様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　元 年　 ６ 月 １７ 日現在

機関番号：８２５１４
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2016～2018
課題番号：１６Ｋ０１４４３

研究課題名（和文）BNCTに用いるホウ素化合物のin vivo濃度定量法の確立及び薬物動態の把握

研究課題名（英文）Development of an analytical method for in vivo individual concentration determination and the confirmation of pharmacokinetics properties for the two BNCT boron compounds

研究代表者

畢　春蕾（BI, CHUNLEI）

公益財団法人日本分析センター・その他部局等・研究員（移行）

研究者番号：８０６４７３２１

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究はBNCTの臨床に用いられているホウ素化合物のBSH及びBPAをラットに投与し、血漿試料中におけるBSH及びBPAのin vivoホウ素化合物別の濃度測定法を検証した。単剤投与または合剤投与の実験結果より、ラット血漿試料中にBSH及びBPAのホウ素濃度の変化傾向について確認した。また、BSH及びBPAの投与量を変化させることにより、2つのホウ素化合物の薬物動態特性が明らかになった。ラット血漿中にtotalの10B濃度はBSHとBPAの投与割合に関連することが確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義
2剤が併用されるBNCTの臨床において、実験データが極めて少ない状況の中、本研究はホウ素化合物を標的にして、異なる2種類のホウ素化合物を弁別した濃度測定法の確立、そして生体内における各々の薬物動態特性を把握した。これらの研究成果は2剤が併用されるBNCTの臨床治療効果の事後検証の精度向上に期待ができ、学術的な意義が大きい。

研究成果の概要（英文）：In order to develop an effective analytical method to distinguish the 10B concentration from the different boron compounds of BSH and BPA applied in BNCT clinical trials, BSH and BPA were administrated to Wistar rats in this research. According to our previous report, the tendency of BSH and BPA in rat plasma is investigated for the single or combined administration used by a LC/MS analytical method. Furthermore, the dose of BSH and BPA were adjusted in different ratio to examine the pharmacokinetic properties of the two boron compounds. It is confirmed that total 10B concentration existed in rat plasma is related to the dose ratio of BSH and BPA.

研究分野：分析化学

キーワード：BNCT　BSH　BPA　LC/MS　ホウ素濃度

' A>>7D> >7 >> ¥>7 AI>>7 &3

>>%'26Abů
BNCT&ò& 3þ+¥Z (Ð Ø ¡
ÕE (Ð.@ _ 64 M%'2c50[∮ 7b BNCT +« _
[10]B ðð BSH (Sodium Borocaptate)\ BPA (p-Boronophenylalanine)b 2 '8b(ò
@% BSH c>(_ 12 ¶ [10]B Nâ [10]B b3z3@â
oE98 BNCT 8Z++¥Q bw@IZ 8
@ @/b0v@8(ý+w3a8b-[¥yPKZ&3,
rØAc8]l@M#uOĉ+k(ØZ¢$
S BPA c$rÃ&8j/∮+¥y@E&
Z3-ţl[BSH AC¥Z @ BPA (ρ [10]B cN? 5Ø
Su+¥y̆E$ (òØ)BMc5b@∮GbS
u BNCT +%'2[1Oë+¥¥I Ocv3ş8 @ 2
k .cG¥m 2@¥ZGbc(Øb(ò
Ø [10]B> b 2@Ô Gr[(òØ 2KZ 1)Ê
$(Ø& ICP-AES>rSc 1)ÊA5(Ø& ICP-MS@ M+& ¥
ZKRGb 2c 2 cG¥ I BNCT bc (Ð_ K
Z 5 MG\ @ ∱8 Su total b [10]B ØÒ KZb@ #ÿ∮ '@
p^ WZ 8d∮p$'2a & INMRC>8Z$7T0∮
+^ 3¥Z%'2a$ bdρα'∮'2)g BNCT b
+« ¥ 2 k (Ð Hb Ø 2b%'26$WZ
(ò Ø(ýlbv3ş1@u))∮ [10]B Ø ∮W
¥ðo[¥Ø H.Kumada,2015> ¥ BNCT MSu
H* /E(òØ)ì DÂC p@M¢@
BPA 6kZGrb@x +}9Z 250-500mg/kg Z 2 6β
@/Gòq4)Z1 M BSH bCZ_ 2 cG¥ Q
¥ 6M9ĉuZ^ 8SuZ¥b$1=KZ\
Gv6 & K.Yokoyama,2006>

