

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 1 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591605

研究課題名（和文） レドックス制御による 中性子捕捉療法に用いるホウ素化合物取込み改善に関する研究

研究課題名（英文） Boron uptake enhancement by redox control in boron neutron capture therapy.

研究代表者

吉田 文代（YOSHIDA FUMIYO）

筑波大学・医学医療系・助教

研究者番号：30261811

研究成果の概要（和文）：中性子捕捉療法に用いられる BSH は、SH 基を持つチオール化合物の 1 種である。代表的細胞内チオール化合物であるグルタチオンの合成を阻害する buthionine sulfoximine (BSO) で前処理することにより、組織内ホウ素濃度を数倍から 20 倍程度増強できることが明らかになった。しかもこの効果は 24 時間以上持続する。このことにより、照射時間の短縮、薬剤投与量の縮小などに役立つことが考えられる。

研究成果の概要（英文）：In the previous study, we reported that combined use of sodium borocaptate (BSH) and buthionine sulfoximine (BSO) in BNCT enhanced tissue boron uptake in the rat subcutaneous tumor model, where BSO and BSH were administered simultaneously. In the present study, we used a brain tumor model, and rats were pretreated with BSO before BSH injection. By this method, the blood boron concentration was about 20 times higher in comparison with the BSO- (minus) group, and in other tissues (brain tumor, subcutaneous tumor, muscles, liver, kidney) the same tendency of increasing concentration was observed.

We suggest that tumor-specific redox regulatory mechanisms are necessary to enhance tumor uptake of boron.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医療科学・放射線腫瘍学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：放射線脳外科学、ホウ素中性子捕捉療法

## 1. 研究開始当初の背景

中性子捕捉療法に用いられる sodium borocaptate (BSH) は、細胞周期依存性が低いという長所がある一方取り込みの総量が少な

いという欠点を持つ。申請者らは BSH が持つ sulfhydryl 基に着目し、代表的 sulfhydryl 化合物であるグルタチオンを枯渇させることで BSH の取り込みを増強させることができない

かを検討してきた。これまでの研究で、グルタチオン合成阻害剤であるbuthionine sulfoximine (BSO)を併用することにより、ホウ素取り込みが増強されることが明らかになったので、そのメカニズムをさらに追求しようと考えた。

## 2. 研究の目的

ホウ素と中性子の反応で得られる $\alpha$ 粒子線を利用する中性子捕捉療法 (BNCT) では、ホウ素化合物である BSH が、伝統的に用いられてきた。先行研究 (科研 C、平成 17-18 年度) で、細胞内の主たる sulfhydryl 化合物であるグルタチオン (GSH) を枯渇させることによる取込み増強を調べたところ、グルタチオン合成阻害剤である BSO との同時投与により、ホウ素の血液および腫瘍滞留性が向上し、治療成績改善の可能性が示唆された。従って本研究では、BSO、GSH が関わる BSH 代謝のメカニズムを明らかにし、BNCT の治療を改善することを目的とした。

## 3. 研究の方法

(1) フィッシャー344 ラットの下肢及び脳内に 9L 細胞をそれぞれ  $2 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^5$  個接種し、皮下腫瘍及び脳腫瘍を作製した。皮下腫瘍径が 10mm になった時点 (腫瘍接種後 10-14 日後) に、薬剤を投与して実験を行った。

①BSO5mmol/kg を、腹腔内に投与した後 0.5、3、6 時間後に BSH100mg/kg を尾静脈より投与した群、および BSO 非投与群 (BSH のみ投与) について、BSH 投与後 6 時間の組織 (血液、脳、脳腫瘍、皮下腫瘍、筋肉、肝臓、腎臓) のホウ素濃度を、ICP-発光分光分析装置 (島津) を用いて測定した。

②最も高濃度の得られた BSO 投与後 6 時間で BSH を投与し、6、12、18、24、48 時間後に sacrifice して組織 (血液、脳、脳腫瘍、皮下腫瘍、筋肉、肝臓、腎臓) のホウ素濃度を測定した。

