

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：35409

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18409

研究課題名（和文）ホウ素中性子捕捉療法に用いる新規薬剤BAMPの性能評価

研究課題名（英文）Evaluation of a novel drug (BAMP) for Boron Neutron Capture Therapy

研究代表者

白川 真 (Shirakawa, Makoto)

福山大学・薬学部・講師

研究者番号：40707759

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：ホウ素中性子捕捉療法(BNCT)のための新規ホウ素薬剤(BAMP)の開発に成功した。BAMPは細胞実験において、現在臨床で用いられているホウ素薬剤(BPA)よりも低毒性であることが示唆された。また、動物実験において、BPAと同等の治療効果が得られ、その治療効果は用量依存的であることが確認された。さらに、BAMPは高水溶性であることからBPAと異なり投与量の増量が容易である。よって本研究により、BAMPがBNCTにとって、BPAに代わる新たなホウ素薬剤として期待できる成果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2020年3月に頭頸部癌を対象として、ホウ素中性子捕捉療法(BNCT)用中性子照射装置ニューキュアTMおよびBNCT用医薬品ステボロニン(BPA)が世界で初めて製造販売承認を取得した。今後は適応拡大のフェーズに至ると考えているが、臨床研究において脳腫瘍などでは再発例が多いことが知られている。BAMPは本研究においてBPAと同等以上の抗腫瘍効果を得ており、BNCTにおける第一選択薬として期待できる。さらに、現在までにステボロニンを用いたBNCTで癌の縮退が見られなかった患者や再発患者においても応用できる。

研究成果の概要（英文）：A novel boron agent (BAMP) for boron neutron capture therapy (BNCT) has been successfully developed, and in vitro experiments suggest that BAMP is less toxic than the boron compound currently used in clinical practice (BPA). In vivo experiments, BAMP showed a therapeutic effect comparable to that of BPA, and the therapeutic effect was confirmed to be dose-dependent. Furthermore, BAMP is highly water-soluble, and unlike BPA, its dosage can be easily increased. Therefore, this study shows that BAMP is a promising new boron drug for BNCT, being an alternative to BPA.

研究分野：脳神経外科学・放射線科学

キーワード：ホウ素中性子捕捉療法

### 1. 研究開始当初の背景

ホウ素中性子捕捉療法(BNCT)とは、中性子とホウ素の非放射性同位体( $^{10}\text{B}$ )の核反応を用いたハイブリッド治療法である。放射線治療の一種ではあるが、従来の放射線治療と異なり、正常細胞に損傷を与えにくい治療法である。これには二つの要素が挙げられる。

一つは中性子線とホウ素( $^{10}\text{B}$ )の各単体では生体にとって極めて毒性が低いこと。二つ目は、BNCTの原理である。BNCTは、低エネルギーの熱中性子線を腫瘍組織に照射し、予め腫瘍組織に取り込ませたホウ素( $^{10}\text{B}$ )化合物との核反応によって生成する飛程のきわめて短い $\alpha$ 線とリチウム核によって、選択的に腫瘍細胞のみに障害を与えることができる (Fig. 1)。

BNCTは、浸潤部位の切除が難しく再発率の高い脳腫瘍において、既存治療と比べて高い治療効果を得る可能性を持っている。そこで、悪性グリオーマはBNCT研究の初期から対象疾患として期待されており、1950年代から現在まで計数百例の臨床報告がある。本邦の最近の生存期間をエンドポイントとした臨床研究では、少なくとも標準治療の2倍程度の生存期間を示しているものの、効果は限定的であり、再発例も多い (Appl. Radiat. Isot., 67, S25-26, 2009)。

上記は中性子線源として研究用原子炉を用いており、医療としての普及は困難であった。しかしながら近年、原子炉に代わる新型の医療用加速器が中性子線源として開発され、2017年より頭頸部癌や悪性黒色腫を対象疾患とした治験が国内複数施設で開始された。今後適応拡大が期待される一方で、ホウ素薬剤は含 $^{10}\text{B}$ アミノ酸BPA (*p*-boronophenylalanine)が開発されて以降も過去40年以上にわたり研究探索されているが、臨床応用に至った化合物は存在しない。

