

氏 名	柏木 秀基
(ふりがな)	(かしわざ ひでき)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲博医第8号
学位審査年月日	令和4年1月26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	Boron neutron capture therapy using dodecaborated albumin conjugates with maleimide is effective in a rat glioma model (ドデカボレート含有マレイミドアルブミン複合体 を用いたホウ素中性子捕捉療法はラット神経膠腫モ デルに有効である)
論文審査委員	(主) 教授 二瓶 圭二 教授 大須賀 慶悟 教授 荒若 繁樹

学位論文内容の要旨

《背景》

高悪性度神経膠腫は正常脳へ浸潤性に発育するため手術単独では治療できず、術後放射線化学療法を行っても難治性である。すなわち腫瘍細胞選択的な後療法が重要な役割を担う。

近年、高悪性度神経膠腫治療としてホウ素中性子捕捉療法 (Boron Neutron Capture Therapy; BNCT) が期待されている。BNCTでは、ホウ素-10と中性子によるホウ素中性子捕獲反応により、経路長が約4~9 μm の高LET (Linear Energy Transfer; LET) 粒子が生じ、その殺細胞効果はホウ素を取り込んだ腫瘍細胞に限定される。そのため、BNCTは正常脳へ浸潤性に発育する高悪性度神経膠腫に対する治療に適しており、原子炉BNCTでその有用性が証明されてきた。今後は、病院設置型加速器を中性子線源とする加速器

BNCT の普及が期待されている。

最も一般的に使用されるホウ素化合物はボロノフェニルアラニン (Boronophenylalanine; BPA) であり、高悪性度神経膠腫への BPA を用いた BNCT 臨床治験では高い治療効果が得られた。しかし深部腫瘍や多発性病変に対して長時間照射や多方向照射が必要な場合や、BPA 耐性腫瘍細胞が存在する場合など、BPA を用いた BNCT では治療困難な症例も散見されるため、新規ホウ素化合物開発は重要な課題である。

本研究では、ドラッグデリバリーシステムとして使用されている血清アルブミンに注目し、ホウ素-10 化合物である maleimide-functionalized *clos*o-dodecaborate (MID) と血清アルブミン (Human serum albumin) の複合体である maleimide-functionalized *clos*o-dodecaborate (MID) and albumin conjugate (MID-AC) を開発した。マウス colon26 皮下腫瘍モデルにおいては、MID-AC を用いた BNCT により腫瘍縮小効果が報告されたが、皮下腫瘍動物モデルよりもドラッグデリバリーに不利と考えられる脳腫瘍動物モデルへの有用性評価を行った。F98 ラット神経膠腫細胞を脳内に移植した F98 ラット神経膠腫モデルにおける MID-AC 静脈投与後のホウ素分布と BNCT での治療効果から、MID-AC の神経膠腫への適用性を評価した。

《方 法》

F98 ラット神経膠腫モデルに対して、BPA、MID-AC をそれぞれ静脈内投与し、腫瘍、脳、血液、心臓、肺臓、肝臓、腎臓、脾臓、皮膚、筋肉に含まれるホウ素濃度 ($\mu\text{g Boron (B)/g}$) を測定した。

中性子照射研究では、F98 ラット神経膠腫モデルを未治療群、中性子照射単独群、BPA 投与 2.5 時間後中性子照射群、MID-AC 投与 2.5 時間後中性子照射群、MID-AC 投与 24 時間後中性子照射群の 5 群に分けて治療効果を評価し、各群に付与された物理線量、推定光子等価線量を算出した。被照射組織と各ホウ素化合物とで個々に決定される化合物固有の生物学的有効性 (Compound biological effectiveness; CBE) を推定算出した。

《結 果》

F98 ラット神経腫モデルへ MID-AC 静脈投与終了 2.5、12、24 時間後の腫瘍、脳、血液中のホウ素濃度は、それぞれ 6.1 ± 2.0 (脳: 0.4 ± 0.1 、血液: 19.7 ± 9.8)、 8.5 ± 1.5 (脳: 0.4 ± 0.1 、血液: 15.3 ± 1.0)、 6.1 ± 0.2 (脳: 0.6 ± 0.4 、血液: 9.9 ± 1.5) $\mu\text{g B/g}$ であった。MID-AC の場合、ホウ素濃度は多くの臓器で経時的に低下したが、腫瘍、腎臓、脾臓ではホウ素濃度が一定時間保持された。BPA 静脈投与終了 2.5、6、12、24 時間後の腫瘍、脳、血液中のホウ素濃度は、それぞれ 20.6 ± 2.2 (脳: 5.5 ± 0.6 、血液: 7.7 ± 0.5)、 15.0 ± 3.4 (脳: 3.7 ± 0.6 、血液: 4.1 ± 0.4)、 9.1 ± 3.3 (脳: 2.5 ± 0.6 、血液: 2.9 ± 0.4)、 8.2 ± 0.8 (脳: 2.3 ± 0.3 、血液: 2.9 ± 0.4) $\mu\text{g B/g}$ であり、2.5 時間後の各臓器ホウ素濃度が最も高く、主に腎代謝によりホウ素濃度は徐々に低下した。