@>%'2b% $
%'2a$ ®%'2 C (H25> H27) _ fLKS18∫ 98¥$A5
(ØE (LC/MS) ¥ Z 2 k (Ð(7‡g Øm2&gKS %'2c G
b5(Ð BNCT b +« _ 4¥ OSu_ β Z+ ÕØqb(ò
@b Ø 2&gM∆ BSH lg BPA b.Øö qG% ke
Z

1>%'2b2
%'22KZ q ¥ @1)z¥S/ @qS#∮
bq@fWS r βc Z [GvKS/ @¥Z 5 (Ò 2b Õ
/0q lb4¥KS s BSH lg BPA QRČrSc c ∮Sβ
/ ¢ 0q_ E BSH lg BPA b)ì ì & KS tβ/E 2 k´
(òÐ .@@MSu_ total b [10]B @↑ QR BSH \
BPA bZ 1K Z)sOS 3∮S

& 1> 1)z¥S/ @qS# ∮ bqi: 0f
□ □ □ □ □□ □ BSH} BPA> b ª = Pfi ςZ ¥
∮1 1)z8BK Ø /WZ m^ '2NKS 42
(7¥Z#X b(¥8V& @9∮pS_ / b7V
$#¥ // ∮ 3& 1>/WS QKZ / @q¶ & 4¥lgþ
& -20¥b 2 X b 2Ñ K 2 46º 1)z¥R 6 7ub ∮@q
10K SbU LC/MS ⊥)BK & n=6> /WS 0qÑZg8Bm8p@
(Øbs8j¹Suf_ Gb S#b 8m8p3RZ / @q 2 46º
Ø ŀ¶Scþ%S_ 1)z8B%$/%0IO Z 7V$#M
8: 2 O Z 0£ 4 k 1)z [3Q@KS 1)zb Ø (VXZ BSH c
0.25# g/ml} 5.0# g/ml& LLOQ& 0.25# g/ml>_ BPA c 1.0# g/ml} 25.0# g/ml& LLOQ& 1.0
g/ml>_ uZ [1>]
(@MSu_ QC 0q ¥S QC 0q@ ¢ 0q p βí
9& 3 ∮Ø _ LLOQ& 5W7H > Z 4 l b Ø ∮R& BSH+BPA>bª=
P∮ BSH-QC b Ø 0.25 0.75 1.50 4.00# g/ml_ BPA-QC b Ø 1.00
7.50 15.00 22.50# g/ml_ 10 KS 1)zb %$zö %Ø RE&Z#1=PM
%&1} lg QC b)Ý & CV lg RE> $#∮ b qi: 0f KS rS G
9q b BSH lg BPA b Ø 3 ¥R ¥ö & n=6> &K S

& 2> Z⊥ Ø0q lb4¥ 0f

BPA cPM P0@Su BNCT b+g BPA ¥ & Wc BPA-fr b
g' Z LC/MS ⊥ BPA-fr b Z0 2 3 S
(a) = Pfib BPA-fr b Z BPA lg BPA-fr b = Pfi QR 10K LC/MS
$} b0Ł g' KS Pfi102 Z BPA-fr b =
Pfib [10]B 1410# g/ml BPA bn'ì 50# g/ml
KS rS BPA b = Pfi 1000# g/ml bNfi 20 K Q ¥ b
0 S
(b) 0q pb BPA-fr b Z & BSH BPA bc Z vKS / ¢
0q Z LC/MS ⊥ BSH lg BPA& BPA-fr bg' S b Q Rb
&KS

& 3 BSH lg BPA b)Ý lg)
& Wistar rat 5 4K/5 100g S _ BPA & 250mg/kg
\ BSH & 100mg/kg lg g c & BPA250mg/kg BSH100mg/kg [7 Z
KZ b 0.5h 2.5h 6.0h H\ G//WS 42 7 5000rpm 10min., 4¥ _
Z #[(S/ (bs P1 S Q R 10KS5¥
b / 0q Z /8 BSH \ BPA b)ì $ &
1KS BSH lg BPA b c%– Su BSH lg BPA
b)zb5(V pr⊥ 0q S KS

