

2020年度 TIA 連携プログラム探索推進事業「かけはし」

調査研究報告書(公開版)

【研究題目】RF 波併用及び腫瘍免疫性誘導の増強に適する新規金ナノ粒子増感剤の開発と検証

【整理番号】TK20-044

【代表機関】国立大学法人 筑波大学

【調査研究代表者(氏名)】松本 孔貴

【TIA 内連携機関：連携機関代表者】国立研究開発法人 産学総合技術研究所 三澤雅樹

【TIA 外連携機関】名古屋大学、富山大学

【報告書作成者】松本 孔貴 【報告書作成年月日】2021/3/31

【連携推進(具体的な連携推進活動内容とその活動の効果等)】

・共同実験

(1) 産総研-筑波大学

腫瘍免疫を活性化するパイロトーシス作用を誘導するための集束超音波照射、X線照射動物実験を行った。その結果をもとに、共同で学会発表1件行った。また、金ナノ粒子含有リポソームを合成し、RF照射による温度上昇とリポソーム崩壊による内包物放出を確認した。

(2) 産総研-名古屋大

表面修飾を変えたカチオン性の金ナノ粒子を合成し、高線量ブラキセラピー装置でガンマ線照射したところ、プラスミドDNA損傷効果が増強されることが分かった。この結果をもとにした論文が国際誌に採択された。

(3) 産総研-都立大

MRI造影剤であるガドリニウムリポソームで標識した金ナノ粒子をマウスに投与し、投与後MRI装置で観察し、金ナノ粒子増感剤の腫瘍集積最大となる時間を測定し、放射線照射のタイミングを決定した。

(4) 産総研-富山大

国内では比較的事例が少ない金ナノ粒子および白金ナノ粒子を使った放射線増感剤および放射線防護剤に関する、直近5年以内の国際誌論文レビューを行い、学会誌に総説として採択された。また、プラズマ照射下で金ナノ粒子により、アポトーシス増強を認めた結果が、国際誌に採択された。

・学会発表

(1) 三澤雅樹、松本孔貴、新田尚隆、沼野智一、岡田朋子、余語克紀「放射線治療用金ナノ粒子増感剤による腫瘍免疫誘導とその評価」第36回日本DDS学会 神戸2020年6月23日

(2) Masaki MISAWA, Naotaka NITTA, Yoshitaka MATSUMOTO, Katsunori YOGO, Tomokazu NUMANO, Tomoko OKADA, Ken OHNISHI, Radiosensitization and Tumor Accumulation of Gold nanoparticle Radiosensitizer, 日本放射線影響学会第63回, Online, 2020年10月15-17日

・論文発表

(1) 三澤雅樹、近藤 隆、「放射線ナノメディシンの新展開—金および白金ナノ粒子による放射線細胞死の修飾効果—」放射線生物研究、Vol.55 No.4 December 2020.

(2) Jawaid P, Rehman MU, Zhao QL, Misawa M, Ishikawa K, Hori M, Shimizu T, Saitoh JI, Noguchi K, Kondo T. Small size gold nanoparticles enhance apoptosis-induced by cold atmospheric plasma via depletion of intracellular GSH and modification of oxidative stress. Cell Death Discov. 2020 Sep 10;6:83. doi: 10.1038/s41420-020-00314-x. PMID: 32963811; PMCID: PMC7483448.

・特許出願

三澤雅樹他「金ナノ粒子の凝集体、金ナノ粒子分散液、放射線治療用増感剤及び金ナノ粒子分散液の製造方法」特願 2020-062947

【調査研究内容（実験等中心に背景・課題と実行された課題解決の内容と結果）】

Radiofrequency (RF) 波を用いた温熱療法は、化学療法や放射線治療と併用することで相乗効果を得られる。一方、がん周囲の組織への加温による副作用が大きな制約因子となり、がん組織に十分な加温ができないケースが多い。本研究では、毒性の低い金ナノ粒子 (Gold Nanoparticle: GNP) を用いて RF 波による発熱効果を促進し、抗癌剤との併用効果を増強すること、及び GNP と抗癌剤をリポソームにより癌に送達し、RF 波をトリガーとして温熱と抗癌剤の併用効果を癌局所にだけ付与する2つを研究目的とする。

RF 波による発熱効果を検証した結果。

GNP+CDDP+RF 波による殺細胞効果を検証したところ、RF 単独群に比べ、RF/GNP 併用群で CDDP による殺細胞効果を増強する可能性が示唆された。

RF 波と GNP による発熱効果と抗癌剤効果をがん局所的に付与することを目指し、温度感受性リポソームの合成を試みた。温度依存的に内容物放出の増加が確認されたが、限定された温度域での急激な放出ではないことから、リポソームが取り込まれた癌組織のみで選択的に薬剤を放出することは現状では難しく、さらなる改良が必要であると考えられる。

今後の方針として、1) 温度感受性リポソームの試薬の配分や生成方法の検討、2) GNP と抗癌剤を包埋したリポソームによるがん組織選択的殺細胞効果を細胞及び実験動物を用いて検証し、本治療法の有効性を実証する予定である。

また、死滅したがん細胞から放出される障害性分子パターン (DAMPs) が、樹状細胞成熟や TLR4 シグナル伝達を通して抗原特異的な免疫系を発動させるといわれている。B16 メラノーマの担癌マウスに、金ナノ粒子を投与し、細胞内に取り込ませたあと、超音波および放射線を照射し、誘導される炎症反応について調べた結果、インフラマソーム関連分子の有意な発現が認められた。

【今後の活動予定】

今回の調査研究において、金ナノ粒子と RF 波と言う侵襲性が低く安全な処理と抗がん剤を同時・局所的に併用することで、その効果を増強できる可能性が示され、難治性を示すがんの治療に対する1つのアプローチとして提案できる可能性も示唆された。一方で、担癌動物および将来的なヒトへの応用を考えた場合、がん局所にて多剤併用効果を発揮するための手技の確立が必須であり、本研究では RF 波と金ナノ粒子の相互作用による発熱で崩壊する熱応答性リポソームをその候補として選んだ。既に報告されているプロトコルに従い熱応答性リポソームの合成を行ったが、目標とするある一定温度付近での急激なリポソーム崩壊と抗がん剤放出は確認できず、今後試薬の配分や生成方法の検討を行う必要がある。リポソーム完成後、担癌マウス等を用いた in vivo での安全性と有効性を確認し、ヒトへの利用を目指す。

腫瘍において一連のインフラマソーム関連分子が見られたことから、パイロトーシスというプログラム細胞死が起きている可能性が示唆された。腫瘍免疫活性を利用することで、少ない用量で高い抗腫瘍効果を導くことができる、金ナノ粒子を使った in situ vaccination の可能性を探求する。

今回の調査研究で得られた知見を元に、科研費や A-STEP などの複数年の実施期間を有し、より高額な外部資金獲得に挑戦し、上記検討事項を進めていく予定である。

以上