

令和 6 年 5 月 25 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K18693

研究課題名(和文) 口腔癌における金属ナノ粒子と分子標的薬併用治療の有効性に関する研究

研究課題名(英文) Study on the Efficacy of Combination Therapy with Metal Nanoparticles and Molecular Targeted Drugs in Oral Cancer

研究代表者

筧 康正 (Takei, Yasumasa)

神戸大学・医学部附属病院・特命講師

研究者番号：70772896

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では金ナノ粒子はセツキシマブといったEGFR阻害薬に接着していることをラマン分光にて確認し、放射線増感としてだけでなく、EGFR阻害薬の抗腫瘍効果を増感することを *in vitro*、*in vivo* で示した。金ナノ粒子の局在は *in vitro* で透過電子顕微鏡で、*in vivo* でヌードマウスの腫瘍内においても走査電子顕微鏡で確認された。

金ナノ粒子の添加は *in vivo* において肝臓・心臓・腎臓・肺でその変性が確認されず毒性は明らかになかった。上記の内容で国際口腔外科学会で発表を行い、Biomed Research International 及び Cancers に掲載された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

メタルナノ粒子で最も生体毒性のない金ナノ粒子添加によって従来の放射線療法だけでなく、分子標的薬の抗腫瘍効果も増感しているが顕微鏡および動物実験において明らかになった。口腔癌という局所治療に適した部位であることから今後のヒトへの臨床応用が強く期待される研究となった。

研究成果の概要(英文)：In this study, we confirmed by Raman spectroscopy that gold nanoparticles adhere to EGFR inhibitors such as AG1478 and cetuximab, and we demonstrated that gold nanoparticles can be used not only as radiosensitizers but also to sensitize the anti-tumor effects of EGFR inhibitors.

The anti-tumor effect was attributed to apoptosis and decreased cell proliferative capacity. The localization of gold nanoparticles was confirmed by transmission electron microscopy *in vitro* and by scanning electron microscopy *in vivo* in nude mouse tumors. The addition of gold nanoparticles was clearly not toxic *in vivo*, as no degeneration was observed in the liver, heart, kidney, or lungs. The addition of gold nanoparticles did not cause toxicity in the liver, heart, kidneys, or lungs *in vivo*. The above information was presented at the International Conference of Oral and Maxillofacial Surgery and published in Biomed Research International and Cancers.

研究分野：口腔外科学

キーワード：放射線増感効果 ナノ粒子 口腔癌 分子標的薬 EGFR阻害薬 アポトーシス 金ナノ粒子 放射線増感剤

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、放射線治療効果を高める方法の一つに放射線治療増感剤として金ナノ粒子を始めとしたメタルナノ粒子が注目を浴びている。ナノ粒子を体内に入れる際、粒子径を 100nm 以下にすると体循環中へと肝臓の細網内皮系に捕捉されずに循環することが可能である。正常組織に比べ血管透過性が著しく亢進している腫瘍組織内の微小脈管網における Enhanced permeability and retention (EPR) effect (Hirakawa S, et al. Adv Drug Deliv Rev. 2014; 74: 12-8)により、腫瘍近傍へのナノ粒子の蓄積があると考えられている。金ナノ粒子は金原子がクラスター状に形成されたもので、X 線照射による相互作用がキレート剤のように一様に原子が分布している状態よりも多く起こる。表面修飾が容易で腫瘍細胞へ特異的に集積させることが可能であり、また金自体が人体に無害であることから増感剤として期待されている。口腔癌は組織内照射などに代表されるように腫瘍部位へ直視下にてアプローチが可能で、ナノ粒子を直接腫瘍に局注したり、動注なども可能であるという利点を併せ持つ。現在、口腔癌をはじめとした頭頸部癌領域ではシスプラチンなどの抗癌剤のみならず、抗 EGFR 抗体などの分子標的治療薬も臨床応用されている。これらの分子標的薬を金ナノ粒子表面に化学修飾することで選択的に腫瘍細胞へと金ナノ粒子を遊走させることで腫瘍選択的に放射線増感作用が得られる可能性がある。

