

## 学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
宮田至朗	主査 教授 鳴海 善文 副査 教授 猪俣 泰典 副査 教授 瀧内 比呂也 副査 教授 島原 政司
主論文題名 Computed Tomography Imaging of Transferrin Targeting Liposomes Encapsulating Both Boron and Iodine Contrast Agents by Convection-Enhanced Delivery to F98 Rat Glioma for Boron Neutron Capture Therapy (F98 ラットグリオーマモデルに CED 法を用いて投与したホウ素中性子捕捉療法用薬剤 (ホウ素化合物およびヨード造影剤同時包埋トランスフェリン標的リポソーム) の CT 画像)	
学位論文内容の要旨	
《緒言》 神経膠芽腫は生命予後が極めて不良であり、標準治療である手術および放射線照射でも治癒に至ることは稀である。ホウ素中性子捕捉療法はホウ素を取り込んだ腫瘍細胞に中性子を照射することでホウ素原子核の分裂反応が起こり、その結果放出される $\alpha$ 線とリチウム反跳核による殺細胞効果を利用した方法であり、標準治療に遜色ない成績を上げている。腫瘍細胞内ホウ素量と正常細胞内ホウ素量の比が大きいほど有効であり、生物学的選択性が得られる根拠となっている。ホウ素化合物の投与経路や担送システムに関する報告は多く、最近では腫瘍選択的なホウ素の蓄積も可能である。今回、腫瘍内に高濃度のホウ素を蓄積させ、正常細胞との濃度比を大きく保つため分子標的を可能にしたトランスフェリン付加リポソームをホウ素担送システムとして利用し、投与経路として腫瘍内局所注入法である convection enhanced delivery (CED)を採用しホウ素化合物の生体内分布実験をおこなった。また、ホウ素化合物の脳内分布を CT 画像により可視化した。	

## 《対象および方法》

### (1)F98 ラット神経膠芽腫細胞に対するホウ素取り込み実験

#### ①ホウ素化合物担送システムの作成

ホウ素化合物として sodium borocaptate (BSH)を、ヨード造影剤としてイオメプロールを同体積比で同時包埋したりポソームを用いた。分子標的能の検証のため一方はトランスフェリン付加(TF+)とし、他方はトランスフェリン非付加(TF-)とした。

#### ②腫瘍細胞への投与とホウ素濃度測定

F98 培養細胞に各リポソーム溶液 (ホウ素濃度として 10ppm)を調整して 6 時間暴露させた。十分に洗浄して回収後、各群の細胞内ホウ素濃度を誘導結合プラズマ発光分光法 (ICP-AES)により測定した。

### (2)F98 ラット神経膠芽腫モデルにおけるホウ素分布の画像化および腫瘍内ホウ素濃度の検証

#### ①ラット脳腫瘍モデルの作成

10,000 個の F98 培養細胞をラット脳に移植した。移植後 10 日で腫瘍が一定の大きさとなることが既知であり、これを脳腫瘍モデルとした。

#### ②ホウ素担送システムの腫瘍内注入と CT 画像作成

前述の各リポソーム溶液 ( $^{10}\text{B}$  量で  $20\mu\text{g}$ )を CED によりラット脳腫瘍内に注入した。注入後 0、24、48、72 時間後に頭部 CT を撮影した。

#### ③組織採取およびホウ素濃度測定

前述の各時間のモデルから腫瘍、正常脳、血液等の組織を採取して溶解、組織別のホウ素濃度を ICP-AES により測定した。

## 《結 果》

### (1) F98 ラット神経膠芽腫細胞へのホウ素の取り込み実験

腫瘍細胞 100 万個あたりのホウ素量で測定した結果、TF+群  $51.9\pm 6.8\text{ ng}$  に対し、TF-群は  $16.1\pm 4.8\text{ ng}$  であった。TF+群で有意に高濃度のホウ素が細胞内に取り込

まれていた。

## (2) F98 ラット神経膠芽腫モデルにおけるホウ素分布の画像化および腫瘍内ホウ素濃度の検証

各群とも投与後 0～72 時間まで 24 時間毎に頭部冠状断 CT 撮影を行った。TF+ 群では投与後 0 時間から 72 時間まで安定して腫瘍造影効果を認めたのに対し、TF- 群では投与後 0 時間のみ腫瘍造影効果を認め、24 時間後には既に消失していた。

