中性子捕捉療法と光線力学療法を指向した薬物送達システムの設計

東京工業大学 科学技術創成研究院 化学生命科学研究所*

野本貴大*・西山伸宏*

Design of drug delivery systems for neutron capture therapy and photodynamic therapy

In recent years, boron neutron capture therapy and photoimmunotherapy have been covered by insurance, and such methods combining drugs and medical devices have attracted a significant attention as promising cancer treatment modalities. These technologies have the potential to be applied to cancers that could not be treated by conventional methods, and there is a strong demand for drug development to expand the application. Here, we introduce the design of drug delivery systems in boron neutron capture therapy and photodynamic therapy, including our recent research.

近年、ホウ素中性子捕捉療法や光免疫療法が保険適用され、薬剤と医療機器の融合によるがん治療法が大きな注目を集めている。これらの技術は、従来の治療法では対処できなかったがんにも適用できる可能性を秘めており、適用範囲を拡大するための薬剤開発が強く求められている。本稿では、ホウ素中性子捕捉療法と光線力学療法における薬物送達システムの設計について、最近の筆者らの研究成果も含めて紹介する。

Takahiro Nomoto, Nobuhiro Nishiyama**

Keyword: Neutron capture therapy, photodynamic therapy, polymer conjugate

1. はじめに

2020年6月に、ステラファーマ株式会社の製造するステボロニンを用いた「切除不能な局所進行又は局所再発の頭頸部癌」に対するホウ素中性子捕捉療法(boron neutron capture therapy: BNCT)が保険適用され、続けて同年12月には、楽天メディカル社の光免疫療法も保険適用された。これらの技術に共通する点は、薬剤そのものには治療効果がないが、熱中性子や光といった単体では生体に大きな作用を及ぼさない物理エネルギーを照射すると薬剤が治療効果を示すため、薬剤ががん細胞に選択的に集積すれば、全身的な副作用を最小限に抑えた極めて限局的な治療効果をもたらすということである^{1~3)}。また、化学療法、放射線治療とは異なるアプローチとなり、従来の治療法では対処することのできなかつ

た、多発性・再発性のがんを効果的に治療することができると期待されている⁴⁾。さらに、その独特の作用機序ゆえに、近年ノーベル賞で話題となった免疫療法とも併用できると考えられており、第4のがん治療法である免疫療法に続く第5のがん治療法として注目され、日本発の世界に輸出可能な医療モダリティとしても大いに期待されている。そして、これらの普及にはがん細胞に選択的に薬物を送達する技術が必要であり、ドラッグデリバリーの研究に対する期待はますます高まっている。本稿では、最近承認された上述の中性子や光を用いた技術を指向した薬物送達システムの設計について、筆者らの最新の研究成果も含めて紹介する。

2. 中性子を用いた治療技術: BNCT

BNCTは、ホウ素原子(^{10}B)とエネルギーの低い中性子(熱中性子)との核反応で生じる α 粒子とLi反

* Laboratory for Chemistry and Life Science, Institute of Innovative Research, Tokyo Institute of Technology

跳核を利用して、標的がん細胞を殺傷する技術である。熱中性子自体の細胞傷害性は高くなく、ホウ素原子を含む薬物そのものに薬効がなければ、 α 粒子とLi反跳核の飛程が $10\mu\text{m}$ 以下と細胞の大きさ程度であることから、ホウ素原子を取り込んだ細胞のみを殺傷することができる。一般的なX線や重粒子線を用いた放射線療法では、標的がん組織の形状がCTやMRI等の診断により明確になっている場合に、ピンポイントで照射して治療することが可能となるが、既存の診断技術では検出されない浸潤性のがん等に対してこれを行うことは難しい。一方、BNCTの場合は、標的がん細胞を含むと考えられる組織全体に熱中性子が照射され、ホウ素を十分に含まない正常細胞には傷害が惹起されず、多量のホウ素を含んだ標的がん細胞のみで細胞死を誘導できる。これを理想的に実現するためには、標的がんに対して選択的にホウ素原子を送り届け、腫瘍と正常組織の間に高いホウ素集積比をつくり出すことが重要である。

