

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	アルブミンを基盤とした中性子捕捉療法および近赤外光温熱療法に関する研究
Title(English)	Studies on albumin-based boron neutron capture therapy and near-infrared photothermal therapy
著者(和文)	西村開
Author(English)	Kai Nishimura
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京科学大学, 報告番号:甲第358号, 授与年月日:2025年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:中村 浩之,岡田 智,西山 伸宏,田中 克典,神谷 真子,柘植 丈治
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Institute of Science Tokyo, Report number:甲第358号, Conferred date:2025/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	要約
Type(English)	Outline

要約

東京科学大学 生命理工学院 生命理工学系 ライフエンジニアリングコース
西村 開

第1章「序論」では、三大療法（手術療法・放射線療法・化学療法）をはじめとするがん治療の現状と課題を整理し、本研究が目指す中性子捕捉療法（Boron neutron capture therapy; BNCT）および光温熱療法（Photothermal therapy; PTT）の重要性を論じた。BNCTは、ホウ素を利用したがんの粒子線治療である。本治療では、ホウ素の同位体¹⁰Bを含有したホウ素薬剤を投与し、がん細胞へと選択的に集積させた後、患部に熱中性子を照射する。これにより、発生した α 粒子およびLi核によりがん組織が細胞レベルで選択的に殺傷される。この選択性により、BNCTは正常組織への影響が小さいがん治療が可能となっている。BPAはBNCTで使用可能な唯一のホウ素薬剤であり、日本では2020年に頭頸部がんの保険治療薬として承認された。BPAはアミノ酸トランスポーター（LAT-1）を介してがん細胞選択的に取り込まれる。しかし、BNCTの適応疾患を拡大する上で、LAT-1の発現が低いがんにも有効な、BPAを補完するホウ素薬剤の開発が課題となっている。この課題に対し、当研究室では血清アルブミンをホウ素キャリアとして活用する腫瘍へのホウ素送達戦略に着目してきた。血清アルブミンは、血漿中で最も豊富なタンパク質であり、分子内に多数の低分子結合サイトを有する。また、長期血中滞留性を持つため、腫瘍に到達する確率が高く、薬剤の受動的な集積を促進できる。さらに、アルブミン受容体を介したがん組織・がん細胞内への蓄積により、能動的な薬剤送達も期待できる。PTTは、光照射により光温熱剤（Photothermal agent; PTA）を活性化し、局所的な熱発生を介して腫瘍のアポトーシスと壊死を誘導する非侵襲的ながん治療法である。PTTに用いるPTAには、高い光熱変換効率、近赤外光吸収特性、光安定性、生体適合性、腫瘍選択性といった多様な特性が求められる。しかし、これら全てを兼ね備えた材料は限られ、PTTの臨床応用を制約する要因となっている。臨床PTAとしては、インドシアニングリーンが知られるが、光熱変換効率の低さ、光退色の速さ、腫瘍への保持の不十分さといった課題が残されている。したがって、PTTに適した特性を全て兼ね備えたPTAの開発が課題となっている。

第2章「内在性アルブミンを活用したホウ素キャリアの開発」では、内在性アルブミンを利用した新たな低分子ホウ素キャリアBC-IP（boron-conjugated 4-iodophenylbutanamide）の設計と評価について述べた。当研究室で開発されたMaleimide-functionalized *closo*-dodecaborate（MID）は、マレイミド基とホウ素クラスターを有し、高い水溶性を示すとともに、生理的条件下でアルブミンを修飾可能である。MIDとアルブミンが共有結合したホウ素化アルブミン製剤（MID-BSA）は、結腸がんマウスモデルを用いた非臨床試験において、優れた腫瘍集積およびBNCT効果を示した。しかし、MID-BSAは血中アルブミンの14%にあたる多量のアルブミンを投与する必要があるため、臨床応用上の課題があった。そこで、内在性の血清アルブミンを利用したホウ素送達戦略を提案し、アルブミンと非共有結合するBC-IPを設計した。*In vitro*での生物活性評価の結果、BC-IPはアルブミンとの高い結合親和性（ $K_d = 148 \mu\text{M}$ ）、優れた水溶性（ $> 20 \text{ mM}$ ）および十分に低い細胞毒性（ $\text{IC}_{50} > 475 \mu\text{M}$ ）を

