

博士論文要旨

ホウ素中性子捕捉療法のための リポペプチド結合型膜透過性ホウ素キャリアの開発

磯野 蒼

本研究は、ホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) の新規ホウ素薬剤の開発を目指す。BNCT は腫瘍細胞に取り込ませた¹⁰B の中性子捕獲反応を利用するがん選択的な治療法で、その成功のためには腫瘍選択的に取り込まれるホウ素キャリア開発が必須である。一方、現在臨床適用されている sodium mercaptoundecahydrododecaborate (BSH) は、膜透過性や腫瘍組織への集積性が低いためその優位性が生かされていない。そこで、本研究ではBSHの膜透過能を改善した新規ホウ素キャリアの開発を目指した。

1. 分子設計

ペプデュシンはGタンパク質共役型受容体 (GPCR) のモジュレーターとして開発されたリポペプチドで、現在PZ-128をはじめ、種々のペプデュシンの前臨床試験が行われている。著者らは予てより、この分子の細胞内移行メカニズムに興味を抱き、蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) システムを用いたペプデュシンプローブを開発し、その膜透過が脂質部位のフリップ運動による直接膜透過に基づくことを示唆した。以上から、ペプデュシン (vehicle) にホウ素クラスター (cargo) を結合させて細胞内に送達させることを着想した。そこで、ペプデュシン由来のリポペプチドにジスルフィド結合を有するリンカーを介してBSHを導入したホウ素キャリアを設計した。本化合物は細胞内の還元的環境に応答してジスルフィドリンカーが切断され、BSH部位を放出することで細胞内へホウ素クラスターを蓄積させるものと考えた。

2. リポペプチド型膜透過システムの構造最適化

PAR1を標的とするペプデュシンP1pal-13の構造に基づいて、Fmoc固相合成法により多様なリポペプチドを合成し、別途合成したリンカーを含むBSH部位と結合させて

種々のホウ素キャリアを合成した。またリンカーにはアルキリデンに加え、生理的条件下でカチオン性になり細胞膜への親和性を高めて細胞膜透過を向上させる目的で、アミンリンカー(ピペラジン型リンカー、リニア型アミンリンカー)も合成して導入した。

次に得られたホウ素キャリアを神経膠芽腫細胞T98G細胞に投与し、細胞内ホウ素濃度を高周波誘導結合プラズマ発光分光分析法で測定することで、ホウ素キャリアの細胞内への取り込みを評価した。まずペプチド部位及び脂質部位の構造最適化を検討したところ、P1pal-13由来の13配列のアミノ酸残基 (AVANRSKKSRALF) とパルミトイル基を有するものが最大の取り込みを示した。またこの取り込み量は時間依存的に24時間まで増加し続け、濃度依存性も見られた。続いてリンカー部位の検討を行なったところ、ピペラジン型リンカーを有するものがアルキリデンリンカーと比較して取り込み量が増大する傾向が認められた。

3. リポペプチド結合型ホウ素キャリアの機能評価

上記の検討で得られた有望な化合物でT98G細胞を24時間処理した後、培地を交換し、中性子照射後コロニー形成アッセイすることで放射線増感効果を求めた。BSHは中性子照射単独のコントロールとほぼ同等でほとんど効果がなかったのに対して、合成したホウ素キャリアでは約8倍の増感率が得られ、劇的に増加した。

以上により、新規リポペプチド結合型ホウ素キャリアは細胞内へホウ素原子を効果的に送達・蓄積させ、高い放射線増感効果を示したことから、BNCTのホウ素薬剤として有用であることが示唆された。またリポペプチド結合型膜透過性薬剤の方法論は他の薬剤の膜透過性の改善にも応用でき、有用な方法論であると考えられる。

論文審査結果の要旨

氏名（本籍）	磯野 蒼 (山口県)
学位の種類	博士（薬科学）
学位記番号	甲 第 2 0 号
学位授与年月日	平成 3 1 年 3 月 1 0 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当者
学位論文の題名	ホウ素中性子捕捉療法のためのリポペプチド結合型膜透過性ホウ素キャリアの開発
論文審査委員	(主査) 伊藤 彰近
	(副査) 田原 耕平
	(副査) 笹井 泰志

申請者は、ホウ素中性子捕捉療法（BNCT）でのがん細胞選択的治療を目指し、細胞内送達ツールとして、脂質分子のフリップ運動により直接的に膜透過することができる人工リポペプチド・ペプデュシンの性質を応用したホウ素キャリアの開発を計画した。即ち、ペプデュシンの一つである P1pal-13 の構造を基本に、ジスルフィド結合を含むリンカーを介してホウ素クラスターと結合させるという分子設計を行い、詳細な合成検討を行った。その結果、アミノ酸配列の異なる各種リポペプチド及びリンカー部位にアミンを組み込んだ、種々のホウ素キャリアの合成に成功した。申請者は、これらの合成キャリアを用いて、まず細胞内送達能の検討を行い、P1pal-13 と同じアミノ酸配列並びにパルミトイル基を有するリポペプチド結合型ホウ素キャリアが、最も良好な結果を与えることを見出した。また、本キャリアは血清培地中でも安定に存在することも明らかにしている。さらに、中性子照射下、合成キャリアによる放射線増感効果を調査し、増感率の大幅な上昇を観察できたことから、本キャリアのホウ素送達能によりがん細胞殺傷能力が高くなることも明らかにしている。以上、これらの知見は今後の BNCT のためのホウ素キャリアの開発並びに DDS の研究において有用であり、博士（薬科学）論文として価値あるものと認める。