

# 9

## ホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) を支える ホウ素薬剤研究の最前線

大阪公立大学 BNCT 研究センター  
特任教授 切畑 光統

BNCT ではホウ素薬剤の集積するがん細胞が、ホウ素と中性子間の物理反応の反応場となるため、がん細胞選択性 (T/N 比 $>3$ ) と同時に、高集積性 (ホウ素濃度: 20~30ppm) が2大要件としてホウ素薬剤開発に求められている。本講演では、ホウ素薬剤に焦点を当てながら、BNCT の原理と歩み、新規薬剤の開発現状の動向と課題、展望等について解説する。

# ホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) を支えるホウ素薬剤研究の最前線

大阪公立大学 BNCT 研究センター 特任教授

切畑 光統

## 1. はじめに

$^{10}\text{B}$ -ホウ素と熱中性子間の物理反応、ホウ素中性子捕捉 (あるいは捕獲) 反応 (Boron Neutron Capture Reaction: BNCR) を基盤原理とするホウ素中性子捕捉療法 (Boron Neutron Capture Therapy: BNCT) の保険医療は、G. L. Locher が BNCT の基本概念を提唱してから 84 年後の 2020 年 8 月に世界に先駆けて日本で開始され、再発頭頸部癌を対象に顕著な医療実績を挙げ着実に進展している。中性子発生源となる小型加速器の開発と共に、腫瘍細胞に選択集積する  $^{10}\text{B}$ -ホウ素薬剤の開発は BNCT を支える不可欠な 2 大要素技術と位置付けることができ、更なる普及進展と高度化に繋がる研究開発が国内外で進んでいる。本講演では、2 大要素技術の一つである BNCT 用ホウ素薬剤 (ホウ素化合物) に焦点を当てながら、BNCT の原理と歩み、ホウ素化合物に求められる要件、新規薬剤の現状課題と開発動向、展望等について述べる。

## 2. ホウ素中性子捕捉反応 BNCR とホウ素中性子捕捉療法 BNCT

$^{10}\text{B}$ -ホウ素に捕捉された低速の熱中性子 ( $^1n_{th}$ ) は遷移状態の複合核 ( $[^{11}\text{B}]$ ) を経て、2 項の核反応  $\{^{10}\text{B}(n, \alpha)^7\text{Li}$ 、 $^{10}\text{B}(n, \alpha, \gamma)^7\text{Li}\}$  が誘発され、高い線エネルギー付与 (LET) を示す  $\alpha$  粒子 ( $^4\text{He}$ ) と  $^7\text{Li}$  反跳核の他に即発  $\gamma$  線、熱エネルギーが発生する (図 1)。G. L. Locher は、中性子の発見から 4 年後の 1936 年に、BNCR で生じる生物学的効果の高い  $\alpha$  粒子と  $^7\text{Li}$  反跳核の癌治療への利用を想定して BNCT の最初概念を提唱した [1]。

$\alpha$  粒子と  $^7\text{Li}$  反跳核の飛程は、それぞれ約

$9\ \mu\text{m}$ 、 $4\ \mu\text{m}$  と癌細胞径の中に収まり、周囲の正常細胞や組織に与える影響は少なく、BNCT が“癌細胞選択的粒子線治療”と呼称される要因となっている。図 1 には BNCT の概念を簡単な模式図で示したが、癌をはじめ DNA やオルガネラに関する知見が充分でなかった時代に提唱された BNCT の概念が、時代を越えて引き継がれ、現代的な科学知見が賦与されて医療実現に至ったことの意義は大きい。

