

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 5 日現在

機関番号：16101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659566

研究課題名(和文) 中性子照射により広域分子追跡及び定位破壊力をもつボロントレースドラッグの創生

研究課題名(英文) Development of boron trace drug with broad molecule pursuit and destructive power by neutron irradiation

研究代表者

堀 均 (HORI, Hitoshi)

徳島大学・ソシオテクノサイエンス研究部・教授

研究者番号：90119008

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 840,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、広域分子追跡及び定位破壊力をもつボロントレースドラッグを創出することである。そこで、終末糖化産物(AGE)を標的として、ホウ素修飾クルクミノイドUTX-51と熱中性子の併用によるウシ血清アルブミン(BSA)およびAGEモデルとしての糖化BSAの破壊実験と薬物動態解析を行った。UTX-51は熱中性子との併用時にBSAおよび糖化BSAを効率よく破壊すること、また、鶏卵モデルによる薬物動態解析よりUTX-51は血液脳関門を通過し脳に分布することが示された。以上の結果より、UTX-51はボロントレースドラッグとして有望であり、アルツハイマー治療薬の候補となり得ることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this research is to development a boron trace drug with broad molecule pursuit and destructive power by neutron irradiation. We performed the destruction of BSA and glycosylated BSA as a AGE model using boron-modified curcumin UTX-51 and thermal neutron, and pharmacokinetic analysis of UTX-51 by a chicken egg model. It turned out that UTX-51 destroys BSA and the glycosylated BSA efficiently at the combined with a thermal neutron. Moreover, it revealed that UTX-51 passing through a blood brain barrier and also being distributed in a brain from the pharmacokinetic analysis. Therefore, UTX-51 is more promising as a boron trace drug, and it was suggested that it can become a candidate for Alzheimer's disease.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：インターベンショナルラジオロジー(IVR) ボロントレースドラッグ

1. 研究開始当初の背景

当該研究の中性子照射により分子追跡及び定位破壊力をもつポロントレースドラッグは、低酸素細胞放射線増感剤/低酸素標的薬剤や低酸素イメージング剤の分子設計、およびホウ素中性子捕捉療法(BNCT)の B-10 キャリアー分子設計、本研究の予備的研究、ポロントレースドラッグの分子設計および合成、タンパクへの破壊実験から出たアイデアである。B-10 原子が全ての医薬品に含有したら、RI 含有合成がカットでき、適宜に薬物動態解析ができる。我々が提案するポロントレースドラッグは、新規および既存の薬物にホウ素原子を入れる化学的ドーピング技術で、分子追跡できる医薬品の創生という点が全く新規アイデアであり、今後の医薬品のかたちを根本から変える革新的研究である。本ポロントレースドラッグの創生研究は、一見 BNCT の研究と思われるが、BNCT およびそのキャリアー研究が B-10 を癌組織に到達させる DDS 研究に特化している癌治療法であり、本研究のような広域分子追跡及び定位破壊力をもつ創薬研究は、国内外で皆無である。

2. 研究の目的

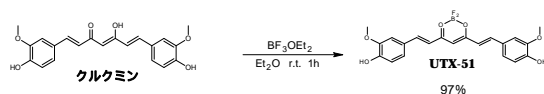
本研究の目的は、ホウ素(B)を既知の医薬品の非活性部分であるスキャフォールド(骨格・環構造部位)に埋め込み、元の医薬品の薬効は変化させず安定同位体 B-10 (天然存在比 20%) の中性子捕捉特性のみ付加させることで、中性子照射によりオンデマンド型広域分子追跡、すなわちいつでも高感度のトレーサビリティ機能をもち、同時に中性子照射によりその病理学的標的部位での物理的破壊力すなわち定位(物理的)破壊力をもつ、今までの医薬品化学者の夢であった全く新しい分子追跡および破壊機能をもつ医薬品ポロントレースドラッグを創生することである。

