

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 元年 6 月 21 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16419

研究課題名（和文）治療効果向上と適応拡大を目指したBNCT用ナノ粒子

研究課題名（英文）The nanoparticles for BNCT aiming at the improvement of effectiveness and the expansion of adaptation

研究代表者

石田 俊樹 (Ishida, Toshiki)

筑波大学・附属病院・医員

研究者番号：80795716

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000 円

研究成果の概要（和文）：ホウ素中性子捕捉療法(BNCT)は、ホウ素と中性子の核反応を用いた放射線治療である。ホウ素は、ホウ素化合物として体内に投与されるが、この化合物の腫瘍への集積は必ずしも高くない。腫瘍内に¹⁰Bを集積させる高分子材料として、ポリエチレングリコール(PEG)とポリ乳酸からなるブロック共重合体(PEG-b-PLA)を合成し、そのPEGの末端にフェニルボロン酸(PBA)を導入した。得られた高分子(PBA-PEG-b-PLA)は、優れた安定性と、がん細胞を選択的に認識することが確認された。ヒト乳がん細胞やマウスメラノーマ細胞を用いたin vitro集積能の評価では、細胞質へ集積することを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ドラッグデリバリーシステムを用いた安全性と有効性を併せ持つBNCT用ナノ粒子(BNP)を用いて、従来の治療対象の癌に対する既存のホウ素化合物への優位性を調べることやBNPの集積する新たな癌の探索を行うことで、BNCTの治療効果向上と適応拡大が期待できる。新規BNPの開発はBNCTが今後新たな放射線治療として世間的に広く普及していく為の基礎的研究として不可欠と考えられる。

研究成果の概要（英文）：Boron Neutron Capture Therapy (BNCT) is radiation treatment using a nuclear reaction between boron and neutrons. Although Boron is administered into the body as a boron compound, the accumulation of this compound in the tumor is not necessarily high. A block copolymer (PEG-b-PLA) consisting of polyethylene glycol (PEG) and polylactic acid is synthesized as a polymeric material that accumulates ¹⁰B in a tumor, and phenylboronic acid (PBA) is introduced at the end of the PEG. The obtained polymer (PBA-PEG-b-PLA) was confirmed to have excellent stability and to selectively recognize cancer cells. Evaluation of in vitro accumulation ability using human breast cancer cells and mouse melanoma cells confirmed accumulation in the cytoplasm.

研究分野：放射線治療

キーワード：BNCT ナノ粒子

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ホウ素中性子捕捉療法(BNCT)は、ホウ素と中性子の核反応を用いた放射線治療である。ホウ素は、ホウ素化合物として体内に投与されるが、この化合物の腫瘍への集積は腎臓からの排出のため必ずしも高くない。

今後、基礎研究と臨床研究において、安全性と有効性を併せ持つホウ素化合物が期待される。

2. 研究の目的

ドラッグデリバリーシステムを用いた安全性と有効性を併せ持つ BNCT 用ナノ粒子(BNP)を用いて、当研究では以下のことを明らかにする。

1. 従来の治療対象の癌に対する既存のホウ素化合物への優位性。
2. BNP の集積する新たな癌の探索。

3. 研究の方法

1. 従来の治療対象の癌に対する既存のホウ素化合物への優位性。

従来から BNCT の治療対象とされてきた癌の細胞である脳腫瘍(U87-MG)、頭頸部扁平上皮癌(SCC-VII)への抗腫瘍効果、炎症抑制効果を明らかにする。

In vitro:

培養液に BNP を投与し 18 時間後にプレートから細胞を回収し、各細胞の 10B 摂取率を ICP で測定する。比較対象群では、BPA、BSH を投与して同様の実験を行う。

In vivo:

.体内動態の評価を行う。

癌細胞をマウス(各癌腫 35 匹)の皮下に移植する。腫瘍径約 1cm の段階で、BNP 溶液を 2mg ホウ素/体重(kg)濃度に調整して尾静脈より投与する。投与 1、3、6、12、24、48、72 時間後に 5 匹ずつ解剖し、腫瘍を摘出し、血液を採取する。それぞれの単位重量当たりのホウ素濃度を ICP で測定し、ホウ素濃度の時間変化を測定する。腫瘍/血液ホウ素濃度比の最大値とその時間を決定する。最大腫瘍/血中濃度比を既報の BPA、BSH のデータと比較する。

