リポソームを用いる中性子捕捉治療

ダブルターゲティング：薬物と医療機器テクノロジーの融合

上野 学・潘 鉉承・中村浩之*

Liposomal neutron capture therapy

The cell-killing effect of boron neutron capture therapy (BNCT) is due to the nuclear reaction of two essentially nontoxic species, boron-10 (^{10}B) and thermal neutrons, whose destructive effect is well observed in boron-loaded tissues. Therefore, the high accumulation and selective delivery of ^{10}B into the tumor tissue are the most important requirements to achieve efficient neutron capture therapy for cancer. BNCT has been applied clinically for the treatment of malignant brain tumors, malignant melanoma, head and neck cancer, and hepatoma using two boron compounds: sodium borocaptate (^{10}BSH) and L-*p*-boronophenylalanine (L- ^{10}BPA). These low molecule compounds are easily cleared from the cancer cells and blood, therefore, high accumulation and selective delivery of boron compounds into tumor tissues are most important to achieve effective BNCT and to avoid damage of adjacent healthy cells. Recently, much attention has been focused on liposomal drug delivery system as an attractive intelligent technology of targeting and controlled release of ^{10}B compounds.

In this review, recent development of liposomal boron delivery system is summarized.

低エネルギーの熱中性子はそれ自体では人体には無害であるが、ホウ素 10 と核反応を起こし生成するリチウムとヘリウム (α 線) の有するエネルギーは、細胞を殺傷するのに十分なエネルギーである。したがって、あらかじめホウ素をがん細胞のみに送達することができれば副作用のきわめて少ない治療法となる。これを利用するのがホウ素中性子捕捉療法 (BNCT: boron neutron capture therapy) である。そのためホウ素をいかに高濃度かつ選択的にがん細胞へ送達することが重要となる。BNCT は ^{10}BSH と L- ^{10}BPA の 2 剤を用いて脳腫瘍、悪性黒色腫、頭頸部腫瘍、肝臓がん治療などの治療に臨床用されてきた。しかし、治療効果の向上や適応疾患拡大のためには、より効率的なホウ素デリバリーシステムの開発が望まれている。そのような状況下、リポソームを用いるホウ素デリバリーシステムが注目されている。

本稿では、筆者らが進めてきたホウ素脂質リポソームによるホウ素デリバリーシステムを中心に紹介する。

Manabu Ueno · Hyun Seung Ban · Hiroyuki Nakamura*

key words: boron neutron capture therapy (BNCT), boron delivery system (BDS), boronated liposome, boron lipids

次世代放射線療法としての中性子捕捉療法

近年、わが国の疾病構造は感染症などの急性疾患が減少した反面、がんや循環器病、糖尿病などの生活習慣病が増加しており、そのなかでも予期せぬがんの発症は多くの国民の潜在的健康不安として存在している。実際に、年間に 30 万人以上ががんによって亡くなっており、最も解決の迫られている疾病の一つとなっている。がん治療は外科的手術、放射線療

法、化学療法の複合的療法が主となっているが、近年サイバーナイフやガンマナイフ、重粒子線療法などの技術の進歩により放射線治療を受ける患者は年間 18 万人に上る。しかし放射線治療では照射範囲の正常組織損傷の問題が常に存在しており、化学療法では強い抗がん作用の反面、全身的な副作用との戦いを強いられている。そのなかで化学療法と放射線療法の両方の原理を上手く利用したホウ素中性子捕捉療法 (BNCT: boron neutron capture therapy) が注目されている^{1,2)}。

BNCT の概念は、1936 年に Locher によって始めて提唱された³⁾。比較的エネルギーの低い熱中性

* Department of Chemistry, Faculty of Science, Gakushuin University 学習院大学理学部化学科

図1 BNCTの原理

表1 さまざまな核種の中性子捕捉断面積

nuclide	cross section capture value*
⁶ Li	942
¹⁰ B	3,838
¹¹³ Cd	20,000
¹³⁵ Xe	2,720,000
¹⁴⁹ Sm	41,500
¹⁵¹ Eu	59,002
¹⁵⁷ Gd	240,000
¹⁷⁴ Hf	400
H	0.332
C	0.0037
N	1.75
O	<0.0002
P	0.19
S	0.52
Na	0.536
K	2.07