2. 研究の目的

口腔扁平上皮癌に対して金ナノ粒子、放射線、EGFR 阻害薬を応用しアポトーシスや腫瘍の増殖抑制を *in vitro*, *in vivo* にて観察することを目的とした。

3. 研究の方法

In vitro で、放射線・金ナノ粒子・EGFR 阻害薬の有無による 8 群で細胞増殖・apoptosis assay, Proliferation assay を行った。また金ナノ粒子と EGFR 阻害薬 (AG1478) との接着をラマン分光により確認した。*In vivo* において、ヌードマウス背部皮下に注入した口腔扁平上皮癌細胞株 HSC-3 に放射線・金ナノ粒子・EGFR 阻害薬の有無による 8 群で抗腫瘍効果を測定し、切片の HE 染色も行った。また腫瘍切片内に金ナノ粒子の局在を SEM で確認した。また金ナノ粒子添加によりマウスの主要臓器である肺・心臓・肝臓・腎臓で特に変化がないことを確認した。

4. 研究成果

本研究では口腔扁平上皮癌に対して金ナノ粒子・放射線・EGFR 阻害薬を応用し、細胞内のアポトーシス関連因子、癌の増殖抑制交換を観察することを目的とした。*In vitro* において金ナノ粒子と EGFR 阻害薬との接着をラマン分光にて確認し、金ナノ粒子が放射線および EGFR 阻害薬の抗腫瘍効果を増強することを確認した。また細胞内の TEM で金ナノ粒子の局在を確認した。また *In vivo* において、ヌードマウス背部に移植した口腔扁平上皮癌細胞株 HSC-3 に金ナノ粒子・放射線・セツキシマブを応用し、腫瘍の抑制効果が得られた。また背部腫瘍内に金ナノ粒子があることを SEM 像において観察された。また金ナノ粒子添加によって心臓・肺・腎臓・肝臓などに明らかな毒性は認められなかった。金ナノ粒子添加により安全にセツキシマブ放射線療法より効果の高い抗腫瘍効果が得られる可能性が示唆された。

