

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）
（分担）（総合）研究報告書

初発膠芽腫に対する新規放射線化学療法による有効治療法確立のための臨床研究
研究分担者 道上宏之 岡山大学・助教

研究要旨

「新規ホウ素製剤の開発による BNCT の発展を目指した研究」
現在の臨床研究において、BNCT による脳腫瘍患者の生存期間の延長が期待される。しかし、腫瘍組織でのホウ素濃度の上昇は認められるが、腫瘍細胞内部までの取り込みが認められないことが多い。ホウ素中性子捕捉反応の効果を十分に生かすために、細胞内導入型のホウ素製剤の開発を目指す。

A．研究目的

現在、悪性神経膠腫に対する治療法は、手術療法・放射線療法・化学療法による集学的治療法であるが、その予後は極めて悪い。その理由として、血液脳関門に囲まれた脳という特殊な環境に発生した腫瘍であるため、他の癌腫で使用可能な分子標的薬等の多くの抗がん作用を有する薬剤の使用が非常に困難である。その中で、大阪医科大学脳神経外科を中心とするBPAとBSHの2種類のホウ素製剤を併用した中性子捕捉療法が、非常に高い効果をあげている。BNCTはホウ素の取り込んだ細胞に対して中性子線の照射を行うと、核反応を引き起こし、細胞障害を引き起こす。しかしながら、細胞内にホウ素を取り込んでいない腫瘍細胞に対しては効果が非常に少ない。この弱点を克服し、さらなるホウ素中性子捕捉療法を発展させるためには、新規のさらなる効果をもたらすホウ素製剤の開発が急務である。今回は、初発膠芽腫患者に対するBNCTの臨床研究を進めるのと同時に、その臨床研究から出た知見を研究へと盛り込み、新規ホウ素製剤開発の基礎研究も行う。

B．研究方法

膠芽腫に対する臨床研究において使用されるホウ素製剤は、BPA(ホウ素フェニルアラニン)とBSH(Sodium mercapto undecahydrododecaborato)の2種類である。BPAは、ホウ素一個に対してアミノ酸が結合した化合物であり、アミノ酸の取り込みの高い増殖スピードの速い腫瘍細胞に多く取り込まれる。一方BSHは、ホウ素12個からなるホウ素原子がカゴ型に配列した化合物であり、多くのホウ素を効率よく運ぶ長所はあるものの、細胞内へ導入されないためBNCTの効果が低いといわれてい

る。今回我々は、ペプチドを用いた世界で初めてのホウ素ペプチド製剤の開発に成功した。ホウ素の細胞内局在を変化させ、中性子を照射した時の核へのダメージをシミュレーションすることにより、細胞内にホウ素を導入することが重要であるかの検討を行った。本研究では、BSH-peptideと呼ばれる新規ホウ素製剤の開発に成功し、報告を行う。

（倫理面への配慮）

動物実験棟に関しては、岡山大学動物実験の規約に従い、委員会の承認を得て行う。

C．研究結果

ホウ素化合物の細胞内局在による中性子照射後の核へのダメージのシミュレーションは、京都大学原子炉実験所にて共同研究にて行われた。細胞内導入効果のない細胞外膜に付着しただけのホウ素は、核へと局在するホウ素と比較して効果が60～100倍程度違うことが判明した。

細胞膜通過ペプチド(11R)は分解によりアミノ酸へと変化するため、非常に安全な新規ホウ素製剤であることが確認された。また、BSHを多数搭載したmulti-BSH-peptideを作製することに成功し、ペプチドによるホウ素製剤開発の分野の開発に成功した。腫瘍細胞に対しての投与で、投与2時間目よりホウ素の細胞内導入及び核への局在を確認した。さらに、担癌モデル動物を用いて、腫瘍のある腫瘍部位へ特異的にBSH-peptideが局在することを証明した。このホウ素製剤は、細胞内及び核へと導入されていることを動物実験レベルにて確認した。中性子照射により、従来のBSHと比較して1/100以下の低濃度にて効果を呈することを証明した。

D . 考察

腫瘍部におけるホウ素濃度が高い方が中性子捕捉療法により効果をもたらすことは周知の事実であるが、シミュレーションにより効果を定量したのは世界で初めてである。今回作製したBSH-peptideは、「細胞透過型ホウ素ペプチド」(2011年10月19日出願)特願2011-230059として、承認された。また、BSH-peptideに関する論文がアクセプトされた。(Biomaterials. 2014 Mar;35(10):3396-405)

