

令和 5 年 5 月 29 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18122

研究課題名（和文）前立腺癌に対する温熱・光線力学・化学療法の同時治療を可能とする磁性ナノ粒子の開発

研究課題名（英文）Development of Magnetic Nanoparticles for Simultaneous Thermal, Photodynamic, and Chemotherapy Treatment of Prostate Cancer

研究代表者

永井 隆（Nagai, Takashi）

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（医学）・研究員

研究者番号：20813447

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：去勢抵抗性前立腺癌の予後は不良であり、新規の治療法が求められている。私たちは交流磁場で酸化鉄ナノ粒子（iron oxide nanoparticle: IONP）が発熱することで深部組織の癌治療が可能な磁気温熱療法に着目し、薬剤キャリアとしてのカーボンナノホーン（carbon nanohorn: CNH）を用いた温熱療法に適応可能な新規ナノ粒子の開発をした。3-アミノプロピルトリエトキシラン（APTES）を介しCNHとIONPを結合させたナノ粒子をCNH-APS-IONPと命名し、動物実験で治療効果を確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでにカーボンナノホーンを用いた磁性ナノ粒子の開発は報告が少ない。また、カーボンナノホーンは表面積が大きいことからdrug delivery systemとして有用性が報告されており、薬剤や抗体の結合能が高い。本研究ではCNHを利用した温熱療法可能な磁性ナノ粒子を開発したことで、今後癌特異的な抗体や抗腫瘍薬の結合により高い治療効果を得たり、診断への応用が期待される。また抗体や薬剤を変更することで、他癌腫にも応用可能であると考えられるため、社会的意義が高いと考えられる。

研究成果の概要（英文）：The prognosis of castration-resistant prostate cancer is poor, and new treatment methods are needed. We focused on magnetic hyperthermia, in which iron oxide nanoparticles generate heat under an alternating magnetic field to treat deep tissue cancer. The authors developed new nanoparticles applicable to hyperthermia therapy using carbon nanohorn as drug carriers. The nanoparticles of CNH and IONP bound via 3-aminopropyltriethoxysilane (APTES) were named CNH-APS-IONP, and their therapeutic effects were confirmed in animal experiments.

研究分野：前立腺癌

キーワード：温熱療法 前立腺癌 ナノ粒子

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

前立腺癌は近年患者数が増加の一途をたどっている。一般的に転移のない前立腺癌は予後が良好とされるが、ホルモン療法に耐性を持つ去勢抵抗性前立腺癌は予後が不良であり、転移などを引き起こすことが多い。そこで、去勢抵抗性前立腺癌に対する新規治療法の開発が社会的に急務であると考えられる。私たちはこれまでに温熱療法に着目し、研究をおこなってきた。本研究では去勢抵抗性前立腺癌における熱耐性の検証および、新規磁性ナノ粒子開発による治療効果の改善を目指した。

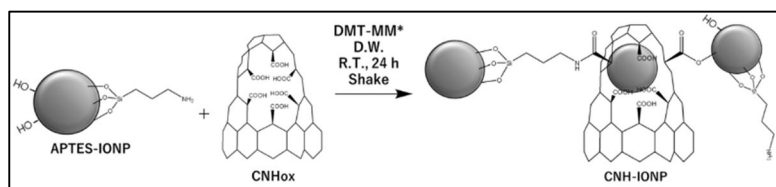
### 2. 研究の目的

本研究では前立腺癌における熱耐性のメカニズムを検証するために Hikeshi に着目し、in vitro での研究を行った。また、前立腺癌の新規治療法のために新規磁性ナノ粒子の開発を試みた。キャリアとして carbon nanohorn(CNH)を用い、温熱療法可能なナノ粒子の開発を行い、治療効果を検証した。

