

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 27 日現在

機関番号：34401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462192

研究課題名(和文)腫瘍指向性ホウ素クラスター修飾コウジ酸を用いたホウ素中性子捕捉療法の有用性

研究課題名(英文) Synthesis and evaluation of BSH-containing kojic acid (KA-BSH) as a novel agent for boron neutron capture therapy

研究代表者

川端 信司 (Kawabata, Shinji)

大阪医科大学・医学部・講師

研究者番号：20340549

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：ホウ素中性子捕捉療法(BNCT)は、腫瘍選択的粒子線治療であり、浸潤性発育を特徴とする外科的治療切除が不能な腫瘍に対する治療効果が期待される。本研究では、種々の癌細胞に対し親和性のあるコウジ酸をBSHに導入したKA-BSHを作成し、脳腫瘍モデルラットを用いてKA-BSHのBNCT用新規ホウ素化合物としての評価を行った。KA-BSHは腫瘍へのホウ素集積が低値であるにもかかわらず、BNCTにおいてMSTの有意な延長を認めた。BPAとは細胞内分布の異なるKA-BSHを併用することでさらなる治療効果の向上が期待されると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Boron neutron capture therapy (BNCT) is a form of tumor-cell selective particle irradiation using low-energy neutron irradiation of nonradioactive boron-10 (^{10}B) to produce high-energy alpha particles ($^{10}\text{B} [n, \alpha] ^7\text{Li}$). To develop practical materials utilizing ^{10}B carriers, we designed and synthesized novel dodecaboranethiol (BSH)-containing kojic acid (KA-BSH). In the present study, we evaluated the effects of this novel ^{10}B carrier on cytotoxicity, ^{10}B concentrations in F98 rat glioma cells, and micro-distribution of KA-BSH in vitro. Furthermore, biodistribution studies were performed in a rat brain tumor model. Based on these results, neutron irradiation was evaluated at the Kyoto University Research Reactor Institute with KA-BSH. Based on these findings, KA-BSH is a promising new B compound for BNCT of brain tumors.

研究分野：脳神経外科学

キーワード：悪性神経膠腫 放射線治療 ホウ素化合物 中性子捕捉療法 コウジ酸

1. 研究開始当初の背景

ホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) は、極めて殺細胞効果の高い粒子を用いて生物学的に腫瘍細胞を選択的に治療し得るため、正常組織に浸潤性に発育する悪性脳腫瘍の克服が期待されている。BNCT の臨床研究の歴史は決して新しいものではないが、BNCT の治療効果はホウ素化合物の種類・投与方法などにも大きく左右される。

現在までに臨床試験に用いられてきたホウ素化合物 (BSH, BPA) では、ある程度治療効果が示せてはいるが、未だ不十分である。そこで本研究では、腫瘍選択的粒子線治療である BNCT のさらなる治療成績向上を目指し、理想的な新規ホウ素キャリアーとして開発した“ホウ素クラスター修飾コウジ酸”の有用性に関し検討し、臨床応用への可能性を探る。

2. 研究の目的

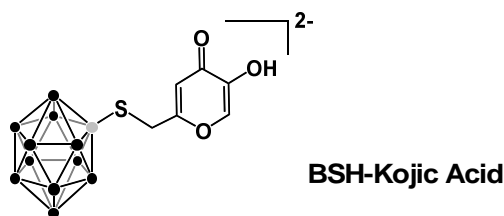
コウジ酸 (Kojic acid; KA) は日本酒醸造の際に米麹を発酵させる過程において得られる副産物である。コウジ酸は 1989 年に日本で発見され、チロシナーゼを阻害しメラニン合成を抑制することから美白剤として広く使用されてきた。

現在までに臨床で使用されたホウ素化合物は BPA と BSH のみであり、良好な治療効果を示しているが十分とは言えない。したがって、より効果の高い BNCT 用ホウ素化合物を開発することは次世代の BNCT の課題とされ、我々はこれまでも脳腫瘍モデルを用いて新規のホウ素化合物について評価してきた。

