

日本医療研究開発機構 医療分野研究成果展開事業
産学連携医療イノベーション創出プログラム 基本スキーム (ACT-M)
事後評価報告書

公開

I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) ポリビニルアルコールを利用した中性子捕捉療法用 DDS の開発
(英語) Development of drug delivery systems using poly(vinyl alcohol) for neutron capture therapy

研究開発実施期間: 令和2年8月17日～令和5年3月31日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 野本 貴大
(英語) Takahiro Nomoto

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:
(日本語) 東京工業大学 科学技術創成研究院・化学生命科学研究所・助教
(英語) Laboratory for Chemistry and Life Science, Institute of Innovative Research, Tokyo Institute of Technology

II 研究開発の概要

【研究の背景と目的】

ホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) はホウ素化合物を投与して ^{10}B をがんを集積させ、熱中性子を照射することにより α 線と Li 反跳核を発生させ抗腫瘍効果を得る方法であり、従来の治療法に抵抗性のあるがんに対しても優れた治療効果をもたらすことが期待できる。ホウ素化合物の中でも、*p*-boronophenylalanine (BPA) は、そのフェニルアラニン構造ががん細胞で過剰発現しているアミノ酸トランスポーター-LAT1 により認識され、がん細胞へ優れた選択的集積性を示す[Cancer Sci. 106, 279-286 (2015)]。さらに最近では BPA とほぼ同じ体内動態を示す ^{18}F 修飾型 BPA (^{18}F -BPA) が PET 診断薬として開発され、BPA が集積しやすい患者の選別 (コンパニオン診断) が可能となり、現在において BPA は最も臨床研究が進められている。しかし、BPA は治療に必要な細胞内 ^{10}B 濃度を短い時間しか維持できないという課題がある。この細胞内 ^{10}B 濃度の早期低下は、LAT1 が交換輸送体であるために、細胞外の BPA 濃度が低下すると細胞内の BPA がチロシン等の細胞外のアミノ酸と交換されて排出されてしまうことが大きな原因となっている [Radiat. Res. 153, 173-180 (2000)]。その結果、BPA を注射した後、患者を熱中性子照射場に移動させて照射部位を固定させている間や熱中性子を照射している間に腫瘍内 ^{10}B 濃度が徐々に低下し BNCT の効果が低減してしまう。それ故に、がん細胞での ^{10}B 濃度を治療に必要なレベルに保つために、臨床的には熱中性子を照射しながら BPA を点滴するという方法もとられる。しかし、照射中は患者以外の立ち入りが制限される熱中性子照射場において患者に点滴を安定して継続することは技術的に容易ではない。点滴の注射針が外れる事故に加えて、セッティングに時間を要し中性子線源の限られた使用時間枠を圧迫することが懸

念される。BNCTをより広く普及させていくには、BPAを腫瘍内に長期的に留める技術が必要とされている。

研究開発代表者らはこのBPAの課題を解決する方法として、BPAと生体適合性高分子のpoly(vinyl alcohol)(PVA)を水中で混合することにより構築されるPVA-BPA複合体を開発した [Sci. Adv. 6 (4) eaaz1722 (2020)]。PVA-BPAはLAT1に選択的に結合した後、エンドサイトーシス (LAT1 介在型エンドサイトーシス) により細胞内に取り込まれる。従来のBPAはLAT1を介して細胞質に移行するためLAT1の交換輸送により細胞外に排出されやすいが、PVA-BPAはエンドソーム・リソソームに局在するためLAT1による細胞外排出を受けにくくなり、がん細胞内に長期的にとどまるようになる。また、細胞内取込経路が変わることにより細胞内取込量が従来の約3倍高まることが明らかになっている。In vivoにおいてその効果は顕著であり、ヒト膵臓がん皮下腫瘍モデル、マウス大腸がん皮下腫瘍モデルの両方で、従来のBPAよりも高い腫瘍集積性と長期腫瘍滞留性を示した。この優れた体内動態と一致する結果として、熱中性子を照射するとPVA-BPAは皮下腫瘍モデルに対して極めて強力な治療効果を示した。本研究課題ではBPAの腫瘍集積性・腫瘍滞留性を高め治療効果を向上する添加剤としてのPVAの物性を最適化し、非臨床試験に使用するPVA-BPA製剤の規格を決定することを目的とした。

【研究開発の成果及びその意義】

本研究のシーズであるPVA-BPAの実用化にあたり、医薬品医療機器総合機構のRS事前相談の結果も踏まえて、主に下記の課題を解決することが重要であった。

1. PVAの分子量、けん化度の最適化が必要であった。
2. PVA-BPAはpH9.2以上でなければ溶解性が低く、注射剤として使用することが困難であった。
3. PVAとBPAの比率の最適化が必要であった。
4. PVA-BPAの安全性については必ずしも十分に明らかではなかった。
5. ヒト膵臓がん細胞皮下移植マウスモデルにおいて腫瘍集積性・滞留性および治療効果が高いことは分かっていたが、それ以外のヒトがん細胞の腫瘍モデルに対して有用であるかは不明であった。