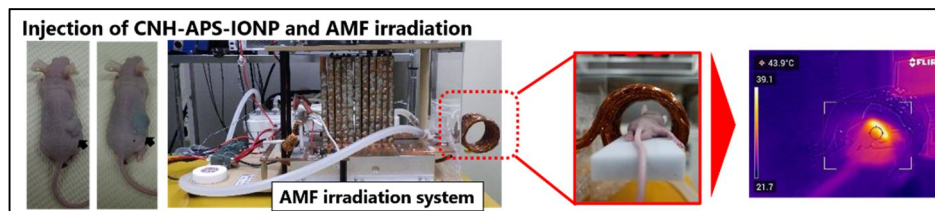
### 3. 研究の方法

2種類の siRNA を用いて 22Rv1 の Hikeshi 発現を knockdown した。Hikeshi が knockdown された 22Rv1 が、熱ショック下で HSP 70 の核内移行阻害がみられるかを western blotting を用いて測定した。また、熱ショック下での細胞生存率を WST-8 assay を用いて測定した。hikeshi を knockdown することでの熱ショックが細胞障害の程度にどう影響するかを検証した。また前立腺生検の臨床検体を用いて tissue microarray を行い、HIKESHI の免疫染色強度および前立腺癌の悪性度である Gleason pattern の関連を検索した。

また、CNH を用いた温熱療法が可能なナノ粒子を作製した。3-aminopropylsilyl を用いて CNH と IONP を結合させ、CNH-APS-IONP と命名した。



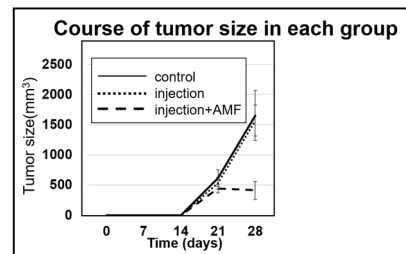
モデル動物として、ヒト CRPC 細胞株 22 Rv1 を用いた前立腺癌背部皮下移植モデルマウスを用い、CNH-APS-IONP を腫瘍周囲に局所注入し、コイル型交流磁場下に配置することで温熱治療を行った。22 Rv1 を 6 週齢の雄ヌードマウスの背部に皮下移植し、モデルマウス作成を行った。皮下移植後 3 週間後に、注射 (CNH-APS-IONP 注入) 群および治療 (CNH-APS-IONP 注入および AMF 照射) 群 (各群 n=6) のモデルマウスの腫瘍に 300  $\mu$ L の CNH-APS-IONP (Fe 濃度: 36.3 mg/m) を腫瘍周囲に局所的に注射した。治療群のマウスには、コイル型 AMF 発生装置を用いて、AMF を照射した。サーモグラフィーを用いて腫瘍周囲の温度を測定した。直腸温度はファイバー温度計を用いて計測を行った。また、コントロール群、注射群、治療群の 3 群での各群の腫瘍の大きさを経時的に測定し、治療効果を検証した。また各群における Ki-67 labeling index を測定し細胞増殖活性を評価した。



### 4. 研究成果

Western blotting により熱ショック下において HSP 70 の核内移行阻害が確認された。また WST-8 assay において siRNA で Hikeshi を knockdown した群では negative control と比較して細胞生存率が低下しており、温熱療法効果が増強していた。さらに、tissue microarray では Gleason pattern が上昇するにつれ Hikeshi の免疫染色強度が増強しており、悪性度と熱耐性の関係が示唆された。

治療群の腫瘍温度は安定して 42-46 に保たれ、直腸温と比較し約 20 度の温度上昇を認めた。CNH-APS-IONP は交流磁場下で安定した発熱を認めた。さらに、治療以降でのサイズ計測において、治療群の腫瘍増殖は、非治療群(ナノ粒子のみ注入した群とコントロール群)より有意に抑制された。Ki-67 labeling index においても治療群はコントロール群や注入群と比較し有意に低い結果であった。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 0件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kawai Noriyasu, Nagai Takashi, Naiki Ito Aya, Iida Keitaro, Etani Toshiki, Naiki Taku, Hamamoto Shuzo, Okada Atsushi, Murai Taro, Yasui Takahiro	4. 巻 5
2. 論文標題 Combination therapy with radiation and hyperthermia induced clinical complete response of small cell carcinoma of prostate	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 IJU Case Reports	6. 最初と最後の頁 113～116
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/iju5.12413	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Su Chin-Hao, Soendoro Andree, Okayama Shinya, Rahmania Fitriani Jati, Nagai Takashi, Imae Toyoko, Tsutsumiuchi Kaname, Kawai Noriyasu	4. 巻 -
2. 論文標題 Drug release stimulated by magnet and light on magnetite- and carbon dot-loaded carbon nanohorn	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bulletin of the Chemical Society of Japan	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1246/bcsj.20210436	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 0件／うち国際学会 3件）