その中で、メラノサイト集積性を示すコウジ酸に BSH を導入した KA-BSH が、メラノーマだけでなく種々の腫瘍細胞へ、ホウ素を高濃度に送達することのできる有望な化合物であることがわかってきた。そこで今回、脳腫瘍モデルラットを用いて KA-BSH の治療効果に関し検討を行った。

3. 研究の方法

国内研究協力者である切畑光統教授 (大阪府立大学・生命環境科学) とともに、BNCT 用新規ホウ素化合物として数種の腫瘍指向性新規ホウ素化合物 (コウジ酸 BSH およびその類縁) を作成した。



これらの薬剤を用いて悪性神経膠腫培養細胞に対し、in vitro での集積について確認・スクリーニングを実施し、KA-BSH を用いて腫瘍細胞への集積特性 (停留時間、暴露濃度・時間の変化による薬剤細胞集積) につい

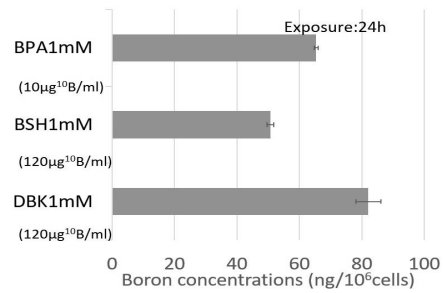
て確認した。また BNCT での治療効果は、集積薬剤の絶対量のみならず細胞内・外の局在にも左右されるため、抗 BSH 抗体 (切畑ら、大阪府立大学) による免疫染色を用いてその局在を検討した。

脳腫瘍モデルラットを用い、KA-BSH を中心とした候補薬剤の全身投与を実施し、薬剤分布を検討した。KA-BSH を経静脈投与し、高周波誘導結合プラズマ発光分光分析法 (ICP-AES) を用いて Boron-10 の腫瘍及び正常組織への分布を評価し至適投与条件を検討した。また同時に CED を用いた脳局所への投薬につき検討を加えた。

上記で検討した至適投与条件でホウ素化合物を投与したラット脳腫瘍モデルに BNCT を行い、生存期間から治療効果を検討した。

4. 研究成果

KA-BSH (DBK) の腫瘍細胞へのホウ素集積は BPA, BSH に比べ、同等もしくはやや高値を示していた。



また、単独での細胞毒性は十分低いと考えるが、BPA, BSH との比較ではやや高い傾向があることがわかった。

Compound	IC50 (mM)
BPA	> 10
BSH	1.68
DBK	10.4

腫瘍へのホウ素集積は、投与後 1 時間で最も高値を示した。KA-BSH 10, 20, 30 μg¹⁰B/kg 投与 1 時間後の腫瘍のホウ素濃度はそれぞれ平均 1.4, 3.0, 6.7 μg¹⁰B/g であった。正常脳へのホウ素集積は低値であり、それぞれ平均 0.3, 0.3, 0.5 μg¹⁰B /g であった。

抗 BSH 抗体を用いた免疫染色では BPA は F98 細胞内に均質な分布がみられ、BSH は細胞膜内には分布を示さなかったが、KA-BSH は核周囲への集積を示した。

治療実験において、生存期間中央値 (MST) は未治療群 29.5 日に対し、KA-BSH を用いた BNCT 群では 36.0 日と 22% の延長を認めた。(log-rank, p=0.0027)

KA-BSH は ICP 発光分析法による組織内ホウ素濃度が低値であるにもかかわらず、BNCT における高い治療効果を認めた。

BNCT の治療効果は放射線としての生物学的効果ではなく、各ホウ素化合物の Compound Biological Effectiveness (CBE) factor を考慮する必要がある。同等のホウ素濃度でも

薬剤により治療効果は異なり、KA-BSH が非常に高い CBE を有すると考えられる。この理由は各々の化合物の細胞内局在・分布に違いがあるためと考えられる。免疫染色の結果からは、KA-BSH は細胞核周囲に分布しており、より高い殺腫瘍細胞効果が得られたのではないかと考えている。

