

委託研究「高精度量子ビームがん治療法の開発」 (研究開発テーマ：放射性同位元素の医学・工学等への応用) 研究成果報告概要

研究開発の概要

(研究実施期間) 令和2年度～令和3年度

(目的)

中性子捕捉療法の抗腫瘍効果を最大限に発揮するためには、使用する核種であるホウ素10核種(10B)やガドリニウム(Gd)を腫瘍組織に迅速かつ特異的に送達するドラッグデリバリー(DDS)開発が重要である。我々は、腫瘍血管内皮表面に発現するアネキシンA1に結合するDDSペプチドとして同定したIF7とホウ素製剤の複合薬剤(IF7-BPA)を開発し、既存ホウ素製剤の600倍の腫瘍特異的ホウ素集積を示し、中性子線照射による抗腫瘍効果を有することを明らかにし、知財化した(特願2018-117189)。さらに前立腺癌や腫瘍血管内皮に発現する前立腺特異膜抗原(PSMA)に結合し、特異的に細胞内に取り込まれるDDSペプチドとして、L7を同定した。本研究では、上記2種のDDSペプチドと10BやGdの複合薬剤による腫瘍特異的中性子捕捉療法のマウス動物実験をQSCにて実施し、革新的な高精度量子ビームがん治療法の創出を目指す。

(必要性)

本研究で開発した新規薬剤の効果が明らかとなれば、従来のNCTの欠点を克服し、癌患者の治療効率の向上やQOL向上に寄与し、多くの癌治療のbreakthroughになり得る臨床的、社会的に非常に意義が高い研究と考えられる。

(新規性)

本研究で我々が開発する2種類のDDSペプチドは、ナノパーティクルやリポソームのように分子サイズの特異性で腫瘍細胞へとりこまれるのではなく、固形腫瘍細胞に存在するPSMA分子あるいは、腫瘍細胞へ栄養供給する腫瘍血管内皮細胞上のPSMAおよびアネキシンA1を標的とするため、原発腫瘍部と栄養を供給する腫瘍血管を同時にたたくことが可能な高精度中性子捕捉療法を実現する点が独創的かつ新規性を有する部分である。

(独創性)

BNCTだけでなく、造影剤として使用され安全性が高いGd錯体にDDSペプチドを組み合わせることで、MRIによる腫瘍部特異的造影が可能となり、薬剤が腫瘍に集積した適切なタイミングで、中性子を照射するGd中性子捕捉療法の検討を行う点が独創的である。

(有用性)

Gd錯体にDDSペプチドを組み合わせた薬剤に関する腫瘍集積性、抗腫瘍効果に関する報告はほとんどなく新規性を有する部分であり、本研究成果は、新規知財化およびBNCTに続く中性子捕捉療法の創出につながる成果になる

研究成果

IF7ペプチド-BPA薬剤によるBNCT抗腫瘍効果について確認。データをまとめ、BMC Cancerに報告した (Yoneyama T. et al., *BMC cancer*, 21(1):105, 2021.) 詳細を以下に示す。

IF7とBPAあるいは、BSHを結合させた薬剤を合成した。ヌードマウスの大腿部にヒト膀胱癌細胞YTS1を播種した腫瘍モデルにIF7-BPAあるいは、IF7-BSHを腹腔内投与 (20 mg/kg) し、尾静脈投与後40分後に中性子照射を実施した。腫瘍の縮小率を計測し、治療効果を見ながら、1週間間隔で同様に薬剤投与し、中性子照射を実施した (図1)。その結果、通常投与量の1/25の低用量でIF7-BPAあるいは、IF7-BSH投与後に中性子照射した群で、中性子照射のみ、薬剤投与のみの群と比較して、顕著に腫瘍増殖抑制効果が認められた (図1)。さらに、摘出腫瘍の病理所見から、IF7-BPAあるいは、IF7-BSH投与後に中性子照射した群で、中性子照射のみ、薬剤投与のみの群と比較してKi67 indexが有意に低下し、増殖活性が低下していることが、明らかであった。また、IF7-BPAあるいは、IF7-BSH投与後に中性子照射した群で、CD8陽性細胞の浸潤、アネキシンA1の発現亢進が認められ、BNCT治療後に腫瘍免疫が活性化している可能性が示唆された。さらに、摘出腫瘍の病理所見から、IF7-BPAあるいは、IF7-BSH投与後に中性子照射した群で、中性子照射のみ、薬剤投与のみの群と比較してKi67 indexが有意に低下し、増殖活性が低下していることが、明らかであった。また、IF7-BPAあるいは、IF7-BSH投与後に中性子照射した群で、CD8陽性細胞の浸潤、アネキシンA1の発現亢進が認められ、BNCT治療後に腫瘍免疫が活性化している可能性が示唆された (図2)。