図 1 : ラマン分光測定で金ナノ粒子と EGFR 阻害薬の接着を表面増強ラマンによって確認した。

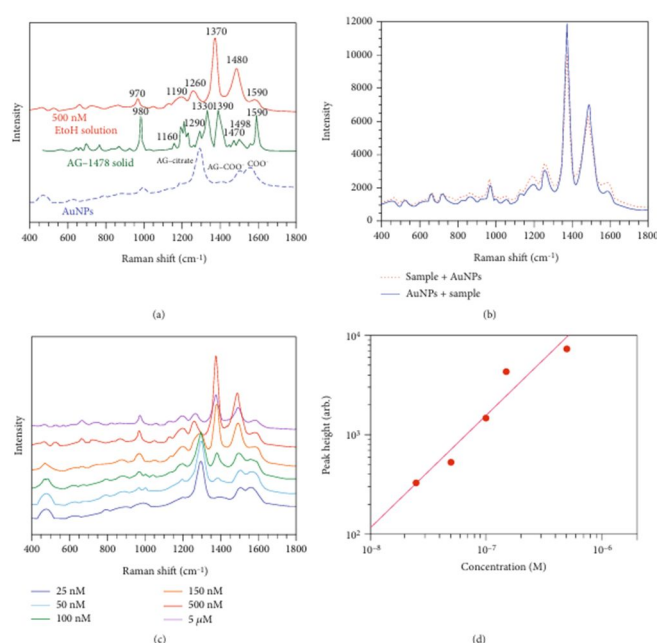


図 2 : In vitro で金ナノ粒子・EGFR 阻害薬の有無で TEM 上、金ナノ粒子の取り込み量に大きな変化はなかった。

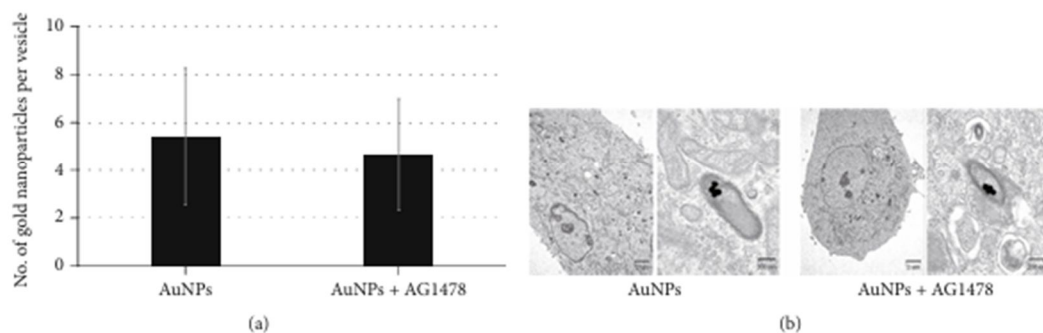


図 3: In vitro で、放射線・金ナノ粒子・EGFR 阻害薬の有無による 8 群で腫瘍細胞は 3 つの添加により最も減少した。

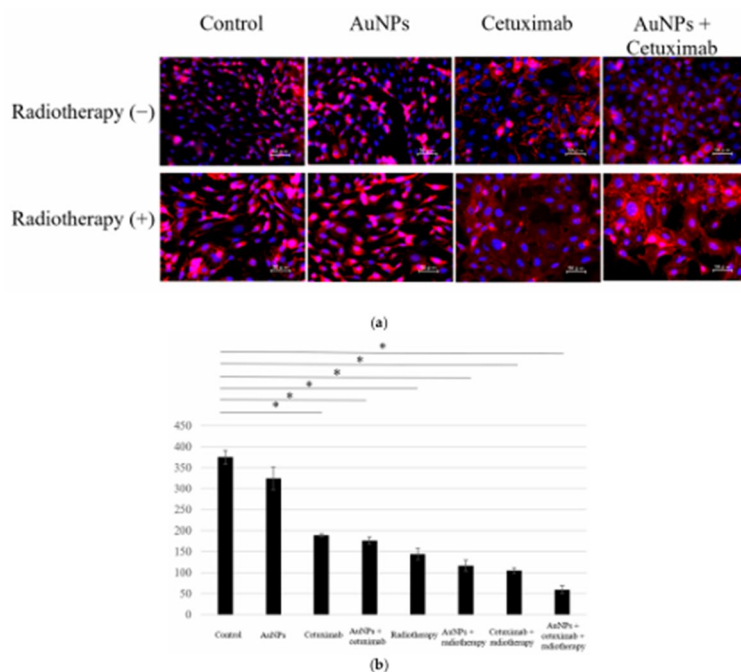