F98 ラット神経腫モデルへの BNCT での生存期間中央値は、未治療群 24.5 日 [95%信頼区間 (CI) ; 23-27 日]、中性子照射単独群 24.5 日 [95%CI; 23-27 日]、BPA 投与 2.5 時間後中性子照射群 31.5 日 [95%CI; 28-40 日]、MID-AC 投与 2.5 時間後中性子照射群 33.5 日 [95%CI; 23-40 日]、MID-AC 投与 24 時間後中性子照射群 33.0 日 [95% CI; 27-36 日] であった。MID-AC を用いた中性子照射群 2 群と未治療群との比較では統計学的に有意な差があり ($p < 0.05$, log-rank test)、BPA 投与 2.5 時間後中性子照射群との比較では有意な差がなかった (vs. MID-AC 投与 2.5 時間後中性子照射群; $p = 0.94$ 、vs. MID-AC 投与 24 時間後中性子照射群 $p = 0.67$ 、それぞれ log-rank test)。

BPA 投与 2.5 時間後中性子照射群で得られた脳腫瘍への推定光子等価線量は 10.8Gy-Eq であった。BPA 投与 2.5 時間後中性子照射群と MID-AC を用いた中性子照射群 2 群とは、生存期間に有意な差がないことから、取得される脳腫瘍への推定光子等価線量が同等であったと仮定した。CBE は、MID-AC 投与 2.5 時間後で 13.4、MID-AC 投与 24 時間後で 12.3 と推定された。

《考 察》

各ホウ素化合物の有効性を評価する指標である CBE は、脳腫瘍に対する BPA の CBE

が 3.8 である一方、MID-AC では 12.3~13.4 と推定され、BPA の 3~3.5 倍であった。

MID-AC は、能動輸送や受動輸送により腫瘍へ蓄積される血清アルブミンの特性を利用した化合物である。アルブミンを用いた蛍光診断が既に開発されており、MID を用いた細胞実験、動物基礎実験での蛍光診断も実施されているため、今後は臨床で使用可能な蛍光診断ツールの開発も期待される。

BPA 投与では経時的に低下する腫瘍内ホウ素濃度が、MID-AC 投与では長時間保持され、MID1 分子はホウ素-10 を 12 個含有するためその使用効率も高い。MID-AC は BPA とは異なる生物学的標的を持ち、BPA を用いた BNCT と同等の効果を供給する化合物であった。さらには、MID-AC 投与 2.5 時間後中性子照射群と投与 24 時間後投与群での治療効果は同等であり、MID-AC を持続投与せずとも中性子照射時間を調整可能であり、ひいては、深部腫瘍や多発性病変に対する多方向照射や分割照射などの可変的な治療方法を供給しうる。これらのことから、MID-AC は現在の臨床 BNCT における課題を克服しうる有望な新規ホウ素化合物である。

《結 論》

ドデカボレート含有マレイミドアルブミン複合体である MID-AC は、F98 ラット神経膠腫モデルにおける腫瘍細胞にホウ素中性子捕獲反応を効率的に誘導し、脳内腫瘍にも有効であった。また MID-AC は腫瘍内に長時間滞留し、中性子照射中に安定したホウ素中性子捕獲反応を長時間継続的に供給できる。MID-AC は高悪性度神経膠腫に対する BNCT において、ホウ素化合物の効果的なデリバリーシステムとなる可能性がある。

論文審査結果の要旨

高悪性度神経膠腫は、外科的腫瘍摘出と術後放射線化学療法を併用しても、神経膠腫細胞の浸潤性により摘出腔辺縁部から再発する。そのため、高悪性度神経膠腫の治療には、腫瘍細胞を生物学的に標的可能な治療が求められ、有望な治療法の一つにホウ素中性子捕捉療法 (Boron Neutron Capture Therapy; BNCT) が挙げられる。これまでに悪性神経膠腫への BNCT 臨床試験によりその有用性が証明され、今後は病院設置型加速器を中性子線源とする加速器 BNCT が広く普及することが期待される。現在一般的に使用されるホウ素化合物はボロノフェニルアラニン (Boronophenylalanine; BPA) であるが、深部腫瘍や多発性病変で長時間照射や多方向照射が必要な場合、あるいは BPA 耐性腫瘍細胞が存在する場合など、BPA を用いた BNCT でさえ治療困難な症例も経験される。これらの臨床課題を克服する新規ホウ素化合物の開発は、本分野において重要な研究課題である。本研究では、ドラッグデリバリーシステムとして使用される血清アルブミンに注目し、ホウ素化合物の maleimide-functionalized *clos*o-dodecaborate (MID) と血清アルブミン (Human serum albumin) 複合体として、maleimide-functionalized *clos*o-dodecaborate (MID) and albumin conjugate (MID-AC) を開発し、F98 ラット神経膠腫モデルに対して MID-AC を用いた BNCT を行い、脳腫瘍に対する治療効果を評価した。MID-AC は静脈投与で腫瘍内に長時間保持され、MID-AC 投与 2.5 時間後と 24 時間後の BNCT では共に、BPA を用いた BNCT での効果と同等であった。つまり MID-AC は腫瘍内に長時間滞留することで、1 回の静脈内投与から少なくとも 24 時間後まで BNCT の治療効果が低下しないため、長時間照射や多方向照射が必要な深部腫瘍や多発性病変にも安定した BNCT を供給可能である。以上のことから、MID-AC は現在の臨床 BNCT での課題を克服しうる有望な新規ホウ素化合物であり、BNCT の更なる発展を目指す上で非常に意義深い研究である。

以上により、本論文は本学大学院学則第 13 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)

Investigational New Drugs In press