示した。*In vivo* の評価では、ヒト神経膠芽腫 U87MG 移植マウスにおいて、投与 3 時間後に最大かつ選択的な腫瘍蓄積を示し、アルブミンリガンドを介した腫瘍送達を確認された。さらに、従来の MID より腫瘍へのホウ素蓄積効率が高く、BNCT 用ホウ素キャリアとしての優位性が明らかとなった。以上より、BC-IP は BNCT に有望な低分子ホウ素キャリアであり、アルブミンとの非共有結合を活用したホウ素送達戦略の有用性が実証された。

第 3 章「アルブミンをキャリアとした葉酸受容体標的型中性子捕捉療法の開発」では、アルブミンと葉酸受容体を活用した新たなホウ素送達戦略に基づく BNCT の可能性を探求した。葉酸受容体は葉酸に対して高い親和性を示し、そのサブタイプである FR α は、悪性神経膠腫を含むさまざまながん細胞で過剰発現することが報告されている。悪性神経膠腫由来のがん細胞では、BPA の標的である LAT1 の低発現と FR α の高発現を示すがん種が存在するため、FR α を標的とするホウ素薬剤の開発は合理的な戦略である。本研究では、アルブミンリガンド、ホウ素源、葉酸受容体リガンドを組み合わせた低分子ホウ素キャリア PBC-IP (Pteroyl-*closo*-dodecaborate conjugated with a 4-(*p*-iodophenyl)butyric acid moiety) を開発し、その有効性を評価した。*In vitro* 評価では、BNCT の適応疾患である神経膠腫由来のがん細胞において、PBC-IP は BPA の 10–20 倍に達するホウ素量をがん細胞へと蓄積することが確認された。さらに、ヒト神経膠芽腫 U87MG 移植マウスモデルでの治療実験において、PBC-IP は既存のホウ素キャリア BPA を上回る抗腫瘍効果を示し、ホウ素キャリアとしての有用性が *in vivo* でも実証された。さらに、PBC-IP を神経膠腫に効果的に集積させる手法として、対流強化輸送 (Convection Enhanced Delivery; CED) 法を用いた局所投与の可能性を検討した。その結果、ラット F98 腫瘍同所移植モデルを用いた治療実験では、CED 法による PBC-IP の局所投与が完治に近い治療効果を示し、ラットの生存期間を半年以上に延長する結果が得られた。以上の結果から、PBC-IP は BPA の蓄積が低い神経膠腫に対して顕著な治療効果をもたらすことが示された。PBC-IP は神経膠腫に対する BNCT における有望な低分子ホウ素キャリアであり、本研究成果は BNCT による神経膠腫の根治的治療法の開発に大きく貢献する可能性を強く示唆する。

第 4 章「アルブミンをキャリアとしたビオチン受容体標的型中性子捕捉療法の開発」では、PBC-IP が取り込まれにくいがん細胞に対する新たなアプローチとして、アルブミンとビオチン受容体を活用したホウ素送達戦略に基づく BNCT を提案した。ビオチン受容体は、必須ビタミンであるビオチンの受容体であり、葉酸受容体の発現が低いがんを含む多様ながん細胞で過剰に発現していることが報告されている。そこで、アルブミンとビオチン受容体を活用してがん細胞に蓄積するホウ素キャリアとして、PBC-IP の葉酸受容体リガンドをビオチンに置換した BBC-IP (Biotinyl-*closo*-dodecaborate conjugate with an iodophenyl moiety) を新たに設計した。既存の低分子ビオチン化ホウ素化合物は、ビオチンが水溶性に乏しいこともあり、BNCT 用ホウ素キャリアとしての有用性は十分に評価されていない。しかし、BBC-IP は水溶性のホウ素クラスターを有することから、ビオチンを有しながらも優れた水溶性が期待でき、ビオチン受容体標的型 BNCT の検証に資するホウ素キャリアであると考えた。*In vitro* での生物活性評価の結果、BBC-IP は PBC-IP と比較してアルブミンとの結合親和性が低く、ビオチン部分がアルブミンとの相互作用に寄与しないことが示唆された。一方、BBC-IP は優れた水溶性 (> 40 mM) を示し、ヒトおよびマウスのがん細胞に対して最小限の細胞毒