今回の我々は新規ホウ素化合物 KA-BSH と既存のホウ素化合物 BPA との治療効果の直接比較に関しては評価出来ていない。我々の過去のデータと比較すると KA-BSH は静脈内投与で BPA と同等もしくはそれ以上の効果が期待できると考えられる。また、BPA との併用を行うことでさらなる効果の上乗せも期待できると考えている。

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 14 件)

Futamura G, Kawabata S, Nonoguchi N, Hiramatsu R, Toho T, Tanaka H, Masunaga SI, Hattori Y, Kirihata M, Ono K, Kuroiwa T, Miyatake SI. Evaluation of a novel sodium borocaptate-containing unnatural amino acid as a boron delivery agent for neutron capture therapy of the F98 rat glioma. *Radiat Oncol.* (査読有) 2017;12(1):e26. doi: 10.1186/s13014-014-0237-z

Miyatake S, Kawabata S, Hiramatsu R, Kuroiwa T, Suzuki M, Kondo N, Ono K. Boron Neutron Capture Therapy for Malignant Brain Tumors. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. (査読有) 2016;56(7):361-371. Miyatake S, Nonoguchi N, Furuse M, Yoritsune E, Miyata T, Kawabata S, Kuroiwa T. Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment of Radiation Necrosis in the Brain. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. (査読有) 2015;55 Suppl 1:50-9.

Hiramatsu R, Kawabata S, Tanaka H, Sakurai Y, Suzuki M, Ono K, Miyatake S, Kuroiwa T, Hao E, Vicente MG. Tetrakis(p-carboranylthio-tetrafluorophenyl) chlorin (TPFC): application for photodynamic therapy and boron neutron capture therapy. *J Pharm Sci.* (査読有) 2015;104(3):962-70.

Takahara K, Inamoto T, Minami K, Yoshikawa Y, Takai T, Ibuki N, Hirano H, Nomi H, Kawabata S, Kiyama S, Miyatake S, Kuroiwa T, Suzuki M, Kirihata M, Azuma H. The Anti-Proliferative Effect of Boron Neutron Capture Therapy in a Prostate Cancer Xenograft Model. *PLoS One.* (査読有) 2015;10(9):e0136981. doi: 10.1371/journal.pone.0136981

Furuse M, Nonoguchi N, Kawabata S, Miyata T, Toho T, Kuroiwa T, Miyatake S. Intratumoral and peritumoral post-irradiation changes, but not viable tumor tissue, may respond to bevacizumab in previously irradiated meningiomas. *Radiat Oncol.* (査読有) 2015;10:e156. doi: 10.1186/s13014-015-0446-0

Yoritsune E, Furuse M, Kuwabara H, Miyata T, Nonoguchi N, Kawabata S, Hayasaki H, Kuroiwa T, Ono K, Shibayama Y, Miyatake S. Inflammation as well as angiogenesis may participate in the pathophysiology of brain radiation necrosis. *J Radiat Res.* (査読有) 2014; 55(4):803-11.

Michiue H, Sakurai Y, Kondo N, Kitamatsu M, Bin F, Nakajima K, Hirota Y, Kawabata S, Nishiki T, Ohmori I, Tomizawa K, Miyatake S, Ono K, Matsui H. The acceleration of boron neutron capture therapy using multi-linked mercaptoundecahydrododecaborate (BSH) fused cell-penetrating peptide. *Biomaterials.* (査読有) 2014; 35(10): 3396-3405.

