

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K05755

研究課題名(和文) グルコース輸送体を標的とするBNCT用ホウ素クラスターキャリア分子の創製

研究課題名(英文) Development of carrier molecule targeted GLUT

研究代表者

田中 智博 (Tanaka, Tomohiro)

岡山大学・医歯薬学域・准教授

研究者番号：20711667

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題ではBNCTの薬剤として用いられているBSHを細胞内に送達する技術の開発を行った。当初の計画では、GLUTを介した取り込みを誘導するキャリア分子を開発するつもりだったが、BSHをカチオン性ポリマーと混合することでナノ粒子が形成される事を見出した。そのため、本研究課題ではこのナノ粒子について精査することとした。本ナノ粒子の細胞毒性および細胞膜透過性を評価したところ、BSH単独と比べて大幅に膜透過性が向上する事を明らかとした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

BSHは構造中に複数のホウ素原子を有している事からBNCT用薬剤として有用であるにもかかわらず、その細胞膜透過性の低さからあまり使用されていない。本研究結果によってカチオン性ポリマーを混合するだけで、BSHの欠点である膜透過性を改善できたという点は今後のBNCT研究に大きく貢献するものである。

研究成果の概要(英文)：In this research, we developed a technology to deliver BSH, which is used as a BNCT drug, into cells. The original plan was to develop carrier molecules that induce GLUT-mediated uptake, but we found that nanoparticles could be formed by mixing BSH with cationic polymers. Therefore, we decided to focus on these nanoparticles. When the cytotoxicity and cell membrane permeability of this nanoparticle were evaluated, it was revealed that the membrane permeability was significantly improved compared to BSH alone.

研究分野：生物有機化学

キーワード：ホウ素中性子線捕捉療法 BSH キャリア分子

1. 研究開始当初の背景

放射線療法は、標準治療では治療困難な悪性腫瘍の治療を可能にするため、治癒後の患者の機能保存、社会復帰などの生活の質 (QOL: quality of life) の観点からその重要性が増している。近年、これまで治療困難であった浸潤性がんや多発性がんなどの治療法として新たな放射線治療である BNCT が期待されている。¹⁰B 原子にエネルギーの低い熱中性子を照射すると、核分裂反応が進行し、⁷Li と ⁴He 原子核(線)が発生する(図1)。

これらの粒子の飛行距離はそれぞれ 4 μm と 9 μm と非常に短いため、ホウ素化合物を取り込んだ細胞だけを破壊することが期待される。また、¹⁰B 原子は人の体内に存在しないことから ¹⁰B 薬剤の存在しない組織への影響は非常に低いと考えられる。これらの機構をがん治療に応用したものが BNCT である。しかしながら、本機構において線による細胞破壊は非選択的なので、薬剤が正常組織に移行している場合には副作用を引き起こす事が懸念される。そのため、副作用の少ない理想的な BNCT の実現にとって ¹⁰B 化合物を如何にしてがん組織へ集積させるかが鍵となる。現在、臨床において ¹⁰B 化合物としてボロノフェニルアラニン(BPA)およびメルカプトドデカボレート Na 塩(BSH)が使用されている。中でも、BPA はがん細胞に多く発現するアミノ酸輸送体を標的とした薬剤で脳腫瘍や悪性黒色腫等の腫瘍に対して有効性が確認されており、2020 年には日本でも臨床薬として認可されている。しかしながら、これらの薬剤は治療に際し、大量の薬剤が必要になる点、腫瘍滞留性が低い点、有効ながん種に限られる点など未だ多くの改善点を抱えている。そのため、現在では BNCT の副作用の更なる減弱およびその適用拡大のための新たな ¹⁰B 薬剤の創製が希求されている。臨床で有用な ¹⁰B 薬剤に求められる条件として以下の三点が挙げられる。すなわち、低濃度で BNCT に十分ながん細胞取り込み量(腫瘍組織内 ¹⁰B 濃度 > 25 μg/g)を示す、高い腫瘍/正常細胞(T/N)比を示す(3 以上)、どのようながん種に対しても有効であることが求められる。これまでに低分子から高分子に至るまで様々な ¹⁰B 薬剤が開発されているが、これらの薬剤においても上記の全ての条件を満たしているとは言い難いのが現状である。