性 ($IC_{50} > 0.15$ mM) を有し、BPA と比較して有意に高い細胞内取り込み量を示した。BBC-IP の細胞内取り込みはエンドサイトーシスを介して行われたが、一般にビオチン結合分子がクラスリン介在型経路を通じて取り込まれるのに対し、BBC-IP ではクラスリン介在型以外の経路が関与している可能性が示唆された。また、BBC-IP はリソソームを含む細胞質に局在する一方、BPA は細胞核を含む細胞全体に分布しており、細胞内局在の観点では BPA が有利であった。生体内分布研究において、BBC-IP はマウス結腸がんモデルにおいて BPA を上回る腫瘍蓄積を示した。しかし、腫瘍蓄積量が向上しているにもかかわらず、BNCT における治療効果は蓄積量と一致しなかった。この結果は、BNCT の治療効果が腫瘍でのホウ素蓄積量に加え、ホウ素キャリアのがん細胞内局在にも依存する可能性を示唆している。

第 5 章「近赤外光吸収を指向したアズレン含有光温熱剤の開発と光温熱療法への応用」では、優れた光熱変換効率 (Photothermal conversion efficiency; PCE) と生体深部まで透過可能な近赤外線 (Near-infrared; NIR) 吸収特性を持つ新しい光温熱剤 (PTA) の開発に取り組んだ。具体的には、アズレンを BODIPY の π 共役系に導入し、1,2,3,4-テトラヒドロキノリンおよびグルコースを組み込んだ新たな PTA である AzuGlu-BODIPY を構築した。TD-DFT 計算に基づき、AzuGlu-BODIPY が NIR 吸収特性を示す有望な分子であることが予測され、実験でもその予測に一致する吸収波長が観察された。この計算予測に基づく分子スクリーニングにより、条件に合致しない分子の合成を省略することができ、効率的な PTA 開発が促進された。AzuGlu-BODIPY は 51% という高い PCE を示し、がん細胞に対して照射および濃度依存的に細胞死を誘発した。マウス乳がん由来 4T1 腫瘍移植マウスモデルを用いた治療実験では、AzuGlu-BODIPY が腫瘍部位の温度を 50°C 以上に上昇させ、PTT 効果によって腫瘍の完全な退縮を達成した。これにより、AzuGlu-BODIPY が PTT において有用な PTA であることが実証された。AzuGlu-BODIPY は、これまで機能拡張が制限されていたアズレンベースの PTA 開発において、新たな分子プラットフォームを提供する。

第 6 章「結論」では、本論文を総括した。

付章「原子炉および加速器を用いたヒト神経膠芽腫モデルに対する中性子捕捉療法の有効性の比較検証」では、原子炉システム (京都大学複合原子力科学研究所 KUR) と加速器システム (青森県量子科学センター QSC 所蔵) を用い、ヒト神経膠芽腫マウスモデルにおける BPA を使用した BNCT の有効性を比較した。その結果、QSC 加速器は KUR に比べて中性子発生能力が低いものの、治療効果は両システムで同等であることが明らかになった。また、ガンマ線汚染、線量、初期腫瘍サイズの違いが治療効果に影響を及ぼした可能性を示唆し、原子炉型から加速器型 BNCT への移行に際して、中性子源の特性を十分に考慮する重要性を強調した。