* Cross section capture values in barns

子がホウ素の同位体であるホウ素 10 と核反応を起こし、その際に生成する α 線によりがん細胞を死滅させる治療法である。BNCT の特徴として、 α 線の飛程が細胞一つの大きさ (5~9 μm) とほぼ等しく、細胞一つを殺傷するのに十分なエネルギー (2.4 MeV) であること、熱中性子による正常細胞 (人体) への影響が少ないことが挙げられる (式)。このことから予めホウ素分子をがん細胞選択的に取り込ませ、そこに中性子照射を行えばがん細胞のみを選択的に破壊することができる (図 1)。このように、

BNCT は副作用の非常に低い次世代型細胞選択的放射線療法として注目されている。

では、なぜホウ素分子なのか？中性子を原子核に照射した際に、中性子を捕捉する大きさ“中性子捕捉断面積”を主な元素について比較した (表 1)⁴⁾。中性子捕捉断面積はバーン (1 barn = 10^{-24} cm^2) という単位で表される。¹³⁵Xe, ¹⁴⁹Sm, ¹⁵¹Eu, ¹⁵⁷Gd などがきわめて大きい値を示している。¹⁰B の中性子捕捉断面積は 3,838 バーンとそれほど大きな値は示していないのに、中性子捕捉療法に有望であるのは主にに挙げる四つの理由からである。① ¹⁰B は非放射性で天然のホウ素に約 20% 含まれるため入手容易である。② 上で述べたように核反応の際の α 線の飛程が 1 個の細胞内に限られる。③ ホウ素の広範な化学反応性と安定性により種々の生物活性分子や生体関連物質への導入が可能である。④ 重金属のような高い毒性を示さない。

一方、生体中の元素も中性子を捕捉して放射線を生じるが、その中性子捕捉断面積は ¹⁰B よりも数桁小さな値なので、通常は無視できる。しかしながら水素と窒素は生体中に高濃度に存在するため、中性子の照射線量に大きく影響する。したがってこれらの影響を最小限にするためにも、腫瘍組織内の ¹⁰B 濃度が 20~35 $\mu\text{g/g}$ であれば、放射線量のおよそ 85% が ¹⁰B の中性子捕捉反応から生じると計算されている⁵⁾。最終的には照射できる中性子線量の上限は、水素と窒素が中性子を捕捉して出す放射線に周囲の正常組織がどれほど耐えられるかに依存する。このためにも ¹⁰B ががん細胞に選択的に集積することが必要であり、実際に臨床上の立場から腫瘍組織内 ¹⁰B 濃度が 30 $\mu\text{g/g}$ 以上、¹⁰B 濃度の腫瘍組織/血液および腫瘍組織/正常組織の比がいずれも 5 以上が望ましいとされている。

現在まで BNCT は、原子炉から得られる熱中性子を用いて行われている。わが国には、医療用原子炉として京都大学原子炉実験所にある KUR と日本原子力研究機構東海研究開発センターにある JRR4 の 2 基がある。図 2 には、JRR4 における BNCT 用

図2 日本原子力研究機構東海研究開発センター内にある原子炉(JRR4)医療照射設備
病状に応じて低速中性子から中速中性子までの32通りのビームを発生できる“医療照射設備”を開発

医療照射設備を示したが、これらの設備を用いて BNCT が行われているが、小型加速器から十分な熱中性子が得られるようになれば、都市型病院への併設が可能となる。したがって、BNCT が放射線療法の一つとして一般に普及するためには、病院に併設可能な小型加速器の開発が急務である。現在京都大学では、医療機器としての治験に向けた BNCT 用小型加速器開発研究が進んでいる。

BNCT 用ホウ素薬剤

BNCT ではホウ素薬剤をいかにしてがん細胞にのみ選択的に高濃度で集積させるかが課題である。現在、わが国ではアミノ酸誘導体である BPA (*p*-boronophenylalanine) と、分子内にホウ素原子を12個含む20面体の特異的な化学構造を有する水溶性ホウ素イオンクラスターである BSH (mercaptoundecahydrododecaborate) を用いてそれぞれ悪性黒色腫^{6,7)} および脳腫瘍^{8,9)} の BNCT が行われてきた(図3)。