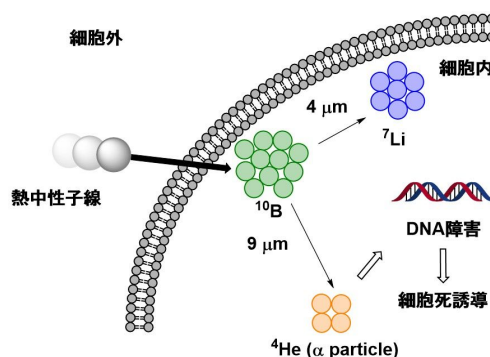


図1 BNCT の原理

2. 研究の目的

本研究課題では ¹⁰B 化合物をがん細胞に集積させるための戦略の一つとして、既に臨床応用されている BSH をがん細胞に選択的に送達するキャリア分子の開発を目的とする。これまでに報告されている BNCT 用薬剤の多くは標的指向性のある化合物に ¹⁰B から構成されている官能基を導入した化合物がほとんどである。しかしながら、これらの化合物は含ホウ素官能基(ボロン酸やホウ素クラスターなど)の物性のために合成が困難であり、先述の BPA 及び BSH 以外の ¹⁰B 化合物が臨床に用いられたことは皆無である。そこで、本研究課題では既に市販されている ¹⁰B 化合物である BSH を配位結合によって捕捉し、がん細胞へと運ぶ新たなキャリア分子の創製を試みる。このことによって、上記のような合成の困難さを解消できるはずである。

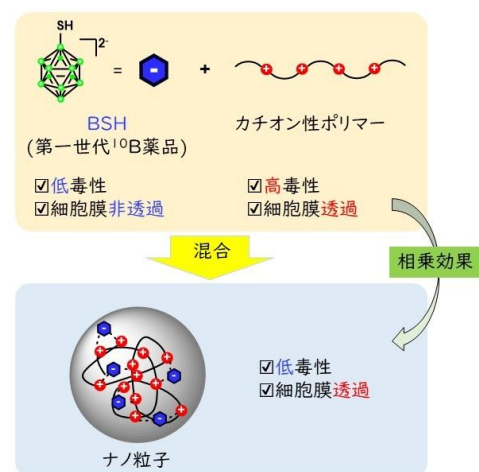


図2 BSH/CP ナノ粒子の特徴

3. 研究の方法

当初の計画では、グルコースに亜鉛サイクレン錯体を導入したキャリア分子を設計、合成することで GLUT による ¹⁰B 化合物のがん細胞への送達が可能であると考えていた。しかしながら、我々は本研究を通して負電荷を有する BSH がカチオン性ポリマー(CP)と混合することにより、ナノ粒子を形成する事を偶発的に発見した。(図2)そのため、当初の計画を変更し、本ナノ粒子の物理化学的性状および生物活性について研究を遂行した。まず、BSH と代表的な CP であるポ

リエチレンイミン(PEI)やポリリジン(PLL)を水溶液中で混合した時の粒子径を動的光散乱(DLS)によって評価した。加えて、そのゼータ電位についても評価を行った。調製した粒子の毒性および細胞膜透過性はそれぞれ MTT アッセイおよび ICP-MS を用いた細胞内ホウ素濃度測定によって評価した。

4. 研究成果

PBS 中、BSH と PEI または PLL を種々の混合比で混合し、その粒子径を DLS により測定した。(図 3 a,b)その結果、PEI および PLL どちらの場合においてもその比率が上昇することで粒子径が小さくなる傾向が見られ、BSH/CP 比 = 1/4 の時に最も粒子径が小さくなり、20-30 nm になる事が見出された。続いて、その表面電荷(ゼータ電位)を測定したところ、PEI の比率が増大するにつれ、表面電荷は正に荷電していく事が示された。(図 3c)