図 4 : In vitro で、放射線・金ナノ粒子・EGFR 阻害薬の有無による 8 群でアポトーシスの割合は 3 つの添加により最も増加した。

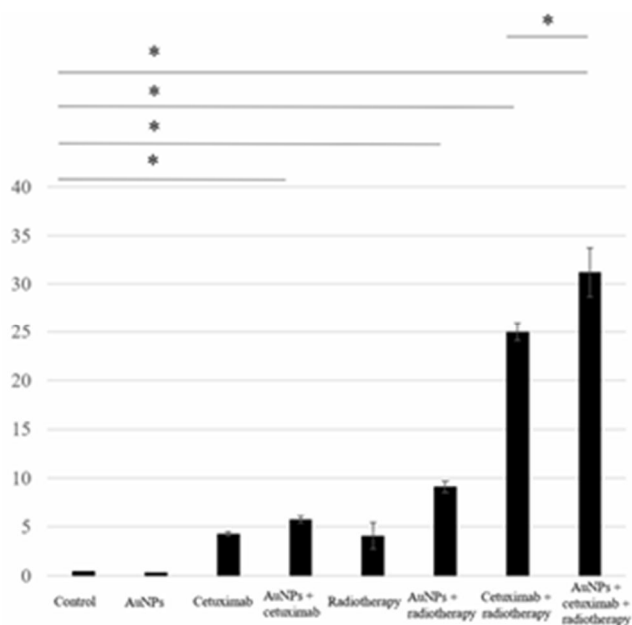


図 5 : In vitro で、放射線・金ナノ粒子・EGFR 阻害薬の有無による 8 群で細胞増殖能は 3 つの添加により最も減少した。

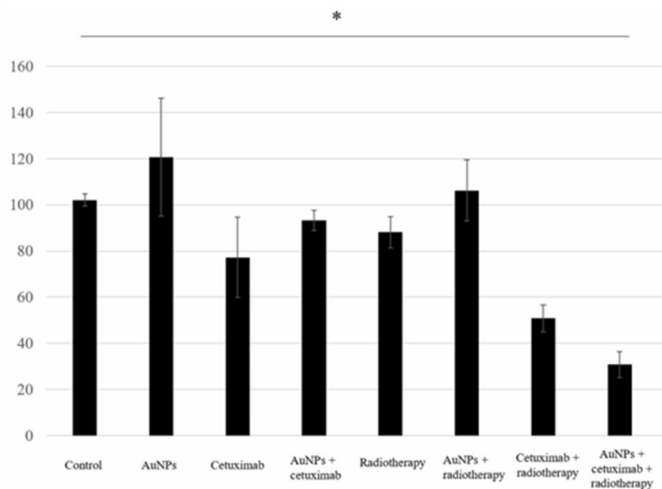


図 6 : In vivo で、放射線・金ナノ粒子・EGFR 阻害薬の有無による 8 群で腫瘍サイズは 3 つの添加により最も減少した。

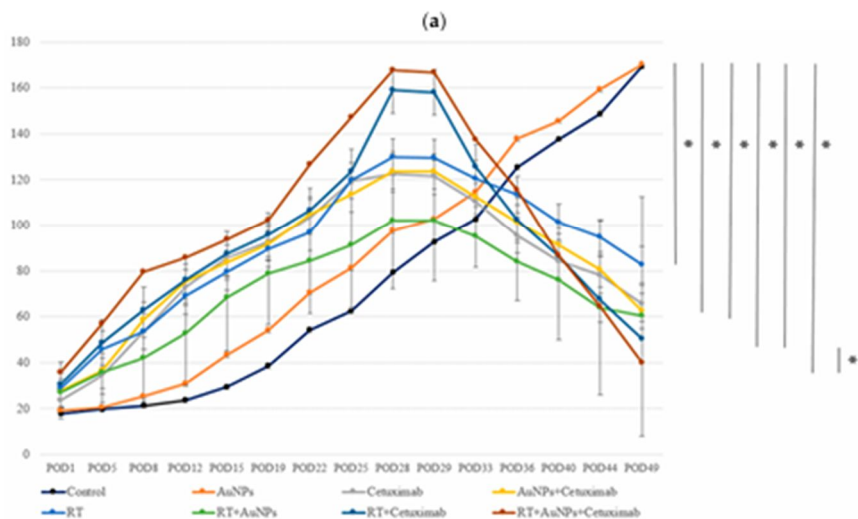
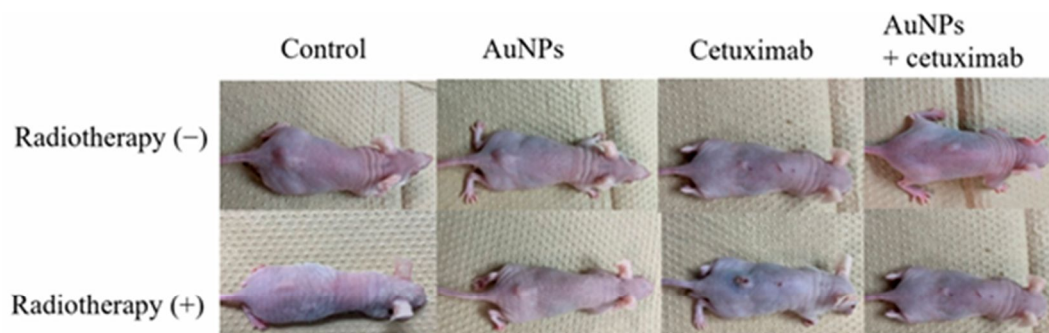