1994年には、京都府医大の今堀・上田らにより¹⁸F-BPAを用いたPET(positron emission tomog-

図3 現在臨床に用いられているホウ素薬剤の化学構造

raphy) 診断法が開発され、あらかじめ腫瘍部位のホウ素蓄積量を見積もることができるようになった¹⁰⁾と同時に、BPAが多くの悪性腫瘍に集積することもわかってきた¹¹⁻¹³⁾。2001年には、大阪大の加藤・由良らと京都大の小野らのグループは共同して世界に先駆けて頭頸部悪性腫瘍のBNCTに成功した。頭頸部悪性腫瘍は現在でも手術が中心であり、審美障害、嚥下・咀嚼障害などの機能障害が後遺することがある。彼らは、再発耳下腺がん患者に対し、BSHとBPAの併用BNCTを行ったところ、

9カ月後にはがんが完全に消失し、皮膚への放射線障害もほとんどみられなかった。この成功をきっかけに BNCT の適応拡大が進められ、頭頸部がん以外にも、肝臓がん、肺がん、胸壁腫瘍などの適応疾患の拡大とともに BNCT の症例数が増加している。

その一方で、ホウ素薬剤である ^{10}B 濃縮した BSH と L 体 BPA は、海外からの輸入に頼っていたため、臨床に必要なホウ素薬剤の確保がしばしば困難であった。大阪府立大の切畑らはステラケミファ社と共同で、 ^{10}B 濃縮した BSH と BPA の国産化に成功し、この二つのホウ素薬剤の GMP レベルでの供給体制が整った。現在、BPA を用いた小型加速器 BNCT の臨床治験に向けた研究が進んでいる。

次世代型ホウ素デリバリーシステム

さて、効果的に BNCT を行うためには選択的かつ高濃度でがん細胞にホウ素 10 を送り込むことが必要である。実際の臨床では、BSH と L 体 BPA を併用して、腫瘍内ホウ素濃度が 25~100 ppm、腫瘍/血液のホウ素濃度比ならびに腫瘍/正常組織のホウ素濃度比が 2~3 で行われている。はじめに述べたように、BNCT の望まれる条件(腫瘍内ホウ素濃度が 30 ppm 以上でなおかつ、腫瘍/血液ならびに腫瘍/正常組織のホウ素濃度比が 5 以上)を達成するために、さまざまなホウ素キャリアの開発研究が行われてきた。ホウ素キャリアに望まれることは、① 500 mg/kg 程度の濃度で投与が可能なくらい毒性が低いこと、② 十分に水溶性であること、③ 腫瘍細胞への蓄積が選択的であること、が挙げられる。これらの条件を満たすためには、従来の抗がん剤開発とはまったく異なるアプローチが必要であり、リポソームを用いたホウ素デリバリーシステムが有望である注目されている。その利点として① 一度に大量のホウ素 10 をがん細胞に送り込むことが可能であること、② ホウ素薬剤自体に薬理活性を持たせる必要がないこと、③ 受容体選択性を高めるためにリポソーム表面に対応するリガンドを導入することにより能動的な送達(アクティブターゲティング)が可能であること、が挙げられる。

リポソームを用いたホウ素デリバリー法として、

大きく二つの方法に分けられる。一つは、リポソーム内にホウ素薬剤を封入する方法である。この方法は、一般的なりポソームを用いた DDS を応用するものであり、BSH などのホウ素化合物を封入する。もう一つの方法は、リポソーム膜にホウ素を埋め込む方法である。この方法では、リポソーム内にさらに抗がん剤などの薬剤を封入することができるため、化学療法との複合治療が期待できる。いずれの場合も、さまざまなリガンドをリポソーム膜に結合させることにより、能動的に標的細胞に取り込ませるような機能を持たせることが可能となってきた。

1. ホウ素薬剤内封型リポソーム

1991 年に柳衛らによってホウ素薬剤を内封したリポソームははじめて報告された¹⁴⁾。エッグ PC (phosphatidylcholine)、コレステロール、DTP-DPPE (3-(2-pyridyldithio)propionyl-dipalmitoylphosphatidylethanolamine)) からリポソームを調製し、BSH を封入した後、anti-human CEA (carcinoembryonic antigen) モノクローナル抗体を結合させた BSH 内封イムノリポソームであった。AsPC-1 (ヒト膵臓がん) 細胞を移植したヌードマウスに BSH 封入イムノリポソームを投与し中性子照射を行ったところ、腫瘍増殖が 50% 以下に抑えられることを見いだしている¹⁵⁾。Hawthorne らは、DSPC (distearoylphosphatidylcholine) とコレステロールを用いて、さまざまなホウ素イオンクラスターを封入したリポソームを報告している^{16,17)}。

