



展 TENBO 望

新規ホウ素含有ナノ粒子の開発と BNCT への応用



富田 恒之

Tomita Koji
(東海大学理学部)



長崎 健

Nagasaki Takeshi
(大阪市立大学大学院工学研究科)

1 はじめに

がんは1981年以降、今日に至るまで日本人の死因として第1位となっている病気である¹⁾。

現在のがん治療は大別して3種類がある。1つは外科手術であり、がんとなった組織を切除する手法である。直接がんを切り取るため最も確実な方法ではあるが、がんの部位によっては切除ができないケースもある。化学療法では抗がん剤を投与しがん細胞を攻撃するが、がん細胞は正常細胞とよく似た性質を持ち、がん細胞だけでなく正常細胞にも影響を与え、体への負担は大きい。放射線治療は電子線や陽子線などの粒子線や、X線や γ 線などの高いエネルギーの電磁波を患部へ照射し、そのエネルギーによって細胞を攻撃する手法である。外科手術が難しい体内の深い部位に対しても体外から放射線を照射することで治療が可能であり、既に十分な効果を発揮している。一方で幾つかの課題もあり、その1つが放射線による正常細胞へのダ

メージである。体内深部へ放射線を体外から照射するには必ずそこまでの経路にある正常細胞を通過しなければならず、ある程度のダメージは避けられない。これを回避するために様々な工夫がなされているが、その1つに放射線の種類を体内で変換する手法がある。体外から照射する放射線には正常細胞にダメージの小さい放射線を用い、それを患部付近で何らかのプロセスを経て別の放射線へと変換し、近傍の細胞のみを攻撃することで体外から照射する放射線のダメージを大幅に軽減できる。その1つとして大きく期待されているのがホウ素中性子捕捉療法である²⁻⁵⁾。

2 ホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) と ホウ素薬剤

ホウ素中性子捕捉療法 (BNCT: Boron Neutron Capture Therapy) はホウ素の同位体である¹⁰Bが中性子を捕捉し、 α 線とリチウムイオン線を放出する性質を利用したがん放射線療法

の1つである。反応式は以下の(1)式のようになる。



中性子線はほかの放射線に比べて透過性が高く、正常細胞への影響は小さいため、腫瘍への攻撃性もほとんどない。そこで中性子線をより飛程が短く細胞への影響の大きな α 線やリチウムイオン線へと変換できるホウ素の同位体の一種である ^{10}B を腫瘍細胞に集積させることで放射線の変換を行い、狙った箇所のみを攻撃することができる。その概念図を図1に示す。

生体組織に影響の小さい中性子線を利用して、がん細胞への攻撃性の高い α 線とリチウムイオン線を目的の部位で発生させる放射線変換がBNCTの最大のポイントである。これによって正常組織へのダメージを最小限に抑え、かつ十分な腫瘍細胞の破壊を行うことができる。脳腫瘍のような、周囲の細胞への影響を極端に抑えなければならない症例において特に大きな期待が寄せられている。

このように理想的な特徴を持つBNCT法だ

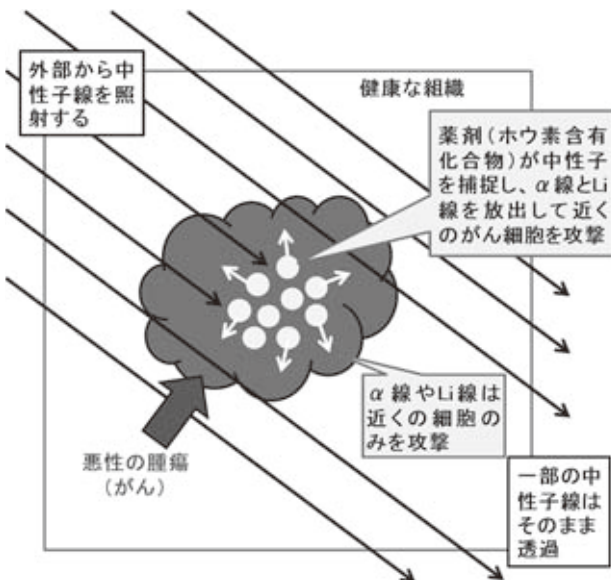


図1 ホウ素中性子捕捉療法の概略図

が、課題も幾つか存在する。照射する中性子線の線源は研究用原子炉を利用することとなり、現在日本国内で利用できる施設は京都大学原子炉実験所のみに限られる。加速器を使った中性子線発生装置の開発も進んでおり、2012年末より治験もスタートし実現すれば基幹病院に設置できる規模の設備になる^{6,7)}。