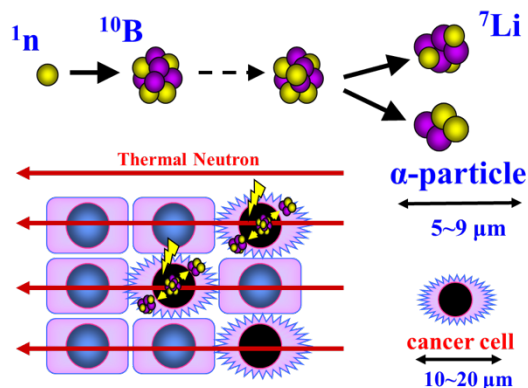


Fig.1) Principle of BNCT  
 $^{10}\text{B} + ^1_0\text{n}(\text{中性子}) \rightarrow ^7\text{Li} + \alpha\text{線} + 2.79\text{MeV}$

### 2. 研究の目的

現在、臨床研究において唯一のホウ素薬剤であるBPAは、がんの対象部位によっては優れた治療効果が得られているものの、再発例も多く、腫瘍組織の根治には至っていない現状がある (Clin. Cancer Res., 3987-4002, 2005)。

そこで、申請者は新たなホウ素薬剤としてBAMP (Boron Attached Multi-arm PEG)を合成した (Fig. 2)。本研究は、BAMPがBNCTにおいてBPAに代わる有効な薬剤となり得るのか、悪性グリオーマに応用できるのか否かについて検討する。具体的には、BAMPの腫瘍細胞および正常細胞に対する影響など *in vitro* における検討とともに *in vivo* での薬物動態およびBNCTによる治療効果の評価を目的とする。

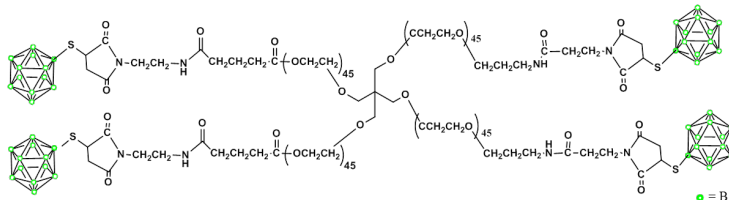


Fig.2) Structure of BAMP (Boron Attached Multi-arm PEG)

### 3. 研究の方法

#### (1) *in vitro* における各細胞種への影響

BAMPを腫瘍細胞 (マウス大腸癌細胞: CT26) に投与し、その取り込みをBPAおよびBSH (Mercaptoundecahydrododecaborate)と比較した上で、細胞毒性を確認した。また、正常様細胞 (チャイニーズハムスター肺由来線維芽細胞: V79 374A)に投与し、 $\text{IC}_{50}$  (50%阻害濃度)を測定することで、BAMPの適正投与量を検討した。

#### (2) *in vivo* における薬物動態

担癌マウスモデルにBAMPを尾静注し、主要臓器・血液および腫瘍組織への分布を、経時的にICP-AES (高周波誘導結合プラズマ発光分光分析装置)を用いて測定した。この結果より、血中滞留性および腫瘍組織に対する選択性の評価を行い、分子設計とその機能 (血中滞留性、腫瘍組織への集積)との相関を明らかにした。

#### (3) BNCTによる治療効果の確認

担癌モデルマウスにBAMPを投与後、中性子線照射を行うことで、BNCTによる抗腫瘍効果を評価した。また、照射後の経時的な体重測定によって放射線障害の評価を行うとともに、組織標本 (HE染色)によって、退縮した腫瘍組織の観察と組織障害の有無を確認した。

#### 4. 研究成果

##### (1) *in vitro* における各細胞種への影響

###### ①CT26 細胞に対する $^{10}\text{BPA}$ , BSH, BAMP の殺細胞効果

CT26 に対する BAMP 曝露群では、測定範囲内において細胞生存率が低下することがなく、 $\text{IC}_{50}$  を求めることができなかった(Fig. 3)。したがって、中性子線照射前に投与した BAMP が CT26 に対して殺細胞効果を有さないことが示唆された。また、比較として用いた BPA は  $\text{IC}_{50}$  が  $4626 (\pm 1.29)\text{ppm}$  であり、高濃度領域で殺細胞効果を有することが明らかとなった。