### ホウ素中性子捕捉反応 BNCR

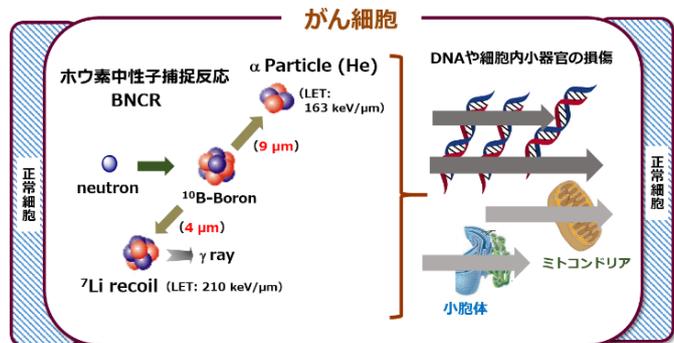
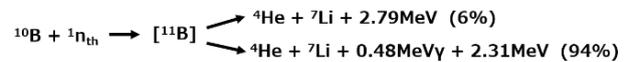


図 1 BNCRと癌BNCTの概念図

### 3. BNCT 用ホウ素薬剤（ホウ素化合物）に求められる要件

天然ホウ素には2つの安定同位体  $^{10}\text{B}$  および  $^{11}\text{B}$  が約 1 : 4 で存在するが、この中で中性子と反応するのは  $^{10}\text{B}$ -ホウ素のみであり、BNCT 用ホウ素薬剤には原料となる高純度  $^{10}\text{B}$ -濃縮ホウ素の入手が不可欠となっている。

BNCT 用ホウ素薬剤（ホウ素化合物）には、次の①～⑥のような要件が求められ、化合物開発の指標の一つとなっている [2, 3]。この中の③と⑥は、共通認識されている要件に、筆者らの研究グループが社会実装を視野に入れて新たに付加したものである。

- ① 腫瘍細胞に選択的、かつ、多量に集積する
  - ・腫瘍細胞／正常細胞比 (T/N 比) > 3
  - ・20~40 ppm の腫瘍内ホウ素濃度
- ② 血中投与するため低毒性で高い安全性が保障・確保される。
- ③ “theranostics” 特性を有し、体内動態や濃度が PET (陽電子断層撮影法) 等で非侵襲的に計測評価できることが望ましい。
- ④ 腫瘍組織に一定時間滞留し、治療終了後は速やかに排出される。
- ⑤ 1 分子あたりのホウ素占有率が高く中性領域下で水溶性である。
- ⑥ ホウ素送達分子として機能し、薬理活性をもつことは必ずしも求められない。

これらの中で、BNCT に特有で重要な性質は①であり、BNCT の成否を左右する根幹の要件でもある。それ故、BNCT 用ホウ素化合物の研究開発では、①の条件克服を第一目標として展開される場合が多い。

### 4. BNCT 臨床に用いられている $^{10}\text{B}$ -ホウ素化合物、BPA と BSH

BNCT の臨床には2つのホウ素化合物 (図2)、*p*-Borono-L-phenylalanine (以下、BPA) と Disodium mercaptoundecahydro-*clos*o-dodecaborate (以下、BSH) が用いられている。ホウ素化アミノ酸の BPA は、1987 年三嶋らによりメラノーマ (悪性黒色腫) の BNCT に用いられた後 [4]、脳腫瘍や頭頸部がんの BNCT の臨床研究に広く用いられた。

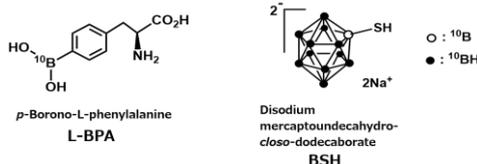


図2 L-BPAとBSH

2020 年に始まった BNCT の実臨床に認可されたホウ素薬剤 “ボロフェラン ( $^{10}\text{B}$ )” (医薬品名：ステボロニ

ン®) は BPA を有効成分として製剤化、上市されたものである。一方、20 面体の籠型ホウ素クラスターの BSH は、畠中らにより最初に悪性脳腫瘍に [5]、また、後年になって、BPA と併用して悪性神経膠腫に用いられている [6]。

