

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07705

研究課題名(和文) カーボンナノホーンを用いた新しいホウ素キャリアーの検討

研究課題名(英文) Study of new boron carriers using carbon nano horns

研究代表者

吉田 文代 (Yoshida, Fumiyo)

筑波大学・医学医療系・研究員

研究者番号：30261811

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)：カーボンナノホーン(CNH)は、直径2-5 nm、長さ40-50 nmのグラファイト1枚でできた擬円筒状物質である。ホウ素-カーボンナノホーン(BN-CNH)は、CNHの中にホウ素を内包、かつ外壁にも担持できるため、大量のホウ素を含有できる新しいホウ素化合物である。BN-CNHを用いて、培養細胞への取り込み実験、および中性子照射によるコロニー形成試験、マウス尾静脈投与、および局所投与による生体内ホウ素分布の測定を行なった。BN-CNHの効果は、ポジティブコントロールのBPAに比べ限定的であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

BN-CNHは全身投与の場合大半が脾臓にトラップされてしまい、局所投与では、拡散しないためむらが生じる等の問題がある。また、培養細胞を用いた中性子照射実験では、BPAに比べ1/5程度の効果しか得られなかった。そのためそのまま臨床に供することは難しいが、その一因としてホウ素源材料に¹⁰Bが1/5しか含まれないナチュラルボロンを使用していることが考えられる。ホウ素源として¹⁰Bを使用し、局所投与の方法を検討することにより、新しいホウ素薬剤となる可能性があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Carbon nanohorns (CNH) are pseudo-cylindrical materials made of a single piece of graphite with a diameter of 2-5 nm and a length of 40-50 nm. Boron-carbon nanohorns (BN-CNH) are nanoparticles that can be used as a new boron compound, containing a large amount of boron within CNH and also connected to the outer wall of the particles. To evaluate BN-CNH, boron uptake experiments using cell cultures, colony-forming assay after neutron irradiation, in vivo boron distribution after mouse tail vein and topical administration were performed. The effect of BN-CNH was limited compared to the positive control using BPA.

研究分野：放射線生物学

キーワード：BN-CNH BNCT カーボンナノホーン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

BNCT では、腫瘍に選択的に大量のホウ素化合物を集積させることが必須であり、そのため薬剤も数多く開発されてきたが、長年使い続けている *p*-boronophenylalanine(BPA), sodium borocaptate(BSH) に勝る薬剤はできていない。我々はホウ素薬剤を、内包および外壁に担持するカーボンナノホーン (BN-CN H) を、産総研のチームと共同開発した(1)。この化合物はホウ素を大量に担持することが可能であり、高い腫瘍集積性および低毒性が実現できれば、中性子捕捉療法の治療効果改善が期待できると考えられた。

2. 研究の目的

BN-CN H の腫瘍集積性、正常組織への影響、実際に BNCT を行った時の細胞障害性、正常組織への影響等を培養細胞、実験動物を用いて比較検討し、臨床応用への道を探ることを目的とした。

3. 研究の方法

マウス大腸癌細胞株 CT26 およびマウス脳腫瘍株 GL261 を 6 ウェルプレートにまき、培養液 2 mL に対し 200 μ L の BN-CN H (1 mg/mL、ホウ素濃度として 160 μ g/mL) を添加し、24 時間培養したのち湿式灰化してホウ素濃度を測定した。また GL261 担癌マウスに BN-CN H を尾静脈投与し、4 時間後、24 時間後に、脾臓、肝臓、腎臓、血液、肺、皮下腫瘍へのホウ素取り込みを測定した。

京大原子炉および東海加速器中性子源を用いて培養細胞に BNCT を行い、照射後コロニー形成試験を行なって、その効果を BPA と比較検討した。さらに BN-CN H に暴露した培養細胞を用いて PIXE/PIGE システムによるホウ素分布測定を試みた。

4. 研究成果

担がんマウスへの尾静脈注射による全身投与では、血栓等の障害は見られず、肺に集積することもなかったため、呼吸系への障害も見られなかった。しかし大半が脾臓にトラップされてしまうため(図 1)腫瘍に特異的に集積することは難しいと思われた。また腫瘍に直接注入する局所投与を試みたが、拡散しないため (data not shown)、ムラなく腫瘍全体に投与するにはなんらかの方法を構築する必要があると考えられる。