& 4 / BSH lg BPA b. ö
BSH lg BPA b. Su_ [10]B f P1ß KZ & BSH+BPA c
total b [10]B c /56S~ 60 mg/kg BSH \ BPA b
1 5 â Z [KS Z b 0.5h lg 2.5h _ Gv
KS/ 0q QC 0q v /WS & n=3

%'2BÝ
& 1)z S/ 0q S# † ó b f
□ □ □ □ □ BSH lg BPA bg @ ,
KS & R^2≥ 0.99)z b% RE Z 7V #KS
Sc S / ¢ 0 5(b8ö= & LLOQ %
s 20 LLOQ % s 15 6SK S
_ 7V #KS / ¢ 0q BPA b LLOQ& 5W7H %Ø & RE
b & 52 c 5(b8ö= 6SK G IS
r)z⊥ QC 0q × lg LLOQ b 4 Rb% & RE lg
(Ø & CV 'K S 3 Z LLOQ& 5W7H QC b RE l
g CV c 3Q$ _ A^ KS& Table1> G)Ý (M S
u_ / (9 /G
@ rK8@ c 7Vå
$#b/ 0q Mf Ł
5)z8Bb %$/%0IO ST
bc LLOQ B * (Ø
& M @
s QC 0q b ö & n=6 Z 3 º
[KS)Ý c 8Nv CV c
5) ò [6W
S rS%Ø & RE b5) 5(Ò
2b8ö= 6SK G KS

Table1)zb LLOQ QC b)Ý

前処理手順	冷蔵または凍結融解保存後除タンパク前処理実施		除タンパク前処理実施後冷蔵または凍結保存	
検量線	検①	検②	検③	検④
温度条件	4℃	-20℃	4℃	-20℃
CV%(BSH)	1.4	3.0	1.5	1.7
CV%(BPA)	2.3	8.4	3.5	1.8
RE%(BSH)	-14.8	-15.9	-18.9	-33.4
RE%(BPA)	-21.0	57.4	-12.3	8.6

& 2 0q 5(lb4 f
q= Pfib BPA-fr bŁ
= Pfib BPA-fr b ¥ &KS BPA-fr c BPA ¿
ESI& [m/z 207 IS rS BPA-fr \ BPA b 3Q
K Svb Fig.1 KS L KS BPA-fr \ BPA c c 5a
op M+K G@ ? rS$3 0.15ml/min.\ 0.20
ml/min. lg $ & 1# l 2# l 3# l R BPA-fr \ BPA b 3Q
KS@ 8Nv s 0.1min. M+K G KS

r 0q b BPA-fr bŁ
& BSH BPA b c S / ¢0q Z % $ (b & KS
& Fig.2 BPA-fr c 5min.S ESI( ) m/z 207 _ BSH c 18min.S[
ESI(+) m/z 723 S W (Ò 2 KS(
c / 0 ¥

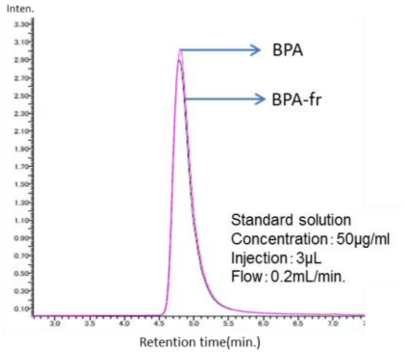

Fig.1 BPA-fr BPA

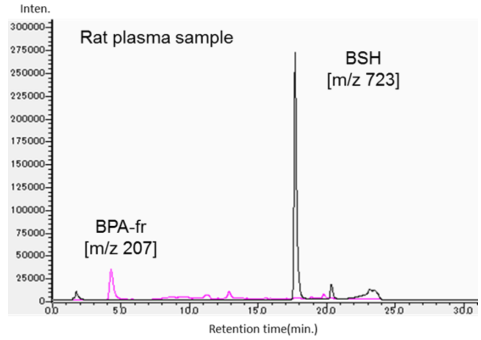

Fig.2 BPA-fr BSH

3 BSH lg BPA b)Ý lg)
b BSH \ BPA b)Ý SD
Table2 KS LG/ Vc
BSH lg BPA b 5 Wc QRb p [10]B b n'ì
KS [10]B/BPA 4.8% [10]B/BSH 57.1% f_ b / BSH lg BPA
b) Fig.3 lg Fig.4 KS

