

ポリビニルアルコールによる BNCT 治療効果向上について



野本 貴大
Nomoto Takahiro



西山 伸宏
Nishiyama Nobuhiro

1 ホウ素中性子捕捉療法

今年 8 月、台湾元総統の李登輝氏が逝去された。親日家として広く知られている李氏は、日本がリードする最先端がん治療のホウ素中性子捕捉療法 (boron neutron capture therapy: BNCT) に注目し、大変熱心に台湾への BNCT の導入を推進された方でもある。2018 年に台湾で開催された国際中性子捕捉療法学会では、BNCT の導入にご尽力された小野公二先生 (大阪医科大学関西 BNCT 共同臨床研究所所長) に感謝の文を綴られている。李氏がそれほどまでに興味を抱いた BNCT とは、ホウ素原子 (^{10}B) にエネルギーの低い中性子 (熱中性子) を照射することにより核反応を起こし、細胞傷害性の高い α 粒子と Li 反跳核を産生し、それによりがん細胞を殺傷するというものである (図 1)¹⁾。これらの粒子

の飛程は $10\ \mu\text{m}$ 以下であり、がん細胞内で選択的にこの核反応を誘導することができれば、正常細胞には傷害を与えずにがん細胞だけを殺傷することができる。このような高 LET 線を用いた選択性の高さから、BNCT は従来の放射線技術では治療することが困難であった多発性・再発性のがんに対して極めて有用であると期待されてきた²⁾。そして今年 3 月、BNCT 用のホウ素薬剤ステボロニンと熱中性子照射装置が製造販売承認され、6 月には切除不能な局所進行又は局所再発の頭頸部癌に対する BNCT が世界に先駆け保険適用され、日本発世界に輸出可能な医療技術として益々期待が高まっている。

2 BNCT に使用されるホウ素薬物

BNCT を患者に対して行う手順としては、ホウ素薬剤を静脈注射し、その後ホウ素薬剤が患部に集積したタイミングで患部に熱中性子の照射を行う。ただし、熱中性子は患部を標的として照射されるものの、実際には周辺の正常組織に対してもある程度は照射されることとなる。したがって、正常細胞に対する被ばく量を最小限にとどめ、がん細胞だけを選択的に殺傷するには、ホウ素ががんに選択的に集積することが重要となる。臨床的には現在、腫瘍内ホウ素濃度が 25 ppm 以上であり、腫瘍 / 正常組織ホウ素濃度比が 2.5 以上であることが求められており、ホウ素をがん細胞に集積させるための薬剤の開発が

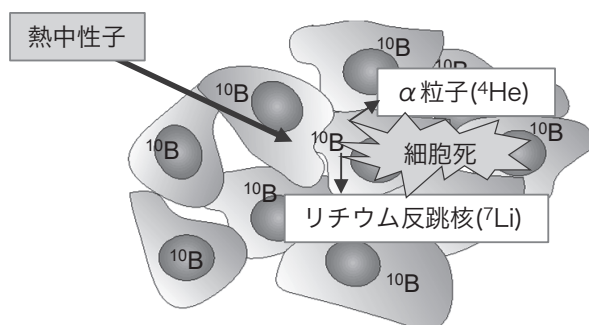


図 1 BNCT の概要 (^{10}B と熱中性子の核反応)