3. 研究の方法

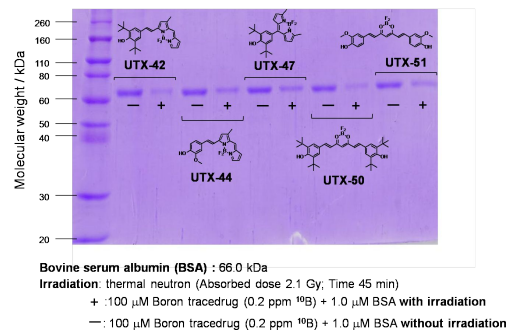
本研究の目的であるホウ素安定同位体を埋め込んだ構造をもつ中性子照射により広域分子追跡及び定位破壊力をもつポロントレースドラッグの創生に向けて、その研究計画・方法の要旨を述べる。まず、天然ホウ素を埋め込んだポロントレースドラッグ医薬品スキャフォールドを創製する。次に、これらスキャフォールドからポロントレースドラッグ医薬品として我々の研究基盤である低酸素細胞放射線増感剤/低酸素標的薬剤を中心に設計・合成する。最後に、それらのポロントレースドラッグ医薬品としての評価を即発ガンマ線分析法での薬物動態解析で行い、さらに薬理活性を *in vitro* 抗腫瘍活性試験、発育鶏卵やマウスを用いた *in vivo* 薬理実験で行い、必要ならば 1-2 回繰り返して本研究を達成させる。

4. 研究成果

まずは、マルチな標的選択性を有するクルクミンをリード化合物として選択し、クルクミンの β -ジケトン部位にホウ素を配位させた UTX-51 を分子設計した。クルクミンはウコンに含まれるポリフェノールであり、食用色素として古くから使われてきた。またクルクミンは抗酸化活性や、抗腫瘍活性、抗炎症活性など様々な生理活性をもつことが報告されている。このように多くの薬理活性を持つクルクミンは多様なタンパク質、脂質との高い親和性があると考え、このクルクミンを母格にもつホウ素含有クルクミノイド系ポロントレースドラッグ UTX-51 はポロントレースドラッグの概念と相俟って次世代型治療薬として期待できる UTX-51 の合成スキームを下に示す。収率は 97% であった。



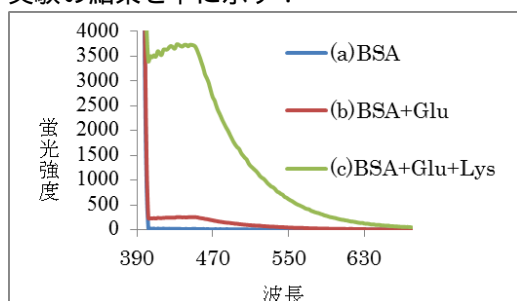
次に、ウシ血清アルブミン(BSA)をモデル標的分子として、UTX-51 と熱中性子照射によるタンパク質破壊実験を行った。その結果を下に示す。



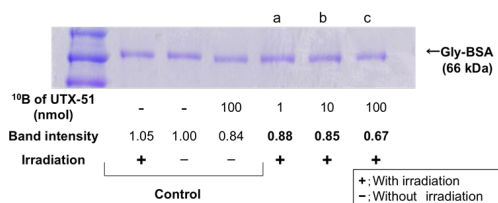
UTX-51 を含むすべてのホウ素修飾化合物において、熱中性子と併用した時に BSA のバンドが明らかに薄くなった。この結果より、UTX-51 と熱中生子による BSA の破壊が確認された。

次に、終末糖化産物(Advanced Glycation End Products, AGEs)の破壊実験を行った。AGE は生体内で糖とタンパク質が非酵素的に反応することで糖化タンパク質となり、最終的に非常に大きな分子量を持った凝集体へと変化したものであり、血液中の糖濃度のコントロールが困難な状態となってしまう糖尿病患者などに多く見られる。AGE は生体内で糖とタンパク質が非酵素的に反応することで糖化タンパク質となり、最終的に非常に大きな分子量を持った凝集体へと変化したものであり、血液中の糖濃度のコントロールが困難な状態となってしまう糖尿病患者などに多く見られる。また AGEs の増加はアルツハイマー病や心臓疾患における症状の進行に関与していると考えられている。UTX-51 の糖化 BSA に対する有効性を評価するため、