Miyatake S, Kawabata S, Hiramatsu R, Furuse M, Kuroiwa T, Suzuki M. Boron neutron capture therapy with bevacizumab may prolong the survival of recurrent malignant glioma patients: four cases. *Radiat Oncol.* (査読有) 2014; 9: e6. doi: 10.1186/1748-717X-9-6

川端信司, 平松 亮, 古瀬元雅, 松下葉子, 二村 元, 大西宏之, 黒岩敏彦, 近藤夏子, 鈴木 実, 櫻井良憲, 田中浩基, 小野公二, 宮武伸一. 悪性神経膠腫の放射線治療後再発例に対するホウ素中性子捕捉療法の実績. 定位的放射線治療. (査読無) 2014; 18: 43-9

[学会発表](計 26 件)

川端信司, 鈴木 実, 田中浩基, 平松 亮, 上原幸樹, 佐藤岳実, 黒岩敏彦, 小野公二, 宮武伸一. 再発悪性神経膠腫に対する加速器 BNCT 第一相試験の結果. 第 34 回日本脳腫瘍学会学術集会 (山梨県甲府市: 2016.12)

川端信司, 平松 亮, 松下葉子, 古瀬元雅, 鈴木 実, 増永慎一郎, 小野公二, 宮武伸一, 黒岩敏彦. ホウ素中性子捕捉療法による再発悪性神経膠腫に対する臨床試験. 第 75 回日本癌学会学術総会 (神奈川県横浜市: 2016.10)

Kawabata S, Hiramatsu R, Takeuchi K, Shiba H, Matsushita Y, Kuroiwa T, Tanaka H, Sakurai Y, Suzuki M, Ono K, Miyatake SI. Clinical results of reactor-based BNCT using BPA for the patients with recurrent malignant glioma. 17th International Congress on Neutron Capture Therapy

(Missouri (USA): 2016.10)
Takeuchi K, Kawabata S, Futamura G, Hiramatsu R, Kuroiwa T, Hattori Y, Kirihata M, Tanaka H, Sakurai Y, Masunaga S, Ono K, Miyatake SI. Evaluation of BSH containing Kojic acid (KA-BSH) as novel agents for boron neutron capture therapy. 17th International Congress on Neutron Capture Therapy (Missouri (USA): 2016.10)
竹内孝治, 川端信司, 平松 亮, 二村 元, 服部能英, 切畑光統, 櫻井良憲, 増永慎一郎, 小野公二, 宮武伸一, 黒岩敏彦. BNCTにおけるコウジ酸修飾 BSH(KA-BSH) の新規ホウ素化合物としての評価 - 脳腫瘍モデル動物を用いた治療効果検討 -. 第 13 回日本中性子捕捉療法学会学術大会 (東京都文京区: 2016.8)
川端信司. 浸潤部と闘う悪性神経膠腫の治療. 第 36 回日本脳神経外科コンgres 総会 (大阪府大阪市: 2016.5)
川端信司, 宮武伸一, 竹内孝治, 平松 亮, 松下葉子, 野々口直助, 古瀬元雅, 鈴木 実, 小野公二, 黒岩敏彦. ホウ素中性子捕捉療法(BNCT) による再発悪性神経膠腫の治療～現状と展望. 第 33 回日本脳腫瘍学会学術集会 (京都府京都市: 2015.12)
川端信司, 宮武伸一, 竹内孝治, 平松 亮, 二村元, 松下葉子, 池田直廉, 野々口直助, 古瀬元雅, 鈴木 実, 小野公二, 黒岩敏彦. 悪性神経膠腫に対するホウ素中性子捕捉療法を用いた新たな治療戦略. 第 74 回日本脳神経外科学会学術集会 (北海道札幌市: 2015.10)
川端信司, 宮武伸一, 平松 亮, 松下葉子, 古瀬元雅, 黒岩敏彦, 鈴木 実, 小野公二. 再発悪性神経膠腫に対するホウ素中性子捕捉療法臨床試験. 第 53 回日本癌治療学会学術集会 (京都府京都市: 2015.10)
川端信司, 宮武伸一, 竹内孝治, 二村元, 平松 亮, 松下葉子, 野々口直助, 黒岩敏彦, 鈴木 実, 小野公二. 悪性脳腫瘍患者に対する BNCT および FBPA-PET の有用性と実臨床への道のり. 第 12 回日本中性子捕捉療法学会学術大会 (兵庫県神戸市: 2015.9)
川端信司, 宮武伸一, 平松 亮, 松下葉子, 野々口直助, 古瀬元雅, 黒岩敏彦, 田中浩基, 櫻井良憲, 鈴木 実, 小野公二. 原子炉を中性子源としたホウ素中性子捕捉療法による再発悪性神経膠腫の臨床試験成績. 第 24 回日本定位放射線治療学会 (長崎県長崎市: 2015.5)
Kawabata S. Boron Neutron Capture Therapy for Brain Tumor. 15th International Congress of Radiation Research (Kyoto