(2) グルタチオン枯渇を補う作用があるとされる n-acetylcystein (NAC) を BSO と併用し、その効果を検討した。

(3) BSH と同様の構造を持つが SH 基を含まないホウ素クラスターを BSO と併用し、BSH と同様の効果が見られるかを検討した。

## 4. 研究成果

(1) 前回の研究では、BSO と BSH を同時投与していたが、BSH 投与の 6 時間前に BSO を投与してグルタチオンを十分枯渇させることにより、組織内ホウ素濃度は数倍から 20 倍に増加することが明らかになった。図 1 は、左から血液、肝臓、腎臓、筋肉、皮下腫瘍、脳、脳腫瘍のホウ素濃度である。青のバーが対照群 (BSO 非投与群)、赤のバーが BSO 投与後 30 分、緑色のバーが 3 時間、紫色が 6 時間後に BSH を投与し、6 時間後の各組織のホウ素量を示している。

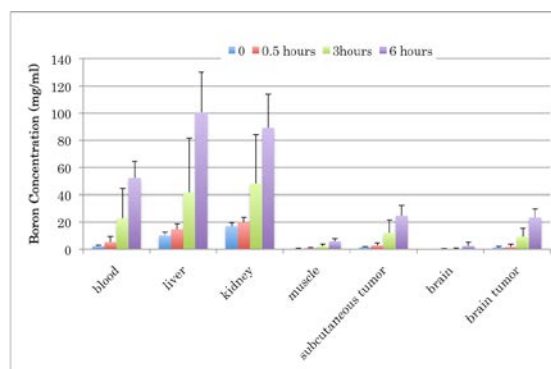


図1 BSO 投与後 0.5、3、6 時間後に BSH を投与した時の組織内ホウ素濃度

また、この効果は BSH 投与後 12 時間以上維持されることも明らかになった。

図 2 は、青と赤のバーが、BSO を投与しなかったときの、BSH 投与後 6 時間と 12 時間の組織内ホウ素濃度である。緑と紫のバーは、BSO を投与したときの、BSH 投与後 6 時間後、12 時間後のホウ素濃度を示している。BSO と BSH を同時投与したとき、BSH 投与後 3 時間のホウ素濃度は 55.2  $\mu\text{g/ml}$ 、6 時間後は 20.2  $\mu\text{g/ml}$ 、12 時間後は 10.8  $\mu\text{g/ml}$  であったが、6 時間前に前処理した本研究では、6 時間後のホウ素濃度が 47.6  $\mu\text{g/ml}$ 、12 時間後が 55.7  $\mu\text{g/ml}$  であった。

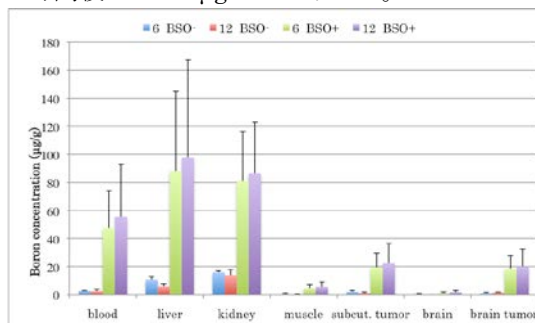
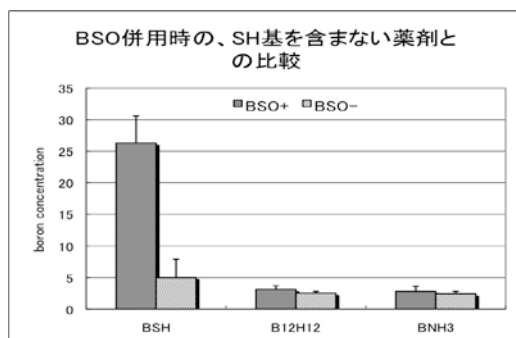


図2 BSO 投与した場合としない場合の組織内ホウ素濃度の比較

このことは、グルタチオンが BSH の代謝にきわめて大きな役割を果たしていることを示唆していると考えられる。

(2) NAC を BSO と併用したところ、NAC と BSO を同時に投与した群で BSO 単独群よりホウ素取り込みがさらに増強される傾向があった (data not shown)。この点について、さらに検討が必要である。