これらのナノ粒子の細胞毒性の評価を行った結果、これらのナノ粒子では CP 単体と比べて細胞毒性が低下していることが明らかとなった。一般に、CP は単体で強力な毒性を示す事が知られているが、これは CP が細胞膜の負電荷と相互作用することで膜構造を破壊するためと考えられている。本ナノ粒子においては BSH との静電的相互作用により CP の正電荷減弱したため、毒性が低下したものと考えられる。(図 4a)また、HeLa-S3 細胞を用いた細胞内取り込み実験の結果から、BSH/PEI = 1/4 のからなるナノ粒子の取り込み量は BSH 単体と比較して 20 倍にも上昇することが明らかとなった。この取り込み機構を明らかにするため、細胞内取り込み経路を阻害する種々の薬剤(dynamin, β -Me-CyD)を用いた実験を行った。その結果、その取り込みはカベオラおよびクラスリン介在型エンドサイトーシスに加え、受動拡散によって生じていることが明らかとなった。(データ非公開)

以上のように、我々は本研究課題において当初の計画とは異なるものの BSH の細胞内取り込み量を飛躍的に向上させるキャリア分子を見出すことに成功した。今後は、ナノ粒子のがん細胞選択性を向上するために PEI や PLL にかん細胞標的ユニットを化学修飾した新たなキャリア分子を合成し、その機能を明らかにしていく予定である。

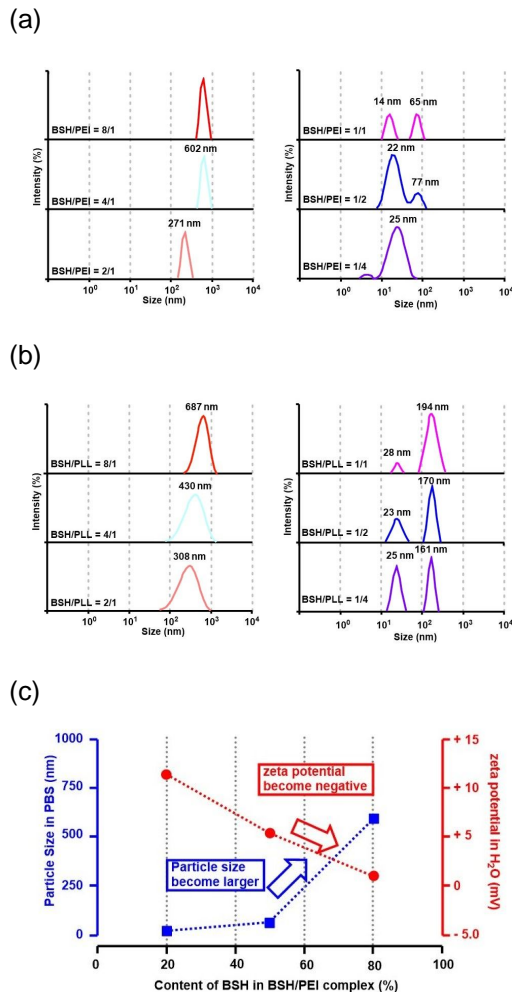


図 3 DLS による BSH/CA ナノ粒子の性状解析。(a) BSH/PEI ナノ粒子の分布図、(b) BSH/PLL 粒子の分布図、(c) BSH/PEI ナノ粒子の粒子径とゼータ電位

