

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：32723

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K12808

研究課題名(和文) 診断と治療を融合した次世代型ナノ・ターゲティングがん音響化学療法の開発

研究課題名(英文) Next generation sonodynamic therapy by the combination of diagnosis and nano targeting treatment.

研究代表者

弓田 長彦 (YUMITA, NAGAHIKO)

横浜薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：40191481

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：超音波と併用することにより殺細胞効果が発現、または増強されるナノ粒子をスクリーニングした結果、MC540で優れた増強効果を認めた。活性酸素種消去剤添加の殺細胞作用に対する効果とESRによる活性酸素種の測定から、殺細胞作用機序における一重項酸素の関与を確認した。MC540を用い、マウス皮下に移植した実験腫瘍を対象に、音響化学療法の効果を調べた。MC540を直接腫瘍に注入後超音波照射を行った。薬物・超音波それぞれ単独では効果を生じない投与量と強度において腫瘍の増殖を抑制できることが確認された。この結果からMC540が音響化学的に抗腫瘍活性化されていることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

超音波は生体に対する深達性に優れるので、外部エネルギーとして用いれば、生体深部にある患部にも適用することができると考えられる。さらに、超音波の音圧に感応して周波数特異的に共振するナノ微粒子でがん組織を標的化すると、このナノ微粒子が目的部位に集積したかどうかを超音波画像診断によって可視化し確認できる。そして、薬物の集積を確認した上で、超音波を照射し、ナノ微粒子を音響化学的に活性化させることで、抗腫瘍効果を発現することができる。また、細胞膜透過性の一過的増大による遺伝子等の標的細胞へのデリバリーも可能である。

研究成果の概要(英文)：The sonodynamically induced antitumor effect of fullerene derivatives such as MC540 was investigated. Both in vitro and in vivo antitumor effects were tested in combination with ultrasound at 2 MHz. The rate of ultrasonically induced damage on isolated sarcoma 180 cells in air-saturated suspension was enhanced by twice with 80 μ M fullerene derivatives. This enhancement was significantly inhibited by histidine, which may suggest it was mediated by ultrasonically induced oxidation. The coadministration of 25 mg/kg MC540 followed by ultrasonic exposure at 2 MHz suppressed the growth of implanted colon 26 tumors at an intensity with which ultrasound alone showed only a slight antitumor effect.

研究分野：超音波

キーワード：超音波 ナノ微粒子 一重項酸素 アポトーシス 集束型超音波照射装置 電子スピン共鳴 MC540

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

がん治療に広く用いられている化学療法は、がん細胞(または組織)を正常細胞(または組織)と識別してアタックする能力において充分ではなく、このため、その現状における副作用は、臨床的に望ましいレベルに必ずしもとどまっていない。

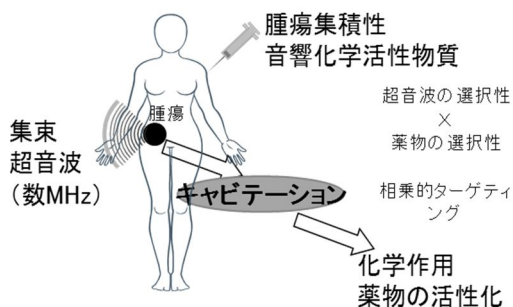
外部エネルギーを用いた治療システムを DDS と融合することにより、薬物の放出性やがん組織における濃度の向上、細胞内への薬物導入の促進が期待される。

2. 研究の目的

超音波は生体において深達性に優れ、集束して局所的に照射ができるため外部エネルギーとして用いれば、生体深部にある患部にもピンポイントで適用することができる。

さらに、超音波の音圧に感応して周波数特異的に共振するナノ微粒子でがん組織を標的化すると、ナノ微粒子が目的部位に集積したかどうかを超音波画像診断によって可視化し確認できる。そして、図1に示すように薬物の集積を確認した上で、超音波を照射し、ナノ粒子を音響化学的に活性化させることで、選択的に抗腫瘍効果を発現することができる。そこで、本研究では、DDS 単独の技術的な限界を克服することを目的に、遠隔作用力を持つ外部エネルギーである超音波と音響化学的に抗腫瘍活性化するナノ粒子である

