

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 5 日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24659643

研究課題名(和文) フラーレン粒子と中性子捕捉反応を用いたがん治療の基礎的検討

研究課題名(英文) Basic research of anti-malignant tumor effect using fullerene particles and neutron capture reaction.

研究代表者

松村 明 (Matsumura, Akira)

筑波大学・副学長

研究者番号：90241819

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：中性子捕捉療法に用いる新規DDS製剤の検討を行った。中性子反応のためのガドリニウムをフルーレンに封入した粒子を新規合成した。粒子はサイジングおよび表面修飾によって血液滞留性の向上、EPR効果発揮を念頭にデザインされた。粒子の動物投与による安全性試験、腫瘍組織内ガドリニウム分布をmicro-Particle Induced X-ray Emissionを用いることで可視化することを試みた。一方でGd-DTPA含有培地で細胞に中性子照射を行い、放射線生物学的効果を示した。

研究成果の概要(英文)：We aimed at securing sufficient concentrations of Gadolinium in neutron capture therapy (BNCT) by developing a new drug delivery system using fullerene. We have designed and developed a novel particle that consists of C82 fullerene including Gadolinium. The particles are designed for having EPR effect and adhesive property by sizing and surface modification. A trial to study the safety and intra-tumoral gadolinium distribution using micro-Particle Induced X-ray Emission were performed. Cells were cultured with Gd-DTPA containing medium, and neutron irradiations revealed the radiobiological effect of neutron capture effect.

研究分野：脳神経外科

キーワード：フルーレン ガドリニウム 中性子捕捉療法

1. 研究開始当初の背景

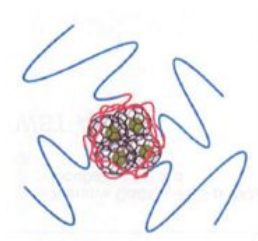
ホウ素と中性子を利用するホウ素中性子捕捉療法(BNCT)では、頭頸部がん、悪性脳腫瘍で延命効果を示し、良好な治療成績が報告されている。今後、BNCTでがんの治療を目指すには、より集積性の優れたドラッグデリバリーシステムの開発が重要な課題である。フラーレン骨格のナノ粒子はホウ素やガドリニウムを安定的に封入できる可能性があるが、そのためには特殊合成技法を要する。本研究では、安定的で効率的なドラッグデリバリーシステムを用いた薬剤の集積、中性子照射による照射実験を行って、悪性腫瘍治療可能性について明らかにすることを目標とする。今回はガドリニウム封入粒子を中心に研究を進める。この構造は従来の毒性の問題が生じず、有用である。

ホウ素化合物を用いたホウ素中性子捕捉療法は、これまで原子炉および二種類のホウ素化合物 (boronophenylalanine および Borocaptate Sodium)を用いて40余年にわたり臨床、基礎研究、新規化合物による創薬シーズの探索がされてきている。しかし、新規に実用化されているものは存在しない。

2. 研究の目的

この状況を打破するために、核反応は異なり、従来の細胞選択性の概念からはややはずれるものの、ガドリニウムを用いた新規化合物について検討した。ガドリニウムは、MRI造影剤としてすでに臨床応用されているおり、毒性、動態が制御可能であれば、応用が可能と考えた。

また、近年のナノ粒子や Drug delivery System を用いた手法にも着眼し、共同研究者らによってフラーレン内部にガドリニウムを封入した Gd@C82 化合物に、表面修飾を加え、ナノ粒子として合成されているもの利用を想定した。



必要量の投与で、安全であることが確認できれば、ナノ粒子の特性であるパッシブターゲットングの原理で、血流滞留性を向上させることによって腫瘍組織への蓄積、反復投与の可能性などが見出されてくるものと考えている。

ホウ素中性子捕捉療法の近年の進歩の一つは、X線外照射の追加によるもので、細胞選択性を突き詰めるだけではなく、罹患臓器への非特異的治療の併用が有用である証と考えられる。ガドリニウムをもちいた中性子捕捉療法は、ホウ素中性子捕捉療法と併用す

ることが許容されると考えられ、本研究でその有用性の一部を示せることが期待できる。

3. 研究の方法

ホウ素およびガドリニウムの存在を証明するため、高崎日本原子力研究開発機構の、Particle induced X-ray emission (PIXE)および Particle induced Gamma-ray emission (PIGE)を用いた。

