

受賞対象論文

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 : The acceleration of boron neutron capture therapy using multi-linked mercaptoundecahydrododecaborate (BSH) fused cell-penetrating peptide. *Biomaterials* (2014) 35, 3396-3405.

道上宏之

Hiroyuki Michiue



岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 細胞生理学

Department of Physiology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

<プロフィール>

昭和47年生まれ

平成11年3月 岡山大学医学部医学科卒業

平成11年4月 岡山大学大学院医学研究科博士課程入学

平成11年6月 岡山大学医学部附属病院 研修医

平成11年11月 松山市民病院 脳神経外科 医員

平成13年11月 岡山大学医学部附属病院 脳神経外科 医員

平成17年6月 岡山大学大学院医学研究科博士課程修了

平成17年6月 米国カリフォルニア大学サンディエゴ校 細胞分子医学 研究員

平成19年11月 岡山大学医歯薬学総合研究科 特任助教（内閣府連携政策群「遺伝子細胞治療に携わる若手医師育成プログラム」）

平成22年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 細胞生理学 助教
現在に至る

研究の背景と経緯

ホウ素中性子捕捉療法は、悪性腫瘍に対する粒子線治療の一つとして、日本が世界をリードする次世代の治療技術である。安倍晋三内閣総理大臣が、ロシア訪問時に日本が世界に誇る最先端の治療法として紹介するなど、最近多くのニュース等に取り上げられ注目を浴びている。

ホウ素中性子捕捉療法は Boron Neutron Capture Therapy (BNCT) と呼ばれ、ホウ素と中性子の二つの要素からなる物理学的反応を用いた治療法である。BNCTの原理はホウ素同位体（元素記号¹⁰B）を細胞へ取りこませ、中性子照射する。それにより、核分裂反応（¹⁰B + ¹n → ⁷Li + ⁴He）が起これ、Li粒子とα粒子が発生する。核反応により発生する高エネルギー付与のLi核やα粒子は数ミクロンしか拡がらない。そのため、がん細胞内でのホウ素中性子捕捉反応は、ホウ素を含んでいる悪性腫瘍細胞のみを破壊し、周囲を取り囲む正常細胞を傷つけない、というものである。付け加えると、それぞれ無害なホウ素（元素記号B）と中性子が、がん細胞の中で衝突すると、核反応が起これ、そこで生じるエネルギーが細胞を殺傷する。そ

の時に効果を及ぼす範囲が、細胞の半径より小さいために、ホウ素を含むがん細胞のみが傷害され、周囲の正常な細胞を傷つけない、究極の治療法である。

この原理は、非常に難解であり、私自身も全部を理解しているとは言い難い。実際、BNCTには脳神経外科・皮膚科・耳鼻咽喉科・放射線科・口腔外科などの臨床医に加えて、放射線物理の専門家、有機合成の専門家、薬物動態評価の専門家など様々な研究者の協力により成り立っている。この分野において、BNCTは約80年も前より提唱され、様々な試験がなされてきた。しかし、臨床に応用できるレベルに達したのは、ここ15年と言われている。BNCTの臨床応用発展の障害となってきたのは、大きく分けて中性子の問題とホウ素の問題の二つが考えられる。まず、中性子源、すなわち中性子をどうやって作り出すかという問題がある。これまでのところ、原子力発電所と同様にウランを原料とする原子炉を中性子源として活用してきた。一般病院での治療を考慮すると、原子炉を病院に設置するのは困難である。しかし近年、加速器を用いた機械で中性子を発生させることができる加速器中性子源が完成し、現在医療認可を受けるべく治験中であり、この問題は解消されようとしている。一方、腫瘍の細胞内

へ特異的にホウ素を取り込ませる技術はまだ完成しておらず、この解決がBNCTの発展に非常に重要である。臨床研究で用いられているホウ素製剤は、フェニルアラニンというアミノ酸との化合物（BPA）と、12個のホウ素原子を籠型に結合した化合物（BSH）の二つがある（図）。BPAはアミノ酸の取り込みの高い腫瘍細胞へ取り込まれるが、正常細胞へも取り込みがある。ところが、BSHは異分子内に多くのホウ素原子を含有しているが、細胞内への取り込み能がない。本研究は、ペプチドを用いた細胞内取り込み機能を有するBSHを作成した研究結果である。

研究成果の内容

1. ホウ素ペプチドの作成

細胞膜通過ペプチドとして、11個のアルギニン（Arg：R）からなる11Rペプチドを用いた。この11Rは、エンドサイトーシスにより細胞内へと導入される。また1分子内のホウ素濃度を高めるために、アミド基を二つ有するリジンを用いて、樹状型の分子を作成し、1分子内に8個のBSHを結合させることに成功した。

2. ホウ素ペプチドの細胞内導入

ヒト膠芽腫細胞（U87deltaEGFR）を用いて、*in vitro*条件下にてホウ素抗体にて免疫組織染色を行った。

BSH投与群においては、細胞内にホウ素は全く観察されなかった。一方、今回作成した細胞膜通過ペプチドを結合させたホウ素ペプチドは、投与後1時間にて、細胞内に導入されさらに細胞質内に存在することが確認された。その後3時間、6時間と時間経過に伴い、核へと局在が推移した。この効果は、24時間経過しても継続していた。また、誘導結合プラズマ（ICP）を用いて細胞内導入されたホウ素濃度を測定したところ、投与後2時間でホウ素濃度はほぼピークに達し、その後24時間経過でも同じ濃度を維持していた。さらに、BSHの細胞内導入による細胞毒性の検討を行ったところ、ホウ素ペプチドの細胞毒性は認めなかった（図）。

