濃度の向上ないしは腫瘍/正常組織比が上昇することによって、治療効果の増強あるいは、正常組織の線量低下による副作用

の減弱が期待できる。

3 新規ホウ素ペプチドリガンドの合成

今回 B5-TAT-liposome の開発により、臨床へと応用可能な新たな新規ホウ素化合物となる可能性を見出すことができた。動物実験においては、比較的高い腫瘍/血液比を示したものの、ホウ素濃度上昇が十分でなかった。このことは、Liposome 粒子が、血液中に投与された場合の安定性、および血管内での安定性ないしは他臓器でのトラップなどが考えられる。結果として EPR 効果が不十分であると考えられ、安定して腫瘍血管から漏出するサイズおよび脂質組成、表面修飾をさらに検討する必要がある。今後さらに in vivo における安全性、薬物動態を明らかにすることで最適化が可能であると考える。

DSPE-PEG-BSH の合成については、6 分付近のあるブロードのピーク (†) は、原料(DSPE のみ)のピークがその付近に全く検出されないため、おそらくこのピークが目的物ではないかと考えられる。しかし親水性が強いためにシャープなピークが得られにくかったのだと推察される。

E. 結論

- 1 新規ナノデバイスの腫瘍内動態の解析、
 - 2 thiol 化合物であるグルタチオンを用いたホウ素化合物代謝の修飾
 - 3 新規ホウ素ペプチドリガンドの合成
- を行った。単分子の化合物は探索されてすでに 40 年が経過しているが新規リード化合物となりうるものは出現していない。したがって将来 BCNT 用薬剤として発見、研究開発される可能性は低く、本研究でめめされたようなナノ粒子を用いた方が実用化に近いと考えられる。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

[論文]

該当なし

[学会発表]

1. 中井 啓, 山本哲哉, 遠藤聖, 高野晋吾, 熊田博明, 松村明, 奥村敏之, 桜井英幸 : 脳腫瘍に対する BNCT : 筑波大学臨床研究の現況. 第7回日本中性子捕捉療法学会, 2010.8
2. Endo K, Yamamoto T, Nakai K, Kumada H, Shibata Y, Matsumura A. : JRR-4 facility for animal irradiation experiments、14th International congress on neutron capture therapy, Buenos Ailes, 2010.10 (Argentina)
3. Shilakawa M, Yamamoto T, Nakai K, Yoshida F, Tsurubuchi T, Masahide M, Yamamoto Y, Yokoyama Y, Matsumura A. : Development of a fictional liposome modified a novel lipid analog for BNCT, 14th International congress on neutron capture therapy, Buenos Aires, 2010.10 (Argentina)
4. Yoshida F, Nakai K, Isobe T, Inomata R, Zaboronok A, Yamamoto Y, Shirakawa M, yamamoto T, Matsumura A, Nakamura H. : Biodistribution of BSH-encapsulated boron liposome in mouse glioma. 14th International congress on neutron capture therapy, Buenos Aires, 2010.10 (Argentina)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進事業）
分担研究報告書

ホウ素ナノデバイス型中性子捕捉治療

研究分担者 李 千萬 大阪大学大学院医学系研究科・准教授

研究要旨

胸膜中皮腫に対する BNCT の臨床応用の推進と治療効果の向上を目指し、これまでにマウス胸膜中皮腫モデルを作製、胸膜中皮腫に豊富に発現する CD44 を標的としたヒアルロン酸ホウ素ナノデバイスの合成を行った。新規ヒアルロン酸結合型ホウ素ナノデバイスがマウス胸膜中皮腫細胞株に対し高い親和性を有し、またマウス胸膜中皮腫モデルにおける腫瘍への高い親和性を有することが明らかとなった。本年はこれまでに開発したヒアルロン酸結合型ホウ素ナノデバイスを用い、マウス胸膜中皮腫モデルに対するホウ素中性子捕捉療法を行い、新規製剤 HA・BND-S 投与群がコントロール群に比し、有意に生存率の延長を認め、腫瘍細胞移植後 28 日目（中性子照射後 23 日目）の胸腔内を観察すると、5 匹中 3 匹で腫瘍を認めなかった。以上より我々の開発したホウ素ナノデバイスが胸膜中皮腫に対する BNCT において非常に有用なホウ素製剤であることが明らかとなった。