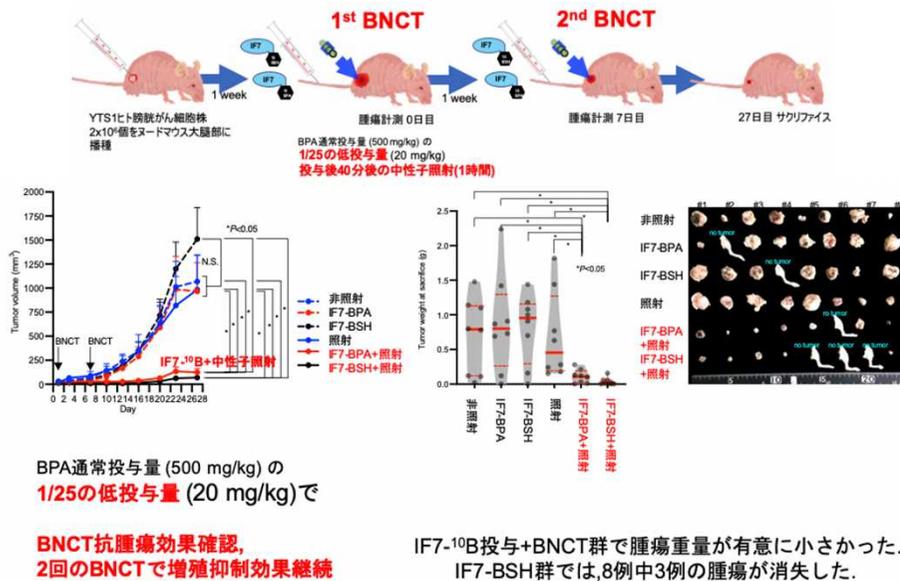


図1 担癌ヌードマウスモデルにおけるIF7-BPAおよびIF7-BSH投与後のBNCT

摘出時腫瘍病理所見

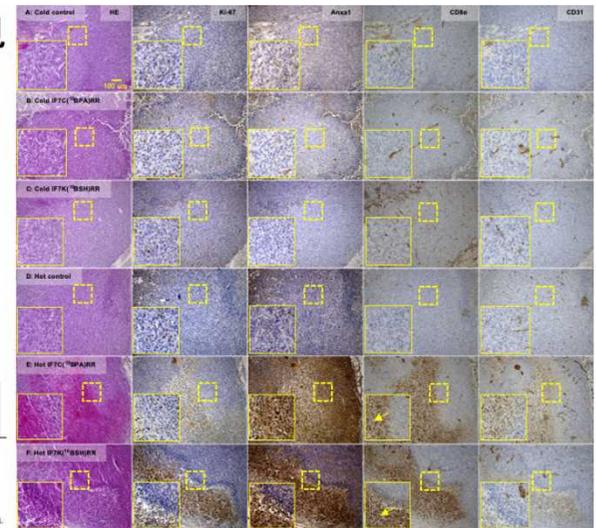
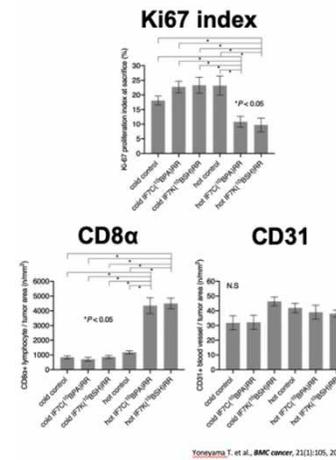


