

氏名(本籍)	角谷省吾(京都府)
学位の種類	博士(工学)
学位記番号	博甲第6025号
学位授与年月日	平成24年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	数理物質科学研究科
学位論文題目	<b>Design of Core-polymerized and Boron-conjugated Polymeric Micelles as Boron Carriers for Boron Neutron Capture Therapy</b> (ホウ素中性子捕捉療法を目指したホウ素含有コア重合型ミセルの創製)
主査	筑波大学教授 工学博士 長崎幸夫
副査	筑波大学教授 博士(工学) 神原貴樹
副査	筑波大学教授 博士(工学) 青柳隆夫
副査	筑波大学准教授 博士(工学) 陳国平

### 論文の内容の要旨

近年次世代のガン治療方法として、ホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) が近年大きな注目を集めている。低エネルギーの熱中性子は人体には無害であるが、 $^{10}\text{B}$  と反応することでリチウムと  $\alpha$  線を生じ、その飛程 (数  $\mu\text{m}$ ) は細胞1つの直径とほぼ同等である。従ってあらかじめホウ素分子をガン細胞のみ選択的に取り込ませそこへ中性子照射を行えば、選択的にガン細胞のみを破壊することができる。これを利用するのが BNCT である。BNCT によって効果的なガン治療を目指す上で重要となる点は、いかにしてガン組織にのみ、特異的にホウ素化合物を送達するかということである。現在臨床試験において用いられているホウ素化合物は、主に BSH (Sodium borocaptate) と BPA (Boronophenylalanine) の2種類であるが、どちらもガンへ特異的に取り込まれる機構を持たず、現状では過剰量を全身投与、もしくは局所投与した後に中性子を照射し治療を行っているため、正常組織の損傷を免れることはできない。そのような背景のもと、ナノ粒子を用いたドラッグデリバリーシステム概念が注目を集めている。ガン組織はその増殖が急速であるため、栄養を確保するため血管新生が過剰に起こっている。この血管は数 100 nm から数  $\mu\text{m}$  の空隙が存在し、血液の透過性が亢進していることが知られている。またガン組織はリンパ回収系が欠如しており、異物を排出しにくい性質を持っている。以上の点から、血中を長期的に循環することのできるタンパク質、高分子化合物やナノ粒子は高効率でガン組織へ集積し、長期的に滞留することが期待できる。この性質は EPR 効果 (Enhanced permeability and retention effect) と呼ばれる。以上の観点から、血中で安定なナノ粒子にホウ素化合物を担持させることでガン組織への特異的な集積を図る研究が盛んに行われている。特に PEG 化リポソームに関する研究は多数報告されている。従来研究されているリポソームは、ホウ素化合物を物理的に親水層、もしくは疎水層に混ぜ込むことで内包しているが、前者はホウ素化合物のリポソームからの漏れ出し、後者は膜の不安定化によるリポソームの安定性低下が懸念される。本論文では重合性部位を持つ疎水性のカルボランモノマー (1-ビニルベンジル-*closo*-カルボラン: VB-カルボラン) を合成し、重合性官能基であるメタクリロイル基 (MA 基) を PLA 末端に導入した PEG-*b*-PLA-MA ミセルの内核に物理的に内包させ、ミセル内核で共重合を行なったコア重合型ミセルの調製を行った。このミセルは、カルボランとミセルコア部を共有結

合で繋ぎ止めることで、体内投与後もミセルの解離、カルボランの漏れ出しが起こらず安定にカルボランをガン組織に送達することが期待される。粒径測定の結果、調製した非重合ミセル、重合ミセルの平均粒径はそれぞれ 60、67 nm であり、各ミセルのホウ素内包量はそれぞれ 3.2、3.5 wt% であることから、重合の前後で粒子の物性に大きな変化は生じていないことが確認された。また血清存在下での安定性評価の結果、非重合ミセルは 48 時間後において約 50 % のホウ素化合物がミセルから漏れ出したのに対して、重合ミセルは 48 時間後においても漏れ出しが殆ど観察されなかった。体内動態試験の結果、重合によって血中滞留性の顕著な向上が確認され、それに伴い腫瘍への集積量が増加することを確認した。これらの結果は、共有結合によってカルボランとミセルコア部を結合させることでカルボランの漏れ出しが抑制されたことによるものと考えられる。次に長期的な体内動態を評価したところ、投与後 7 日後において非重合ミセルだけでなく、重合ミセルも血液、肝臓、脾臓、腎臓から完全に消失していることが確認された。この結果は、重合型ミセルは治療後体内に残留することなく 7 日以内に排出されることを示している。さらに担ガンマウスへ中性子照射を行った結果、非重合ミセルおよび BSH 投与マウスではコントロール群とほぼ同様の増加傾向が見られたのに対して、我々の設計した重合ミセル投与マウスでは、明らかな腫瘍増殖抑制効果が確認された。以上の結果より、コア重合型ホウ素含有高分子ミセルは BNCT において高い治療効果を達成する新たなガン選択的ホウ素キャリアとしての有用性が期待される。

## 審査の結果の要旨

論文審査及び質疑応答に関して、

1. ホウ素化合物を腫瘍選択的に集積させるための設計として、生理条件下における安定性の高いコア重合型ミセルの調製、流動場分離法を用いた精確な安定性評価など理論的に課題を考慮していることは、評価に値する。
2. *in vitro* で得られた結果と動物実験で得られた結果の相関性を理論的に考察している点は、評価に値する。今後、組織内でのミセルの分布を明らかにするための評価方法や、その分布が治療効果に与える影響を思考することは非常に重要なことである。
3. 本論文に記載した内容には、まだ投稿されていないデータも含まれ、今後論文としての投稿を行う必要がある。

平成 24 年 2 月 10 日、数理物質科学研究科学学位論文審査委員会において審査委員の全員出席のもと、著者に論文について説明を求め、関連事項につき質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって、合格と判定された。

上記の論文審査ならびに最終試験の結果に基づき、著者は博士（工学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。