#### 4.1 BPA の化学、生物学的特性と製剤化

BPA は 1958 年にチロシンの類似体として Snyder らにより報告された最初のホウ素アミノ酸である [7]。彼らの研究目的は芳香族ボロン酸の合成法の開発にあったが、論文中には BNCT への応用について触れた部分が確認される。立体構造と生物活性の間に相関性を持つ非タンパク性アミノ酸は多く知られるが、BPA においても立体異性体間の集積性や薬物動態の差異に関心が寄せられていた。Coderre らはマウス黒色腫の腫瘍、臓器、組織や器官における L-BPA と D-BPA の集積分布と濃度を比較解析し、L-BPA が D-BPA に比して高い腫瘍集積性を示すこ

とを報告している [8]。BPA を BNCT 用薬剤として用いるには、低水溶性の改善が求められ、水溶性の BPA-フラクトース複合体が開発された。しかし、この複合体を医薬品として上市するには、熱安定性、保存性や薬液量等の点で多くの課題が残されていた。ボロファンでは D-ソルビトールが溶解補助剤として活用されている。

#### 4.2 LAT1 による BPA の腫瘍細胞内への選択輸送と細胞内マイクロ分布

バリンやフェニルアラニンなどの嵩高い中性アミノ酸の輸送に関わる LAT 系トランスポーター(輸送担体)が、1998 年金井らにより発見された [9]。LAT 系トランスポーターの中で、LAT1 は腫瘍細胞において、また、サブタイプの LAT2 は正常細胞において発現し、BPA はこれらを介して細胞内輸送されることが明らかとなった [10]。また、LAT1 は多くの癌腫に選択的に高発現することが遺伝子レベルで確認されている [11]。BPA は、また、LAT 系輸送とは異なる Na<sup>+</sup>依存的な塩基性アミノ酸トランスポーター ATB<sup>0+</sup>によっても輸送されることが報告されている [11]。これら 3 種の BPA 輸送担体、LAT1、LAT2、ATB<sup>0+</sup>に対する BPA の親和性は、酵素反応速度論と同様に Michaelis-Menten 式の Km 値で表すことができ、BPA は LAT1 に対して最も高い親和性を持つことが明らかになった (表 1) [12]。腫瘍細胞における LAT1 の発現頻度は、正常細胞における LAT2 のそれよりも高く、BPA の腫瘍/正常細胞選択比 (T/N 比) は、分子標的となる LAT1 の腫瘍における発現頻度と LAT 1 に対する親和性に依存していると考えられる。

表 1 BPA の輸送担体親和性

輸送担体	Km, mM
LAT1	20.3 ± 0.8
LAT2	88.3 ± 5.6
ATB <sup>0+</sup>	137.4 ± 11.7

Km: Michaelis-Menten Constant

12 回膜貫通型の膜タンパクである LAT1 の結晶化は困難で、その立体構造は長く不明であったが、近年、低温電子顕微鏡 (cryo-EM) によりその全容が明らかにされ、BPA-LAT1 複合体の構造解析が進んでいる [13]。

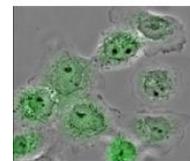


図 3 BPA の細胞内分布 (C6:ラット Glioma)

LAT 1 を介して細胞内に輸送された BPA は、細胞質、細胞核内に移行集積することが、抗 BPA 抗体による免疫染色や (図 3) [14]や蛍光センサーを用いたライブセルイメージングにより確認されているが、細胞内・核内移行の分子動態機構の詳細については分かっていない。