3. BNCT に使用されるホウ素薬物

臨床研究が活発に進められてきたホウ素薬物としては、mercaptopundecahydrododecaborate (BSH) と *p*-boronophenylalanine (BPA) の2つがあげられる(図1)。BSHは、1分子中に12個のホウ素原子を含む水溶性のホウ素クラスターで、がん細胞や特定の臓器に選択的に集積する機能を有さず、静脈注射後速やかに体外へ排出される特徴をもつが、脳腫瘍に対して極めて効果的なBNCT効果を示す。これは、脳腫瘍においては血液脳関門が破綻しており、水溶性低分子のBSHが正常な脳には浸透せず、脳腫瘍

部位にのみ選択的に浸透し、腫瘍・正常組織間に高いホウ素集積比を形成するからである。

BPAは、必須アミノ酸のフェニルアラニンの*p*-位にボロン酸が結合された化学構造を有する。この化学構造ゆえに、BPAは主にアミノ酸トランスポーターLAT1、LAT2、ATB⁰⁺を介して取り込まれる⁵⁾。この中でもLAT1は正常組織での発現が限定的でありながら多くのがん細胞で過剰発現しており、BPAはこれを介してがん細胞に極めて選択的に取り込まれる。ステラファーマ社のステボロニンの有効成分もこのBPAであり、臨床試験第II相において再発頭頸部がんに対し、BNCT施行90日後に奏効率71.4%を達成している。また、BPAについてはコンパニオン診断の研究も進められており、*o*-位に¹⁸Fを結合した¹⁸F-BPAが開発されている(図1)。¹⁸F-BPAは、BPAと同様の体内動態を示すことが示唆されており、¹⁸Fを利用したpositron emission tomography (PET) イメージングが可能である。したがって、事前に¹⁸F-BPAを投与して腫瘍への集積を定量的に評価することにより、BPAを用いたBNCTの実施対象とすべきか否かを判断することができる。

4. 高分子-BPA コンジュゲート

上述のように、BPAはがん細胞に選択的に集積し極めて有用なホウ素薬物であるが、がん細胞に集積した後、徐々にがん細胞からBPAが排出され、熱中性子照射中(30~60分間)に高い腫瘍内ホウ素濃度を維持することが困難であるという課題もある。このBPAの細胞外排出にはLAT1の交換輸送体であることが関連している可能性が考えられて

図1 BNCT に使用されるホウ素薬物

図2 PVA-BPA の概要⁷⁾

(a) PVA-BPA の化学構造式、(b) 静脈注射後の腫瘍集積性、(c) 抗腫瘍効果。

いる⁶⁾。すなわち、細胞外BPA濃度が高いときには、細胞内のグルタミン等のアミノ酸と交換されてBPAは細胞質へと取り込まれるが、細胞外BPA濃度が低下した場合には、細胞質内のBPAが細胞外のチロシン等のLAT1の基質と交換されて細胞外へと排出されるものと考えられる。このBPAの細胞外排出を抑え、腫瘍内滞留性を改善できれば、BNCT効果も飛躍的に向上できると期待される。

筆者らは、この腫瘍内滞留性を向上する方法として極めてシンプルな方法を着想した⁷⁾。それは、高分子の側鎖に複数のBPAを、ボロン酸エステルを介して結合させるという方法である。このように結合させると、LAT1による認識に重要とされるフェニルアラニン様構造のアミノ基、カルボキシ基、疎水性部位をそのままの状態に維持しLAT1への選択性を保つことができ、一方で、LAT1に結合した後は細胞質にそのまま移行せず、エンドサイトーシスを通じて細胞内に取り込まれると考えられる。そして、エンドソーム・リソソーム内に留まれば上述の交換輸送に基づく細胞外排出を抑えることができると仮説を立てた。この仮説を検証するための高分子として、poly(vinyl alcohol) (PVA) を使用することを着想した(図2a)。PVAに着目した理由としては下記があげられる。