ホウ素封入リポソームを細胞選択的かつ能動的に取り込ませるために葉酸¹⁸⁾、細胞増殖因子の一つである EGF (上皮細胞増殖因子)¹⁹⁾、トランスフェリン^{20,21)}、EGFR モノクローナル抗体²²⁾ などのリガンドを表面に修飾したリポソームの研究が行われてきた。

2. ホウ素脂質型リポソーム

前述のようにホウ素イオンクラスターを封入した内封型リポソームは高い治療効果が得られる可能性がある。しかしながら、このホウ素イオンクラスターが内封されているリポソームは非常に高いイオン濃度であり高浸透圧的な溶液であることから、内

図4 ホウ素脂質の化学構造

封されているホウ素薬剤がリポソーム内部から容易に漏れ出てしまう問題が生じている。分子間相互作用により自己集合化しているリポソームの脂質二分子膜は非常に密度が高いため、この二分子膜へホウ素分子を導入できれば、非常に高濃度でホウ素をデリバリーできると考えられる。このようにリポソーム膜内にホウ素を導入させることで、リポソーム内には抗がん剤などさまざまな薬剤が封入できることから、BNCTと化学療法の複合治療も可能となる。

筆者らはリポソームを構成する脂質二分子膜中のリン脂質の骨格に着目した。リン脂質 DSPC の水溶性部位であるホスファチジルコリン部位(図4)にかご状のホウ素イオンクラスター(*nido*型カルボラン)を導入した二本鎖ホウ素イオンクラスター脂質1を設計し合成にはじめて成功した²³⁾。合成したイオン性ホウ素クラスター脂質1は安定なリポソームを形成することが電子顕微鏡などで確認された。しかし *in vivo* 実験においてこのリポソームを腫瘍移植マウスに投与したところ、7 mgB/kg 投与におい

図5 DSBL リポソームの二分子膜構造形成
(電子顕微鏡写真)

て中性子照射後に顕著な延命効果がみられたものの、14 mgB/kg 投与した場合に重篤な急性毒性がみられた^{24,25)}。筆者らはこの *nido* 型カルボランが毒性に深く関わっていると考え、その代わりにより低毒性で非常に代謝が早く、実際の臨床に用いられ

図6 ハイスループット細胞レベル BNCT 効果アッセイ法(a)と BNCT 致死効果(b)

ている BSH を導入した二本鎖ホウ素イオンクラスター脂質 DSBL (distearoylboron lipid) を再設計しその開発に成功した^{26,27)}。

ホウ素脂質 DSBL のリポソーム化

合成したホウ素クラスター脂質 DSBL, DSPC, コレステロール(X:1-X:1, X=0~0.5)を用いて逆相蒸発(REV)法によりリポソームを調製した後、100 nm のフィルターを用いてサイジングした。ICP-AES 法を用いて得られたリポソームのリン脂質とホウ素の濃度を定量し、各々モル比に換算した。その結果、形成したリポソーム膜内の DSBL/DSPC 比は、調整した混合比に比例していることがわかった。さらに、得られたリポソームの粒子径ならびにゼータ電位を測定した結果、DSBL の混合比に関わらず粒子径は 100 nm 前後に分布しており、

ゼータ電位は DSBL により負に大きく帯電していることがわかった。また、DSBL (25%) のリポソームに関して、透過型電子顕微鏡測定を行ったところ、図 5 に示すように、直径 100 nm の二分子膜構造を形成していることがわかった。

細胞レベルでの BNCT 効果

BNCT のためのホウ素薬剤としての有用性を評価する方法として、筆者らは、図 6a に示すように 96 ウェルプレートを用いたハイスループットスクリーニング評価法を開発した。この方法により、1 度の中性子照射で 480 サンプル(5 プレート)の評価が可能となる。colon 26 細胞を 96 ウェルプレートで 24 時間培養し、その後ホウ素リポソームを 1~100 ppm ホウ素濃度(ホウ素 10 濃縮化合物を使用)に 30 分間接触させた後、培地を新しく交換し、中

