

氏 名	福尾 祐介
(ふりがな)	(ふくお ゆうすけ)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第1174号
学位審査年月日	令和3年1月29日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題名	The therapeutic effects of dodecaborate containing boronophenylalanine for boron neutron capture therapy in a rat brain tumor model (ドデカボレート含有BPAのラット脳腫瘍モデルを用いたホウ素中性子捕捉療法の治療効果)
論文審査委員	(主) 教授 二瓶 圭二 教授 大須賀 慶悟 教授 梶本 宜永

学位論文内容の要旨

《目的》

ホウ素中性子捕捉療法(Boron Neutron Capture Therapy; BNCT)は、ホウ素(boron-10; ^{10}B)と中性子の間に捕獲反応が生じた結果、高LET(linear energy transfer: 線エネルギー付与)の粒子線(α 粒子と ^7Li 反跳核)が放出される反応を利用した治療法である。これらの粒子線の飛程は腫瘍細胞一つ分の大きさに相当するため、細胞選択的な治療を可能とする。BNCTの効果を高めるためには、標的とする腫瘍細胞により多くのホウ素を取り込ませることが重要である。本研究では、アミノ酸要求性の高い腫瘍細胞に指向性を有するboronophenylalanine(BPA)の構造に1分子あたりにホウ素原子を多く有するドデカボレート構造を含有させた新規ホウ素化合物 boronophenylalanine-amide alkyl dodecaborate(BADB)を作成し、中性子照射実験を含めた基礎的研究からその有効性を検証した。

《方 法》

In vitro study において F98 グリオーマ細胞に対して BPA、BADB の曝露後の細胞内ホウ素濃度の測定を行い、曝露濃度および時間の変化による推移と滞留率を比較した。続いて、ホウ酸基と結合することで蛍光を発する分子プローブを用いて各ホウ素化合物曝露における細胞内でのホウ素分布を観察した。また、コロニー形成法を用いて中性子照射による細胞生存率 (survival fraction; SF) を測定した。この結果と、X 線照射による同等の殺細胞効果を示す物理線量から X 線等価となる生物学的効果比を算出し、等価線量を用いて F98 グリオーマ細胞に対する各ホウ素化合物の生物学的効果比 (compound biological effectiveness; CBE) を計算した。*In vivo* study では F98 グリオーマを脳実質に移植したラット (ラット脳腫瘍モデル) を用いて BADB を 8 μ l/時、24 時間の条件で convection-enhanced delivery (CED) を用いて局所投与し、組織内ホウ素濃度測定を行った。また、ラット脳腫瘍モデルを用いて中性子照射による各薬剤の BNCT による生存期間を比較検討した。

《結 果》

細胞内ホウ素取り込み実験は各ホウ素化合物の高濃度の曝露において全ての曝露時間で有意差は認めなかった。滞留率は、1 時間後の早期において BADB は有意に高い結果を得た。蛍光染色でのホウ素分布は BPA では細胞質および核内に蛍光を認めたが、BADB は細胞質には認めたが、核内には認められなかった。*In vitro* study での中性子照射実験では BADB と BPA は同時間の曝露において同等の殺細胞効果を示し、BADB の 24 時間曝露では 2.5 時間曝露と比較して殺細胞効果の上昇を認めた。しかし、BADB 24 時間曝露の BPA 追加曝露による殺細胞効果のさらなる付与は認められなかった。これらの結果から、BPA 2.5 時間曝露での CBE は 2.02、BADB 2.5 時間曝露での CBE は 1.75、BADB 24 時間曝露での CBE は 4.66 と算出した。ラット脳腫瘍モデルにおけるホウ素化合物投与後の腫瘍内ホウ素濃度は BPA 静脈投与後 2、6 時間後においてそれぞれ 17.8 ± 1.4 、 13.4 ± 2.1 μ g/g であり、BADB CED 投与終了後 2、6 時間においてそれぞれ 32.8 ± 16.7 、 45.8 ± 16.5 μ g/g