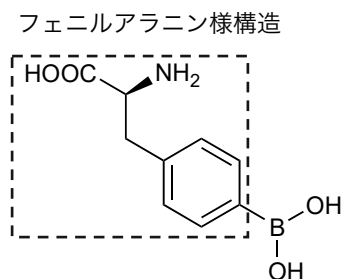


図2 BPAの化学構造式

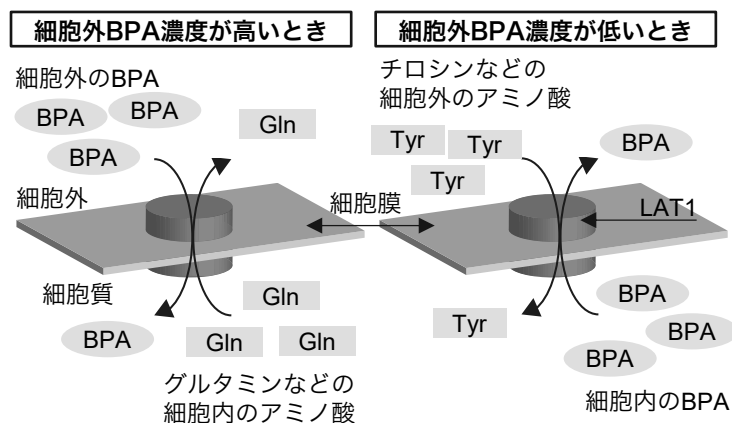


図3 LAT1による交換輸送

必要とされている。

今までに開発されてきたホウ素薬物の中でも、最も臨床研究が進められているのはボロノフェニルアラニン (BPA) である (図2)。BPA はアミノ酸のフェニルアラニンやチロシンと極めて類似した構造を持つボロン酸誘導体である。フェニルアラニンやチロシンのような比較的疎水的で大きなアミノ酸は、がん細胞で過剰発現しているアミノ酸トランスポーターLAT1の基質となるが、類似構造を持つBPAも同様にLAT1に認識され、がん細胞に極めて選択的かつ効率的に取り込まれる³⁾。最近承認されたステボロニンの有効成分もBPAであり、その臨床試験における再発頭頸部癌に対するBNCT施行90日後の奏効率が71.4%と極めて高かったことからBPAの有用性の高さが示されている。また、最近では放射性の¹⁸Fを修飾したBPA (¹⁸F-BPA)が開発され、この¹⁸F-BPAはBPAと同様の体内動態を示しながらポジトロンエミッショントモグラフィ (PET) による薬剤の分布の定量的イメージングをも可能にすることから、BNCTに適した患者の治療前の選別 (コンパニオン診断) も可能としている⁴⁾。まさにBPAはプレシジョン・メディシンを具現化する理想的な薬物であるといえる。

3 BPAの課題

極めて優れたBPAであるが、BPAは熱中性子照射中 (30~60分間) に徐々に腫瘍内から消失してしまい治療効果が低減してしまうという課題も持つ。前述のようにLAT1を介してBPAはがん細胞に選

択的に取り込まれるのだが、腫瘍内からの消失についてもこのLAT1が関連しているものと考えられている⁵⁾。LAT1は交換輸送体であり、細胞外基質を取り込む際に細胞内のアミノ酸を細胞外に放出するという特徴を持つ。細胞外のBPAを取り込む際には細胞質に豊富に存在するグルタミン等のアミノ酸を細胞外に放出する。一方で、血中BPA濃度が低下するに伴い細胞外BPA濃度が低下すると、細胞質内のBPAが細胞外のチロシン等の基質と交換されて細胞外に排出されるようになり、長期的に腫瘍内ホウ素濃度を高く維持することが困難となる (図3)。この腫瘍内ホウ素濃度の低下を防ぐ方法として臨床では熱中性子照射中にBPAを点滴注射する方法もとられるが、熱中性子照射中の照射場への患者以外の立ち入りは制限されるため、患者の動きが制限されたり、注射針が途中で外れたりする等の不都合が生じる。それ故に、BPAを腫瘍内に長期的に滞留させることはBNCTの実用性の向上につながると期待されている。

更に、これはBNCTの普及に影響するとも考えられる。今まで中性子線源は原子炉が主だったが、原子炉は病院に併設することが困難でありメンテナンスのコストが大きいことから、今後は病院内に設置可能な加速器型中性子線源が主流となる。しかしながら、現在の加速器型中性子線源から産生される熱中性子量は原子炉の半分程度である場合が多く、治療範囲が比較的浅い部分に限定されてしまうということが懸念される。同じ熱中性子量で比較的深部のがんを治療するためには腫瘍内ホウ素濃度を高く長期的に維持することが重要となる。

4 ポリビニルアルコールの着想

BPA の腫瘍内滞留性を向上させる方法として、高分子を基盤とした薬物送達技術の開発に従事する筆者らは単純に BPA に高分子を結合させる方法に着想した。高分子は一般的にエンドサイトーシスで取り込まれるため、BPA の LAT1 選択性を阻害しないように高分子を BPA に結合させることができれば、LAT1 に結合しつつも細胞への取り込まれ方はエンドサイトーシスを介して行われるようになり、細胞内局在部位が細胞質からエンドソーム・リソソーム内へと変わり、前述の LAT1 を介した細胞内 BPA の細胞外流出を遅延することができるのではないかと仮説を立てたのである。