1) 多価水酸基

PVAは単純な構造の中に多数のジオール基を有することから、BPAと水中でボロン酸エステルを形成することができる。

2) 生体適合性

一般的に効率的なBNCTの効果を得るために、臨床ではBPAが500mg/kgという非常に高い量で投与されている。BPAを結合する高分子も生体適合性に優れる必要があるが、PVAは生体適合性材料として長年研究されてきた実績がある。

3) 分子量分布

体内動態解析の観点からは、分子量分布の狭い高分子を用いることが重要である。最近の高分子合成技術の進歩により、PVAもvinyl acetateの可逆的付加開裂連鎖(RAFT)重合により分子量分布の狭いものを合成できるようになった。

RAFT重合と加水分解により合成したPVA(数平均分子量約10,000)にBPAを水中で結合させた高分子コンジュゲート(PVA-BPA)を構築し、そのLAT1陽性がん細胞における細胞内分布を共焦点レーザー走査型顕微鏡により評価したところ、fructose-BPA(fructoseは可溶化剤)は細胞質に分布した一方で、PVA-BPAは主にエンドソーム・リソソームに局在している様子が観察された。細胞内取り込み量の評価では、PVA-BPAはfructose-BPAの約3倍の取り込み量を示し、LAT1阻害剤を加えるとその取り込み量が有意に減少した。これらの結果から、PVA-BPAはLAT1介在型エンドサイトーシスで取り込まれることが示唆された。そして、PVA-BPAはfructose-BPAよりも高い細胞内滞留性を示した。

*in vivo*においてもPVAは顕著な効果を示した。

CT26マウス大腸がん細胞皮下移植マウスモデルに対して静脈注射すると、fructose-BPAは注射後即座に高い腫瘍集積性を示し、時間経過とともにその値を徐々に減少させたが、PVA-BPAは極めて高い腫瘍集積を示し注射から6時間後においてもその高い値を維持した(図2b)。一方、正常組織に対するPVA-BPAの集積量は、腫瘍に対するものよりも著しく低く血中からも速やかに消失した。これはPVA-BPAがLAT1に選択性を有してがん細胞をターゲティングすることが可能である一方、分子量が糸球体濾過を受ける程度に大きくないために血中から効率的に排出されたからであると考えられる。このPVA-BPAを用いてBNCTを行ったところ、fructose-BPAと比較して極めて高い抗腫瘍効果を示した(図2c)。同様の結果はヒト膵臓がん細胞皮下移植マウスモデルにおいても得られている。

PVA-BPAは水中で容易に調製可能であり、上述の ^{18}F -BPAを用いたコンパニオン診断も転用できる可能性が十分に考えられることから、早期実用化が期待できる。PVA-BPAについては、日本医療研究開発機構の支援を受けて、非臨床試験に向けた開発を進めている段階である。

この高分子-BPAコンジュゲートのコンセプトはPVA以外的高分子でも達成できることを、最近筆者らは報告している⁸⁾。BPAと効率的にボロン酸

エステルを形成することのできるfructoseをpoly(ethylene glycol)-poly(L-lysine)ブロック共重合体のpoly(L-lysine)セグメントの側鎖の一部に導入した高分子(図3)を用いて、上述と同様の実験を行った結果、腫瘍内滞留性の向上とBNCT効果の増強が得られた。ただし、血中からの排出についてはPVAと比較して、このfructose導入型高分子の方が速やかに行われた。これはpoly(L-lysine)由来のわずかなカチオン性が糸球体濾過を促進したためであると考えられる。すなわち、高分子主鎖の物性をコントロールすることにより、高分子-BPAの体内動態を制御しうる可能性が示唆された。

5. BSHを用いた薬物送達システム

上述のとおり、BPAおよびBPAを用いた薬物送達システムは極めて有望であると考えられるが、これらの治療対象はLAT1陽性の腫瘍が主となるため、LAT1陰性の腫瘍を標的とした薬物送達システムの開発も重要となってくる。この点においては、BSHを高分子の側鎖に結合したりリポソームや高分子ミセルに内包したりして、enhanced permeability and retention(EPR)効果により腫瘍に集積させる研究が盛んに行われてきた。これについては、本学会誌Vol. 35 No. 2(2020)にて紹介され