#### 4.3 BPA とその [<sup>18</sup>F]フッ素標識体 [<sup>18</sup>F]FBPA

BPA の動態を非破壊的に画像化、可視化してリアルタイムで評価することができる検査・診断法は、治療前の適用評価や線量計画の策定に重要で、BPA のオルソ位水素をポジトロン核種の [<sup>18</sup>F]フッ素で標識した [<sup>18</sup>F]FBPA (以下、<sup>18</sup>FBPA、図 4) が、PET (陽電子断層撮影) プローブ分子として開発された [15]。BPA と <sup>18</sup>FBPA の同等性の比較研究は、BPA と天然の安定同位体 [<sup>19</sup>F]フッ素による [<sup>19</sup>F]FBPA を用いて行われ、両者はほぼ同様の薬物動態を示すことが検証された [16]。また、免疫染色による FBPA の細胞内マイクロ分布も BPA と同様であった。このように BPA は BNCT 治療だけでなく、その <sup>18</sup>F-標識体は診断・検査にも有効であることから、セラノスティックス (theranostics) な化合

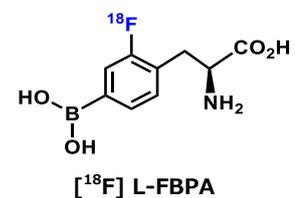


図 4 <sup>18</sup>FBPA の化学構造

物と考えられる。 $^{18}\text{F}$ BPAの合成はこれまで $^{18}\text{F}_2$ フッ素分子から調整される $\text{AcO}^{18}\text{F}$ とBPA間の求電子芳香族置換反応“エフプラス法”により行われてきたが十分な収量が得られず課題となっていた。筆者らは、新規な合成前駆体と $^{18}\text{HF}$ 間の求核的芳香族置換反応を鍵反応として $^{18}\text{F}$ BPAの効率合成を達成する“エフマイナス法”を産学連携により開発した[17]。

## 5. 新規ホウ素化合物（ホウ素薬剤）の開発研究

ボロファラン( $^{10}\text{B}$ ) {ステボロニン®}が最初のBNCT用ホウ素薬剤として承認認可されたことを契機として、その有効成分であるBPAを目標基準とした研究開発が国内外で展開されている。腫瘍選択性と集積性等、先に述べたホウ素薬剤に求められる要件に加えて、特定癌腫への適合性、アドメ過程、製剤、経済性など社会実装を視野に入れた研究開発が進んでいる。最近、BNCT用ホウ素化合物の開発ガイドラインが我が国の研究者によって論文発表され[18]、研究者が独自に行っていたこれまでの評価・検証試験方法等に統一された一定の方向性が示された。今後、この論文がホウ素化合物の研究開発の指針として広く活用されることが望まれる。

BNCT用ホウ素化合物の多くは、図5に示す様に、腫瘍標的・親和性分子（以下腫瘍親和性分子）と $^{10}\text{B}$ -ホウ素分子がリンカーで結ばれた構造を取り、腫瘍親和性分子には腫瘍細胞表層に高発現する受容体、トランスポーター、チャンネル、血管や膜構造等を標的とするアミノ酸、ペプチド、生理活性物質、抗体などが、また、 $^{10}\text{B}$ -ホウ素分子部にはボロン酸やボリン酸、ホウ素クラスター類が用いられて

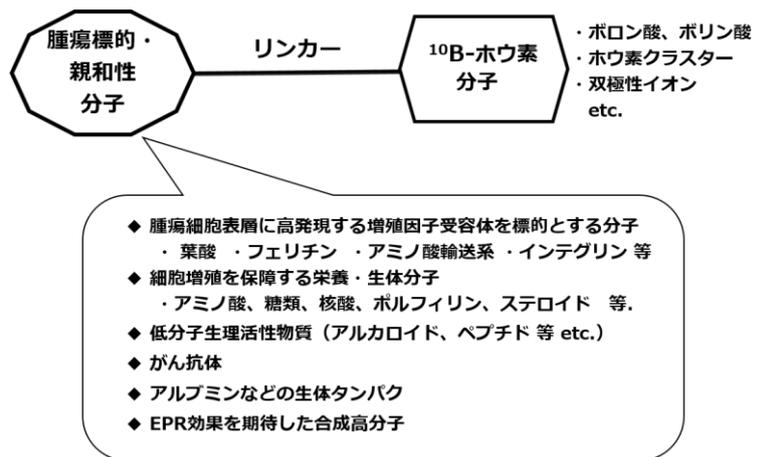


図5 BNCT用ホウ素化合物の構造

いる[19]。最近では、腫瘍親和性分子にはペプチド、糖鎖、抗体などの中高分子を、また、 $^{10}\text{B}$ -ホウ素分子にはホウ素クラスター類を用いた報文が多く見られる。