安全性評価のため、薬剤添加による細胞培養を行った。ホウ素、ガドリニウム含有粒子を培地に展開した細胞培養、および動物に静脈注射したのち、ホウ素濃度、ガドリニウム濃度をプラズマ発光分析によって測定し、その腫瘍集積性を検討した。

BALB/c マウスに CT26 がん細胞を皮下接種した担癌モデルマウスを作成し、フラーレン粒子 Gd@C82 (5.0 mg/mL, 150 μ L) を静注した。48 時間後に腫瘍組織切片を採取し、ホルダー上で凍結乾燥とすることで、PIXE で腫瘍内のガドリニウム分布に関する分析を行った。リン、硫黄、ガドリニウム原子の存在から、細胞位置および内外のガドリニウム分布を得ることができる。

4. 研究成果

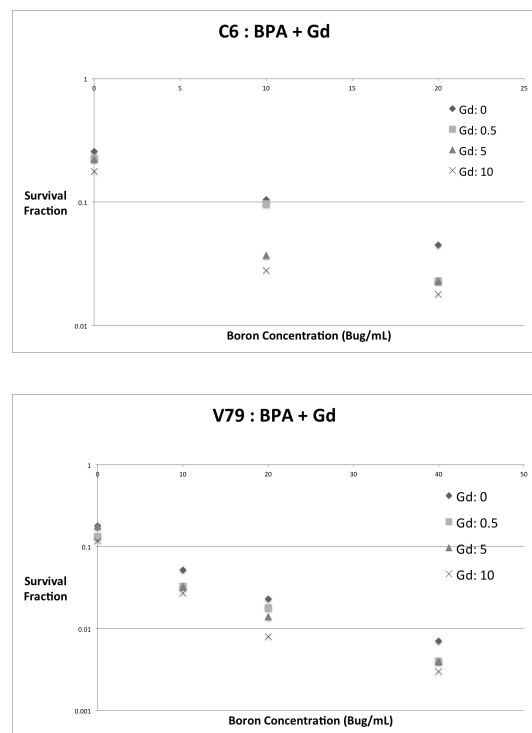


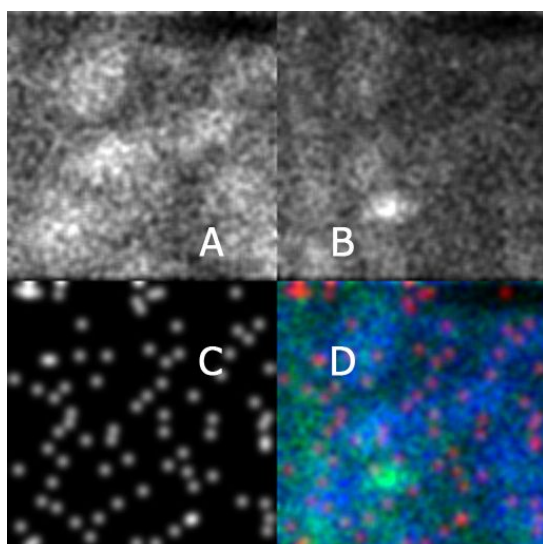
Figure 1. ホウ素ガドリニウム併用中性子捕捉反応 C6 (上段), V79 (下段)

BPA のみ; BPA + Gd 0.5 ppm ;
BPA + Gd 5 ppm × BPA + Gd 10 ppm.

細胞を用いた中性子捕捉反応による、殺細胞効果の検証。ホウ素にガドリニウムを併用することで、ガドリニウム濃度依存的に相加的殺細胞効果を認めた。



Figure 2. CT26 担癌マウスモデル Gd@C82 含有粒子を静注すると、腫瘍が黒く変



色する。

Figure 3. micro PIXE 画像。

(A)-(C)はそれぞれ リン、硫黄、ガドリニウムの存在位置を示す。(D)はそれらを合成したものである。青部分が細胞を示し、赤がガドリニウムの存在位置を示す。

今回の検討では、腫瘍間質部分にガドリニウムが存在するものと考えられた。通常用いられるガドリニウム含有 MRI 造影剤では、血中滞留性はなく、早期に排泄されることから、48時間後の本試料では、フラーレンに内包化することによって、血中滞留性が加わったことが明らかである。