音響化学治療の特長



S. Umemura and N. Yumita et al., Proc. 1989
IEEE Ultrasonics Symposium, 955 (1989)

る MC540 を組み合わせた新たな治療システムの開発を行うことを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では、血管壁を漏出し腫瘍組織に到達可能で、超音波照射により抗腫瘍作用を発現するナノ粒子として PEG-modified CNTs を用いた腫瘍組織選択的がん音響化学療法の開発を目指した。最初に、超音波単独、または微粒子との併用による抗腫瘍効果を、培養細胞で確認した。超音波と併用することにより殺細胞効果が発現、または増強される微粒子のスクリーニングを行った。殺細胞効果は、細胞膜の色素透過能に基づくトリパンブルー排除法によって判定した。次に col on26 腫瘍を移植した動物に、これらの微粒子を投与し、微粒子が腫瘍組織において治療効果が得られる濃度に達した時点で患部に超音波照射を行い微粒子の音響化学的活性化による抗腫瘍効果の発現を確認した。最後に、これら微粒子の音響化学活性化機序における活性酸素種の関与および、細胞死におけるアポトーシス誘導の寄与を調べた。

4. 研究成果

最初に、超音波単独、または微粒子との併用による抗腫瘍効果を、sarcoma 180 細胞を用い細胞膜の色素透過能に基づくトリパンブルー染色法によって確認したところ単独では細胞毒性が発現しなかったのに対し超音波と MC540 併用処置が有意な細胞毒性を示した。このことにより MC540 が超音波により活性化し細胞毒性を発現していることが示された。さらにヒスチジン、トリプトファンなどの活性酸素消去剤の添加によりその細胞毒性は有意に低下したことから細胞毒性における活性酸素の関与が示された。

次に col on26 固形腫瘍を移植した動物に、MC540 25 mg/kg を投与し、十分に薬剤が患部に到達すると想定される時間に薬物の活性化治療に適した超音波を照射した。単独は抗腫瘍効果を示さなかったのに対し超音波と MC540 併用処置が有意な増殖抑制を示した。このことにより MC540 が超音波により活性化し細胞毒性を発現していることが示された。抗また処置後の腫瘍に HE 染色を行ったところ、腫瘍組織に細胞の壊死が観察されたこれらの結果から固形腫瘍においても MC540 を超音波により活性化し抗腫瘍効果を発揮できることが示された。

電子スピン共鳴(ESR)で MC540 水溶液に超音波を照射したときの、一重項酸素などの活性酸素種の産生を測定した。

さらに活性酸素種に特異的な活性酸素スカベンジャー-添加による阻害効果により一重項酸素寄与を確認した。外部エネルギーである超音波の音響化学作用とアポトーシス誘導を融合した治療技術の臨床応用は、深部がん治療の低侵襲化により患者の Quality of Life を大幅に改善するだけでなく、壊死に伴う副作用を抑えた治療を可能とし、がん治療に大きく貢献するのみならず、物理エネルギーを利用するがん治療の分野にも大きなインパクトを与えらる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計5件)

- 1 . Yumita N, Watanabe T, Chen FS, Momose Y, Umemura S. Induction of Apoptosis by Functionalized Fullerene-based Sonodynamic Therapy in HL-60 cells. *Anticancer Res.*, 36, 2665-2674 (2016).
- 2 . Nishi K, Suzuki K, Sawamoto J, Tokizawa Y, Iwase Y, Yumita N, Ikeda T., Inhibition of Fatty Acid Synthesis Induces Apoptosis of Human Pancreatic Cancer Cells., *Anticancer Res.*, 36, 4655-4660 (2016).
- 3 . Koji Nishi, Megumi Kato, Saki Sakurai, Ayako Matsumoto, Yumiko Iwase, Nagahiko Yumita. Enoxacin with UVA Irradiation Induces Apoptosis in the AsPC1 Human Pancreatic Cancer Cell Line Through ROS Generation. *Anticancer Res.* 37, 6211-6214. DOI: 10.21873/anticancerres.12071
- 4 . Nakai S, Imaizumi T, Watanabe T, Iwase Y, Nishi K, Okudaira K, Yumita N. Photodynamically-induced Apoptosis Due to Ultraviolet A in the Presence of Lomefloxacin in Human Promyelocytic Leukemia Cells. *Anticancer Res.*37, 6407-6413. DOI: 10.21873/anticancerres.12094

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Yumiko lwase, Koji Nishi, Nagahiko Yumita
2. 発表標題 Involvement of singlet oxygen in apoptosis induced by UVAexposure in the presence of enoxacin
3. 学会等名 第78回日本癌学会総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	岩瀬 由未子 (lwase Yumiko) (00521882)	横浜薬科大学・薬学部・准教授 (32723)	
研究分担者	梅村 晋一郎 (Umemura Shin-ichiro) (20402787)	東北大学・医工学研究科・学術研究員 (11301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------