.炎症抑制効果と抗腫瘍効果の評価を行う。

マウス(各癌腫 10 匹)に癌細胞を移植する。腫瘍径約 1cm の段階で、BNP 溶液を投与し、血中のホウ素濃度が 20ppm 以上になるよう調節する。中性子線を照射し、2 週間腫瘍径の変化を観察する。2 週間後に腫瘍を摘出し、アネキシン V を定量測定し、アポトーシスの程度を求める。同時に血液を採取し、白血球濃度、CRP 値を測定し、炎症反応の程度を評価する。同様の実験を BPA、BSH で行い、BPA、BSH に対して高い抗腫瘍効果や炎症抑制効果が得られるか明らかにする。

2. BNP の集積する新たな癌の探索。

今後 BNCT の対象になることが期待される癌細胞に対して BNP が集積するかどうかを明らかにする。使用する細胞は、今後 BNCT の対象になることが期待される乳癌(MDA-MB-231)、肝臓癌(HepG2)、膵臓癌(BxPC3)、前立腺癌(PC-3)、子宮頸癌(HeLa)とする。

In vitro:

平成 29 年度と同様の方法で各細胞のホウ素摂取率を ICP で測定する。

In vivo:

癌細胞をマウス(各癌 35 匹)の皮下に移植する。腫瘍径約 1cm の段階で、BNP 溶液を 2mg ホウ素/体重(kg)濃度に調整して尾静脈より投与する。投与 1、3、6、12、24、48、72 時間後に 5 匹ずつ解剖し、腫瘍を摘出し、血液を採取する。それぞれの単位重量当たりのホウ素濃度を ICP で測定し、時間濃度曲線を作成し、腫瘍/血液ホウ素濃度比の高い適切な投与時間を決定し、その時間での腫瘍/血液ホウ素濃度比を求める。従来から BNCT の治療対象とされてきた脳腫瘍や頭頸部扁平上皮癌を対象とした平成 29 年度の結果と比較して腫瘍/血液ホウ素濃度比が同等以上の癌がどれであるか明らかにする。

4. 研究成果

腫瘍内に 10B を集積させる高分子材料として、ポリエチレングリコール(PEG)とポリ乳酸からなるブロック共重合体(PEG-b-PLA)を合成し、その PEG の末端にフェニルボロン酸(PBA)を導入した。

得られた高分子(PBA-PEG-b-PLA)は水中で自己組織化により直径 100 nm 以下かつ単分散の高分子ミセルを形成し、親水性の PEG 鎖が表面を覆うコア-シェル構造をとり、負の表面電荷を示した。蛍光相関分光法(FCS)による血清中での安定性の評価実験では、血清タンパク質との相互作用が抑えられ、優れた安定性が確認された。

一方、この高分子ミセルは PEG 鎖の末端の PBA により、高分子ミセル自体がホウ素含有の BNCT 製剤になるのはもちろん、PBA のシアル酸への特異的親和性から、シアル酸高発現の転移性の高いがん細胞を選択的に認識するスマートな設計となっている。そのため、シアル酸を固定化したセンサーチップを用いた、表面プラズモン共鳴法 (SPR) による評価を通じて、高分子ミセルのシアル酸に対しての結合親和性を、分子レベルで確認することができた。

続いてヒト乳がん細胞やマウスメラノーマ細胞を用いた in vitro 集積能の評価では、細胞膜を効率的かつ迅速に認識し、細胞質へ集積することを確認した。

皮膚がんモデルマウスへの尾静脈投与の 48 時間後において、腫瘍組織の切片を観察した結果、高分子ミセルの腫瘍組織への優れた集積能が確認できたが、BNCT の適応である脳腫瘍や頭頸部扁平上皮癌以外の乳癌 (MDA-MB-231)、肝臓癌 (HepG2)、膵臓癌 (BxPC3)、前立腺癌 (PC-3)、子宮頸癌 (HeLa) を用いた比較は実施できなかった。

また、がんモデルマウスへ中性子線を照射し、アネキシン V、血球濃度、CRP 値を定量測定し、アポトーシスの程度や炎症反応の程度を評価したり、同様の実験を BPA、BSH で行い比較したりすることも、中性子照射施設の利用が実現困難であったことから実施できなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

石田 俊樹、放射線治療が奏功した Solitary fibrous tumor (SFT: 孤立性線維性腫瘍) の 1 例、第 15 回茨城放射線腫瘍研究会, 2018

石田 俊樹、放射線治療が奏功した孤立性線維性腫瘍の 1 例、日本放射線腫瘍学会第 31 回学術大会, 2018

石田 俊樹、Comparison of the dose distribution of PBT and IMRT for pediatric tumors in pelvic area., 2nd NTU-UT Radiation Oncology Joint Symposium, 2018

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

なし

6. 研究組織

なし

研究協力者

〔主たる渡航先の主たる海外共同研究者〕

研究協力者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

〔その他の研究協力者〕

研究協力者氏名:

ローマ字氏名:

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。