であった。BPA 群は静脈投与後 2 時間、BADB 群は CED 投与後 6 時間を最適条件と判断し中性子照射実験を実施した。ラット脳腫瘍モデルの生存期間中央値において BADB 群 (31 日) は未治療群 (26.5 日) と比較し有意な生存期間延長効果を認めたが、BPA 群 (34 日) は BADB 群を上回った。BADB と BPA の併用投与群 (38 日) では BPA 単剤投与群より生存期間の有意な延長が示された。

《考 察》

In vitro study から、BADB は BPA と同程度のホウ素を取り込み、BPA より細胞内のホウ素の滞留性が高い薬剤であることが示された。中性子照射実験においては、BADB 24 時間曝露が 2.5 時間曝露より殺細胞効果が上昇したが、時間経過によってホウ素が細胞表面からさらに内部へ分布が変化したことが要因である可能性が考えられた。*In vivo* study での腫瘍内ホウ素濃度が BADB CED 投与において高値を示したが、中性子照射実験では生存期間において BPA 群を上回ることはなかった。その原因として、CED 投与は殺細胞効果に寄与するホウ素濃度の割合が低く、腫瘍細胞への薬剤の曝露時間も疎らであることを加味して算出した BADB 群の線量評価からは、BPA 群の線量を上回らない低線量域が存在することが考えられた。また、BADB と BPA の併用群での生存期間において延長効果が上乘せされた理由として、BPA の静脈投与によって BADB の CED 投与で生じる低線量域の腫瘍細胞にもホウ素が分布することで、腫瘍組織全体のホウ素濃度および分布領域を改善させ抗腫瘍効果が向上する可能性が考えられた。

《結 論》

BADB は BPA と併用することで BPA 単独による抗腫瘍効果をより向上し得る薬剤であり、その臨床的意義は非常に高く、今後の BNCT 研究の発展に寄与すると考えられた。

論文審査結果の要旨

ホウ素中性子捕捉療法 (Boron Neutron Capture Therapy; BNCT) は従来の放射線治療とは異なり、個々の腫瘍細胞内で生じる核反応により発生する粒子線を用いることで細胞レベルでの選択性を持つことから注目されている。BNCT のさらなる治療効果の向上のため新規ホウ素化合物の開発は最重要の要素技術である。申請者はアミノ酸要求性の高い腫瘍細胞に指向性を有する BPA (boronophenylalanine) の構造に 1 分子あたりにホウ素原子を多く有するドデカボレート構造を含有させた新規ホウ素化合物 (boronophenylalanine-amide alkyl dodecaborate; BADB) を開発し、中性子照射実験を含めた基礎的研究を実施し、その有効性を検証した。

In vitro study において、BADB は BPA と同程度のホウ素を取り込み、細胞内の滞留性が高い薬剤であることを示した。中性子照射実験において、BADB が時間経過によって殺細胞効果が上昇することを認めた。F98 グリオーマ細胞を脳実質に移植したラットに対し BPA を静脈投与、BADB を convection-enhanced delivery (CED) で投与後に中性子照射を行い、生存期間を比較検討した結果、BADB 群ではコントロール群と比較して、また、BADB と BPA の併用群では BPA 群より有意な延長を認めた。

BADB 群の治療効果が BPA 群を上回らなかった理由としては、CED 投与では殺細胞効果に寄与するホウ素濃度の割合が低く、腫瘍細胞への薬剤の曝露時間も疎らなため BADB 群の線量が BPA 群の線量を上回らなかったことが考えられた。また、BADB と BPA の併用群での生存期間において延長効果が上乘せされた理由として BADB の CED 投与によって疎らとなった細胞内ホウ素分布に BPA を投与することで腫瘍組織全体の細胞内ホウ素分布が改善したためと考えられた。

以上の結果より、BADB が BPA と併用して投与することによって生存期間の上乗せ効果を持ち、今後の BNCT 研究の発展に寄与する可能性があると示された。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条第 1 項に定めるところの博士 (医学) の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Biology (Basel) 9 (12): 437, 2020 Dec

doi: 10.3390/biology9120437.