図2 担癌ヌードマウスモデルにおける摘出腫瘍の病理所見

研究成果

以上の結果から、従来のBNCTでは、 ^{10}B が取り込まれた腫瘍に対する限定的効果しか期待できないが、IF7-BPAあるいは、IF7-BSHは、通常投与量の1/25の低用量で腫瘍血管および腫瘍細胞に対するデュアルターゲティング効果を発揮し、より広範囲の腫瘍に対して、効果を示す可能性が示唆された(図3)。

さらに、IF7ペプチド,L7ペプチド-Gd造影剤の担癌マウス投与による腫瘍特異的造影効果確認のため、ヌードマウスの左背部にPSMA陰性ヒト前立腺癌細胞PC3 (1×10^6 個/マウス)を、右背部にPSMA陽性ヒト前立腺癌細胞LNCaP (2×10^6 個/マウス)を播種したDual tumorモデルにIF7-Gdあるいは、L7-Gdを尾静脈投与(0.01 mM/マウス)し、小動物用PET/MRIでIF7-GdあるいはL7-GdのPSMA陽性腫瘍への集積のモニタリング(投与後5~120分後)を実施した。その結果、L7ペプチド-Gd造影剤のみで腫瘍特異的造影効果が得られた(図4)。BMC Cancerに発表したヌードマウスの実験系では、T細胞免疫の影響が検討できない免疫不全マウスであるため、さらにBNCT治療後の腫瘍免疫の影響も検証できるC3H/HeNマウスを用いた実験を実施した。C3H/HeNマウスの大腿部にマウス膀胱癌細胞MBT2を播種した腫瘍モデルにIF7-BSHを腹腔内投与(20 mg/kg)し、尾静脈投与後40分後に中性子照射を実施した。一部のマウスで抗PD-1抗体(12.5 mg/kg/週)を同時に投与し、BNCT治療と免疫チェックポイント阻害剤を併用効果を検討した。腫瘍の縮小率を計測し、治療効果を見ながら、1週間間隔で同様に薬剤投与し、中性子照射を実施した。

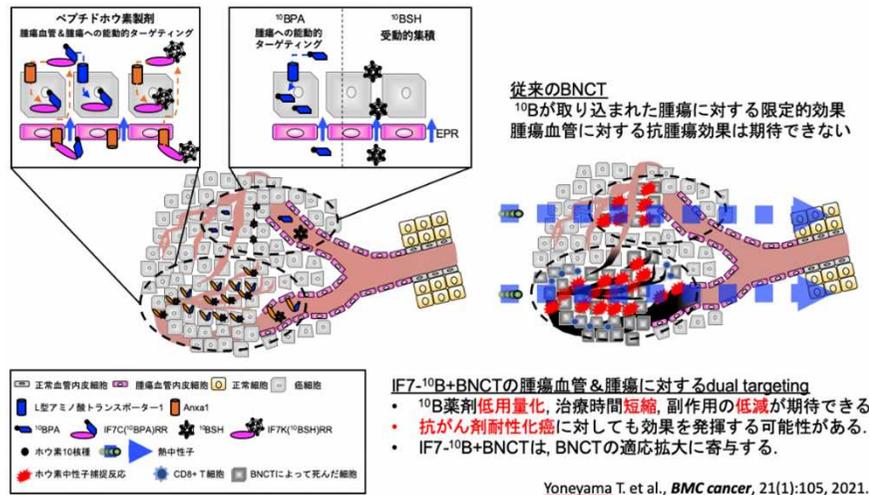
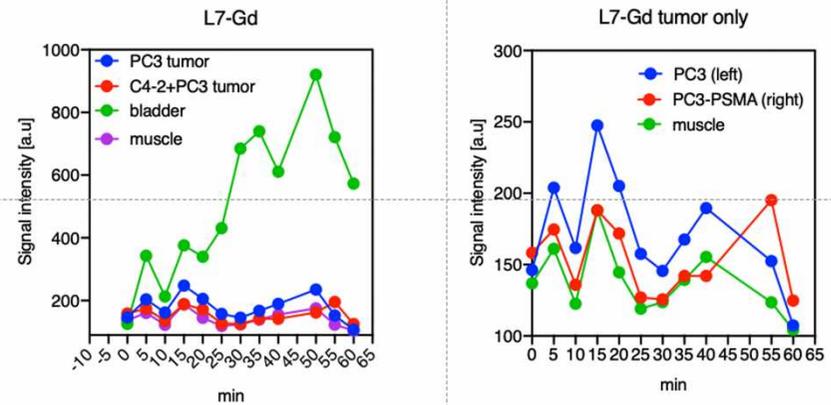


