

令和 6 年 5 月 31 日現在

機関番号：32624

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K16773

研究課題名（和文）近赤外蛍光性ホウ素中性子捕捉療法薬剤のアルブミン多量体を用いる高効率腫瘍送達法

研究課題名（英文）Efficient tumor delivery using an albumin multimer of a near-infrared fluorescence dye for boron neutron capture therapy

研究代表者

尾江 悟（Onoe, Satoru）

昭和薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：90756107

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、BNCTの適用可否診断と治療の両方が可能なBNCT用薬剤の開発に向け、輸送体として利用するアルブミン多量体と、アルブミンへの高い結合親和性を持つ新規ホウ素含有近赤外蛍光色素の開発を目指した。アルブミン多量体の開発では、多量体化により血中滞留性が増加するが、がん移行に適した多量体があることが示された。また、新規ホウ素含有近赤外蛍光色素の開発では、負電荷をもつ官能基の導入が、アルブミンへの結合親和性を向上させ、がん移行性に影響を与えることが示された。がん指向性を向上したアルブミン多量体と本研究で見出した色素を組み合わせることで、有用なBNCT用薬剤が開発できる可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は、申請者らが以前開発したホウ素含有近赤外蛍光色素を基にして、BNCTに欠くことができないホウ素をがん効率よく送達する技術を開発する上で有用な知見を与えるものである。この技術が開発されれば、新たながん治療として注目されているBNCTに強く貢献できるため、本研究の成果の社会的意義は大きいと考える。

研究成果の概要（英文）：In this study, for development of boron neutron capture therapy (BNCT) agents that can both diagnostic and therapeutic with the same agent, I aimed to develop albumin multimers to be used as carriers and novel boron-containing near-infrared fluorescence dyes with high-binding affinity to albumin.

In the development of albumin multimers, although blood retention increased with multimerization, valence modulation is important for the accumulation of cancer. In the development of novel boron-containing near-infrared fluorescence dyes, the introduction of a negatively charged functional groups increased the binding affinity to albumin and affected cancer accumulation. The combination of albumin multimer with improved cancer selectivity and the dyes developed in this study could be a useful BNCT agent.

研究分野：放射線科学

キーワード：ホウ素中性子捕捉療法 光イメージング アルブミン ホウ素含有蛍光色素 EPR効果

1. 研究開始当初の背景

ホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) は、腫瘍に集積性を示すホウ素含有薬剤を投与した後、熱中性子線を照射して発生する α 線を利用し、腫瘍細胞を傷害するがん治療法である。2020年3月に BNCT 薬剤としてボロファランが初めて承認されている [1]。現在、切除不能な局所進行または局所再発の頭頸部がんに適用が限られているが、高い奏効率を示しており、今後、適用が拡大されることが期待されている。

BNCT ではホウ素含有薬剤を腫瘍組織に十分に高く集積させる必要があり、その確認が肝要である。ボロファランの腫瘍組織における集積は、 ^{18}F で標識した ^{18}F FBPA を用いた PET 検査により確認することが可能である。しかし、 ^{18}F FBPA による PET 検査では、医療施設へ PET 装置やサイクロトロン、自動合成装置を導入するために非常にコストがかかること、 ^{18}F FBPA は BPA と構造が異なるために体内動態が異なる可能性があることなどから [2]、新たな BNCT 薬剤の開発が望まれている。

以上のことから、申請者は、PET 装置に比べて低コストで導入できる光イメージング (OI) 装置により、体外から体内挙動を追跡可能なホウ素含有薬剤の開発を目指した。これまでに、OI が可能な近赤外蛍光性 BNCT 薬剤として、シアニン系の近赤外蛍光色素にホウ素含有構造を導入した化合物 IC-B(pin) (図 1) を合成した。IC-B(pin) は、所期のとおり、OI が可能な分光学的特性を持ち、腫瘍に集積したが、治療に足る腫瘍集積性を示さなかったため、新たなホウ素含有薬剤の開発が求められた。

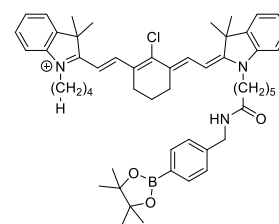


図 1. IC-B(pin) の構造

2. 研究の目的

本研究の目的は、OI による適用可否の診断が可能な BNCT 薬剤の実用化に向け、ホウ素含有薬剤として、効率的な腫瘍送達法を開発することにある。IC-B(pin) は、アルブミンを DDS 担体として腫瘍間質に集積し、腫瘍間質でアルブミンから遊離したものが腫瘍細胞に内在化することから、ホウ素含有蛍光色素の効率的な腫瘍送達に向けて、①アルブミンの腫瘍間質への集積性向上を目指したアルブミン多量体の開発と、②アルブミンに対して適度な結合親和性を有する IC-B(pin)誘導体の開発を行った。