Table2 lg /)Ý

Rat blood collection time points	BPA single administration (250mg/kg)	BSH single administration (100mg/kg)	Co-administration of [BPA+BSH] (BPA250mg/kg+BSH100mg/kg)	
	BPA Conc. [μg/ml] (mean±SD)	BSH Conc. [μg/ml] (mean±SD)	BPA Conc. [μg/ml] (mean±SD)	BSH Conc. [μg/ml] (mean±SD)
0.5h	155.7 ± 27.6 7.5 ± 1.3 rat,5	102.4 ± 12.9 58.5 ± 7.4 rat,6	125.9 ± 34.0 6.0 ± 1.6 rat,6	103.1 ± 20.3 58.9 ± 11.6 rat,6
2.5h	78.3 ± 5.8 3.8 ± 0.3 rat,5	9.1 ± 1.9 5.2 ± 1.1 rat,6	61.2 ± 8.3 2.9 ± 0.4 rat,5	15.2 ± 1.9 8.7 ± 1.1 rat,4
6.0h	57.3 ± 6.2 2.7 ± 0.3 rat,6	0.3 ± 0.1 0.2 ± 0.1 rat,5	39.3 ± 3.5 1.9 ± 0.2 rat,5	0.4 ± 0.4 0.2 ± 0.2 rat,5

) BPA 2.5h b 0.5h b 1/2
6.0h c 0.5h b 1/3 KS BPA cZ
L 4 M BPA b cZ 5 @
G b4 2 cG
1p%b4 (9
S 9 [BPA b c 250mg/kg WSc / b [10]B @ 10# g/ml
WS M BSH b lg cZ b8NvZ 6.0h b /
[10]B c Svbbu f_ / b BPA BSH
bo @ G S

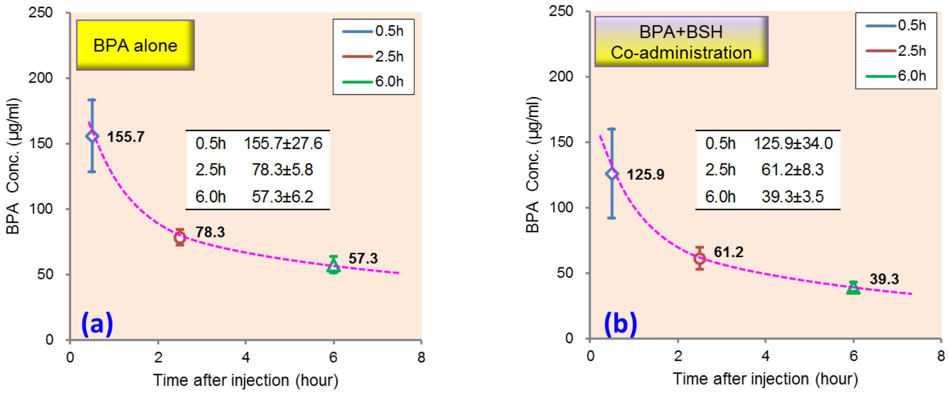

Fig.3 BPA lg BPA b)