図3 (a) FructoseとBPAから形成されるボロン酸エステル、(b) Fructoseを側鎖に導入したpoly(ethylene glycol)-poly(L-lysine)ブロック共重合体⁸⁾

ている。最近では、筆者らの PVA-BPA と同様に、水中で混合するだけで BSH の動態を向上させる研究が報告されている。

道上宏之らは、6個のアラニン残基と1個のリシン残基から構成される A6K ペプチドを用いた薬物送達システムについて報告している⁹⁾。A6K ペプチドと BSH を水中で混合すると自己会合によりナノチューブが形成される。このナノチューブは、BSH の低い毒性を維持しながら細胞取り込み量を高めることができる。マウス脳腫瘍モデルを用いた腫瘍集積の評価では、ナノチューブによる高い腫瘍選択的集積性が示されている。

松本孔貴らは、cyclodextrin を用いた薬物送達システムを報告している¹⁰⁾。カルボラン構造が cyclodextrin と会合体を形成することを利用し¹¹⁾、葉酸で修飾した cyclodextrin と BSH を混合することにより BSH を cyclodextrin に内包している。これにより能動的標的性をもたない BSH の葉酸レセプター標的化を可能とし、皮下腫瘍モデルにおける BNCT 効果の飛躍的向上に成功している。

BSH については BPA と同様に長年の臨床研究の知見が蓄積されているので、その知見を最大限に活用するという観点からは、これらの研究のように簡便に調製する技術は有用であると考えられる。また、これらの研究のように新たな薬物送達システムを開発して対象となる標的を拡大していくことは、BNCT の対象疾患を拡大することにつながるものと期待される。

6. 光を用いた治療技術： 光免疫療法・光線力学療法

特定の波長の光で活性化されて活性酸素を産生する光増感剤を標的がんまで送達して、そこに光を照射することにより、光選択的に治療効果を得る方法は、光線力学療法 (photodynamic therapy : PDT) として知られている。最近承認された光免疫療法は、IRDye 700DX という光増感剤を抗体に結合させてがん細胞まで選択的に送達し、そこに光を当てて治療する方法である。細胞死が誘導されるまで詳細なメカニズムが異なるとされているため、PDT と光

免疫療法は異なる名称をつけられているが、標的がん細胞まで光増感剤を選択的に送達することが重要であるという観点では同じである。ここでは PDT に焦点を絞って薬物送達システムの設計指針について述べる。

PDT の抗腫瘍効果のメカニズムの1つは、活性酸素の中でも特に細胞傷害性が高いとされる一重項酸素により細胞に直接的な酸化傷害を与えることである。一重項酸素の寿命は短く細胞内では産生されてから10~55nm の距離しか拡散しないとされている¹²⁾。したがって、腫瘍細胞に選択的に光増感剤を送達することができれば、正常細胞には傷害を与えずにがんを治療することができる。一方、PDT の主たる副作用としては、皮膚等に拡散してしまった光増感剤が惹起する光過敏症があげられる。この副作用を回避しながら効率的な PDT 効果を得るためには、光増感剤の正常組織への移行を抑え血流中からは速やかに消失しつつも、腫瘍組織には集積して標的細胞と強く相互作用する必要があるといえる。