これは *in vitro* の結果と同様、生体内においても分子標的による腫瘍選択的な取り込みが可能であることを示唆する結果であった。

次に腫瘍、正常脳、血液のホウ素濃度を測定した。腫瘍内ホウ素濃度は TF+ 群で投与後 24 時間でホウ素濃度がピーク値を示し、腫瘍 1 g あたりのホウ素量で  $82.2 \pm 18.6 \mu\text{g}$  であった。同時間での TF- 群の値は  $22.5 \pm 6.1 \mu\text{g}$  であり、約 4 倍の取り込みを示した。正常脳および血液中のホウ素量はいずれも  $1.0 \mu\text{g/g}$  以下であり、腫瘍内ホウ素量と正常脳ホウ素量比はそれぞれ 274、22.5 と極めて高い値を示した。心臓、肺、脾臓、肝臓、腎臓、皮膚に関しても組織内ホウ素量は  $1.0 \mu\text{g/g}$  以下であり、CED の利点が活かされた結果となった。

### 《考 察》

Doi らはヒト神経膠芽腫細胞株である U87 $\Delta$  のラット脳腫瘍モデルを用い、トランスフェリン付加リポソーム全身投与下における中性子照射による治療実験を行い、良好な結果を得ている。投与経路は静脈注射による全身投与で、腫瘍内ホウ素量と正常脳内ホウ素量比は最大で 18 であった。細胞株および投与経路が異なるものの、本研究の結果は十分な治療効果が得られる可能性を示唆している。また、CT 画像では投与後 72 時間まで安定してトランスフェリン標的による腫瘍造影効果を示しており、腫瘍選択的なホウ素の取り込みと長時間に渡り腫瘍内にホウ素が滞留することが実証された。一方で投与されたホウ素化合物・ヨード造影剤包埋リポソームの生体内での動態、それぞれの代謝経路などは不明な点が多く、その解明が今後の課題である。

## 審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲第号	氏名	宮田至朗
論文審査担当者		主査教授 鳴海 善文	
		副査教授 猪俣 泰典	
		副査教授 瀧内 比呂也	
		副査教授 島原 政司	
主論文題名			
<p>Computed Tomography Imaging of Transferrin Targeting Liposomes Encapsulating Both Boron and Iodine Contrast Agents by Convection-Enhanced Delivery to F98 Rat Glioma for Boron Neutron Capture Therapy  (F98 ラットグリオーマモデルに CED 法を用いて投与したホウ素中性子捕捉療法用薬剤 (ホウ素化合物およびヨード造影剤同時包埋トランスフェリン標的リポソーム) の CT 画像)</p>			
論文審査結果の要旨			
<p>近年、神経膠芽腫に対するホウ素中性子捕捉療法の発展は目覚ましく、多くの実績を残している。しかし現在臨床で行われている方法は投与経路が静脈内投与であり、腫瘍以外の正常臓器へのホウ素の蓄積が問題となる他、腫瘍と正常脳のホウ素濃度のコントラストにも限界がある。ホウ素中性子捕捉療法は腫瘍細胞のみを破壊し、正常組織には傷害を与えないという生物学的選択性が最大の優位性であり、それを実現するためにはホウ素を腫瘍内にいかに多く、正常脳との高いコントラストを維持したまま蓄積させるかが重要となる。そこで申請者は、腫瘍内局所注入法である convection enhanced delivery (CED) というホウ素の投与方法を採用し、さらに腫瘍細胞に過剰発現していると考えられるトランスフェリン受容体を分子標的としてホウ素化合物担送システムであるリポソームにトランスフェリンを付加した。その上、ヨード造影剤をリポソームに同時包埋することにより、投与したホウ素化合物の生体内分布を CT 画像で可視化できるようにした。</p>			

その結果、CED とトランスフェリンによる分子標的の相加的作用としてトランスフェリン付加リポソーム群でトランスフェリン非付加群に比べて有意に高い腫瘍内ホウ素濃度が達成されていた。さらに CED の利点が活かされ、正常脳や他の正常組織にはほとんどホウ素の蓄積はみられなかった。その結果、腫瘍と正常脳のホウ素濃度は極めて高いコントラストをもたらした。さらにヨード造影剤がホウ素化合物と共にリポソーム内に包埋され、CED で投与した薬剤の脳内分布がよく可視化されており、分子標的能を有するトランスフェリン付加リポソーム群では長時間に渡って腫瘍内に薬剤が滞留していることが明瞭に示された。

本研究は分子標的可能なトランスフェリン付加リポソームをホウ素化合物の担送システムとして利用し、腫瘍内局所注入法である CED によって腫瘍内に多くのホウ素を蓄積させ、正常脳との高いコントラストを達成し、投与したホウ素化合物の脳内分布を画像化したという点において今後のホウ素中性子捕捉療法の発展に寄与するものであり、その意義は高いと考えられる。

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。

（主論文公表誌）

Neurosurgery 68(5): 1380-1387, 2011