BSHに代表される多面体の籠型ホウ素クラスター

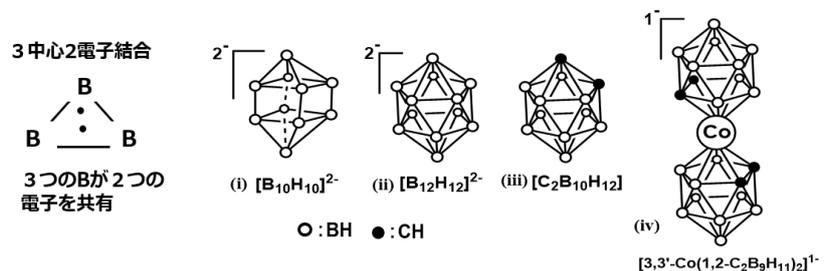


図6 ホウ素源として用いられている籠型ホウ素クラスター類

類は、3中心2電子結合と呼ばれる結合様式を取り、分子内ホウ素密度（ホウ素占有率）の高いことから、特に中高分子ホウ素化合物のホウ素源として多用されている。図6にはBNCT用ホウ素化合物に汎用されているホウ素クラスター類を示した。この中で、Decaborate (i)、*clos*o-Dodecaborate (ii)、COSANと略称されるコバルト錯体 (iv) は、水溶液中では無機性

の陰イオンとして挙動し、陽イオン試薬との間で電氣的に中性な塩を生成する。これらをリンカーを介して間接的に腫瘍親和性分子と結合させるには、独自の結合反応や精製法の確立、リンカーの選択が重要となる。一方、*o*-Carborane (iii) は、分子内に反応性に富む2個の炭素を含む非水溶性の有機性ホウ素クラスターとして挙動し、アセトニトリルなどの有機溶媒に可溶なことから、炭

素-炭素間構築による腫瘍親和性分子への導入が可能となり多用されている。20面体の *clos*-Dodecaborate (ii) は低毒性で、*-S-*、*-O-*、*-N-*を介した誘導体化、有機分子化が比較的容易なことから、我々は種々の腫瘍親和性化合物にスルフィド結合を介して(ii)を導入する合成手法を展開している。本稿では、近年、我々の

研究グループが関わった有望な候補化合物を採り挙げ、これらを低分子、中分子、及び高分子/DDSの3つのグループに区分して紹介、解説する。

### 5.1 低分子ホウ素アミノ酸、ペプチドなど

服部らはBSHのメルカプト基を段階的にアルキル化する合成法を活用して、 $\alpha$ -アミノ酸の側鎖にBSHを導入したBSH-AA [20]、シクロブチルアミノ酸ACBC-AA [21]の合成と、生物活性を報告している(図7)。これらのホウ素アミノ酸は水溶性、低細胞毒性であり、マイクロ分布解析により腫瘍細胞の核周辺に局在集積することが明らかにされた。また、中性子照射実験から、高いBNCTによる殺細胞効果を示すことも報告されている。微生物由来の天然物でブドウ糖類縁体のコウジ酸にBSHを導入したkojic acid-BSHの合成とラット脳腫瘍モデルに対するBNCT効果が報告されたが、これは $\gamma$ -パイロン環を持つBNCT用ホウ素化合物の最初の例である[22]。BPA-BSHは、BPAとBSHを融合させることで、高い腫瘍選択性と集積性を狙って設計されたホウ素化合物であり、細胞実験では十分な集積性を示したが、脳腫瘍モデルラットへの静脈注入では脳腫瘍への集積濃度は不十分であった。しかし、中性子照射実験では、非常に高い複合生物学的効果を示し、ラット脳腫瘍モデルで生存期間が有意に延長された[23]。