3. 研究の方法

① アルブミン多量体の開発では、化学的手法によって二量体 (Dimer) および四量体 (Tetramer) とした多量体を合成した。得られたアルブミン多量体に DTPA を導入し、 ^{111}In で標識し、それらの体内動態評価を行った。

② IC-B(pin)誘導体の開発では、IC-B(pin)にカルボキシ基 (IC-B(pin)-COOH) またはスルホン基 (IC-B(pin)-SO₃H) を導入した誘導体を設計・合成し、それらの細胞取込評価および体内動態評価を行った。なお、細胞取込評価および体内動態評価にあたっては、それぞれの誘導体を ^{125}I で標識した誘導体を用いて行った。

4. 研究成果

① アルブミン多量体の開発

Dimer は、アルブミン単量体 (Monomer) にホモ二官能性 PEG を反応させることで得られた。また、Tetramer は、得られたアルブミン二量体にさらにホモ二官能性 PEG を反応させることで得られた (図 2)。

^{111}In Monomer は放射化学的収率 46%、放射化学的純度 97%で得られ、 ^{111}In Dimer は放射化学的収率 57%、放射化学的純度 98%で得られ、また、 ^{111}In Tetramer は放射化学的

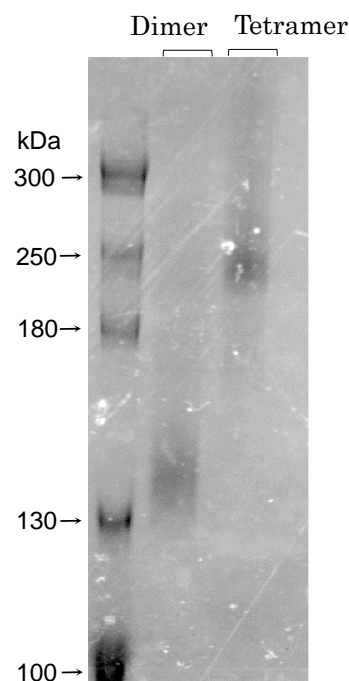


図 2. 電気泳動の結果

収率 52%、放射化学的純度 98%で得られた。

[¹¹¹In]Monomer、[¹¹¹In]Dimer、[¹¹¹In]Tetramer を投与した担がんマウスの 24 時間後における体内放射能分布を図 3 に示す。
[¹¹¹In]Monomer、[¹¹¹In]Dimer、[¹¹¹In]Tetramer の順に血中滞留性は増大し、また、細網内皮系が発達している脾臓、肝臓での集積率は高くなった。腫瘍における集積は [111In]Monomer と [111In]Dimer で同等であったが、[111In]Tetramer で低下する傾向にあった。

本研究において、アルブミン多量体を化学的手法により得ることができた。一方、Ishima らが生物学的手法に基づいて得た Dimer では Monomer に比べて、血中滞留性だけでなく、腫瘍集積性も向上したが [3]、本研究では血中滞留性だけが増大した。本研究と Ishima らが得た Dimer では、Monomer 同士を結合するリンカー構造が異なることから、リンカー構造が腫瘍間質における滞留性に影響を及ぼした可能性があると考えられる。また、Tetramer では腫瘍集積性が低下したことから、アルブミン多量体の腫瘍集積性向上には適した価数があることが示唆された。

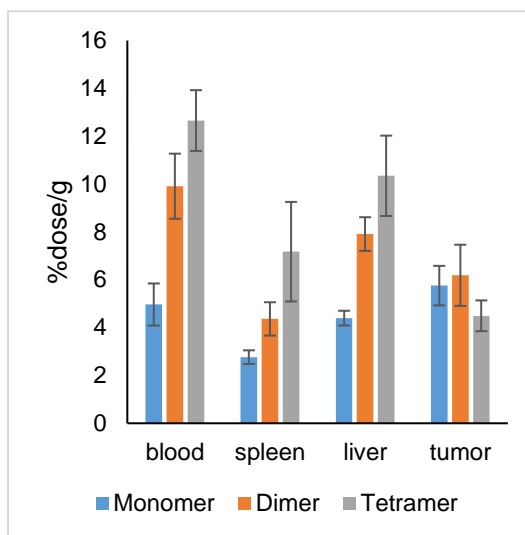


図 3. 担がんマウスにおける[¹¹¹In]Monomer、[¹¹¹In]Dimer、[¹¹¹In]Tetramer 投与 24 時間後の体内放射能分布

② IC-B(pin)誘導体の開発

IC-B(pin)-COOH および IC-B(pin)-SO₃H はそれぞれ総収率 5.9%、1.7%で得られた。IC-B(pin)、IC-B(pin)-COOH および IC-B(pin)-SO₃H のアルブミンに対する結合親和性はそれぞれ 0.82、1.17、1.18 (x10⁶ L/mol) であった。