図7 エンドサイトーシスによる蛍光標識ホウ素リポソームの細胞内取り込み

性子照射を行った。その結果、図 6b に示すように、BSH およびホウ酸ともに細胞増殖抑制効果はみられないにも関わらず、DPBL や DSBL では、細胞増殖抑制効果がみられた。このことから、BSH およびホウ酸は細胞内から、新しい培地中に wash out されてしまうが、ホウ素リポソーム (DPBL, DSBL) は細胞内に長時間留まることが明らかとなった。

そこで、蛍光脂質 (PKH67) を用いてホウ素リポソームを蛍光標識し、マウス大腸がん細胞 (colon 26) に 37 度で 3 時間暴露したところ、図 7a に示すように細胞質に取り込まれていることがわかった。一方、この蛍光標識ホウ素リポソームを細胞のエンドサイトーシスが起らない条件であるアジ化ナトリウム存在下、4 度で同様に 3 時間暴露したところ、図 7b に示すように細胞膜表面に存在しているものの細胞質には取り込まれていないことから、ホウ素リポソームはエンドサイトーシスを経由して細胞内に取り込まれていることが明らかとなった²⁸⁾。

腫瘍移植マウスを用いた BNCT 効果

1. 急性毒性試験と生体内残存濃度

nido 型カルボランを導入した二本鎖ホウ素イオンクラスター脂質 1 を用いた場合、急性毒性が問題であったため、まず健康マウスを用いてホウ素脂質 DSBL を 25% および 50% 含むホウ素リポソームの限界投与量および、肝臓、脾臓、腎臓といった主要臓器での代謝を確認した。ホウ素リポソームには RES (細網内皮系組織) を回避するため、PEG 2000

を結合した DSPE (distearoyl phosphatidylethanolamine) を脂質に対して 10% 用いた。その結果、DSBL-50% リポソームをホウ素濃度で 30 mgB/kg 投与した場合に、急性毒性がみられたもののそれ以下の濃度では急性毒性はみられなかった。30 mgB/kg の濃度では、投与脂質濃度が非常に高いために静脈注射によって血管が詰まったためであると考えられる。さらに、投与 3 週間後の各臓器におけるホウ素残存量を調べたところ、いずれの臓器にもほとんど蓄積していなかった。このことから、dodecaborate 型ホウ素脂質は生体内から速やかに排出されることがわかった。

2. 腫瘍移植マウスを用いたホウ素リポソームの BNCT 効果

Colon 26 細胞を移植した BALB/c マウス (生後 6 週間, 16~18 g) に PEG 化 DSBL-25% ホウ素リポソーム (20 mg B/kg) を尾静脈投与してホウ素の体内挙動を調べた。投与 24~72 時間後に各臓器を分離し、ホウ素濃度を ICP-AES にて測定した。図 8 に示すように、脾臓・肝臓では非常に高いホウ素蓄積がみられ、腫瘍内ホウ素蓄積量は、投与 24 時間後にホウ素濃度で 23 ppm で、時間とともに蓄積濃度は低下した。BNCT は、標的部位へのホウ素デリバリーと中性子照射のダブルターゲティング治療法であるため、脾臓・肝臓のようにホウ素が高濃度で集積しても、中性子照射をしない限り細胞毒性を示さないことが特徴である。

そこで、ホウ素リポソーム (20 mg¹⁰B/kg) を Colon 26 細胞を左太腿部に移植した BALB/c マウス

図8 Colon 26 マウス大腸がん移植マウスへのホウ素リポソームの各臓器分布

図9 Colon 26 マウス大腸がん移植マウスを用いた BNCT 効果

に尾静脈投与し、24 時間後にマウスの左太腿部に 30 分中性子照射 (1.8×10^{12} neutrons/cm²) を行った。中性子照射は独立行政法人・日本原子力研究開発機構東海研究開発センターの原子炉 JRR4 において行い、中性子照射後は経過を 2 週間観察した。その結果、図 9 に示すように、中性子照射を行ったのみのマウスおよび中性子照射をしていないマウス群では、腫瘍が成長したのに対し、ホウ素リポソームを投与し中性子照射したマウス群では、照射後 1 週間で腫瘍の萎縮がみられ、2 週間後も腫瘍の成長を