E . 結論

ペプチドを用いた新規ホウ素製剤の開発に成功し、特許取得、今後の発展が期待される。

F . 健康危険情報

研究代表者による総合研究報告書参照

G . 研究発表

1. 論文発表

- 1)The acceleration of boron neutron capture therapy using multi-linked mercaptoundecahydrododecaborate (BSH) fused cell-penetrating peptide. **Michiue H**, Sakurai Y, Kondo N, Kitamatsu M, Bin F, Nakajima K, Hirota Y, Kawabata S, Nishiki T, Ohmori I, Tomizawa K, Miyatake S, Ono K, Matsui H. Biomaterials. 2014 ;35(10):3396-405.
- 2)The transdermal inhibition of melanogenesis by a cell-membrane-permeable peptide delivery system based on poly-arginine. Ookubo N, **Michiue H**, Mizuki Kitamatsu M, Kamamura M, Tei-ichi Nishiki T, Ohmori I, Hideki Matsui M, Biomaterials, 2014 (in press)
- 3)Cyclin G2 promotes hypoxia-driven local invasion of glioblastoma by orchestrating cytoskeletal dynamics.. Fujimura A, **Michiue H**, Cheng Y, Uneda A, Tani Y, Nishiki T, Ichikawa T, Wei FY, Tomizawa K, Matsui H. Neoplasia. 2013 Nov;15(11):1272-81.

4)Theranostic protein targeting ErbB2 for bioluminescence imaging and therapy for cancer. Han XJ, Sun LF, Nishiyama Y, Feng B, **Michiue H**, Seno M, Matsui H, Tomizawa K. PLoS One. 2013 Sep 17;8(9):e75288

5)Bimodal anti-glioma mechanisms of cilengitide demonstrated by novel invasive glioma models. Onishi M, Ichikawa T, Kurozumi K, Fujii K, Yoshida K, Inoue S, **Michiue H**, Chiocca EA, Kaur B, Date I. Neuropathology. 2012 Sep 19. doi: 10.1111/j.1440-1789

6)Combining poly-arginine with the hydrophobic counter-anion 4-(1-pyrenyl)-butyric acid for protein transduction in transdermal delivery. Candan G, **Michiue H**, Ishikawa S, Fujimura A, Hayashi K, Uneda A, Mori A, Ohmori I, Nishiki T, Matsui H, Tomizawa K. Biomaterials. 2012 Sep;33(27):6468-75.

7)A protein transduction method using oligo-arginine (3R) for the delivery of transcription factors into cell nuclei. Hitsuda T, **Michiue H**, Kitamatsu M, Fujimura A, Wang F, Yamamoto T, Han XJ, Tazawa H, Uneda A, Ohmori I, Nishiki T, Tomizawa K, Matsui H. Biomaterials. 2012 Jun;33(18):4665-72.

8)Antidepressant-like effect of sildenafil through oxytocin-dependent cyclic AMP response element-binding protein phosphorylation. Matsushita H, Matsuzaki M, Han XJ, Nishiki T, Ohmori I, **Michiue H**, Matsui H, Tomizawa K. Neuroscience. 2012 Jan 3;200:13-8.

2. 学会発表

1)2012.9.10-14 15th International Congress on Neutron Capture Therapy 「Multi-linked BSH fused cell-penetrating peptide (multi-BSH-peptide) accelerated Boron Neutron Capture Therapy」 **H. Michiue** et al.

2)第31回日本脳腫瘍学会学術集会. 悪性脳腫瘍に対する Drug Repositioning(DR)に基づく新規抗浸潤薬の研究開発. **道上宏之ら**

- 3) 第30回日本脳腫瘍学会学術集会. 「低酸素誘導による膠芽腫新規浸潤規定因子の発見とその機能解析」 **道上宏之ら**

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

- 1) 「細胞導入ペプチドと皮膚導入促進剤とを組み合わせた皮膚導入システム及び美白剤」(2011年8月31日)(特願2011-189687)
- 2) 「細胞透過型ホウ素ペプチド」(2011年10月19日出願)(特願2011-230059)
- 3) 「ペプチドタグによるタンパク質の細胞内運搬」(2011年10月25日)特願2011-233812
- 4) 「アクチン重合定量測定法を利用した抗浸潤薬新規スクリーニング法」(2012年6月19日出願)(特願2012-137489)
- 5) 「抗がん剤」(フルボキサミンを配合することを特徴とする抗脳腫瘍治療薬剤 第二医薬用途)(出願日2012年11月30日)(特願2012-263317)

2. 実用新案登録

なし

3. その他

特記事項なし