BPA に高分子を結合する方法としては BPA のボロン酸部位に着目した。BPA のアミノ基とカルボキシル基は LAT1 に認識されるのに重要な部位とされており⁶⁾、これらの官能基についてはそのままの状態にしておきたかったからである。また、ボロン酸構造は水中において多価水酸基構造と容易にボロン酸エステルを形成することが知られており、将来的な製造容易性に優れているという点も考慮した。多価水酸基を有する高分子の構造は多種多様であるが、その中でも筆者らはポリビニルアルコール (PVA) が有用であると考えた。その理由の 1 つは安全性である。BPA の臨床における投与量は 500 mg/kg と一般的な抗がん剤と比較すると非常に高い。この量と同様に BPA に結合する高分子の投与量も高くなるが見込まれるため、高分子の生体適合性・安全性は極めて高いことが望まれる。その点において PVA には古くから生体適合性材料として研究されてきた歴史と臨床応用における実績があり、必要とされる条件に適していると考えられた^{7,8)}。また、化学構造がシンプルで製造方法が確立しているという点においても、実用性の観点から優れている材料であった。これらの理由から、筆者らは BPA に PVA を結合し (図 4)、その機能を *in vitro* と *in vivo* で評価した⁹⁾。

5 PVA-BPA の効果

PVA は市販品ではなく、可逆的付加開裂連鎖移動重合という方法でポリビニル酢酸を重合し、それを加水分解した独自のものをを用いた。一般的な市販

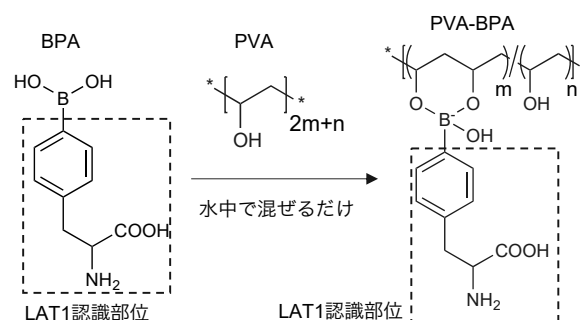


図 4 PVA-BPA の化学構造式

品のものと比較すると分子量が小さく (10,000 程度) 粘度も低い PVA である。この PVA を BPA と水中で混合し pH を適宜調整することにより BPA に PVA が結合した PVA-BPA を調製した。

in vitro の研究ではまず、LAT1 陽性のヒト膀胱癌 BxPC3 細胞を用いて細胞内取込量を評価した。従来の fructose-BPA (fructose は可溶化剤として使用) と比較して約 3 倍の細胞内取込量を示した。そして、LAT1 阻害剤を添加するとこの取込量は大幅に低下した。次に、共焦点レーザー走査型顕微鏡により細胞内分布を観察したところ、fructose-BPA は細胞質全体に広がっている様子が観察された一方で、PVA-BPA は主にエンドソーム・リソソーム中に存在することが示唆された。すなわち、PVA-BPA は従来の fructose-BPA と同様に LAT1 を介するものの、エンドサイトーシスにより細胞に取り込まれるため細胞内取込量を大きく向上したのと考えられる。そして、細胞内分布の変化が BPA の細胞内滞留性に影響するかを調べるため、fructose-BPA と PVA-BPA を培養細胞に対して 3 時間接触させた後、培地中から BPA を除いて 30 分間培養したところ、PVA-BPA は高い細胞内ホウ素濃度を維持することが示唆された。

in vivo では BxPC3 マウス皮下腫瘍モデルに対して静脈注射を行い、腫瘍集積性を評価した (図 5)。BxPC3 皮下腫瘍は間質が豊富に存在し薬物が集積しづらい腫瘍であるが、fructose-BPA は投与から 1,3 時間後において約 4% dose/g tumor と一般的な抗がん剤と比較しても優れた集積性を示した。しかしながら、前述のとおり、長期的に腫瘍に滞留することはできず、徐々に腫瘍内ホウ素濃度を低下させた。一方で、PVA-BPA は fructose-BPA よりも有意に高い腫瘍内ホウ素濃度を投与後 6 時間経過しても