宮部らは、BPAのジペプチドBPA-Tyrが、AsPC-1(すい臓癌)細胞に高発現するオリゴペプチドトランスポーター(PEP1)を介して輸送され、AsPC-1細胞を異種移植したマウスでは、BPA-Tyrが多量集積することを報告していて興味深い[24]。服部らは腫瘍細胞に高発現するTranslocator Protein(TSP0)を標的としてTSP0に親和性を示すPyrazolopyrimidineにリン

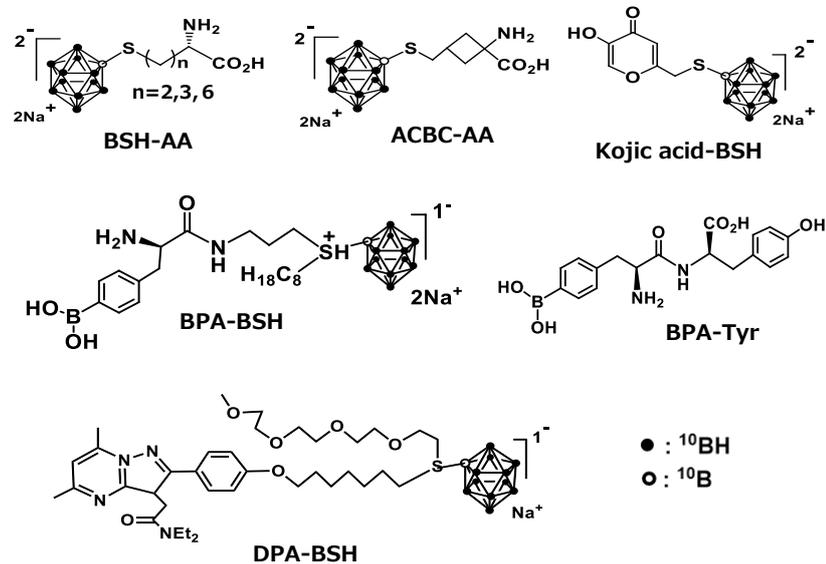


図7 BPA、BSH 骨格を含む低分子ホウ素アミノ酸、ペプチドなど

カーを介して BSH を導入した DPA-BSH を分子設計・合成した。DPA-BSH のスルホニウム誘導体に高い腫瘍集積性を認めていて今後展開が期待できる [25]。

## 5.2 中分子ホウ素化合物

我々の研究グループは、膜透過性ペプチド RLA および R8 の N 末側にリンカーを介して BSH を導入した DB-RLA および DB-R8 の 2 つのホウ素化ペプチドを合成、細胞内取り込みと局在について検討した。DB-RLA は細胞膜を通過後にミトコンドリアに高く集積する一方、DB-R8 はミトコンドリアを避けてサイトゾルに局在集積することが観察された。また、両者の細胞内のホウ素取込み量は、BSH-AA (図 7) と比較して約 10 倍高くなり、DB-RLA は暴露後 30 分でミトコンドリアに集積した後、24 時間経過後もミトコンドリアに局在維持されることが確認された。一方、サイトゾルの DB-R8 は長時間保持されないことが観察された。さらに、in vitro 中性子照射実験では、DB-RLA は腫瘍細胞に対して高い DDS 殺細胞効果を示した [26]。