顕著に抑制した²⁸⁾。このことから、リポソームを用いるホウ素デリバリーシステムは BNCT に対して非常に有効な手法となる可能性が示唆された。

おわりに

現在 BNCT に必須な熱中性子源として世界的に小型加速器の開発が行われており、日本でも現在京都大学で開発されている BNCT 用小型加速器は、すでに動物実験による BNCT 効果の検証が終わり、いよいよ医療機器としての認可を目指し、臨床試験実施に向けた研究が進んでいる。したがって、近い将来都市部病院に併設型加速器の設置が実現すれば、BNCT が放射線療法の一般的治療法の一つになるであろう。

その一方で、BNCT では 1950 年代に開発された BSH, BPA という 2 剤以外には、まだ臨床応用されたホウ素薬剤は登場してない。高い治療効果と適応疾患拡大のためにも、腫瘍部位への高効率ホウ素デリバリーシステム開発が急務となっており、本稿で紹介したリポソームホウ素デリバリーは、次世代 BNCT のための有望な手段となると期待される。

文 献

- 1) Barth RF, Coderre JA, Vicente MG, Blue TE : Boron neutron capture therapy of cancer : current status and future prospects. Clin Canc Res 11 : 3987-4002, 2005.
- 2) Soloway AH, Tjarks W, Barnum BA, Rong FG, Barth RF et al. : The Chemistry of Neutron Capture Therapy. Chem Rev 98 : 1515-1562, 1998.
- 3) Locher GL : Biological Effects and Therapeutic Possibilities of Neutrons. Am J Roentgenol 36 : 1-13, 1936.
- 4) Friedlander G, Kennedy JW, Macias ES, Miller JM : Nuclear and Radiochemistry, 3rd ed, John Wiley & Sons, 1981.
- 5) Javid M, Brownell GL, Sweet WH : The possible use of neutron-capturing isotopes such as boron 10 in the treatment of neoplasms. II. Computation of the radiation energies and estimates of effects in normal and neoplastic brain. The Journal of Clinical Investigation 31 : 604-610, 1952.
- 6) Soloway AH, Hatanaka H, Davis MA : Penetration of brain and brain tumor. VII. Tumor-binding sulphydryl boron compounds. J Med Chem 10 : 714-717, 1967.
- 7) Hatanaka H : A revised boron-neutron capture therapy for malignant brain tumors. II. Interim clinical result with the patients excluding previous treatments. Journal of Neurology 209 : 81-94, 1975.
- 8) Snyder HR, Reedy AJ, Lennarz WJ : Synthesis of aromatic boronic acids. Aldehyde boronic acids and a boronic acid analog of tyrosine. J Am Chem Soc 80 : 835-838, 1958.
- 9) Mishima Y, Ichihashi M, Hatta S, Honda C, Yamamura K, Nakagawa T : New thermal neutron capture therapy for

