

氏名(本籍)	白川真(福岡県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博甲第6617号
学位授与年月日	平成25年3月25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	人間総合科学研究科
学位論文題目	ホウ素中性子捕捉療法のためのDDS技術を応用した新規薬剤の開発研究
主査	筑波大学教授 医学博士 大河内 信 弘
副査	筑波大学教授 工学博士 榮 武 二
副査	筑波大学准教授 博士(医学) 熊 田 博 明
副査	筑波大学准教授 博士(医学) 人 見 重 美

## 論文の内容の要旨

### (目的)

近年、QOLを下げない放射線治療は注目されてきている。しかし、悪性腫瘍には正常組織に浸潤するがんと腫もあり、その局所治療は困難であるなど、治療の限界もある。そこで、新たな治療法として注目されている放射線治療の一つが、ホウ素中性子捕捉療法(BNCT)である。BNCTは、通常の放射線治療とは異なり、正常組織への影響が少ないと言われている。BNCTの条件のひとつとして、ホウ素化合物の性能がある。具体的には1)悪性腫瘍におけるホウ素濃度が30 ppm以上であること。2)腫瘍/正常組織、腫瘍/血液などの濃度比が3-4以上であること。3)中性子線照射時までの間の血液中や正常組織からの速い除去率と腫瘍組織における高い滞留性である。BNCT用薬剤の開発のために、このDDS技術を応用しBNCTにおける新規薬剤の開発を行った。

### (対象と方法)

機能性リポソームの開発：リガンドとしてHIV-TATを用いて、化学合成したBTLの修飾により高細胞親和性を持ったホウ素リポソームの開発を行った。リポソーム膜表面への修飾法を従来の方法から変更した。同定には<sup>1</sup>H-NMR、LC-ESIMS、HPLCおよびサイズ排除クロマトグラフィーを用いた。目的の機能を保持していることを*in vitro*での細胞導入実験および中性子線照射実験で明らかにした。長期血中滞留性リポソームの開発：DSPE-PEGとBSHを化学結合させたPBLの修飾により、血中滞留性を向上させたホウ素リポソームの開発を行った。同定には<sup>1</sup>H-NMR、<sup>10</sup>B-NMR、TOF-MS、HPLCおよびサイズ排除クロマトグラフィーを用いた。目的の機能を保持していることを*in vivo*での体内分布実験、中性子線照射実験で明らかにした。

### (結果)

機能性リポソームの開発：<sup>1</sup>H-NMRではアルキル鎖末端のメチル基に対し、BTLの特徴であるチロシン残基のオルト位に由来するシグナルが得られた。LC-ESIMSにおいては、Exact Massが3522に対して脱水ピーク3504の分子量ピークを得た。また、HPLCでは単成分ピークが確認され、純度は94%であった。サイズ排除クロマトグラフィーによる、BTLのリポソームへの組み込み率はBTL 5%修飾リポソーム：66.1%、BTL 10%修飾リポソーム：73.4%であった。長期血中滞留性リポソームの開発：BTL修飾リポソームのホウ

素集積効果をマウス大腸がん細胞により検討した結果、そのホウ素濃度は有意に高値であった。BTL 5%修飾リポソームの殺細胞効果を中性子線照射実験により検討した結果、有意に高値を示した。TOF-MSにおいて、Exact Mass 3146 に対し、3147 の分子量ピークを得た。また、HPLC では単成分ピークが確認され、純度は 89%であった。サイズ排除クロマトグラフィーによる、PBL のリポソームへの組み込み率は PBL 5%修飾リポソーム：73.8%、PBL 10%修飾リポソーム：63.7%であった。PBL 5%修飾リポソームの腫瘍増殖抑制効果を中性子線照射により検討を行った結果、有意に高値を示した。

#### (考察)

各同定結果により BTL が設計通り、高純度で得られたことが確認できた。BPA5mer 以上の伸長合成は極端に収率が悪く、純度も低かった。これは BPA の持つ立体構造が関与している可能性がある。リポソームへの修飾率モル比 10%のリポソームのホウ素集積効果はモル比 5%のリポソームよりも低い値であった。これはリポソーム膜表面の物理面積または BTL の電荷からリポソームを構築する際に多くの BTL がリポソームの内膜に修飾されている可能性がある。ゆえに、BTL はモル比 5%修飾が最適であると考えられた。各同定結果により PBL が設計通り、高純度で得られたことが確認できた。PBL 修飾リポソームは投与 24 時間後、中性子線照射において、有意な腫瘍増殖抑制効果を示したことから、PBL 修飾リポソームは腫瘍へと取り込まれ、その血中滞留性を保持していると考えられた。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文では、機能性リポソームとして BTL 修飾リポソームの開発を行ない、中性子線照射により殺細胞効果を示すことを明らかにし (*in vitro*)、加えて、長期血中滞留性リポソームとして PBL 修飾リポソームの開発し、中性子線照射により腫瘍抑制効果をもたらされることを明らかにした (*in vivo*)。本研究で開発されたリポソームは BNCT において有用な薬剤となり得る可能性がある。本研究は、複合ホウ素リポソームによる腫瘍内ホウ素濃度の向上と高細胞親和性・長期血中滞留性機能保持の高度 DDS デバイスの開発に寄与する貴重な研究といえる。

平成 25 年 1 月 17 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。