3. マウス脳腫瘍モデルでのホウ素ペプチドの局在

ヒト膠芽腫細胞（U87deltaEGFR）をヌードマウス大脳半球に移植し、脳腫瘍モデル作成後、マウス尾静脈より、ホウ素ペプチドの投与を行った。投与6時間にて、脳腫瘍部に一致してホウ素ペプチドの腫瘍組織内取り込み及び腫瘍細胞内取り込みが免疫染色にて確認された。さらに24時間においても腫瘍内部への取り込みは継続している一方、正常組織への取り込みはほとんど見られなかった。腫瘍部への取り込みはEPR効果によるものと思われ、正常脳は血液脳関門に守られているために導入されていないと考えられた。

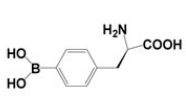
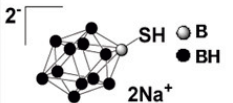
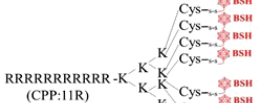
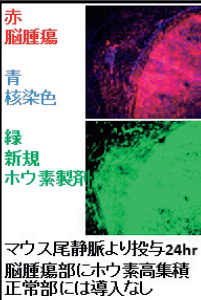
	臨床試験で用いられているホウ素薬剤		今回の新規ホウ素薬剤	
	 ホウ素フェニルアラニン (BPA)	 ドデカボランチオール (BSH)	 8BSH-peptide (特願2011-230059) (BSH-Cys) ₈ -K7-11R	
腫瘍集積性	能動的取り込み	EPR効果	EPR効果	
正常脳集積性	あり (BBB通過可)	ほぼなし (BBB通過不可)	なし	
腫瘍細胞内部への取り込み	あり	なし	あり	
薬物動態イメージング法	あり (¹⁸ F-PET PET)	なし	現在作成中 (特願2014-144412)	

図 代表的ホウ素製剤と今回のホウ素製剤について

4. ホウ素ペプチド導入悪性脳腫瘍細胞の中性子照射による効果

大阪府泉南郡の京都大学原子炉実験所にて BSH およびホウ素ペプチド (BSH ペプチド) 投与後に, 原子炉 1 MW にて運転中30分間の中性子照射を行った. 照射後, WST-1 細胞増殖アッセイおよびコロニーフォーメーションアッセイにて細胞増殖抑制効果について検討したところ, ホウ素ペプチド投与群にて, コントロール群と比較し100倍以上の細胞殺傷効果を示した.

研究成果の意義

ホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) において, 新規のホウ素製剤の開発は, 今後の臨床応用の発展, さらにがん根治療法としての展開において, 不可欠な要素である. BNCT は, 粒子線治療のひとつとして位置付けられているが, 治療期間がほぼ1日で終了し, 正常細胞に殆ど害を与えないことより, 次世代の新規治療法になる可能性が高い. 中性子照射とホウ素投与との二つの組み合わせにより成立する BNCT は, 腫瘍細胞にホウ素を特異的に導入させることが必須である. これまでに, アミノ酸取り込み能の高い腫瘍細胞に取り込まれるホウ素フェニルアラニン (BPA) の開発が行われてきており, 一定の効果を得ているが, 腫瘍組織においてはがん幹細胞といった, 増殖能の低い細胞の存在が指摘されており, 腫瘍再発の原因とされている. 本研究により生まれたホウ素ペプチドはこれまでのホウ素製剤と異なり, 様々な腫瘍細胞への導入能を有する. 岡山大学オリジナルの製剤であり, 既に特許 (「細胞透過型ホウ素ペプチド」特願2011-230059) を取得し

ている. 以上より今後の臨床研究への応用が期待される研究結果である.

今後の展開ならびに展望

今回のホウ素ペプチドと呼ばれる, BNCT 臨床研究へ応用可能なホウ素製剤に関する研究結果は, がん患者にとって, 治療効果と治療満足度および費用対効果などのすべてを満たす次世代の粒子線治療法 BNCT として, 最も期待される. また, ホウ素ペプチドの薬物動態評価を行うための PET イメージング用のプローブの作成に成功し, 現在特許取得済みである (特願 2014-144412). これにより, ホウ素ペプチドの臨床応用への展開が容易になると考える.

今後, 岡山大学発のオリジナルのホウ素製剤を使って, BNCT の臨床応用できる日も近いと考え, 本研究は大いに貢献できると考えられる.

謝 辞

本研究は, 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科細胞生理学 松井秀樹教授を始め, 研究室の皆様, 近畿大学理工学部 北松瑞生先生, 京都大学原子炉実験所 小野公二教授・櫻井良憲先生・近藤夏子先生, 大阪医科大学脳神経外科 宮武伸一先生・川端信司先生をはじめ多くの方々のご指導・ご協力を得て完遂することができました. 厚く御礼申し上げます.

平成27年1月受理
〒700-8558 岡山市北区鹿田町 2-5-1
電話: 086-235-7105 FAX: 086-235-7111
E-mail: hmichiue@md.okayama-u.ac.jp