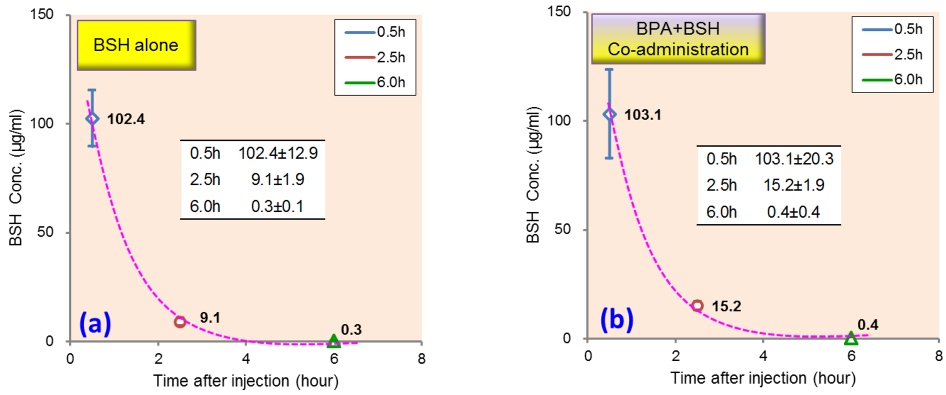

Fig.4 BSH ĉŹlgcŹ≧ BSH b)ₔ̵Ø

& 4⊁ ĝ/ ¢≧ BSH lg BPA b.@ Ïö
& BSH+BPA⊁ cẒ BSH l g BPA bẑ1Ꝁ Q R b.@ö ẐZ
1m̃S ẐZ BSH lg BPA µ [10]B bẐ c Fig.5 ğKS rS
Z 0.5h lg 2.5h b/ ¢ QR BSH lg BPA ₰ 9 b [10]B Ø total b [10]B
Ø5)Ý ₰ SD⊁ Table3 _ ğKS fGb)Ŵ8Z
ê [10]B b ₿S vb Fig.6 ğKS
)ŘZ
â

Table3. cẒ ¢≧ [10]B-BSH \ [10]B-BPA b Ø)Ý

Injection (BSH+BPA)		After injection 0.5h Mean value±SD (n=6), μg/ml			After injection 2.5h Mean value±SD (n=6), μg/ml		
		^{10}B(BSH)	^{10}B(BPA)	Total ^{10}B	^{10}B(BSH)	^{10}B(BPA)	Total ^{10}B
Pattern A	[BSH]: 50mg^{10}B/kg [BPA]: 10mg^{10}B/kg	7.50±1.53	4.67±1.18	12.17±2.08	2.20±0.42	3.61±0.38	5.81±0.32
Pattern B	[BSH]: 40mg$_{10}$B/kg [BPA]: 20mg^{10}B/kg	7.49±1.97	6.55±0.79	14.05±2.51	1.09±0.26	4.31±0.45	5.40±0.65
Pattern C	[BSH]: 30mg^{10}B/kg [BPA]: 30mg^{10}B/kg	4.66±0.89	11.80±1.69	16.45±2.39	0.94±0.20	6.72±0.74	7.65±0.87
Pattern D	[BSH]: 20mg^{10}B/kg [BPA]: 40mg^{10}B/kg	3.31±1.39	24.21±7.82	27.53±9.11	1.00±0.22	9.98±0.86	10.97±0.88
Pattern E	[BSH]: 10mg^{10}B/kg [BPA]: 50mg^{10}B/kg	2.30±0.81	32.53±13.37	34.83±13.97	0.62±0.17	11.74±1.65	12.36±1.77

total b [10]B Ẑ
c L ₲WS _
v6₿ BPA
Ẑ b Q_ X
/ ¢ total
b [10]B Ø b
˝ c 98WẐ
₵ Z
0.5h â
E b total b [10]B ð
Ø ˝ & 34.83
s 13.97# g/ml⊁c
â A& 12.17s 2.08# g/ml⊁ b (Ù3 ọ] ₲WS rS ĝKS
Ẑc Ø₲n'M\ BPA b c & 208⊁ 1042⊁ mg/kg ₰Q$ 8 (V [
6WS@ BSH bc & 87.6⊁ 17.5⊁ mg/kg b(V ₲WS 9₵ total b [10]B ð
Ø bì c BPA bẑkŘẐ G@bISM BSH / ¢ Ø
Ẑ kŘẐ_ BSH b Ẑ Qx KẐÿ@\
f_ (Ø₰ QC 0q & ĝ/ 0₰ BSH+BPA⊁b ª = P
fi ç b)Ý & n=3⊁ΨZ BSH c QC bçØ 1.5#P0 PKZ
˝ c & s ⊁ # g/ml [6~ BPA c QC bçØ 15#P0 PKZ ˝ c
& s ⊁ # g/ml ₲WSçØM 1gẑ 8.0%Ⅳ ₲~
ð)₿