[¹²⁵I]IC-B(pin)、IC-B(pin)-COOH および IC-B(pin)-SO₃H はそれぞれ放射化学的収率 14%、8.7%、16%で得られ、放射化学的純度はいずれも 95%以上であった。
[¹²⁵I]IC-B(pin)、[¹²⁵I]IC-B(pin)-COOH および[¹²⁵I]IC-B(pin)-SO₃H をがん細胞とインキュベートしたところ、[¹²⁵I]IC-B(pin)では経時的に取込率が増加したのに対して、[¹²⁵I]IC-B(pin)-COOH では、60 分でプラトー状態となり、[¹²⁵I]IC-B(pin)-SO₃H では 60 分から 180 分にかけて低下した (図 4)。

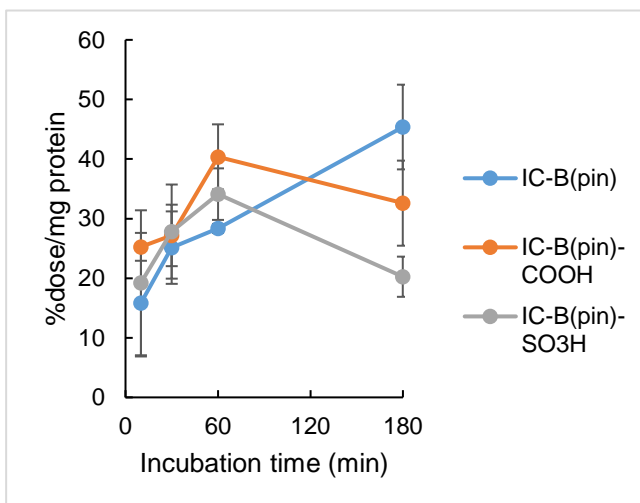


図 4. がん細胞における IC-B(pin)誘導体の取込み率

[¹²⁵I]IC-B(pin)、[¹²⁵I]IC-B(pin)-COOH および[¹²⁵I]IC-B(pin)-SO₃H を担がんマウスに投与したところ、腫瘍集積はそれぞれ 2.2、3.2、1.4%Dose/g であった。また、[¹²⁵I]IC-B(pin)-COOH は[¹²⁵I]IC-B(pin)、[¹²⁵I]IC-B(pin)-SO₃H と比べて血中放射能が有意に高く、[¹²⁵I]IC-B(pin)-COOH、[¹²⁵I]IC-B(pin)-SO₃H は[¹²⁵I]IC-B(pin)と比べて肝臓集積が有意に低かった (図 5)。

IC-B(pin) へのアニオン性官能基の導入はアルブミンに対する結合親和性が増大し、腫瘍集積性に影響を及ぼすことが示されたことから、適切なリンカーで多量体化したアルブミンと組み合わせることにより、OI による適用可否の診断が可能な BNCT 薬剤の開発ができる可能性が示された。

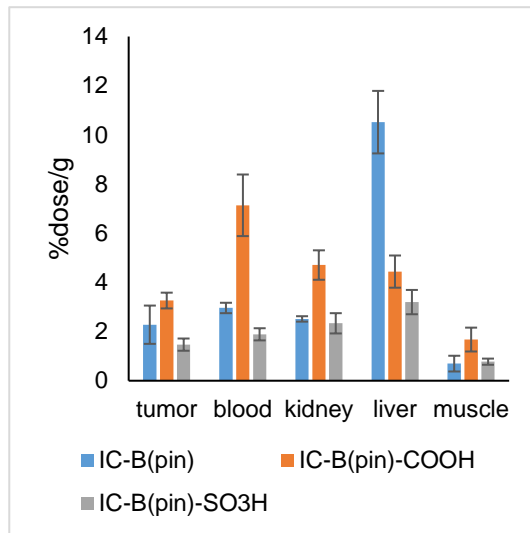


図 5. 担がんマウスにおける $[^{125}\text{I}]$ IC-B(pin)誘導体投与 24 時間後の体内放射能分布

<引用文献>

- [1] T. Zhou, et al., *Am. J. Cancer Res.*, **14**, 429-447, 2024
- [2] T. Watanabe, et al., *BMC cancer*. **16**, 859, 2016
- [3] Y. Ishima, et al., *Bioconjugate Chem.*, **23**, 264-271, 2012

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 杉田茉央、尾江悟、大井一生、熊川由利香、金子瑞希、水野雄貴、宿里充穂、秋澤宏行
2. 発表標題 導入したRGDペプチドの数がアルブミン二量体の体内動態に及ぼす影響
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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
---------	---------