

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
島原武司	主査 教授 島原 政司 副査 教授 鳴海 善文 副査 教授 河野 公一 副査 教授 竹中 洋 副査 教授 黒岩 敏彦
主論文題名 Delivery of sodium borocaptate (BSH) to oral squamous cell carcinoma cells by transferrin-PEG liposomes (トランスフェリン PEG リポソームを用いた口腔扁平上皮癌細胞へのボロカプテイト(BSH)送達の検討)	
学位論文内容の要旨	
<p>《研究目的》</p> <p>これまでに標準的治療を行っても制御することが出来なかった頭頸部悪性腫瘍に対し、ホウ素中性子捕捉療法 (boron neutron capture therapy: BNCT)を行い、比較的良好な治療成績を残してきた。BNCT では、腫瘍細胞に boron-10 (^{10}B)を選択的に高濃度集積させることが重要である。現在、BNCTに使用されているホウ素化合物の一つに sodium borocaptate (BSH)がある。BSHは腫瘍細胞に能動的に集積しないので、現在ではBNCTを行うときには、高濃度の溶液を長時間経静脈的に投与して、癌組織中の濃度を維持している。そこで、さらに効果を上げる為にはホウ素化合物をいかに目的とする癌細胞にのみ送達させるかという Drug Delivery System (DDS)が必要となる。今回はドラッグキャリアの一つであるリポソームに BSH を封入し、その表面を polyethyleneglycol (PEG)でコーティングし、さらに能動的に標的細胞に取り込ませる機能をもたせることを目的に transferrin (TF)を結合させた TF-PEG-liposomal BSH を用いて、<i>in vitro</i> でその有用性について検討を行った。</p> <p>《方法》</p> <p>細胞はヒト口腔扁平上皮癌由来細胞株である SAS 細胞を用いた。研究には BSH を含んだ 3つの異なったタイプの DDS (TF-PEG-liposomal BSH, PEG-liposomal BSH, plain liposomal BSH)と bare BSH solution を用いた。^{10}B濃度の測定は ICP-AES (Inductively Coupled Plasma- Atomic Emission Spectrometry)にて行い、SAS 細胞 10^6個あたりの ^{10}B濃度 (ng/10^6 cells)として算出した。</p> <p>(1)細胞内への経時的なホウ素化合物の取り込みについて</p> <p>SAS 細胞を 3つの異なったタイプの DDS (TF-PEG-liposomal BSH, PEG-liposomal BSH, plain liposomal BSH)と bare BSH solution を含んだ培養液 で一定時間 (1, 3, 6, 12, 24h)培養し、細胞内へのホウ素の取り込み量を測定した。</p> <p>(2)Transferrin (TF)レセプターをブロックしたときの細胞内へのホウ素化合物の取り込みについて</p> <p>SAS 細胞表面に発現している TF レセプターを過剰な TF (excess free TF)でブロックした場合の細</p>	

胞内へのホウ素の取り込み量を測定した。測定には 2 つの異なったタイプの DDS (TF-PEG-liposomal BSH, PEG-liposomal BSH)を含んだ培養液とその培養液に過剰な TF を加えた培養液を用いて SAS 細胞を 6 時間培養し、細胞内へのホウ素の取り込み量を比較した。

(3)細胞内集積後のホウ素化合物の滞留性について

細胞内に取り込まれた後のホウ素の濃度を経時的に測定し、滞留性についての検討を行った。3 つの異なったタイプの DDS と bare BSH solution を含んだ培養液で 24 時間培養したあと、¹⁰B を含まない培養液に交換し、その後経時的(1, 3, 6, 24h)に細胞内に残留するホウ素の量を測定した。

《結果》

(1)細胞内への経時的なホウ素化合物の取り込みについて

TF-PEG-liposomal BSH は経時的に取り込み量が増加し、24 時間後の取り込み量は 100 ng/10⁶ cells であった。ホウ素の取り込み量はその他の DDS より有意に高かった。

(2)TF レセプターをブロックしたときの細胞内へのホウ素化合物の取り込みについて

6 時間後のホウ素の取り込み量は、TF-PEG-liposomal BSH 群が 62 ng/10⁶ cells であったが、TF-PEG-liposomal BSH に excess free TF を加えた群は 39ng/10⁶ cells で、excess free TF を加えた群の方がホウ素の取り込み量は有意に少なかった。