(Japan): 2015.5)
川端信司. 脳腫瘍に対するホウ素中性子捕捉療法 (BNCT). 第 74 回日本医学放射線学会総会 (神奈川県横浜市: 2015.4)
川端信司, 宮武伸一, 平松 亮, 松下葉子, 野々口直助, 古瀬元雅, 田中浩基, 鈴木 実, 小野公二, 黒岩敏彦. 再発悪性神経膠腫に対する BNCT の臨床試験と画像診断. 第 38 回日本脳神経 CI 学会 (愛知県名古屋市: 2015.2)
川端信司, 宮武伸一, 平松 亮, 二村元, 松下葉子, 野々口直助, 古瀬元雅, 黒岩敏彦, 田中浩基, 櫻井良憲, 近藤夏子, 鈴木 実, 小野公二. 新規ホウ素投薬プロトコールによる再発悪性神経膠腫に対する BNCT の臨床試験. 第 32 回日本脳腫瘍学会学術集会 (千葉県浦安市: 2014.11)
川端信司, 二村元, 野々口直助, 矢木亮吉, 斯波宏行, 松下葉子, 古瀬元雅, 平松 亮, 黒岩敏彦, 近藤夏子, 鈴木 実, 小野公二, 宮武伸一. 再発悪性神経膠腫に対する BPA 単剤を用いたホウ素中性子捕捉療法臨床試験. 中間報告. 第 73 回日本脳神経外科学会学術総会 (東京都港区: 2014.10)
川端信司, 平松 亮, 古瀬元雅, 松下葉子, 黒岩敏彦, 鈴木 実, 増永慎一郎, 小野公二, 宮武伸一. ホウ素中性子捕捉療法による悪性髄膜腫の臨床研究. 第 73 回日本癌学会学術総会 (神奈川県横浜市: 2014.9)
川端信司, 二村元, 平松 亮, 松下葉子, 野々口直助, 古瀬元雅, 黒岩敏彦, 田中浩基, 櫻井良憲, 鈴木 実, 小野公二, 宮武伸一. PET 検査と悪性髄膜腫に対するホウ素中性子捕捉療法適応拡大. 第 52 回日本癌治療学会学術集会 (神奈川県横浜市: 2014.8)
川端信司. 加速器 BNCT 時代に向けての共通言語 (標準化). 第 11 回日本中性子捕捉療法学会学術大会 (大阪府吹田市: 2014.7)
Kawabata S, Miyatake SI, Futamura G, Hiramatsu R, Matsushita Y, Furuse M, Tamura Y, Kuroiwa T, Tanaka H, Y. Sakurai Y, Masunaga S-I, Suzuki M, Ono K. Clinical results of Boron neutron capture therapy for the patients with malignant meningioma. 16th International Congress on Neutron Capture Therapy (Helsinki (Finland): 2014.6)

〔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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川端 信司 (Kawabata, Shinji)
大阪医科大学・医学部・講師
研究者番号：20340549

(2) 研究分担者

平松 亮 (Hiramatsu, Ryo)
大阪医科大学・医学部・助教
研究者番号：40609707

古瀬 元雅 (Furuse, Motomasa)
大阪医科大学・医学部・講師
研究者番号：70340560

(3) 連携研究者

()
研究者番号：

(4) 研究協力者

()
切畑 光統 (Kirihata, Mitsunori)
大阪府立大学・BNCT 研究センター・教授

服部 能英 (Hattori, Yoshihide)
大阪府立大学・BNCT 研究センター・助教

Rolf F. Barth
The Ohio State University・Pathology・
Academy Professor