A. 研究目的

胸膜中皮腫は、アスベスト暴露後に発症する腫瘍で、労働災害疾患としてだけではなく、2005 年の工場周辺住民への被害報告以降、非常に社会的関心の強い、悪性腫瘍である。治療は化学療法を基本とする集学的治療を行うが、手術可能例は少なく、また、放射線療法は肺臓炎を惹起することから限定されており、予後不良である。現在、京都大学原子炉実験所小野教授のもとで胸膜中皮腫に対するホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) の臨床研究が行われており、胸膜中皮腫に対する画期的治療法となる可能性が分担研究者である鈴木らにより報告されている。本研究においては、胸膜中皮腫に対する BNCT の効果を向上させ、BNCT の胸膜中皮腫への適応拡大を進めるために、胸膜中皮腫細胞を標的としたホウ

素ナノデバイス製剤の開発研究を行うことを目的とする。

B. 研究方法

1. ホウ素ナノデバイスの開発ならびに胸膜中皮腫細胞への結合性の検討

マウス胸膜中皮腫細胞株を 96 well flat plate に培養後パラフォルムアルデヒドにて固定し、HA-DSBL-BSH や新規に開発した HA-BND-S などの各ヒアルロン酸製剤、BSH との結合性を Fluorescein 標識ヒアルロン酸の胸膜中皮腫細胞への結合阻害率より検討した。

2. マウス胸膜中皮腫モデルに対するヒアルロン酸結合型ホウ素ナノデバイスも用いた BNCT 効果の検討

BALB/c マウスの胸腔にマウス中皮腫細胞株 5×10^6 個注入後、5 日目にヒアルロン酸結合型ホウ素ナノデバイスを胸腔に、6 日目に BSH を腹腔に注入、JRR-4 において、1 時間後に $0.7 \sim 1.1 \times 10^{12} \text{ n/cm}^2$ の熱中性子を照射し、各ホウ素製剤投与群を飼養・経過観察し、その生存期間を検討した。

C. 研究結果

1. ホウ素ナノデバイスの開発ならびに胸膜中皮腫細胞への結合性の検討

ヒアルロン酸結合型ホウ素ナノデバイスは、free のヒアルロン酸と同程度に標識ヒアルロン酸の腫瘍細胞への結合を阻害し、ホウ素ナノデバイス製剤の腫瘍細胞への親和性が BSH 等に比し、高いことが明らかとなった。また、HA-BND-S や HA-DSBL の標識ヒアルロン酸の腫瘍細胞への結合の阻害率は、濃度依存的に上昇した。

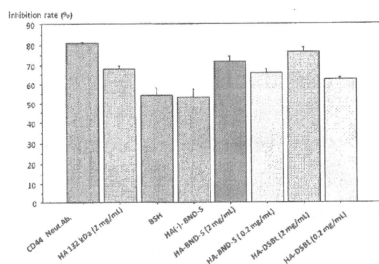


図1. ホウ素ナノデバイスの機能評価 (マウス胸膜中皮腫細胞への結合性)

横軸左より CD44 Neutralizing Ab., HA132 kDa (2 mg/mL), BSH, D.: HA(-)-BND-S, HA-BND-S (2 mg/mL), HA-BND-S (0.2 mg/mL), HA-DSBL (2 mg/mL),

HA-DSBL (0.2 mg/mL)