(3) SH 基を含まないホウ素クラスターでは BSO の効果はまったく見られなかった。



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 5 件)

- (1) Nakamura H., Ueda N, Bam HS, Ueno M, Tachikawa S, Design and synthesis of fluorescence-labeled close-dodecaborate lipid: its liposome formation and in vivo imaging targeting of tumors for boron neutron capture therapy, *Org. Biomol. Chem.* 2012,1374-80 査読有 DOI: 10.1039/c1ob06500a
- (2) Nakai K., Yamamoto T., Yoshida F. et. al. Boron neutron capture therapy combined with fractionated photon irradiation for glioblastoma: a recursive partitioning analysis of BNCT patients. *Appl. Radiat. Isot.* 2011, 1790-1792 査読有 DOI: 10.1016/j.apradiso.2011.03.049
- (3) Yamamoto T., Nakai K., Kumada H. Yoshida F. et.al. The status of Tsukuba BNCT trial: BPA-based boron neutron capture therapy combined with X-ray irradiation. *Appl. Radiat. Isot.* 2011, 1817-1818 査読有 DOI: 10.1016/j.apradiso. 2011. 02. 013
- (4) F. Yoshida, K. Nakai, T. Yamamoto, A. Matsumura, H. Nakamura et.al. Biodistribution of BSH-encapsulated Boron-liposome in Mouse Glioma, *New Challenges in Neutron Capture Therapy* 2010, 2010, 339-340 査読有
- (5) H. Nakamura, N. Ueda, H. s. Ban, K. Maruyama, M. E. El-Zaria, Boron lipid liposome: EPR Effect and Fluorescence Imaging, *Challenges in Neutron Capture Therapy* 2010, 2010, 568 査読有

〔学会発表〕(計 8 件)

- (1) F. Yoshida (7 名) Pretreatment with buthionine sulfoximine enhanced uptake and retention of BSH for BNCT, 15<sup>th</sup> International Congress on Neutron Capture Therapy, 2012 September 10-14, †sukuba, Japan
- (2) K. Nakai (9 名) DNA breaks and cellular response induced by Gadolinium neutron reaction, 15<sup>th</sup> International Congress on Neutron Capture Therapy, 2012 September 10-14, †sukuba, Japan
- (3) H. Nakamura (7 名) close-Dodecaborate-conjugated cholesterols: Synthesis and click imaging of their liposomes in cells, 15<sup>th</sup> International Congress on Neutron Capture Therapy, 2012 September 10-14, †sukuba, Japan
- (4) 中井 啓 (10 名) 悪性脳腫瘍 BNCT における最大皮膚線量と術後創傷治癒について、第 8 回日本中性子捕捉療法学会、2011 9 月
- (5) F. Yoshida (9 名) Biodistribution of BSH-encapsulated Boron-liposome in Mouse Glioma, 14<sup>th</sup> International Congress on Neutron Capture Therapy, 2010 October 25-29, Buenos Aires, Argentina
- (6) T. Yamamoto (14 名) The status of Tskuba BNCT Trial: BPA-Based Boron Neutron Capture Therapy Combined X-ray Irradiation, 14<sup>th</sup> International Congress on Neutron Capture Therapy, 2010 October 25-29, Buenos Aires, Argentina
- (7) K. Nakai (10 名) Boron Neutron Capture Therapy Combinedwith Fractionated Photon Irradiation for Glioblastoma, 14<sup>th</sup> International Congress on Neutron Capture Therapy, 2010 October 25-29, Buenos Aires, Argentina
- (8) 中井 啓(8名) 脳腫瘍に対する BNCT: 筑波大学臨床研究の現況、第 7 回日本中性子捕捉療法学会 2010、8 月

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

吉田 文代 (YOSHIDA FUMIYO)  
筑波大学・医学医療系・助教  
研究者番号：30261811

### (2) 研究分担者

山本 哲哉 (YAMAMOTO TETSUYA)  
筑波大学・医学医療系・講師  
研究者番号：30375505

中井 啓 (NAKAI KEI)  
筑波大学・医学医療系・講師  
研究者番号：50436284

中村 浩之 (NAKAMURA HIROYUKI)  
学習院大学・理学部・教授  
研究者番号：30274434