もう1つの課題として挙げられるのがホウ素薬剤の改良である。ホウ素の天然同位体比は質量10が約20%、質量11が約80%である。BNCTに効果を発揮するのは20%の ^{10}B のみであり、治療効果の改善には同位体濃縮が必要となる。 ^{10}B 濃縮のほかに、ホウ素薬剤は、なるべく多くのホウ素原子を含むこと、そして薬剤が腫瘍部位へ集積されることが求められる。図2左に示すボロカプテート(BSH, ナトリウム塩が用いられる)は、分子中に12個のB原子を含むため、多くのホウ素原子を腫瘍へと導入できるホウ素薬剤である^{3,4,8)}。図2右に示すボロノフェニルアラニン(BPA)は分子中に1つのホウ素原子しか含まないが、腫瘍への集積性が高く治療効果が高い⁹⁻¹¹⁾。

更なる腫瘍集積性を高めるため、これらの化合物の誘導体が数多く研究されている。腫瘍集積性を高めるには、生体や腫瘍細胞との生化学的相互作用を利用するため、ほとんどの医療用薬剤と同様に有機化学をベースとする合成技術が用いられ、今後も更なる研究が期待される。一方で、BNCT法の治療効果そのものをもたらす反応は(1)式に示した原子核の反応であり、分子内におけるホウ素原子の状態にはこの反応は影響を受けない。よって、BNCT用薬剤は必ずしも有機化合物である必要はなく、薬剤として用いられることの比較的少ない無機化合物もその対象に成り得る。

無機化合物薬剤のBNCT利用を後押しする要因の1つとして、EPR効果(Enhanced Permeability and Retention ef-

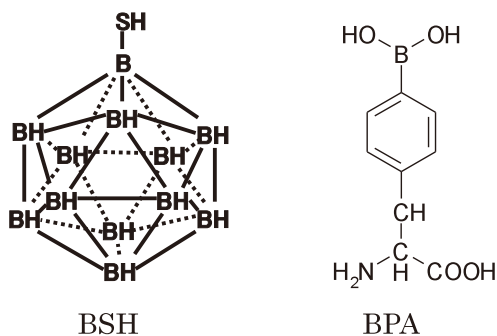


図2 ホウ素薬剤の例

fect) がある^{12,13)}。EPR 効果はある大きさを持った薬剤が腫瘍部位へ特異的に集積する現象を利用するドラッグデリバリーの1つである。腫瘍付近の血管はその腫瘍の影響によってほかの正常な部位に比べて大きな“穴”が開いている。したがって、正常組織では血管からの移行が起らないような特定のサイズの粒子を血液からこの穴を通じて腫瘍へと集積させることができる。EPR 効果による集積は BNCT 以外にも化学治療用抗がん剤のドラッグデリバリーとしても活用されている。EPR 効果は原理的にサイズによるふるい分けを利用するため、有機化合物だけでなく無機化合物も同様に集積させることが可能である。無機化合物の EPR 効果による腫瘍への集積には、粒子のサイズを厳密に制御する特殊な無機合成技術が必要となる。本稿では EPR 効果の利用を想定した BNCT 用薬剤として用いるホウ素含有ナノ粒子の合成と粒径制御の例を紹介する。

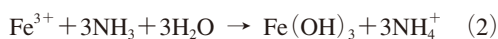
3 無機ナノ粒子の合成

共有結合を主たる結合とする有機化合物と、イオン結合や金属結合が主である無機化合物とはその合成手法は全く異なる。特に、反応に利用する温度域の違いは顕著で、高温で分解してしまう有機分子の合成に 200℃以上の温度を利用することはまれだが、無機材料の合成では反応を十分にさせるために 1,000℃以上の熱処