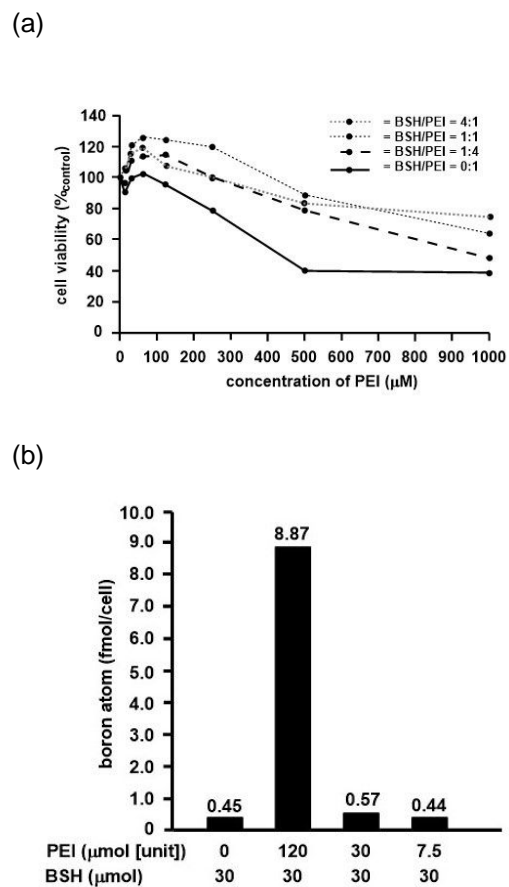


図 4 BSH/PEI ナノ粒子の(a) 細胞毒性および(b) 細胞内取り込み量。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5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 Ueda Hiroki, Suzuki Minoru, Sakurai Yoshinori, Tanaka Tomohiro, Aoki Shin	4. 巻 2022
2. 論文標題 Design, Synthesis and Biological Evaluation of Boron Containing Macrocyclic Polyamine Dimers and Their Zinc(II) Complexes for Boron Neutron Capture Therapy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 European Journal of Inorganic Chemistry	6. 最初と最後の頁 e202100949.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ejic.202100949	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 Ohashi H, Watashi K, Saso W, Shionoya K, Iwanami S, Hirokawa T, Shirai T, Kanaya S, Ito Y, Kim K-S, Nomura T, Suzuki T, Nishioka K, Ando S, Ejima K, Koizumi Y, Tanaka T, Aoki S, Kuramochi K, Suzuki T, Hashiguchi T, Maenaka K, Matano T, Muramatsu M, Saijo M, Aihara K, Iwami S, Takeda M, McKeating J A., Wakita T	4. 巻 24
2. 論文標題 Potential anti-COVID-19 agents, cepharanthine and nelfinavir, and their usage for combination treatment	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 102367 ~ 102367
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2021.102367	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 Ueda Hiroki, Suzuki Minoru, Kuroda Reiko, Tanaka Tomohiro, Aoki Shin	4. 巻 64
2. 論文標題 Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Boron-Containing Macrocyclic Polyamines and Their Zinc(II) Complexes for Boron Neutron Capture Therapy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 8523 ~ 8544
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jmedchem.1c00445	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 N. Kuwabara, R. Imae, H. Many, T. Tanaka, M. Mizuno, H. Tsumoto, M. Kanagawa, K. Kobayashi, T. Toda, T. Senda, T. Endo & R. Kato	4. 巻 11
2. 論文標題 Crystal structures of fukutin-related protein (FKRP), a ribitol-phosphate transferase related to muscular dystrophy.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 NAT COMMUN	6. 最初と最後の頁 なし
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 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 S. Aoki, A. B. Rahman, Y. Hisamatsu, Y. Miyazawa, M. Zulkefeli, Y. Saga, and Tomohiro Tanaka	4. 巻 3
2. 論文標題 Development of Metallosupramolecular Phosphatases Based on Combinatorial Self-Assembly of Metal Complexes and Organic Building Blocks for Catalytic Hydrolysis of Phosphate Monoesters	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Results in Chemistry (a joint special issue with Inorganica Chimica Acta)	6. 最初と最後の頁 100133-
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 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24件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 田中智博、上田大貴、鈴木実、櫻井良憲、上田真史、青木伸
2. 発表標題 ホウ素中性子線捕捉療法のための BSH/CPナノ粒子の開発
3. 学会等名 日本薬学会第143回年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Tomohiro Tanaka
2. 発表標題 Development of Nanoparticle Composed of BSH and Cationic Polymer for Boron Neutron Capture Therapy (BNCT)