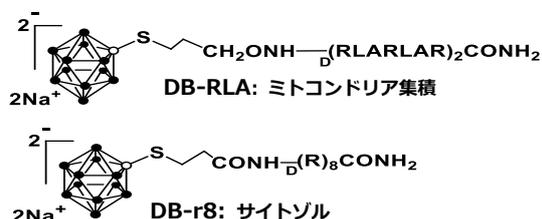


図 8 細胞小器官に選択局在する BSH ペプチド

## 5.3 高分子ホウ素化合物/DDS

西村らは腫瘍細胞表層に高発現する葉酸受容体を標的とするホウ素化クラスター化合物 PBC-IP を報告している (図 9)。PBC-IP は末端に非共有結合的にアルブミンと結合するように設計された iodophenyl 基を有し、ヒト神経膠芽腫の異種移植モデルに静脈内投与された PBC-IP は、BPA よりも高いホウ素集積量を示し、熱中性子照射後の腫瘍の増殖を効果的に抑制したと報告されている [27]。我々は、抗体の Fc 領域に特異的に結合する Z33 ペプチドに BSH を導入した BSH 抗体を作製した (図 9)。BSH 抗体は上皮成長因子 (EG) の投与で誘起されたマクロピノサイトーシスにより細胞内に移行、in vitro 中性子照射実験では高い殺

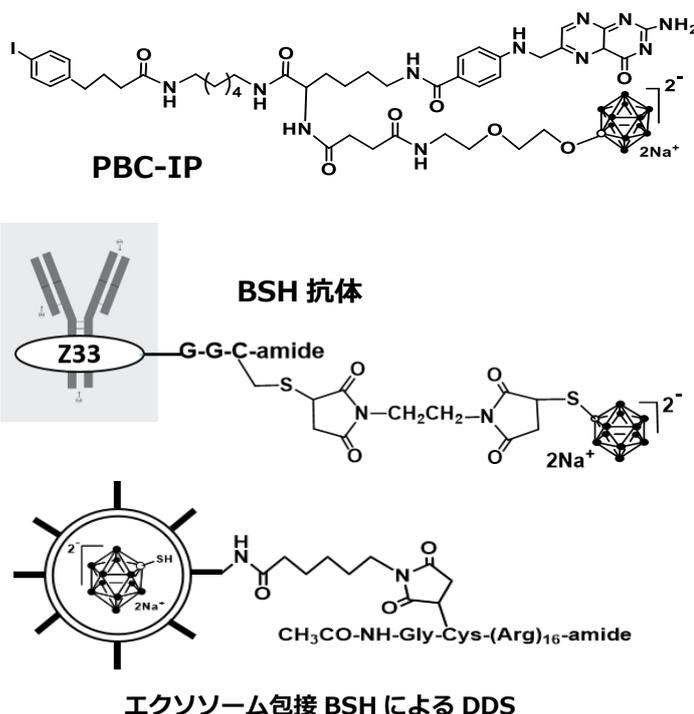


図 9 高分子ホウ素化合物/DDS

細胞効果を確認した。本手法は種々の癌抗体に適応可能で今後の進展が待たれる [28]。また、我々は細胞外小胞の内部に BSH 単体を包接し、外部を膜貫通性のペプチド、ヘキサデカアルギニンで修飾したエクソソーム (extracellular vesicles EV, 細胞外小胞) のカプセル化を達

成、マクロピノサイトーシスによる効率的な BSH の送達と顕著な BNCT 効果を確認した[29]。

## 6. おわりに

ホウ素薬剤に求められる要件の多くを充たし、BPA を凌駕する新規ホウ素化合物の開発、社会実装は一朝一夕に進展せず、この分野に関わってきた研究者の一人として力不足を感じると共に忸怩たる思いに駆られる。これからのホウ素薬剤の分子設計では、クライオ電顕や X 線結晶構造解析による標的分子の 3 次元立体構造情報に基づく Target-based drug design の手法が主流となり、現在の踊り場状況からの脱却が早まるかもしれないと期待している。BNCT の腫瘍微小環境に及ぼす影響や効果に関する研究報告は少なく、今後、腫瘍の増殖制御、タンパク質合成抑制、アミノ酸シグナル抑制、エピジェネティック制御等の分子レベルでの基礎研究を進めていく必要があると考えている。