理を行うことが日常的である。無機合成にこのような高温を利用する理由はより完全な結晶を構築するためであり、多くの場合ではより優れた特性が得られる。一方で高温プロセスは粒子サイズを大きくすることにもつながり、EPR 効果を示すような数十～数百 nm の粒子合成はできない。したがって、微粒子の無機材料を合成するためには、大きな粒子を粉碎して微細化するか、若しくは最初から小さな粒子を合成することの二択となる。前者がブレイクダウン法、後者がビルドアップ法と呼ばれ、ブレイクダウン法では合成した大きな粒子をボールミル等で粉碎・微細化する。目的とするサイズに合わせて粉碎条件を決定するが、粉碎に用いるボールの大きさは目的とするサイズのおおよそ 1,000 倍が目安とされる。EPR 効果を狙って 100 nm の粒子を作製する場合、100 μm のボールが必要であるが、1 mm 未満の粉碎用ボールは作製が難しく極端に高価になる。またランダムに粉碎された粒子は大きさや形が揃うわけではなく、EPR 効果の利用にはあまり適さない。したがって、大きさや形の揃った微粒子合成にはビルドアップ法が有利な手法といえる。ビルドアップ法にも様々な手法があるが、ほとんどに共通となる過程が気体や液体中から目的材料あるいはその前駆体を固体として析出させるプロセスである。ここでは溶液プロセスの一種で、粒子サイズや形態制御に優れた均一沈殿法を説明する。

4 均一沈殿法

均一沈殿法について、簡単な実例を使って説明する。塩化鉄の水溶液にアンモニア水を滴下すると (2) 式のような反応によって水酸化鉄が沈殿する。



この反応が生じる場所を厳密に議論すると、塩化鉄水溶液とアンモニア水が接触した界面と

もいえる二次元的な極めて小さな領域での反応といえる。この反応によって生成する水酸化鉄は溶媒である水分子を多量に含み、ゲル状として生成する。このように沈殿剤を滴下によって導入するのは異なり、溶液内で化学反応によって沈殿剤を発生させるのが均一沈殿法の特徴である¹⁴⁻¹⁶⁾。均一沈殿法では尿素 (H_2NCONH_2) やヘキサメチレンテトラミン ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_4$) などが均一沈殿剤としてよく用いられる。尿素とヘキサメチレンテトラミンはそれぞれ (3) 式と (4) 式のように水によって加水分解反応を起こす。

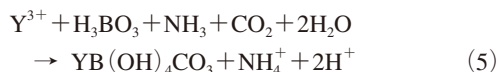


これらの反応は常温ではほとんど起きず、およそ 60°C 以上で加熱することで反応が開始する。尿素やヘキサメチレンテトラミンはそれ自身の塩基性は弱く、(3) 式と (4) 式の加水分解反応によって生じたアンモニアによって pH が上昇する。トータルの反応ではアンモニアを滴下した場合とほぼ同様となるが、溶液内で化学的にアンモニアを発生させることで生成する固体の形態は大きく異なり、水酸化鉄を尿素を用いた均一沈殿法によって生成すると、結晶性の $\beta\text{-FeOOH}$ が得られ、粒子サイズや形態も揃えることができる。沈殿させる金属イオン、共存させる陰イオン (リン酸イオン、ホウ酸イオン等)、均一沈殿剤の組み合わせによって、様々な材料を均一沈殿反応によって作るができる。

5 均一沈殿法によるホウ素含有ナノ粒子の合成

BNCT 薬剤に用いる材料合成ではホウ素源としてホウ酸イオンを共存させる。ホウ酸イットリウム (YBO_3) はテルビウム (Tb) 等を少量添加することで緑色で高輝度発光する蛍光体として古くから知られている。硝酸イットリウム

($\text{Y}(\text{NO}_3)_3$)、ホウ酸、尿素を含む水溶液を加熱すると、尿素の加水分解反応によってアンモニアと炭酸が発生し、(5) 式のような反応でホウ酸炭酸イットリウム ($\text{YB}(\text{OH})_4\text{CO}_3$) が沈殿する。



この反応を実際に行った際の pH の経時変化を図 3 に示す。

反応開始時の pH は 4 程度の弱酸性で、無色透明の均一な溶液である。加熱によって尿素の加水分解反応が進み pH が上昇する。pH5 付近になると粒子内の沈殿を形成するイオン (ホウ酸イオンと炭酸イオン) の濃度が過飽和状態となり、粒子の核生成が始まる。核生成によって OH^- が消費され、ここで一度 pH が低下する。その後、尿素の加水分解によってアンモニアと炭酸が供給され続けることで、核が成長し粒子サイズが大きくなる。イットリウムイオンが全て消費されると沈殿形成反応が終了し、引き続き発生しているアンモニアによって pH が一気に上昇する。このように pH の変化を見ることで、核生成と粒子成長の状況を知ることができ、途中で反応を止めることで目的の大きさに成長した粒子を得ることができる。図 4 左はこの反応で合成した粒子の電子顕微鏡画像である。このように、大きさや形の揃った粒子が得られている^{17,18)}。