3. 学会等名 icpac kota kinabalu 2022 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 上田大貴、田中智博、鈴木実、青木伸
2. 発表標題 ホウ素中性子捕捉療法のための新規ポリアミン誘導体の開発
3. 学会等名 第30回金属の関与する生体関連反応シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 内山 遥、田中 智博、大橋 啓史、塩野谷 果歩、渡士 幸一、倉持 幸司、秋本 康平、竹村 裕、岡本 実佳、外山 政明、馬場 昌範、青木 伸
2. 発表標題 情報科学及び機械工学と連携した抗SARS-CoV-2治療薬の設計及び合成
3. 学会等名 第65回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹中洋平、北畠和己、田中智博、青木伸、月本光俊
2. 発表標題 選択的セロトニン再取り込み阻害薬SSRIの抗炎症効果の解明
3. 学会等名 第65回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 芝内涼太、田中智博、青木伸
2. 発表標題 cis型アゾベンゼンを含むキラル大環状化合物の合成と異性化反応の検討
3. 学会等名 第65回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 上田大貴、田中智博、鈴木実、青木伸
2. 発表標題 Development of Boron-containing Macrocyclic Polyamines and Their Zn() Complexes for Boron Neutron Capture Therapy
3. 学会等名 錯体化学会第71回討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Masumi Hirose, Zhu Jun Jie, Chandrasekar Balacahndran, Tomohiro Tanaka, Yosuke Hisamatsu, Yasuyuki Yamada, Shin Aoki
2. 発表標題 Design and Synthesis of Poly(2,2' -bipyridyl) Ligands Directed toward Chelation Therapy of Cancer
3. 学会等名 International Research Network Initiative (IRNI) and 8th International Postgraduate Conference on Pharmaceutical Sciences 2021 (iPoPS2021)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kaho Shionoya, Masako Yamasaki, Shoya Iwanami, Yusuke Ito, Shuetsu Fukushi, Hirofumi Ohashi, Wakana Saso, Tomohiro Tanaka, Shin Aoki, Kouji Kuramochi, Shingo Iwami, Yoshimasa Takahashi, Tadaki Suzuki, Masamichi Muramatsu, Makoto Takeda, Takaji Wakita and Koichi Watashi
2. 発表標題 Mefloquine Has a Potent Antiviral Activity against Severe Acute Respiratory Syndrome Related Coronavirus 2
3. 学会等名 第68回日本ウイルス学会学術学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tomohiro Tanaka, Hiroki Ueda, Shin Aoki, Minoru Suzuki, Yoshinori Sakurai
2. 発表標題 Development of Nanoparticle Composed of BSH and Cationic Polymer for Boron Neutron Capture Therapy (BNCT)
3. 学会等名 13th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium (AIMECS 2021)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroki Ueda, Minoru Suzuki, Tomohiro Tanaka, Shin Aoki
2. 発表標題 Design, Synthesis, and BNCT (Boron Neutron Capture Therapy) Activity of Boron-Containing Macrocyclic Polyamines
3. 学会等名 13th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium (AIMECS 2021)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Haruka Uchiyama, Mayuka Nii, Tomohiro Tanaka, Kohei Akimoto, Hiroshi Takemura, Kaho Shionoya, Hirofumi Ohashi, Koichi Watashi, and Shin Aoki
2. 発表標題 Design, Synthesis, and Antiviral Activity of Anti-SARS-CoV-2 Agents in Interdisciplinary Research
3. 学会等名 2020/2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACICHEM2020/2021)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tomoe Morita, Tomohiro Tanaka, Kenta Yokoi, Hidetoshi Sato, Mika Okamoto, Masaaki Toyama, Masanori Baba, and Shin Aoki
2. 発表標題 Design, Synthesis, and Anti-SARS-CoV-2 Activity of Amodiaquine Analogs