以下にそれぞれの課題に対する検討結果を述べる。

<課題1>

PVAメーカーの協力を得ながら体内動態・治療効果の評価を網羅的に実施し研究を進めた結果、PVAの分子量とけん化度は、市販の工業グレードおよび医薬グレードのPVAの範囲において、当初PVA-BPAに期待した腫瘍集積性・滞留性および治療効果の向上を実現することができるものであることが明らかとなり、計画通りに課題1について解決することができた。

<課題2・3>

PVAの物性の最適化が完了した後、PVA-BPAが注射剤として使用可能なpH7.8以下で調製できるように、可溶性のsorbitolを加える方法を検討し、その組成の最適化を進めた結果、pH7.8以下で調製することができるPVA-sorbitol-BPA製剤を開発することに成功した。また、pH7.8以下で調製できることになったことにより、部分けん化型のPVAの加水分解の懸念を解消することが可能となり、市販の医薬グレードPVAを使用可能な製剤化方法を見出した。さらに、その凍結乾燥製剤の検討も進めたところ、水に再溶解可能な組成を見出すことに成功し、最終的な実用化を見据えた保存安定性に関してはPVA-sorbitol-BPA溶液の保存安定性が必ずしも十分に担保できない場合には、凍結乾燥PVAの再溶解水溶液とsorbitol-BPA溶液の混合による用事調製型の剤形の候補を得るに至った。このことから、課題2及び3についても計画通りに解決することができた。

<課題4>

PVA、PVA-BPAおよびPVA-sorbitol-BPAの安全性については、投与動物に対する生化学検査と病理学的解析により検討を行った。PVAとsorbitol-BPAは、単独で投与された場合、毒性所見は観察されなかったが、PVA-BPA、PVA-sorbitol-BPAが投与された場合においては、一部のサンプルにおいて腎臓への負荷が観察された。しかし、pH7.8以下で調製することのできるPVA-sorbitol-BPAは、PVA-BPAと比較して腎臓への負担を軽減できることが

明らかとなった。そして、腎臓への負荷に影響するのは、PVA や BPA などの PVA-sorbitol-BPA の解離物ではなく、水溶液中で徐々に形成される凝集物によるものである可能性を突き止め、それを製剤規格化に必要な物性評価へとつなげることができた。課題 4 についてもこのように着実に成果を出すことに成功した。

<課題 5>

課題 5 については、将来的にどの疾患を対象として開発を進めるのかを明確にする意味で極めて重要であった。BNCT の臨床に携わる共同研究者の臨床医と BNCT の薬剤の開発を担う企業の共同研究者を交えて産学で議論を重ね、PVA-sorbitol-BPA の腫瘍滞留性の利点を最大に活用できるのは、肺がん等の多門照射が必要となると想定される深部がんであるという結論に至った。これに基づき、ヒト肺がん細胞同所移植マウスモデルを用いた評価を追加で実施することとし、腫瘍集積性評価を行ったところ、PVA-sorbitol-BPA は BPA の集積量を 2~3 倍上回り、腫瘍内滞留性も極めて高いことが明らかとなった。また、PVA-sorbitol-BPA による BNCT は肺がん腫瘍に対して優れた治療効果を示し、顕著な延命効果が得られることが示された。

以上のように、本支援を受けたことにより実用化までの課題を一つずつ着実に解決し、当初の目的であった非臨床試験実施に向けた準備を実施することができた。本研究では、東京工業大学が有するシーズ PVA-BPA を、世界で初めて BNCT 用薬剤の承認を得たステラファーマ社、国内で唯一実験動物への中性子照射が可能な京都大学、そして高分子 DDS 研究に実績を有する東京工業大学が連携して実用化を目指した研究を実施した。製剤化方法については、東京工業大学の有する高分子型ドラッグデリバリーシステムの知見と、ステラファーマ社のステボロニン®に関する知見を共有することにより、効率的に構成成分の組成最適化を実施することができ、PVA-sorbitol-BPA の剤形を見出すことに成功した。さらにそこに、京都大学の保有する BNCT の生体影響に関する知見が加わることにより、ヒトの疾患に近い、ヒト肺がん細胞同所移植モデルへの応用可能性とその治療効果の検討を行うことが可能となった。これらの研究開発は、本研究支援、東京工業大学、ステラファーマ社、京都大学のいずれが欠けても実施することができないものであり、唯一無二の最先端研究開発を行うことができたといえる。その結果として、既存のホウ素薬剤や他の技術シーズと比較しても、極めて治療効果の高い製剤を開発することに成功した。これが実用化されることにより BNCT の日本の優位性がさらに高まることが期待される。