糖化 BSA に対する分子破壊力を SDS-PAGE を用いて評価した。糖化 BSA の生成確認と破壊実験の結果を下に示す。

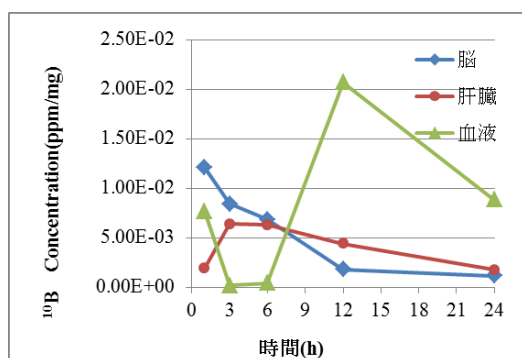


BSA(Bovine serum albumin)のみをインキュベートした場合、440 nm 付近の蛍光強度に変化見られなかったが、BSA, Glucose, Lysine をインキュベートしたものは、440 nm 付近で高い蛍光強度を示し、これは BSA と Glucose をインキュベートしたものに比べてより高い蛍光強度であった。この結果から糖化 BSA の生成を確認した。



UTX-51 共存下で熱中性子を照射すると、コントロールと比較してバンドの濃さが薄くなっていることがわかる。この結果から、中性子照射により糖化 BSA が破壊されたことが明らかとなり、UTX-51 は糖化 BSA に対する NDT 薬剤候補となりえる。また、糖による変性タンパク質の破壊という結果から、化学的手法では困難であった凝集タンパク質の破壊の可能性を示した。

次に、発育鶏卵をモデルとした UTX-51 の薬物分布を調べた。



UTX-51 投与後1時間で脳での存在が確認でき、その後経時的な減少がみられた。肝臓では3.6時間で濃度が上昇しその後減少した。血液については、3, 6 時間後で消失し、12 時間後で急激な上昇がみられた。このことから UTX-51 が脳へ到達することが確認できた。また、12 時間での血液中の B-10 濃度の上昇

から、化合物の分解によるホウ素の血液中への放出が示唆される。

以上の結果より AGE モデルである糖化 BSA の破壊に成功した。この結果からポロントレーズドラッグである UTX-51 が AGE に対する NDT 薬剤になりえることが期待できる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 3件)

1) Hori H, Nazumi Y, Uto Y, Boron tracedrug design for neutron dynamic therapeutics for LDL, Adv Exp Med Biol, 789, 385-9, 2013, 査読有, 10.1007/978-1-4614-7411-1_51.

2) Nakata E, Koizumi M, Yamashita Y, Uto Y, Hori H, Boron tracedrug: design, synthesis, and pharmacological activity of phenolic BODIPY-containing antioxidants as traceable next-generation drug model, Adv Exp Med Biol, 737, 301-6, 2012, 査読有, 10.1007/978-1-4614-1566-4_44.

3) Hori H, Uto Y, Nakata E, Boron tracedrugs challenge for neutron dynamic therapy, Anticancer Res, 32, 2235-9, 2012, 査読無.

[学会発表](計 2件)

1) 堀均, 多田 竜, 宇都義浩, Boron tracedrug design for neutron dynamic therapeutics for Gc protein as a serum protein-quality-control treatment, 41st Annual Meeting International Society on Oxygen Transport to Tissue, 2013年6月23-26日, Dartmouth College (Hanover, NH, USA).

2) 堀均, 中田 栄司, 宇都義浩, Boron tracedrug design for neutron dynamic therapeutics for LDL, 40st Annual Meeting International Society on Oxygen Transport to Tissue, 2012年8月19-23日, NOVOTEL (Bruges, Belgium).

[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

<http://www.bio.tokushima-u.ac.jp/a2group/a2index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

堀均 (HORI HITOSHI)

徳島大学・大学院バイオケミカル研究部

教授
研究者番号：90119008

(2)研究分担者
宇都 義浩 (UTO YOSHIHIRO)
徳島大学・大学院シテクノサイエンス研究部・
准教授
研究者番号：20304553