2. マウス胸膜中皮腫モデルに対するヒアルロン酸結合型ホウ素ナノデバイスも用いた BNCT 効果の検討

各群の平均生存期間は、コントロールが 15.1 日、中性子照射のみが 15.3 日であり、BSH 10,000 ppm 群が 19.8 日、HA-DSBL 2,000 ppm (data not shown) と HA-BND-S 2,000 ppm がともに 18.2 日であり、コントロールと差を認めなかったのに対し、HA-BND-S 10,000 ppm 群は 28 日間の観察期間において 5 匹全例が生きており、有意に生存率の延長を認めた ($p < 0.05$)。また、28 日目に HA-BND-S 10,000 ppm 群の胸腔内を観察すると 5 匹中 3 匹において腫瘍を認めず、ほぼ治癒させることに成功した (図 3.)。

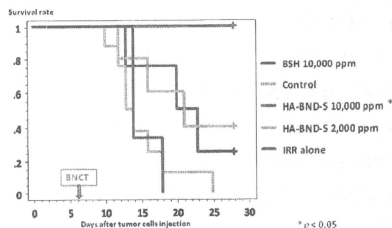


図2. グラフ横軸は、腫瘍細胞注入後の日数を示し、縦軸は生存率を示す。BNCT を細胞注入後 7 日目に施行後の各ホウ素製剤投与マウスの生存率を示す。



Control HA-BND-S 10,000 ppm

図3. Control群、HA-BND-S 10,000 ppm

投与群の胸腔内腫瘍の進展状態を示す。Control群は、死亡直後のマウスの胸腔内で、矢印に示す胸膜中皮腫腫瘍が両側胸腔内から縦隔・心臓を覆い尽くしている。一方、HA-BND-S 10,000 ppm 投与群では、腫瘍細胞注入後 28 日目 (BNCT 後 22 日目) での胸腔内においては、生存 5 匹中 3 匹で肉眼的に明らかな腫瘍を認めなかった。

D. 考察

ヒアルロン酸結合型ホウ素ナノデバイスは、胸膜中皮腫細胞表面に豊富に発現する CD44 を標的としたナノデバイス製剤であり、これまでの実験結果より、胸膜中皮腫細胞への高い親和性を有すること、ならびに胸膜中皮腫モデルにおいて高い腫瘍特異性を示すことが明らかとなった。

我々は、各種ヒアルロン酸ホウ素ナノデバイスを開発したが、これまでの実験結果においては、HA-BND-S がマウス胸膜中皮腫モデルを用いた BNCT 実験において著明な治療効果を示し、コントロールに比し、有意に高い生存率を示した。残念ながら、経過観察期間に限度があったため、最終的に照射後何日目まで生存可

能であったかは不明であるが、5 匹中 3 匹には、照射後 22 日目で明らかな腫瘍を認めず、ほぼ治癒せしめることができた。

しかしながら、残り 2 匹では腫瘍細胞を認めたため、今後は、複数回の照射や、免疫療法との併用療法など、現在胸膜中皮腫治療でも臨床に応用できる方法を模索する必要があると考えられた。

いずれにしても、これまでの治療実験において、本モデルは腫瘍細胞注入後 15 日で死亡する激烈なモデルにも関わらず、腫瘍細胞注入後 28 日目でも全例生存するという、非常に治療効果の高い結果を示した。

今後は、毒性試験など GLP 試験を含めた前臨床試験を行い、現在行われている conventional なホウ素製剤による胸膜中皮腫に対する BNCT の臨床研究を注視しつつ、臨床研究への準備を進め予定である。

E. 結論

胸膜中皮腫を標的としたホウ素中性子補足療法における新たなホウ素ナノデバイスを開発した。動物実験において、我々の開発したホウ素ナノデバイスは、著明な治療効果を示した。

今後臨床研究を念頭に置いた前臨床試験を行い、臨床研究の準備を進めたい。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Komoda H, Okura H, Lee CM, Sougawa N, Iwayama T, Hashikawa T, Saga A, Yamamoto