## 参考文献・資料

- [1] G. L. Locher, *Am. J. Roentgenol. Radium Ther* (1936) 36, 1.
- [2] M. F. Hawthorne, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl* (1993) 32, 950-984.
- [3] H. Soloway et al, *Chem. Rev.* (1998) 98, 1515-1562.
- [4] Y. Mishima et al, *The Lancet* (1989) August 12, 388-389.
- [5] Hatanaka H. et al, *Nippon Acta Neuroradiol.* (1968) 9, 37-40
- [6] S. Kawabata et al, *J. Radiat. Res.* (2009) 50, 51-60.
- [7] H. R. Snyder et al, *J Am Chem Soc* (1958) 80, 835-838.
- [8] J. A. Coderre et al, *Selective Cancer Research* (1981) 47, 6377-6383.
- [9] Y. Kanai et al, *J B C* (1998) 273 (37), 23629-23632.
- [10] A. Wittig et al, *Radiation Research* (2000) 153(2), 173-180.
- [11] <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000103257-SLC7A5/cell+line>
- [12] P. Wongthai et al, *Cancer Sci* (2015) 106(3), 280-286.
- [13] Y. Lee et al, *Nat Struct Mol Biol* (2019) 26, 510-517.
- [14] Y. Hattori et al, *ACS Sens.* (2016) 1, 1394-1397.
- [15] K. Ishiwata et al, *Appl. Radiat Isot* (1991) 42(4), 325-328.
- [16] T. Watanabe et al, *BMC Cancer* (2016) 16, 859.
- [17] 切畑光統、次世代がん医療創生研究事業成果報告書 2022 年、59 頁、日本医療研究開発機構
- [18] Y. Hattori et al, *J. of Radiation Research* (2023) 64(6), 859-869.
- [19] H. Nakamura, M. Kirihata, *Neutron Capture Therapy* (2012), Springer, 99-116.
- [20] Y. Hattori et al, *J. Med. Chem* (2012) 55, 6980-6984.
- [21] Y. Hattori et al, *Amino Acids* (2014) 46, 2715-2720.
- [22] K. Takeuchi et al, *Cells* (2020) 9(5), 1551.
- [23] Y. Fukuo et al, *Biology* (2020) 9(12), 437.
- [24] J. Miyabe, *Journal of Pharmacological Science* (2019) 139, 215-222.

- [25] Y. Hattori et al, *ACS Medicinal Chemistry Letters* (2022) **13**(1), 50–54.
- [26] I. Nakase et al, *Chem. Commun* (2019) 55(93), 13955–13958.
- [27] K. Nishimura et al, *Journal of Controlled Release* (2023) 360, 249–259.
- [28] Nakase I. et al, *ACS Omega* (2020) **5**(36), 22731–22738.
- [29] S. Hirase et al, *Mol. Pharmaceutics* (2022) 19, 1135–1145.

## 講演者略歴



### 切畑 光統 (きりはた みつのり)

所 属 大阪公立大学 研究推進機構 BNCT 研究センター

住 所 〒599-8531 大阪府堺市中区学園町 1-1

連 絡 先 TEL/FAX : 072-254-6424/072-254-6421、E-mail:kirihata@omu.ac.jp

略 歴 2012 年大阪府立大学生命環境科学研究科を定年退職、名誉教授、BNCT 研究センターホウ素薬剤化学寄附講座特認教授、2017 年同研究センター長／2022 年大学統合により大阪公立大学研究推進機構 BNCT 研究センター長、ホウ素薬剤化学寄附講座特任教授 現在に至る。

研究・活動  
分野など

有機合成化学、生物有機化学等を基盤として、「ホウ素中性子捕捉反応 BNCR、ホウ素中性子捕捉療法 BNCT とその周辺」を課題とした研究活動を展開中。