なお、本研究の実施においては、PVA-sorbitol-BPA の肺がん同所移植モデルに対する効果の実証を最優先事項として設定し、それが実証されてからその製剤規格化および多角的な物性評価方法の検討を行うことが最終目標を達成するのに最も効率的であった。実際、その順序で研究を進めたため、製剤規格化の部分については本研究期間内において鋭意検討を進めたものの、まだ解決すべき事項が残されているとも考えている。本研究開発課題終了後はさらなる製剤規格化を進める計画である。

Boron neutron capture therapy (BNCT) is a method of accumulating ^{10}B in cancer by administering a boron compound and irradiating it with thermal neutrons to generate α particles and Li recoil nuclei to obtain an antitumor effect, and is expected to have an excellent therapeutic effect on cancers that are resistant to conventional treatment methods. Among boron compounds, p-boronophenylalanine (BPA) shows excellent selective accumulation in cancer cells because its phenylalanine structure is recognized by the amino acid transporter LAT1, which is overexpressed on many cancer cells [Cancer Sci. 106, 279-286 (2015)]. However, BPA has the problem of maintaining the intracellular ^{10}B concentration necessary for treatment for only a short period of time. To solve this BPA problem, the principal investigators developed a PVA- BPA complex constructed by mixing BPA and poly(vinyl alcohol) (PVA), a biocompatible polymer, in water [Sci. Adv. 6 (4) eaaz1722 (2020)]. PVA-BPA selectively binds to LAT1 and is then taken up into the cell by endocytosis (LAT1-mediated endocytosis). Conventional BPA is easily excreted out of the cell by LAT1-mediated exchange transport, but PVA- BPA localizes to endosomes and lysosomes, making it less susceptible to LAT1-mediated excretion and allowing it to remain in the cancer cell for a long time. The purpose of this research project was to optimize the physical properties of PVA as an additive that

enhances BPA tumor accumulation and tumor retention and improves therapeutic efficacy, and to determine the specifications of a PVA- BPA formulation for use in preclinical studies.

First, we comprehensively evaluated of the pharmacokinetics and therapeutic efficacy of PVA-BPA using commercially available PVA, and clarified the physicochemical properties of PVA that could exert the expected effects.

Next, we investigated the addition of sorbitol, a solubilizing agent, to PVA-BPA so that it could be prepared at a pH of 7.8 or lower, which would allow it to be used as an injection drug, and optimized its composition. As a result, we succeeded in developing a PVA-sorbitol-BPA formulation that can be prepared at pH 7.8 or lower. The formulation also eliminated the concern about hydrolysis of partially saponified PVA. Furthermore, we also studied its lyophilized formulation, and succeeded in finding a composition that can be redissolved in water.

The adverse events of PVA, PVA-BPA, and PVA-sorbitol-BPA were investigated by biochemical and pathological analyses on mice. When PVA-BPA was administered, toxicity findings on kidney were observed in some samples. However, PVA-sorbitol-BPA, which can be prepared at pH ≤ 7.8 could reduce such unfavorable effects. We also found the possibility that the effects on the kidney were not due to dissociated products of PVA-sorbitol-BPA, such as PVA and BPA, but to aggregates that might be gradually formed in aqueous solution. This indicated that the evaluation of such physicochemical properties may be important in formulation standardization.

The advantage of tumor retention of PVA-sorbitol-BPA was expected to be efficiently utilized in deep cancers such as lung cancer, which requires multiple-port irradiation. Thus, we evaluated biodistribution and BNCT effects using an mouse model in which human lung cancer cells were orthotopically transplanted. PVA-sorbitol-BPA exceeded the accumulation of BPA by 2 to 3 times and showed extremely high intra-tumor retention. In addition, BNCT with PVA-sorbitol-BPA showed drastic therapeutic effects, thereby demonstrating remarkable life-prolonging effects.

As described above, we steadily solved the issues for practical application, succeeding in development of a formulation for possible practical application. The formulation exerted extremely high therapeutic efficacy compared to existing boron agents. Its practical application will augment the superiority of BNCT in Japan.

Meanwhile, the formulation standardization still requires improvement. We are planning to do further research and development for this purpose after this project.

III 事後評価総合所見

BNCT 承認薬であるステボロニン[®]に対して PVA を付加した製剤構造 (PVA-sorbitol-BPA) にすることにより新規な BNCT 製品を実用化する可能性を見出したことは高く評価できる。この新規製剤により ¹⁰B の腫瘍集積性・滞留性を向上させて有効性を高め、ステボロニン[®]で必要な中性子照射中の持続投与を回避できることが期待される。

一方、PVA-sorbitol-BPA には医薬品としての規制項目である CMC において今後検討すべき課題を残している。本剤は用時調製という方針であるが、三成分の組成比とその物性としての規格や安定性などが重要である。

アカデミアと企業との提携は綿密に実施されており、BNCT として市場優位性を維持することが期待される。