より粒径の小さい粒子を合成するには、過飽和度を極端に高めることで核生成を優位にし、

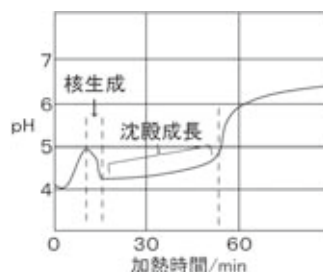


図 3 均一沈殿反応時の pH の経時変化

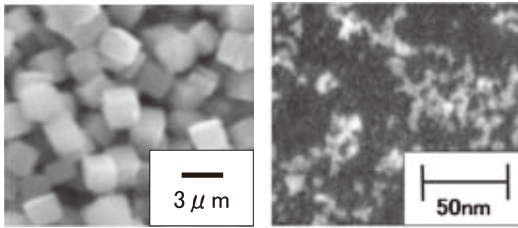


図4 均一沈殿法で合成したホウ素含有粒子の電子顕微鏡画像

粒子成長をさせない条件が必要である。図4右は、ヘキサメチレンテトラミンを均一沈殿剤に用いて作製した粒子の電子顕微鏡画像である。ヘキサメチレンテトラミンの加水分解では尿素と異なり炭酸が発生しない。そのため生成する沈殿も異なり、核生成と粒子成長の挙動が大きく変わる。得られた粒子は直径10 nmを下回るシングルナノ粒子であり、核生成が優勢に起こったことが分かる。種々の物性評価試験から、得られた粒子はイットリウムとホウ素を1:1のモル比で含み、特定の構造を持たないアモルファスであることを明らかにした。このアモルファスホウ酸イットリウムナノ粒子を、 ^{10}B 同位体を約95%まで濃縮したホウ酸を原料として合成し、そのBNCT効果を検証した。

6 ホウ素含有ナノ粒子のBNCT効果

ヘキサメチレンテトラミンを用いて均一沈殿法で合成したホウ素含有ナノ粒子の表面電荷(ゼータ電位)測定を行ったところ、正に帯電していることを確認した。一般に正に帯電する粒子は血液中で血清タンパクと凝集を起こしやすいため、アニオン性の高分子であるコンドロイチン硫酸をコーティングすることで表面電荷を負にし、これをBNCT用薬剤として用いた。

実験用マウスの右大腿部にがん細胞を移植し、14日間飼育後、前記のホウ素含有ナノ粒子を含む分散液を腹腔内に注射した。その12

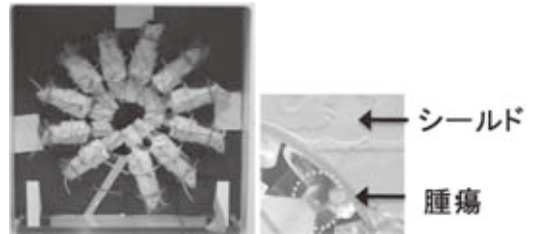


図5 担がんマウスへの中性子照射試験

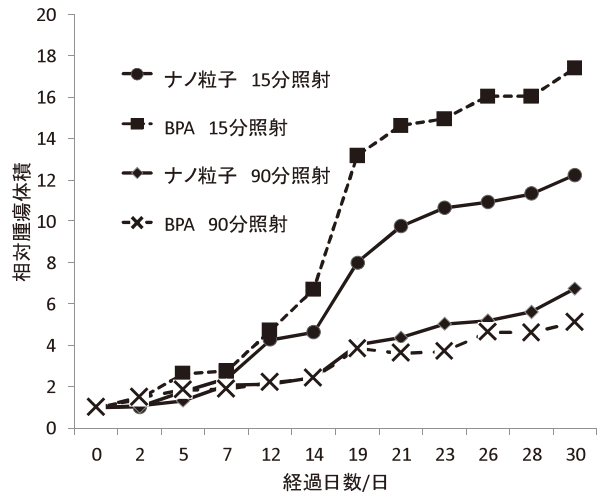


図6 中性子照射後の相対腫瘍体積の変化

時間後に、京都大学原子炉実験所で中性子を15~90分間照射し(図5参照)、その後の腫瘍の体積変化を調査した。比較対象としてBPAを同じホウ素濃度となるように導入してその効果を対比した。図6に中性子照射後の経過日数と相対腫瘍体積をグラフで示した。