###### ②V79 374A 細胞に対する $^{10}\text{BPA}$ , BSH, BAMP の毒性確認

V79 374A 細胞に対する BAMP 曝露群の  $\text{IC}_{50}$  は  $8567 (\pm 1.16)\text{ppm}$  であり、BPA よりも低毒性であることが示唆された (Fig. 3)。

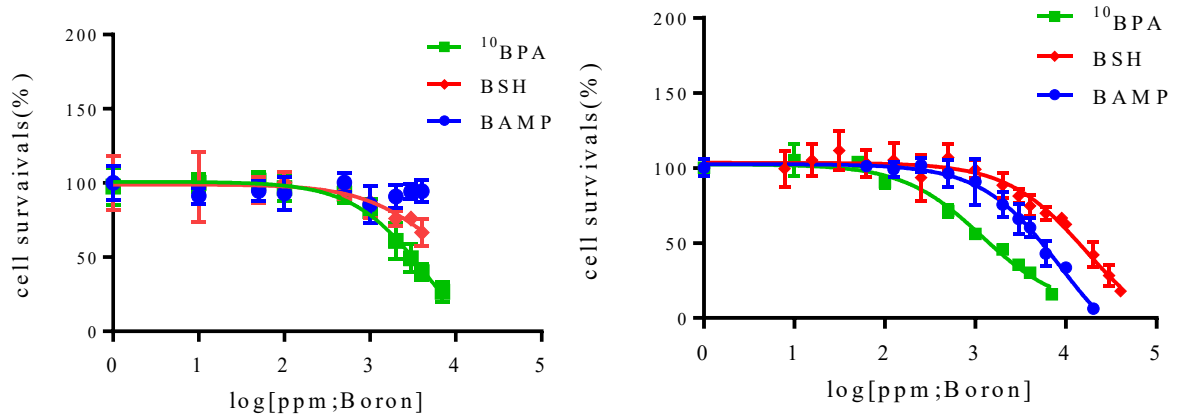


Fig. 3) ホウ素化合物曝露による細胞生存率 (左) CT26 (右) V79 374A

##### (2) *in vivo* における薬物動態

全臓器・組織の中で腎臓に最も集積し、脳、皮膚組織、筋組織には全く集積していないことが確認された (Fig. 4)。また、腫瘍では 0.25~48 時間において、 $^{10}\text{B}$  濃度がほぼ一定であることが確認された。

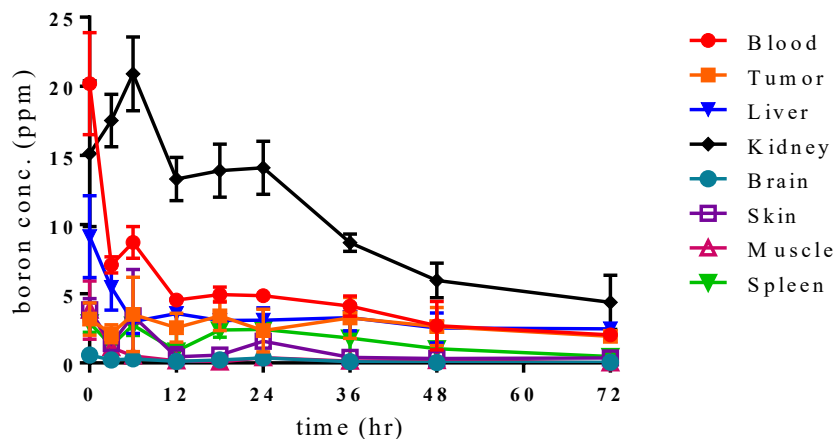


Fig. 4) 各臓器・組織当たりのホウ素( $^{10}\text{B}$ )濃度の経時的変化

腫瘍/血液比 (T/B ratio) は、48 時間で最大値 ( $1.65 \pm 2.0$ ) であったが、測定時間内において、理想的条件 ( $> 3$ ) を達成できなかった。腫瘍/正常組織比 (T/N ratio) は、6 時間以降で理想的条件 ( $> 3$ ) を達成した (Table. 1)。

Table 1) 各時間における T/B ratio および T/N ratio

Time (hour)	0.25	6	24	36	48	72
T/B ratio $\pm$ S.D.	$0.16 \pm 0.072$	$0.42 \pm 0.35$	$0.50 \pm 0.35$	$0.77 \pm 0.25$	$1.65 \pm 2.0$	$0.94 \pm 0.20$
T/N ratio $\pm$ S.D.	$1.2 \pm 1.1$	$10 \pm 11$	$6.4 \pm 1.9$	$16 \pm 10$	$78 \pm 111$	-