7. pH 応答性等温相転移挙動を示す高分子による光増感剤送達

腫瘍への迅速集積・長期滞留と、血中からの早期排出を目指した薬物送達システムとして、筆者らは腫瘍微小環境のわずかな pH 低下に応答して親水性から疎水性に相転移する高分子を開発した^{13,14)}。この高分子は lower critical solution temperature (LCST) 挙動を示す poly(*N*-isopropylacrylamide/2-aminoisopropylacrylamide) (P(NIPAAm/AIPAAm)) を基本骨格とし、AIPAAm ユニットの側鎖に pH 6.8 以下で脱離する親水性の 2-propionic-3-methylmaleic (PMM) 基を導入した構造をもつ (図4)。この高分子 P(NIPAAm/AIPAAm-PMM) は、pH 7.4 では PMM 基により約 45℃ の LCST で生体温度 (37℃) にて親水性を示すが、pH 6.8 では PMM 基が脱離し LCST が 35℃ となり疎水性を示すようになる。すなわち、P(NIPAAm/AIPAAm-PMM) は血流中で親水性を示し生体内物質との相互作用を抑制するが、腫瘍内のようなわずかな pH 低下に応答して疎水性になる

方法によっても腫瘍内酸素濃度の状況が変わることが予想され、光照射の機器および光の生体内浸透のシミュレーション等を取り入れて治療戦略を立てることが、今後求められると考えられる。

9. おわりに

BNCTの研究は日本がイニシアティブをとってきた歴史があり、特に中性子線源の開発においては最先端の技術を有する。BNCTのための薬剤、中性子線源、線量シミュレーションソフトをパッケージングして、日本発の医療技術を世界に普及させていくことがこれから期待されており、薬物送達システムの果たす役割は非常に大きい。BNCTでは投与される薬剤の量が極めて多いため、安全性・製造容易性の観点が重要になるため、本稿で紹介したように一般的な抗がん剤とは異なるアプローチが必要

になると考えられる。

PDTについても臨床医らにより日本での臨床研究が活発に進められてきた歴史があり、最近では原発性悪性脳腫瘍や局所遺残再発食道がんへのPDTの臨床応用が行われてきている。一方、さらなる適応疾患の拡大については新たな薬剤の開発が必要となっており、こちらも薬物送達システムへの期待が寄せられている。基礎研究レベルでは近年、主に中国からの多くの光増感剤送達システムの論文がハイインパクトジャーナルに掲載されており、日本のプレゼンスが低下してきたような印象を受ける。しかし、薬物送達研究の最終目標は患者の利益につながる実用化であり、日本のPDTの実用化までの経験を活用し、医療機器開発者、臨床医、薬剤開発者らが協力して、承認過程も勘案した戦略的薬剤開発を行うことが重要である。

文献

- 1) M. Mitsunaga, *et al.*, *Nat. Med.*, **17**, 1685–1691 (2011)
- 2) 中村浩之, *Radioisotopes*, **64**, 47–58 (2015)
- 3) T. Nomoto, *et al.*, *Biomaterials*, **178**, 583–596 (2018)
- 4) 鈴木実, *Radioisotopes*, **64**, 59–66 (2015)
- 5) P. Wongthai, *et al.*, *Cancer Sci.*, **106**, 279–286 (2015)
- 6) A. Wittig, *et al.*, *Radiat. Res.*, **153**, 173–180 (2000)
- 7) T. Nomoto, *et al.*, *Sci. Adv.*, **6**, eaaz1722 (2020)
- 8) T. Nomoto, *et al.*, *J. Control. Release*, **332**, 184–193 (2021)
- 9) H. Michiue, *et al.*, *J. Control. Release*, **330**, 788–796 (2021)
- 10) Y. Matsumoto, *et al.*, *Appl. Radiat. Isotopes*, **163**, 109201 (2020)
- 11) C. Frixa, *et al.*, *Chem. Commun.*, **23**, 2876–2877 (2002)
- 12) P. Agostinis, *et al.*, *CA Cancer J. Clin.*, **61**, 250–281 (2011)
- 13) S.E. Muttaqien, *et al.*, *Biomacromolecules*, **20**, 1493–1504 (2019)
- 14) S.E. Muttaqien, *et al.*, *J. Control. Release*, **328**, 608–616 (2020)
- 15) A. Noweski, *et al.*, *Eur. Urol. Focus*, **5**, 1022–1028 (2019)
- 16) X. Dou, *et al.*, *Sci. Rep.*, **8**, 8126 (2018)