90分間の中性子照射において、BPAと同程度の十分な腫瘍増殖抑制効果が見られた。一方、より短い15分間の中性子照射を行ったケースでは、BPAよりも高い腫瘍増殖抑制効果が観察された。この結果は、本ナノ粒子薬剤が低分子薬剤であるBPAと比べ、高い中性子捕捉効率を有することを示唆する。現時点でこのナノ粒子薬剤の優位性を明確に説明できる実験結果はなく、今後も様々な条件を変えて実験を重ねることで、BPAやBSHのような低分子ホ

ウ素薬剤に対する粒子ホウ素薬剤の中性子捕捉効率の違いについて明らかにしていく。

7 今後の展望

本稿ではホウ素含有ナノ粒子を用いた BNCT 法による新規がん治療薬剤の開発の最新事例を紹介した。この新規薬剤が有効な治療効果を発揮する結果が得られており、引き続き粒子サイズの制御や急性毒性の低減など、様々な合成と最適化処理を行う。また、このナノ粒子には希土類元素を自由に導入することが可能であり、例えばガドリニウム (Gd) による MRI 造影能をこの粒子に付与することで、腫瘍への集積性を確認する機能を持たせることもできる。薬剤に発光性を持たせたり磁性を持たせることも可能と考えられ、無機材料の特徴である元素の多様性を利用することで、これまでの有機分子薬剤とは異なる複合機能的薬剤を創りだすことができると考えている。

人類は医学の発展によりこれまでに様々な病気への対処法を確立してきたが、がんに対しては未だに決定的な手法を見いだせていない。一方で近年の医学の発展には、当初は医学から遠いと考えられてきた様々な技術が応用され、既に多くの治療がなされている。本稿で紹介したナノ粒子も照明やディスプレイ用の蛍光体として利用されている材料であり、それが医療への応用に展開できたことは異分野融合の重要性を証明しているであろう。無機材料は現在でも構造材料や電子デバイス等を中心として利用・研究されているが、様々な分野の研究者がそれぞれニーズとシーズを持っており、その2つが出会うことでこれまではない研究の融合が生まれ、新しい展開へと発展するだろう。

【謝辞】

本稿で紹介した研究は文部科学省科学研究費補助金・新学術領域研究「融合マテリアル」(<http://www.fusion-materials.org/>)の一環として実施されたものである。また、中性子照射実験を行うに当たり、京都大学原子炉実験所並びにその所員の方々にご協力いただいた。この場を借りて深く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 平成 24 年厚生労働省・政策レポート (2012)
- 2) Kato, I., *et al.*, *Appl. Radiat. Isot.*, **61**, 1069–1073 (2004)
- 3) Maruyama, K., *et al.*, *J. Control. Release*, **98**, 195–207 (2004)
- 4) Haritz, D., *et al.*, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **28**, 1175–1181 (1994)
- 5) Kane, R.R., *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 8853–8854 (1993)
- 6) 小野公二, 月刊新医療, **39**, 70–73 (2012)
- 7) 古林徹, エネルギーレビュー, **31**, 7–10 (2011)
- 8) Hideghey, K., *et al.*, *J. Neuro-Oncol.*, **62**, 145–156 (2003)
- 9) Henriksson, R., *et al.*, *Radiother. Oncol.*, **88**, 183–191 (2008)
- 10) Bergenheim, A.T., *et al.*, *J. Neuro-Oncol.*, **71**, 287–293 (2005)
- 11) Ryyanen, P.M., *et al.*, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **48**, 1145–1154 (2000)
- 12) Mumtaz, S., *et al.*, *Glycobiology*, **1**, 505–510 (1991)
- 13) Vaage, J., *et al.*, *Int. J. Cancer*, **51**, 942–948 (1992)
- 14) Matsuda, K. and Kayama, I., *J. Ceram. Soc. Jpn.*, **1983**, 23–27 (1983)
- 15) Fujita, K., *et al.*, *J. Ceram. Soc. Jpn.*, **98**, 991–994 (1990)
- 16) Fujita, K., *et al.*, *Inorg. Mater.*, **5**, 333–335 (1998)
- 17) Naruse, N., *et al.*, *J. Ceram. Soc. Jpn.*, **121**, 502–505 (2013)
- 18) Tomita, K., *J. Ceram. Soc. Jpn.*, **121**, 841–846 (2013)