図3 IF7- ^{10}B 薬剤によるBNCTのデュアルターゲティング効果

L7-Gd造影剤のMRIによる薬物動態解析 2回目



L7-Gd造影剤は、投与後15~20分でPSMA陽性腫瘍部へ集積する。

図4 L7ペプチド-Gd造影剤のMRIによる腫瘍特異的造影効果の結果

研究成果

図5に示すようにIF7-BSH薬剤は、従来のBSH薬剤の1/25の低用量でBNCT抗腫瘍効果を示すことが明らかとなった。またヌードマウスの抗腫瘍効果よりもより強力な抗腫瘍効果が認められた(図5、図6)。さらにIF7-BSH薬剤と抗PD-1抗体治療群でも、IF7-BSH薬剤単剤の結果と同様に強力な抗腫瘍効果が認められた。そのうち1例では、BNCT 2回治療後に顕著に腫瘍が縮小した例が認められ、BNCT治療による殺細胞効果により、放出された腫瘍抗原により、抗PD-1抗体による腫瘍免疫治療効果が増強されている可能性が示唆された。現在、摘出組織の病理解析を実施中であり、論文化の準備を進めている。以上の結果から、L7ペプチド-Gd造影剤のみで腫瘍特異的造影効果が得られたことから、L7ペプチド-Gd造影剤投与後のBNCTの抗腫瘍効果を検討する予定であった。しかしながら、QSCの遺伝子組み換え実験の体制整備が間に合わず、L7ペプチドの標的であるPSMA分子を高発現させた遺伝子組み換え前立腺癌細胞を用いた担癌マウスを使用する実験を実施できなかった。このことから、遺伝子組み換え実験を必要としないIF7ペプチド-Gd造影剤での実験を実施した。R2年度に特異的造影効果が認められなかったIF7ペプチド-Gd造影剤に更にBSHを結合させたIF7-BSH-Gd錯体を合成し、IF7-BSH-Gd錯体投与後のBNCT抗腫瘍効果について担癌マウスモデルにて検討した。その結果、IF7-BSH-Gd投与後のBNCTの抗腫瘍効果は、IF7-BSH薬剤投与後のBNCTの抗腫瘍効果に比べて、抗腫瘍効果が劣ることが示された(図6)。Gd造影剤を結合させることにより、Gd造影剤の血中クリアランスの高さが影響し、投与後、速やかに腎排泄されてしまい、腫瘍への集積効率が低下することで、抗腫瘍効果が低下してしまう可能性が考えられた。R3年度の実験結果から、IF7ペプチド-Gd造影剤をベースにしたBNCT治療より、Gd造影剤を結合していないIF7-BSHのBNCT抗腫瘍効果が優れていたことから、臨床応用については、IF7-BSHをベースに免疫阻害剤治療を併用していく治療法の開発が有用と考えられた。