(3) BNCTによる治療効果の確認

BAMP 投与群は、BPA10mg<sup>10</sup>B/kg 投与群や薬剤非投与群(irradiation only)、無治療群(no treatment)と比較して有意な抗腫瘍効果が確認された (Fig.5)。また、BAMP24mg<sup>10</sup>B/kg 投与群と、BAMP10mg<sup>10</sup>B/kg 投与群による用量依存的抗腫瘍効果の解析を行った結果、BAMP24mg<sup>10</sup>B/kg 投与群において有意な抗腫瘍効果が確認された (p=0.0481) (Fig. 6)。

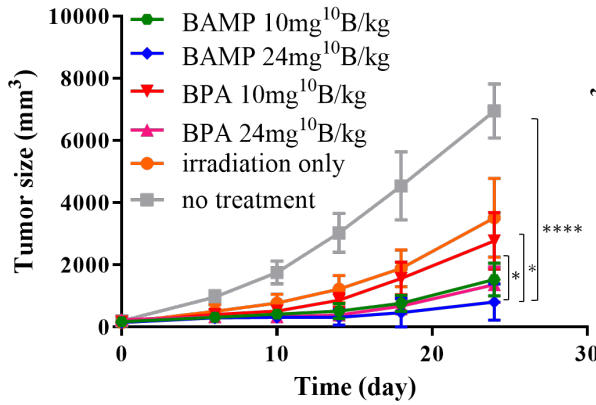


Fig. 5) BNCTによる抗腫瘍効果

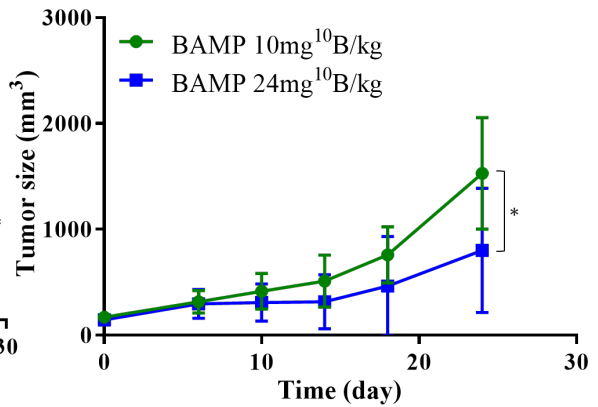


Fig.6) BAMP 投与量の違いによる抗腫瘍効果

BAMP 投与群は各組織に蓄積したホウ素と中性子線が核反応を起こすことで放射線障害が起こる可能性のある全身照射であったが、腫瘍部位のみを照射したコントロール群と比較しても顕著な体重減少は、見られなかった(Fig. 7)。

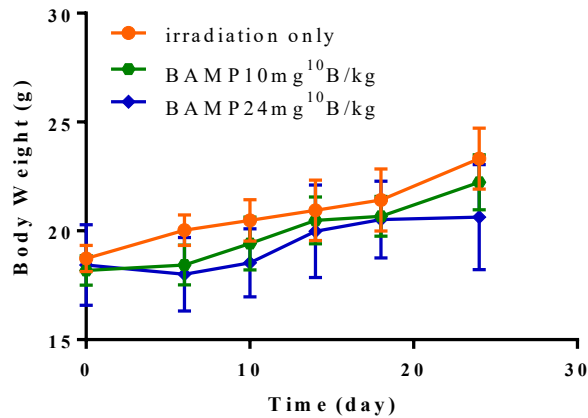
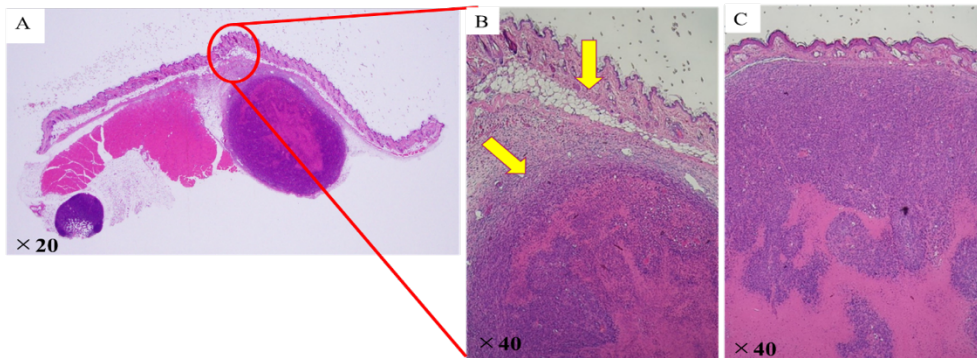