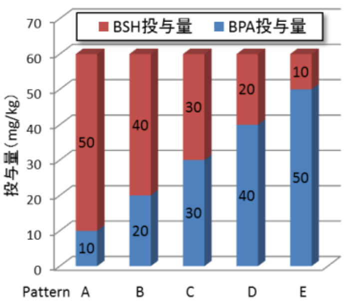

Fig.5 ê BSH \ BPA b [10]B b Ẑ

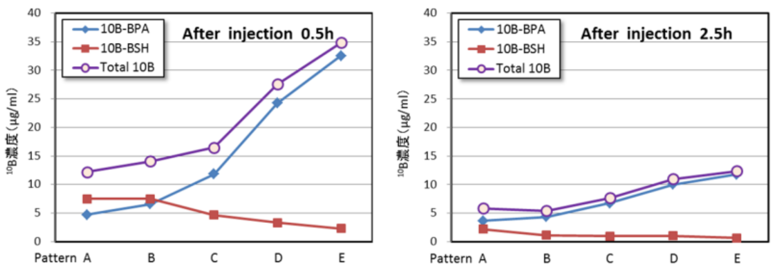

Fig. 6 â / ¢ _ [10]B-BSH [10]B-BPA Toatal [10]B b Ø)Ý & a⊁ Z 0.5h (b)Z 2.5h

1> ₤ﾞ22B%ﾞ2BÝ BNCT ≧/ḯb BSH \ BPA ₤b%ϕϕ
/ ₤2b6₤ H25ﾄ H27> ₤ª ₤ﾞ2₤₤

3 >z₤‡=e '…
7₤1=₤£ 0 ₤

₤₤ 2 ₤
q C.Bi, K.Nakai, H.Kumada , Y.Yamaguchi, S.Bamba and T.Morimoto, Verification of boron compounds concentration measurement using LC/MS for combination of boronophenylalanine (BPA) and borocaptate (BSH) in rat plasma, 9th Young Researchers' BNCT Meeting,Nov.13 ﾄ 15,2017,Kyoto,Japan.
r J. Goto, M. Oshima, H. Kumada, Y. Yamaguchi, S. Bamba, C. Bi and T. Morimoto, Study of charged particle activation analysis, -RSWLPDOFRQILJXDWLRQRI -ray detectors for a sample with strong background from positron annihilation-, 9th Young Researchers' BNCT Meeting,Nov.13ﾄ 15,2017,Kyoto,Japan.

4> %ﾞ2))°

(1)%ﾞ2(*
p› h & NAKAYI KEI>
'₤ í ₤Ô í ł M5
%ﾞ2$ & 50436284

& 2> %ﾞ2(*
₤ & KUMADA HIROAKI>
'₤ í ₤Ô í ł M5
%ﾞ2$ & 30354913

& 3> %ﾞ2(*
₤#(& YAMAGUCHI YURIE>
₤>¥₤ %ﾞ26₤ %ﾞ2(
%ﾞ2$ & 30639977

& 4> %ﾞ2(*
₤?¨ & OSIMA MASUMI>
₤>¥₤ %ﾞ26₤ %ﾞ2(
%ﾞ2$ & 40354815

& 5>%ﾞ2(*
'& BAMBA SHIGERU>
₤>¥₤ %ﾞ26₤ %ﾞ2(
%ﾞ2$ & 40544432

& 6> %ﾞ2(*
7oμ & MORIMOTO TAKAO>
₤>¥₤ %ﾞ26₤ %ﾞ2(
%ﾞ2$ & 40544359

d₤2 ⊥ %ﾞ2 c %ﾞ2* b +@l \ 2ı ₤Z Mvb₤bSu %ﾞ2 b x %ﾞ2BÝ b ¶†… _
₤Z \ b 0₤3'… _ ö YCvb₤₤b %ﾞ2BÝ _ 6ıM 0b0 x 2ı c %ﾞ2¶ ˙ _ IrM