培養細胞による中性子照射実験を行ったところ、形成されたコロニーの数は、BN-CN H 添加群では照射のみの群に比べ、1/2-2/3 に減少したが、ポジティブコントロールとして用いた BPA 群では BN-CN H 群のさらに 1/5 であった(図 2)。BN-CN H はホウ素源としてナチュラルボロンを使用している。ナチュラルボロンは、B10 の含有量が全体の 1/5 であるため、ホウ素源と B10 を用いることができればより効果を上げることができると考えられる。また、24 時間暴露ののち、処理中および照射中も常に溶液中に BN-CN H が存在する群と、暴露ののち wash して BN-CN H を取り除いた群についても比較したがこの両者に差は見られなかった。

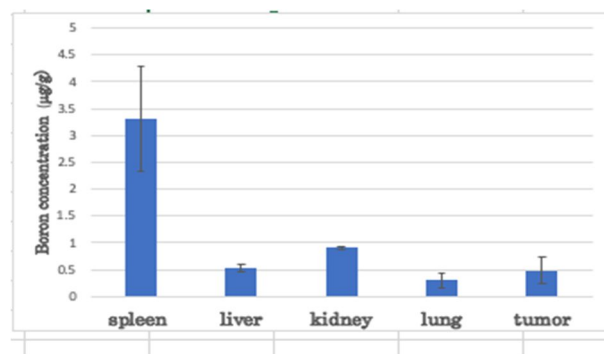


図 1 : 生体のホウ素取り込み (n = 5)

原液として 1 mg/mL、ホウ素濃度として 160 μ g/mL 以上に濃縮できない(粘度が上がってしまう)ため、あまり高濃度では使用できないが、一つ取り込めば大量のホウ素を細胞内に運ぶことができる、この薬剤の特性を示すものと考えられる。

以上の結果から、この薬剤は、そのまま臨床に使用することは難しいが、ホウ素源としてナチュラルボロンではなく B10 を使用する、局所投与の方法を工夫するなどの改善により、新しいホウ素キャリアーとして使用しうる可能性があると考えられる。

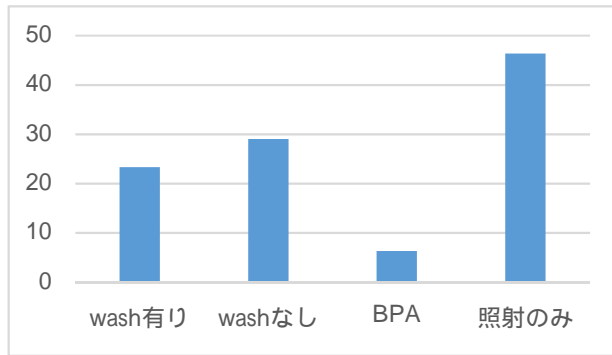


図2：コロニー形成試験
(使用細胞：CT26、縦軸：コロニー数)

参考文献

- (1) Yoko Iizumi, Toshiya Okazaki, Masaki Yudasaka et.al. Preparation and functionalization of boron nitride containing carbon nanohorns for boron neutron capture therapy, Carbon 93, 2015, 595-603