1. 発表者名 永井 隆、河合 憲康、磯部 輝紀、清水 伸彦、野田 祐介、恵谷 俊紀、内木 拓、安井 孝周
2. 発表標題 去勢抵抗性前立腺癌細胞株におけるHIKESHIの役割の検証
3. 学会等名 第34回東海ハイパーサーミア研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 河合 憲康、永井 隆、飯田 啓太郎、恵谷 俊紀、内木 拓、畦元 将隆、吉田 亮人、芝本 雄太、安井 孝周
2. 発表標題 放射線温熱治療が奏功した前立腺小細胞癌の一例
3. 学会等名 第34回東海ハイパーサーミア研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 河合 憲康、堤内 要、長瀬 拓弥、永井 隆、飯田 啓太郎、恵谷 俊紀、内木 拓、畦元 将隆、安井 孝周
2. 発表標題 マクロファージに対する標的指向性を付与した磁性ナノ粒子による泌尿器系癌に対する新規癌治療法の開発に向けた基礎研究
3. 学会等名 第109回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 永井 隆、河合 憲康、磯部 輝紀、清水伸彦、野田 祐介、飯田 啓太郎、恵谷 俊紀、内木 拓、安井 孝周
2. 発表標題 前立腺癌温熱療法における HIKESHI の役割の検証
3. 学会等名 第109回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nagai Takashi, Kawai Noriyasu, Isobe Teruki, Shimizu Nobuhiko, Noda Yusuke, Iida Keitaro, Etani Toshiki, Naiki Taku, Ando Ryosuke, Yasui Takahiro
2. 発表標題 Hyperthermia for castration-resistant prostate cancer using magnetite nanoparticle composed from single-walled carbon nanohorn
3. 学会等名 13th International Congress of Hyperthermic Oncology (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takashi Nagai, Noriyasu Kawai, Teruki Isobe, Nobuhiko Shimizu, Yusuke Noda, Keitaro Iida, Toshiki Etani, Taku Naiki, Ryosuke Ando, Takahiro Yasui
2. 発表標題 Thermotherapy for prostate cancer cell line is enhanced by silencing HIKESHI
3. 学会等名 13th International Congress of Hyperthermic Oncology (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nagai Takashi, Kawai Noriyasu, Etani Toshiki, Taguchi Kazumi, Naiki Taku, Yasui Takahiro
2. 発表標題 Investigation of the molecular mechanism of thermotherapy for prostate cancer focusing on HIKESHI protein
3. 学会等名 18th Urological Association of Asia (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 河合 憲康、永井 隆、飯田 啓太郎、恵谷 俊紀、内木 拓、安藤 亮介、畦元 将隆、吉田 亮人、芝本 雄太、安井 孝周
2. 発表標題 ハイリスク前立腺癌に対する癌温熱治療（ハイパーサーミア）の役割
3. 学会等名 日本泌尿器腫瘍学会第6回学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 河合 憲康、堤内 要、長瀬 拓弥、永井 隆、飯田 啓太郎、恵谷 俊紀、内木 拓、畦元 将隆、安井 孝周
2. 発表標題 磁性ナノ粒子を用いた新規癌温熱治療の開発における標的指向性獲得の試み
3. 学会等名 日本泌尿器腫瘍学会第6回学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 永井 隆、河合 憲康、清水 伸彦、野田 祐介、飯田 啓太郎、恵谷 俊紀、内木 拓、安井 孝周
2. 発表標題 HIKESHIタンパクに着目した前立腺癌温熱療法の分子メカニズムの検討
3. 学会等名 第70回日本泌尿器科学会中部総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 河合 憲康、永井 隆、恵谷 俊紀、飯田 啓太郎、内木 拓、安藤 亮介、畦元 将隆、吉田 亮人、安井 孝周
2. 発表標題 尿路上皮癌に対するラジオ波温熱治療（ハイパーサーミア）の役割
3. 学会等名 第108回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2020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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------