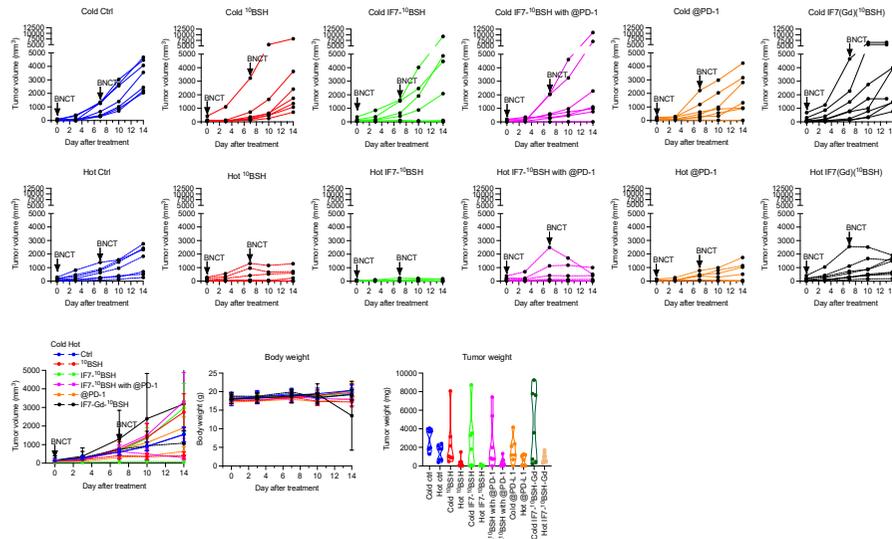


図5 IF7-BSH投与、IF7-BSH投与 + 抗PD-1抗体併用治療およびIF7-BSH-Gd造影剤投与後のBNCTによる腫瘍増殖抑制効果



図6 IF7-BSH投与、IF7-BSH投与 + 抗PD-1抗体併用治療後の摘出腫瘍写真

研究発表

1. 米山徹, 畠山真吾, 米山美穂子, 吉矢拓, 石津雄大, 植村剛, 鈴木実, 八戸慎吾, 石山新太郎, 野中元裕, 福田道子, 大山力. 糖鎖抗原類似ペプチドIF7-ホウ素10核種ドラッグデリバリーは、ホウ素中性子捕捉療法の治療効果を増強する. 第14回東北糖鎖研究会 2020/8/29 口頭発表
2. 米山 徹, 畠山真吾, 大山力. 腫瘍血管を標的としたペプチド-ホウ素薬剤によるホウ素中性子捕捉療法 Biojapan 2020 2020/10/14~2020/10/16 口頭発表
3. 畠山真吾, 米山徹, 米山美穂子, 山本勇人, 米山高弘, 橋本安弘, 石山新太郎, 鈴木実, 大山力. 腫瘍血管内皮を標的にした新規ホウ素中性子捕捉療法による膀胱癌治療法の開発 第108回日本泌尿器科学会総会 2020/12/22 ポスター
尿路上皮癌・基礎部門 総会賞 受賞演題
4. 米山徹, 畠山真吾, 米山美穂子, 鈴木実, 野中元裕, 大山力. 膀胱癌皮下腫瘍モデルに対する腫瘍血管標的¹⁰B DDSによるホウ素中性子捕捉療法 第30回泌尿器科分子・細胞研究会 2021/2/27 ポスター発表
5. 米山徹, 畠山真吾, 米山美穂子, 吉矢拓, 石津雄大, 植村剛, 鈴木実, 八戸慎吾, 石山新太郎, 野中元裕, 福田道子, 大山力. 腫瘍血管を標的とした糖鎖類似ペプチド-ホウ素薬剤によるホウ素中性子捕捉療法 第16回臨床糖鎖研究会 2021/3/18 口頭発表
6. 米山徹, 畠山真吾, 米山美穂子, 鈴木実, 野中元裕, 大山力. 腫瘍血管を標的としたペプチド-ホウ素薬剤によるホウ素中性子捕捉療法 みちのく研究会 2021/4/3 口頭発表
7. Tohru Yoneyama, Shingo Hatakeyama, Mihoko Sutoh Yoneyama, Taku Yoshiya, Tsuyoshi Uemura, Takehiro Ishizu, Minoru Suzuki, Shingo Hachinohe, Shintaro Ishiyama, Motohiro Nonaka, Michiko N. Fukuda and Chikara Ohyama. Tumor vasculature-targeted ¹⁰B delivery by an Annexin A1-binding peptide boosts effects of boron neutron capture therapy. 第109回日本泌尿器科学会総会 2021/12/7~2021/12/10 ポスター発表 腎細胞癌、尿路上皮癌部門 International Session Award 受賞演題
8. Tohru Yoneyama, Shingo Hatakeyama, Mihoko Sutoh Yoneyama, Taku Yoshiya, Tsuyoshi Uemura, Takehiro Ishizu, Minoru Suzuki, Shingo Hachinohe, Shintaro Ishiyama, Motohiro Nonaka, Michiko N. Fukuda and Chikara Ohyama. Anti-tumor effect in bladder cancer model of tumor vasculature-targeted ¹⁰B delivery mediated boron neutron capture therapy. 2022年米国泌尿器科学会総会 2022/5/13~2022/5/16 ポスター発表