(3)細胞内に取り込まれた後のホウ素化合物の滞留性について

¹⁰B を含まない培養液に交換してから 1 時間後には PEG-liposomal BSH、liposomal BSH、bare BSH の細胞内ホウ素濃度は半分以下となり著明な減少を認めた。その後大幅な減少は認めなかったが 24 時間後には、細胞内に残留したホウ素は少なかった。一方 TF-PEG-liposomal BSH は 1 時間後の平均値は 47ng/10⁶ cells と減少を認めたが、その後は 6 時間後まで減少は認めず 24 時間後も 30ng/10⁶ cells と高濃度が細胞内に残留した。

《考察》

経時的な細胞内へのホウ素の取り込み量については、TF-PEG-liposomal BSH が他の DDS より、最終的に約 1.5~2 倍の量を取り込まれた。これは TF-PEG-liposomal BSH のみが、細胞内取り込みに TF レセプターを介していることが考えられた。そこで、TF レセプターを過剰な free TF で前処理した場合の取り込み量について 2 タイプの DDS で検討を行った。PEG-liposomal BSH は TF レセプターをブロックしても、その取り込み量に変化を認めなかったが、TF-PEG-liposomal BSH は TF レセプターをブロックすることにより、取り込み量は有意に減少した。従って、TF-PEG-liposomal BSH は癌細胞表面に発現している TF レセプターを標的分子としており、このレセプターを高発現している細胞に効率的に取り込まれていると考えられた。また、取り込まれた後も長時間高濃度のホウ素が細胞内に滞留することが確認された。これにより、臨床ではホウ素が細胞内に取り込まれてから一定時間経過した後には照射を行えば、正常細胞に対して低侵襲で、より選択性が増す治療が行える可能性が示唆された。

《結論》

TF-PEG-liposomes は有用な DDS であり、今後 BNCT で使用できれば治療成績の向上につながると思われた。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲 第 号	氏 名	島原武司
論文審査担当者		主査 教授 島原 政司	
		副査 教授 鳴海 善文	
		副査 教授 河野 公一	
		副査 教授 竹中 洋	
		副査 教授 黒岩 敏彦	
主論文題名			
<p>Delivery of sodium borocaptate (BSH) to oral squamous cell carcinoma cells by transferrin-PEG liposomes (トランスフェリン PEG リポソームを用いた口腔扁平上皮癌細胞へのボロカプテイト(BSH)送達の検討)</p>			
論文審査結果の要旨			
<p>ホウ素中性子捕捉療法 (Boron neutron capture therapy: BNCT)はホウ素化合物をいかに腫瘍細胞にのみ選択的に取り込ませるかということが重要になる。ホウ素化合物のひとつである sodium borocaptate (BSH)は腫瘍細胞に能動的に集積しないので、腫瘍細胞に効率よく選択的に集積させるためには薬剤送達システム(Drug Delivery System: DDS)の技術が必要となる。</p> <p>申請者はドラッグキャリアのひとつであるリポソームに BSH を封入し、細網内皮系への集積を回避する目的でリポソーム表面をポリエチレングリコールでコーティングしている。さらに癌細胞表面に高発現するトランスフェリン (TF)レセプターへのターゲティングを行うことを目的に TF を結合させた DDS を用いて、口腔扁平上皮癌細胞に対する選択的集積性に関する実験を行っている。</p> <p>その結果、TF レセプターを介して効率よく細胞内にホウ素が高濃度に取り込まれていることを明らかにし、さらに集積後も長時間高濃度のホウ素が細胞内に滞留することを証明している。これらの結果より、腫瘍細胞破壊の確実性が増すことが推察され、治療効果の向上が期待できる。さらに良好な滞留性により、周囲の正常細胞にはホウ素が低濃度の状態で照射を行うことができ、頭頸部領域の BNCT においては、口内炎や皮膚炎などの副作用が極めて少ない治療が可能になると推察される。</p> <p>よって、今回の実験結果は頭頸部悪性腫瘍の新しい治療法を確立するために重要であり、今後治療成績の向上と同時に副作用の極めて少ない BNCT が行える可能性を示している。</p> <p>以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条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。</p>			
(主論文公表誌)			
Bulletin of the Osaka Medical College 55(1): 21-29, 2009			