現時点での問題点は、合成収率が低いこと、代謝排泄経路の検討が十分でないことである。原理上ガドリニウム捕捉療法で生じる放射線はガンマ線であり、ホウ素中性子反応で生じる粒子とは異なる。空間選択性には劣るため、正常組織への障害が加わることが予想される。その範囲や、程度についてはさら

なる検討を要する見込みである。

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1件)

Y. Yamamoto, T. Yamamoto, Y. Horiguchi, M. Shirakawa, T. Satoh, M. Koka, Y. Nagasaki, K. Nakai, A. Matsumura. Intra-tumor distribution of metallofullerene using micro-particle induced X-ray emission (PIXE). Applied Radiation and Isotopes. (88) 2014, 114-117, 査読有
doi: 10.1016/j.apradiso.2013.12.037.

〔学会発表〕(計8件)

中井 啓、山本 陽平、岡本 英未子、山本 哲哉、吉田文代、松村 明、山田 尚人、喜多村 茜、江夏 昌志、佐藤隆博、加速器中性子源中性子捕捉療法にむけたホウ素可視化と分布の解析、第9回高崎量子応用研究シンポジウム、2013/10/9-10、高崎シティギャラリー、高崎

高 振宇・堀口諭吉・中井啓・松村明・鈴木実・小野公二・長崎幸夫, New Materials Design for Nanoparticle Assisted Boron-neutron Capture Therapeutics, International Union of Materials Research Societies-The IUMRS international Conference in Asia 2014, 2014/8/24-30, 福岡大学、福岡

F. Yoshida, K.Nakai, T. Yamamoto, A. Zaboronok, A. Matsumura, Additive effect of BPA and Gd-DTPA for application in accelerator-based neutron source, 16th International congress of neutron capture therapy, 2014/6/14-19, Pörssitalo, Helsinki, Finland

K.Nakai, F. Yoshida, E. Okamoto, T. Satoh, M.Koka, Y. Yamamoto, A. Matsumura, Application of micro-PIXE/PIGE technology to boron concentration analysis, 16th International congress of neutron capture therapy, 2014/6/14-19, Pörssitalo, Helsinki, Finland

Z. Gao, Y. Horiguchi, K. Nakai, A. Matsumura, M. Suzuki, K. Ono, Y. Nagasaki, Newly designed boron-containing nanoparticle for high performance neutron capture therapeutics. バイオマテリアルシンポジウム 2013/9/19, 東京工業大学、東京

山本陽平、中井啓、白川真、吉田文代、佐藤隆博、江夏昌志、山本哲哉、松村明、Micro-PIXE/PIGE 法を用いた培養細胞におけるホウ素・ガドリニウム動態の検討、第10

回日本中性子捕捉療法学会、2013/9/17、岡山大学、岡山

山本陽平、中井啓、高振宇、松村明、江夏昌志、佐藤隆博、Micro-PIXE/PIGE 法を用いた培養細胞におけるホウ素ガドリニウム動態、-中性子捕捉療法に向けた基礎的検討-第8回高崎量子応用研究シンポジウム、2013/10/11、高崎シティギャラリー、高崎

Y. Yamamoto, K. Nakai, Y. Horiguchi, K. Endo, M. Shirakawa, T. Satoh, M. Koka, T. Yamamoto, Y. Nagasaki, A. Matsumura, Metallofullerene Distribution Using micro-particle induced X-ray emission for Gadolinium Neutron Capture Therapy, 15th international congress of neutron capture therapy, 2012/9/10-15, つくば国際会議場、つくば

6 . 研究組織

(1)研究代表者

松村 明 (MATSUMURA AKIRA)
筑波大学 副学長
研究者番号：90241819

(2)研究分担者

吉田 文代 (YOSHIDA FUMIYO)
筑波大学 医学医療系 助教
研究者番号：30261811

熊田 博明 (KUMADA HIROAKI)
筑波大学 医学医療系 准教授
研究者番号：30354913

山本 哲哉 (YAMAMOTO TETSUYA)
筑波大学 医学医療系 講師
研究者番号：30375505

中井 啓 (NAKAI KEI)
筑波大学 医学医療系 講師
研究者番号：50436284

(3)連携研究者