Fig.7) BAMP 投与群における体重変化

BAMP 投与群は、無治療群(no treatment)と比較して、明らかに腫瘍の縮小が観察された。さらに、その拡大画像では腫瘍の退縮跡も観察され、皮下組織が障害されていないことも確認された。また、染色画像からは腎臓や肝臓への中性子線照射による放射線障害は観察されなかった(Fig. 8)。



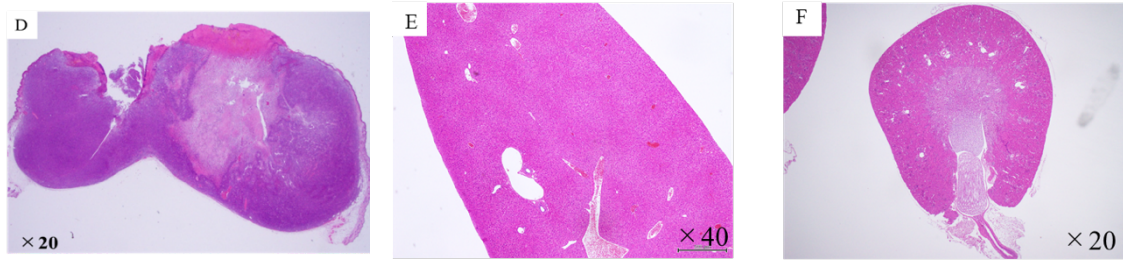


Fig. 8) 各組織の HE 染色画像

- (A) BAMP 投与後に中性子線照射を行なったマウスの腫瘍組織
- (B) HE 染色画像(A)の拡大画像
- (C) 2 時間中性子線照射を行なったマウスの腫瘍組織
- (D) 無治療群(no treatment)の腫瘍組織
- (E) BAMP 投与後に中性子線照射を行なったマウスの肝臓
- (F) BAMP 投与後に中性子線照射を行なったマウスの腎臓

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 M. Shirakawa, N. Kamegawa, R. Takeuchi, K. Nakai, F. Yoshida, T. Tsurubuchi, T. Takata, M. Suzuki, A. Matsumura and H. Hori	4. 巻 2019
2. 論文標題 Experiment on the Anti-tumor Effect of Pegylated BSH by Thermal Neutron Irradiation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 KURNS PROGRESS REPORT	6. 最初と最後の頁 32
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 M. Shirakawa, K. Nakai, Y. Sato, S. Nakamura, M. Harada, K. Ishihara, F. Yoshida, A. Matsumura, and H. Tomida	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
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 M. Shirakawa, A. Zaboronok, K. Nakai, Y. Sato, S. Kayaki, T. Sakai, T. Tsurubuchi, F. Yoshida, T. Nishiyama, M. Suzuki, H. Tomida and A. Matsumura	4. 巻 10(12)
2. 論文標題 A Novel Boron Lipid to Modify Liposomal Surfaces for Boron Neutron Capture Therapy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 cells	6. 最初と最後の頁 3421
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cells10123421	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 M. Shirakawa, A. Okuda, A. Zaboronok, Y. Sato, A. Shigenaga, N. Kamegawa, R. Takeuchi, H. Hori and M. Sugiyama	4. 巻 2020
2. 論文標題 Synthesis of a Novel Boron Compound with Potential Peptide-Related Nuclear Import	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 KURNS PROGRESS REPORT	6. 最初と最後の頁 198
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -