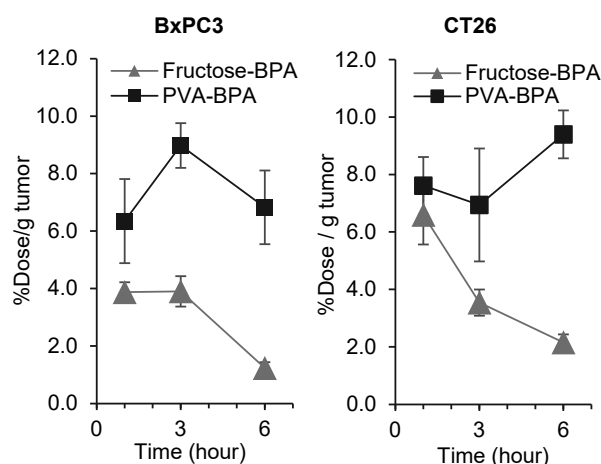


図5 腫瘍集積性・滞留性

維持した。同様の傾向はマウス大腸癌 CT26 細胞の皮下腫瘍モデルでも得られ、fructose-BPA は投与から 1 時間後で極めて高い腫瘍集積量を示したが、時間経過と共に腫瘍内ホウ素濃度が低下した。これに対して PVA-BPA は投与後 1 時間で到達する極めて高い集積量を 6 時間経過後でも維持した。PVA-BPA はこのように腫瘍集積性・滞留性を劇的に向上した一方で、血中や正常組織への集積は低く抑えられていた。これは、*in vitro* で示されたように、PVA-BPA が LAT1 介在型エンドサイトーシスで取り込まれたことによるものであると考えられる。

最後に、これらの皮下腫瘍モデルを用いて京都大学複合原子力科学研究所の研究炉 (KUR) にて熱中性子照射を行い、BNCT 効果を評価した。腫瘍集積性評価と一致するような結果として、CT26、BxPC3 の両モデルにおいて PVA-BPA は fructose-BPA よりも優れた腫瘍増殖抑制効果を示し、特に CT26 モデルにおいては顕著な結果であった (図 6)。

6 今後の展望

BPA に PVA を加えるだけで、BPA の腫瘍集積性・滞留性を向上し、BNCT 効果までも飛躍的に高められることが明らかとなった。PVA は既に医療用添加物として使用されていることから、安全性が高い物質として期待される。本研究シーズについては最近 (2020 年 8 月)、日本医療研究開発機構 (AMED) の産学連携医療イノベーション創出プログラム基本スキーム (ACT-M) に採択され、非臨床試験実施に向けた製剤規格の決定に邁進している段階であ

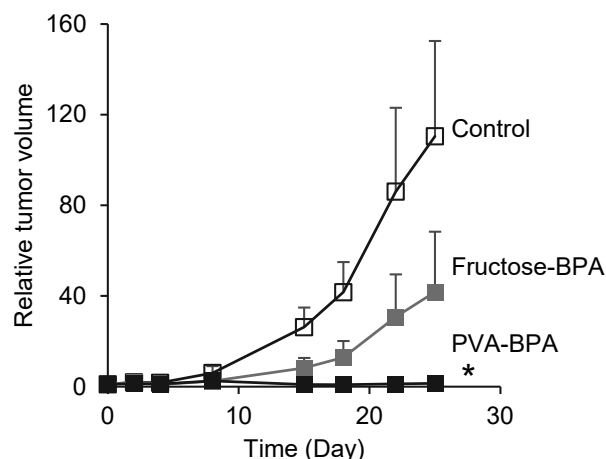


図6 皮下 CT26 腫瘍モデルにおける BNCT 効果

る。安全性を精査しながら実用化に向けて鋭意開発を進めていきたいと考えている。

【謝辞】

本研究は主に科学技術振興機構センターオブイノベーション (COI) プログラム、科学研究費助成事業 (課題番号: 18K18383, 18H04163, 15H04635)、日本医療研究開発機構 (課題番号: JP18cm0106202, JP19lm0203023) の助成を受けて遂行したものである。本研究を推進した東京工業大学生命理工学院卒業生の井上透矢さん、Yao Ying さん、金盛開人さんに感謝する。また、熱中性子照射実験にご協力くださった京都大学複合原子力科学研究所の鈴木実教授、櫻井良憲准教授、田中浩基准教授、高田卓志助教に心より感謝申し上げる。

参考文献

- 1) 中村浩之, *RADIOISOTOPES*, **64**, 47-58 (2015)
- 2) 鈴木実, *RADIOISOTOPES*, **64**, 59-66 (2015)
- 3) P. Wongthai, et al., *Cancer Sci.*, **106**, 279-286 (2015)
- 4) T. Watanabe, et al., *BMC Cancer*, **16** (2016)
- 5) A. Wittig, et al., *Radiat. Res.*, **153**, 173-180 (2000)
- 6) E. G. Geier, et al., *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **110**, 5480-5485 (2013)
- 7) N. W. Roome, et al., *Can. Med. Assoc. J.*, **51**, 293-299 (1944)
- 8) N. Ben Halima, *RSC Advances.*, **6**, 39823-39832 (2016)
- 9) T. Nomoto, et al., *Sci Adv.*, **6**, eaaz1722 (2020)

(東京工業大学 科学技術創成研究院 化学生命科学研究所)