研究会等の開催

特になし。

発表論文

1. Tumor vasculature-targeted ^{10}B delivery by an Annexin A1-binding peptide boosts effects of boron neutron capture therapy. ***BMC Cancer***. 21(1):105 (2021). Tohru Yoneyama, Shingo Hatakeyama, Mihoko Sutoh Yoneyama, Taku Yoshiya, Tsuyoshi Uemura, Takehiro Ishizu, Minoru Suzuki, Shingo Hachinohe, Shintaro Ishiyama, Motohiro Nonaka, Michiko N Fukuda, Chikara Ohyama. 査読あり

青森県内への波及効果

QSCは、サイクロトロンを利用した中性子照射施設のため、原子炉施設よりも使用制限が少なく、BNCTを始めとする中性子捕捉療法の臨床応用に向けた研究推進のためにも、極めて重要な施設となる。本研究が国内外に発表されることで、中性子照射動物実験施設の一拠点として、多くの研究者が利用するきっかけとなる。さらにマウスレベルでのDDSペプチド- ^{10}B 製剤のBNCTによる抗腫瘍効果が確認されたことから、今後、前臨床試験を経て、臨床応用への研究が進む。次なる段階として、DDSペプチド- ^{10}B 製剤およびDDSペプチド-Gd造影剤の医療用グレードの薬剤製造が課題となる。本研究開発に使用しているDDSペプチド- ^{10}B 製剤の国内特許を申請済みであり、本特許の独占実施権を有する弘前大学発ベンチャー企業H&Eケミストリーをすでに設立している。本企業を窓口国内外の製薬会社との当該薬剤製造のライセンス先を探索する。現在、医療用の ^{10}B を供給可能な会社は国内ステラファーマ社のみであり、中性子捕捉療法の将来的な適応拡大に備え、 ^{10}B を安定供給可能な施設開発は重要課題の一つである。青森県六ヶ所地域では、 ^{10}B を濃縮可能な施設があると考えられ、薬剤開発研究を県QSC施設内において製薬企業などメーカーと共同実施することにより、青森県発の医療用 ^{10}B の製造および新規DDSペプチド- ^{10}B 、DDSペプチド-Gd造影剤の産業化への道が開かれると考えられる。同時に青森県内に小型加速器を備えた中性子捕捉療法治療センターの設置が推進されれば、新規薬剤の臨床試験を実施可能な国内有数の中性子捕捉療法治療拠点形成に繋がり、県是である「短命県の返上」につながる。以上のことから、社会的、経済的な波及効果は、大きいと考えられる。