1. 著者名 M. Shirakawa, Y. Sato, N. Kamegawa, R. Takeuchi, K. Nakai, A. Zaboronok, F. Yoshida, T. Tsurubuchi, T. Takata, M. Suzuki, A. Matsumura and H. Hori	4. 巻 2020
2. 論文標題 Experiment on BNCR Effect of a Novel BPA Formulation using Ionic Liquid by Thermal Neutron Irradiation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 KURNS PROGRESS REPORT	6. 最初と最後の頁 188
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 M. Shirakawa, K. Nakai, F. Yoshida, M. Suzuki, T. Takata, A. Matsumura and H. Tomida	4. 巻 2018
2. 論文標題 Experiment on the Therapeutic Effect of Doxorubicin-Encapsulated Boron Liposome by Thermal Neutron Irradiation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 KURNS PROGRESS REPORT	6. 最初と最後の頁 55
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 海渡遥菜、有田はるか、亀川展幸、竹内亮太、堀均、本田真知子、今重之、佐藤雄己、白川真
2. 発表標題 BNCT用ホウ素薬剤BAMPによる治療効果の解析
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 M. Shirakawa, T. Sakai, R. Terada, M. Sameshima, S. Kayaki, T. Nakano, S. Kawakami, N. Kamegawa, R. Takeuchi, H. Hori, M. Suzuki, A. Matsumura and Y. Sato
2. 発表標題 Evaluation of efficacy and safety for novel boron compound (BAMP)
3. 学会等名 VET*BNCTシンポジウム「ホウ素中性子捕捉療法 of 獣医学分野への適応拡大に向けて-取り組むべき課題と異分野融合研究の可能性-」
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 白川真、中井啓、大本拓実、重藤真希、吉田文代、竹内亮太、鈴木実、堀 均、松村明
2. 発表標題 新規薬剤PEG化ホウ素化合物(BAMP)のBNCT応用に向けた治療効果の評価
3. 学会等名 第16回日本中性子捕捉療法学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 M. Shirakawa, K. Nakai, F. Yoshida, T. Omoto, M. Shigeto, R. Takeuchi, H. Hori, Y. Sakurai, M. Suzuki and A. Matsumura
2. 発表標題 Development of novel boron cluster conjugated PEG derivative for BNCT
3. 学会等名 10th young researcher 's Boron Neutron Capture Therapy ( 国際学会 )
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大本拓実、重藤真希、鮫島未森、亀川展幸、竹内亮太、堀均、中井啓、松村明、佐藤雄己、白川真
2. 発表標題 新規ホウ素化合物(BAMP)の臨床応用に向けたin vitroおよびin vivo評価
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 白川真、中井啓、大本拓実、重藤真希、吉田文代、亀川展幸、竹内亮太、堀 均、鈴木実、松村明
2. 発表標題 ホウ素中性子捕捉療法をがん標準治療とするための薬剤開発
3. 学会等名 第58回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 白川真、中井啓、大本拓実、重藤真希、吉田文代、亀川展幸、竹内亮太、堀 均、鈴木実、松村明
2. 発表標題 ホウ素中性子捕捉療法をがん標準治療とするための薬剤開発
3. 学会等名 第58回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 M. Shirakawa, Y. Sato, T. Sakai, R. Terada, M. Sameshima, N. Kamegawa, R. Takeuchi, K. Nakai, A. Zaboronok, T. Tsurubuchi, F. Yoshida, H. Kumada, T. Sakae, M. Suzuki, H. Horii and A. Matsumura
2. 発表標題 Evaluation of novel boron cluster conjugated PEG derivative for BNCT
3. 学会等名 19th International Congress of Neutron Capture Therapy (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 白川真、佐藤雄己、重永章、中井啓、熊田博明、榮武二、松村明、鈴木実、竹内亮太、堀均
2. 発表標題 ホウ素中性子捕捉療法(BNCT)のための新規薬剤の合成と評価
3. 学会等名 第60回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 PEG化ホウ素クラスター化合物およびPEG化ホウ素クラスター化合物を含む抗腫瘍剤、およびPEG化ホウ素クラスター化合物を含む増感剤	発明者 白川真、富田久夫、 竹内亮太、堀均	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、JPWO2020040296A1	取得年 2021年	国内・外国の別 国内

〔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
研究協力者	松村 明  (Matsumura Akira)  (90241819)	筑波大学・医学医療系・教授    (12102)	
研究協力者	鈴木 実  (Suzuki Minoru)  (00319724)	京都大学・複合原子力科学研究所・教授    (14301)	
研究協力者	熊田 博明  (Kumada Hiroaki)  (30354913)	筑波大学・陽子線センター・准教授    (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