- malignant melanoma : melanogenesis-seeking 10B molecule-melanoma cell interaction from in vitro to first clinical trial. *Pigment Cell Research* 2 : 226-234, 1989.
- 10) Imahori Y, Ueda S, Ohmori Y, Kusuki T, Ono K et al : Fluorine-18-labeled fluoroboronophenylalanine PET in patients with glioma. *The Journal of Nuclear Medicine* 39 : 325-333, 1998.
 - 11) Kato I, Ono K, Sakurai Y, Ohmae M, Maruhashi A et al : Effectiveness of BNCT for recurrent head and neck malignancies. *Appl Radiat Isot* 61 : 1069-1073, 2004.
 - 12) Miyatake S, Kawabata S, Kajimoto Y, Aoki A, Yokoyama K et al : Modified boron neutron capture therapy for malignant gliomas performed using epithermal neutron and two boron compounds with different accumulation mechanisms : an efficacy study based on findings on neuroimages. *J Neurosurg* 103 : 1000-1009, 2005.
 - 13) Suzuki M, Sakurai Y, Hagiwara S, Masunaga S, Kinashi Y et al : First attempt of boron neutron capture therapy (BNCT) for hepatocellular carcinoma. *Japanese Journal of Clinical Oncology* 37 : 376-381, 2007.
 - 14) Yanagie H, Tomita T, Kobayashi H, Fujii Y, Takahashi T et al : Application of boronated anti-CEA immunoliposome to tumour cell growth inhibition in in vitro boron neutron capture therapy model. *Br J Canc* 63 : 522-526, 1991.
 - 15) Yanagie H, Tomita T, Kobayashi H, Fujii Y, Nonaka Y et al : Inhibition of human pancreatic cancer growth in nude mice by boron neutron capture therapy. *Br J Canc* 75 : 660-665, 1997.
 - 16) Shelly K, Feakes DA, Hawthorne MF, Schmidt PG, Krisch TA, Bauer WF : Model studies directed toward the boron neutron-capture therapy of cancer : boron delivery to murine tumors with liposomes. *PNAS* 89 : 9039-9043, 1992.
 - 17) Feakes DA, Shelly K, Knobler CB, Hawthorne MF : Na₃[B₂OHI₇NH₃] : synthesis and liposomal delivery to murine tumors. *PNAS* 91 : 3029-3033, 1994.
 - 18) Pan XQ, Wang H, Shukla S, Sekido M, Adams DM, Tjarks W et al : Boron-containing folate receptor-targeted liposomes as potential delivery agents for neutron capture therapy. *Bioconjugate Chem* 13 : 435-442, 2002.
 - 19) Kullberg EB, Carlsson J, Edwards K, Capala J, Sjöberg S, Gedda L : Introductory Experiments on Ligand Liposomes as Delivery Agents for Boron Neutron Capture Therapy. *Int J Oncol* 23 : 461-467, 2003.
 - 20) Maruyama K, Ishida O, Kasaoka S, Takizawa T, Utoguchi N et al : Intracellular targeting of sodium mercaptoundecahydrododecaborate (BSH) to solid tumors by transferrin-PEG liposomes, for boron neutron-capture therapy (BNCT). *J Controlled Release* 98 : 195-207, 2004.
 - 21) Masunaga S-i, Kasaoka S, Maruyama K, Nigg D, Sakurai Y, et al : The potential of transferrin-pendant-type polyethyleneglycol liposomes encapsulating decahydrodecaborate-(10)B (GB-10) as (10)B-carriers for boron neutron capture therapy. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, & Physics* 66 : 1515-1522, 2006.
 - 22) Pan X, Wu G, Yang W, Barth RF, Tjarks RW, Lee J : Synthesis of cetuximab-immunoliposomes via a cholesterol-based membrane anchor for targeting of EGFR. *Bioconjugate Chem* 18 : 101-108, 2007.
 - 23) Nakamura H, Miyajima Y, Takei T, Kasaoka S, Maruyama K : Synthesis and vesicle formation of a nido-carborane cluster lipid for boron neutron capture therapy. *Chem Commun* 7 : 1910-1911, 2004.
 - 24) Miyajima Y, Nakamura H, Kuwata Y, Lee J-D, Masunaga S et al : Transferrin-loaded nido-carborane liposomes : tumor-targeting boron delivery system for neutron capture therapy. *Bioconjugate Chem* 17 : 1314-1320, 2006.
 - 25) Li T, Hamdi J, Hawthorne MF : Unilamellar liposomes with enhanced boron content. *Bioconjugate Chem* 17 : 15-20, 2006.
 - 26) Lee J-D, Ueno M, Miyajima Y, Nakamura H : Synthesis of boron cluster lipids : closo-dodecaborate as an alternative hydrophilic function of boronated liposomes for neutron capture therapy. *Org Lett* 9 : 323-326, 2007.
 - 27) Nakamura H, Lee J-D, Ueno M, Miyajima Y, Ban H : Synthesis of closo-dodecaboranyl lipids and their liposomal formation for boron neutron capture therapy. *NanoBioTechnology* 3 : 135-145, 2007.
 - 28) Ueno M, Ban HS, Nakai K, Inomata R, Kaneda Y et al : Dodecaborate lipid liposomes as new vehicles for boron delivery system of neutron capture therapy. *Bioorg Med Chem* 18 : 3059-3065, 2010.