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

| | |
|---|-------------------------------|
| 1. 著者名 Shirakawa Makoto, Nakai Kei, Sato Yuhki, Nakamura Shunji, Harada Mari, Ishihara Kazuki, Yoshida Fumiyo, Matsumura Akira, Tomida Hisao | 4. 巻 169 |
| 2. 論文標題 Optimization of preparation methods for high loading content and high encapsulation efficiency of BSH into liposomes | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Applied Radiation and Isotopes | 6. 最初と最後の頁 109260 ~ 109260 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.apradiso.2020.109260 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------------|
| 1. 著者名 Nakai Kei, Endo Keita, Yoshida Fumiyo, Koka Masashi, Yamada Naoto, Satoh Takahiro, Tsurubuchi Takao, Matsumura Akira, Matsumoto Yoshitaka, Sakurai Hideyuki | 4. 巻 165 |
| 2. 論文標題 Boron analysis and imaging of cells with 2-hr BPA exposure by using micro-proton particle-induced gamma-ray emission (PIGE) | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Applied Radiation and Isotopes | 6. 最初と最後の頁 109334 ~ 109334 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.apradiso.2020.109334 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------------|
| 1. 著者名 Yoshida Fumiyo, Kurita Tadashi, Endo Keita, Nakai Kei, Shirakawa Makoto, Zaboronok Alexander, Tsurubuchi Takao, Ishikawa Eiichi, Matsumura Akira | 4. 巻 164 |
| 2. 論文標題 Difference in BPA uptake between glioma stem-like cells and their cancerous cells | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Applied Radiation and Isotopes | 6. 最初と最後の頁 109234 ~ 109234 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.apradiso.2020.109234 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Tsurubuchi Takao, Shirakawa Makoto, Kurosawa Wataru, Matsumoto Kayo, Ubagai Risa, Umishio Hiroshi, Suga Yasuyo, Yamazaki Junko, Arakawa Akihiro, Maruyama Yutaka, Seki Takuya, Shibui Yusuke, Yoshida Fumiyo, Zaboronok Alexander, Suzuki Minoru, Sakurai Yoshinori, Tanaka Hiroki, Nakai Kei, Ishikawa Eiichi, Matsumura Akira | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 Evaluation of a Novel Boron-Containing -d-Mannopyranoside for BNCT | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Cells | 6. 最初と最後の頁 1277 ~ 1277 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells9051277 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 Kei Nakai, Keita Endo, Fumiyo Yoshida, Masashi Koka, Naoto Yamada, Takahiro Satoh, Akira Matsumura |
| 2. 発表標題 Boron analysis and imaging of 2hr-BPA-exposed cells by using micro proton particle induced gamma-ray emission (PIGE). |
| 3. 学会等名 International Congress on Neutron Capture Therapy (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Alexander Zaboronok, Sergey Taskaev, Vladimir Kanygin, Timofei Bykov, Kazutaka Mitsuishi, Eisuke Sato, Kei Nakai, Takao Tsurubuchi, Fumiyo Yoshida, Eiichi Ishikawa, Bryan J. Mathis, Tetsuya Yamamoto, Akira Matsumura |
| 2. 発表標題 Hybrid gold and boron nanoparticles for treatment and boron dose estimation in boron neutron capture therapy for malignant glioma |
| 3. 学会等名 International Congress on Neutron Capture Therapy (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Fumiyo Yoshida, Tadashi Kurita, Keita Endo, Kei Nakai, Makoto Shirakawa, Alexander Zaboronok, Eiichi Ishikawa, Akira Matsumura |
| 2. 発表標題 Difference in BPA uptake between glioma stem cells and their cancerous cells |
| 3. 学会等名 International Congress on Neutron Capture Therapy (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 白川真、中井啓、吉田文代、大本拓実、重藤真希、亀川展幸、小林弘幸、竹内亮太、堀均、松村明、富田久夫 |
| 2. 発表標題 BNCT 応用を目指した新規薬剤PEG化ホウ素化合物の開発 |
| 3. 学会等名 第15回日本中性子捕捉療法学会学術大会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 中井啓、吉田文代、松村明、江夏正志、山田尚人、山縣諒平、佐藤隆博、松本孔貴、櫻井英幸 |
| 2. 発表標題 マイクロビームPIGEを用いた細胞内外ホウ素分布測定を試みNaI検出器とHPGe検出器の比較 |
| 3. 学会等名 第16回日本中性子捕捉療法学会学術大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|--|---|----|
| 研究分担者 | 中井 啓 (Nakai Kei) (50436284) | 筑波大学・医学医療系・准教授 (12102) | |
| 研究分担者 | 湯田坂 雅子 (Yudasaka Masako) (70159226) | 国立研究開発法人産業技術総合研究所・材料・化学領域・招聘研究員 (82626) | |
| 研究分担者 | 岡崎 俊也 (Okazaki Toshiya) (90314054) | 国立研究開発法人産業技術総合研究所・材料・化学領域・副研究センター長 (82626) | |
| 研究分担者 | 白川 真 (Shirakawa Makoto) (40707759) | 福山大学・薬学部・講師 (35409) | |
| 研究分担者 | ザボロノク アレクサンドル (Zaboronok Alexander) (20723117) | 筑波大学・医学医療系・助教 (12102) | |

6. 研究組織（つづき）

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------------------|---|--|----|
| 研究 分 担 者 | 鶴淵 隆夫 (Tsurubuchi Takao) (70778901) | 筑波大学・医学医療系・講師 (12102) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
| | |