3. 学会等名 2020/2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACICHEM2020/2021)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ryota Shibauchi, Ong Yong Liang, Mohd Zulkefeli, Tomohiro Tanaka, Shin Aoki
2. 発表標題 Development of Light-driven Molecular Machines that Perform Unidirectional Motion
3. 学会等名 2020/2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACICHEM2020/2021)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Haruka Uchiyama, Mayuka Nii, Tomohiro Tanaka, Kohei Akimoto, Hiroshi Takemura, Kaho Shionoya, Hirofumi Ohashi, Koichi Watashi, and Shin Aoki
2. 発表標題 Design, Synthesis, and Antiviral Activity of Anti-SARS-CoV-2 Agents in Interdisciplinary Research
3. 学会等名 2020/2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACICHEM2020/2021)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tomohiro Tanaka, Hiroki Ueda, Shin Aoki, Minoru Suzuki, Yoshinori Sakurai
2. 発表標題 Development of Nanoparticle Composed of BSH and Cationic Polymer for Boron Neutron Capture Therapy (BNCT)
3. 学会等名 2020/2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACICHEM2020/2021)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroki Ueda, Taiki Itoh, Kosuke Mizuno, Tomohiro Tanaka, Minoru Suzuki, Yoshinori Sakurai, and Shin Aoki
2. 発表標題 Development of Boron-containing Macrocyclic Polyamine Derivatives for Boron Neutron Capture Therapy
3. 学会等名 2020/2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACICHEM2020/2021)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中智博、横井健汰、佐藤秀哉、森田都望恵、岡本実佳、外山政明、馬場昌範、青木伸
2. 発表標題 抗マラリア薬アモジアキンをリード化合物とした抗SARS-CoV-2治療薬の創製
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 ○上田大貴 1、田中智博 1、鈴木実 2、櫻井良憲 2、青木伸 1,3 (1東京理大薬、2京大複合研、 3東京理大総合研究院)
2. 発表標題 ホウ素中性子捕捉療法のための新規ポリアミン誘導体の開発
3. 学会等名 日本薬学会第141回年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 ○田中智博 1、上田大貴 1、鈴木実 2、櫻井良憲 2、青木伸 1,3 (1東京理大薬、2京大複合研、 3東京理大総合研究院)
2. 発表標題 カチオン性ポリマーを用いたホウ素中性子線捕捉療法のためのBSH含有ナノ粒子の開発
3. 学会等名 日本薬学会第141回年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 ○田中智博 1、上田大貴 1、鈴木実 2、櫻井良憲 2、青木伸 1,3 (1東京理大薬、2京大複合研、 3東京理大総合研究院)
2. 発表標題 ホウ素中性子捕捉療法を指向したBSH含有ナノ粒子の開発
3. 学会等名 京都大学複合原子力科学研究所 第55回学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 ○上田大貴 1、田中智博 1、鈴木実 2、櫻井良憲 2、青木伸 1,3 (1東京理大薬、2京大複合研、 3東京理大総合研究院)
2. 発表標題 ホウ素中性子捕捉療法のためのポリアミン誘導体の創製
3. 学会等名 京都大学複合原子力科学研究所 第55回学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 ○田中智博 1、上田大貴 1、鈴木実 2、櫻井良憲 2、青木伸 1,3 (1東京理大薬、2京大複合研、 3東京理大総合研究院)
2. 発表標題 ホウ素中性子線捕捉療法のための BSH 含有ナノ粒子の創製
3. 学会等名 第64回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 ○上田大貴 1、田中智博 1、鈴木実 2、櫻井良憲 2、青木伸 1,3 (1東京理大薬、2京大複合研、 3東京理大総合研究院)
2. 発表標題 BNCT 用ポリアミン誘導体の設計・合成および生物学的評価
3. 学会等名 第64回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 抗SARS-CoV-2薬	発明者 馬場昌範、岡本美佳、外山政明、青木伸、田中智博、横井	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2021-184512	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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

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