図 7 : In vivo で、放射線・金ナノ粒子・EGFR 阻害薬の有無による 8 群の HE 染色でも同様に 3 つの添加により腫瘍部分は最も減少した。

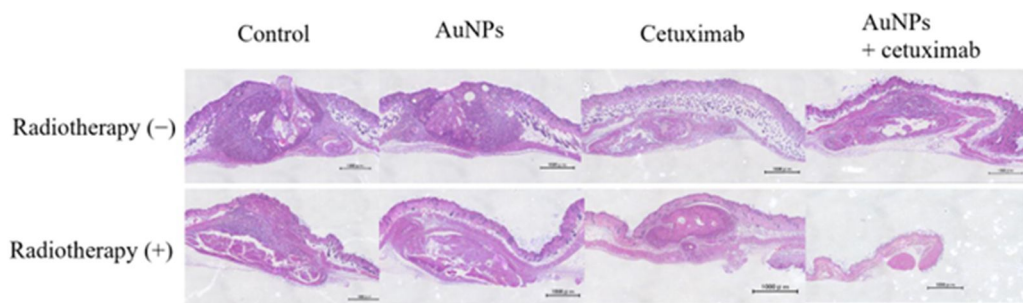


図 8 : In vivo で、金ナノ粒子の局在を確認した。

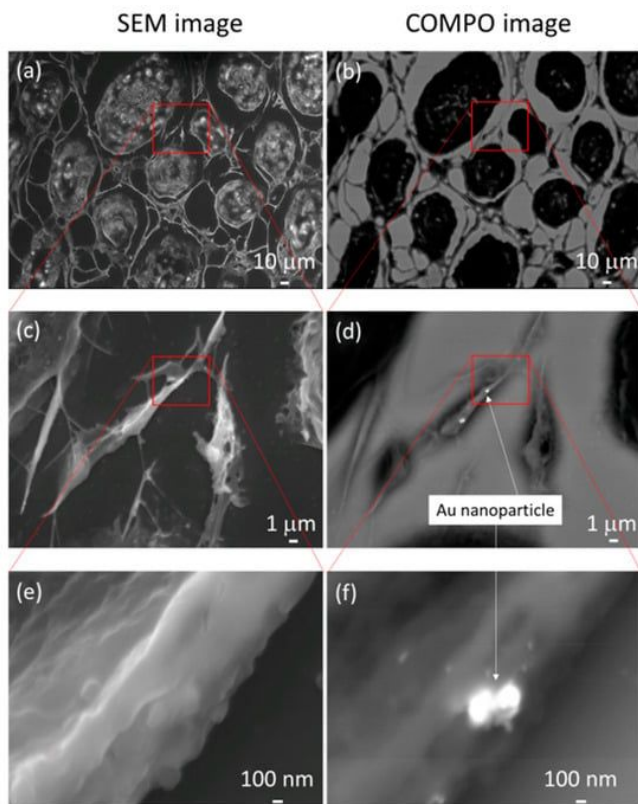
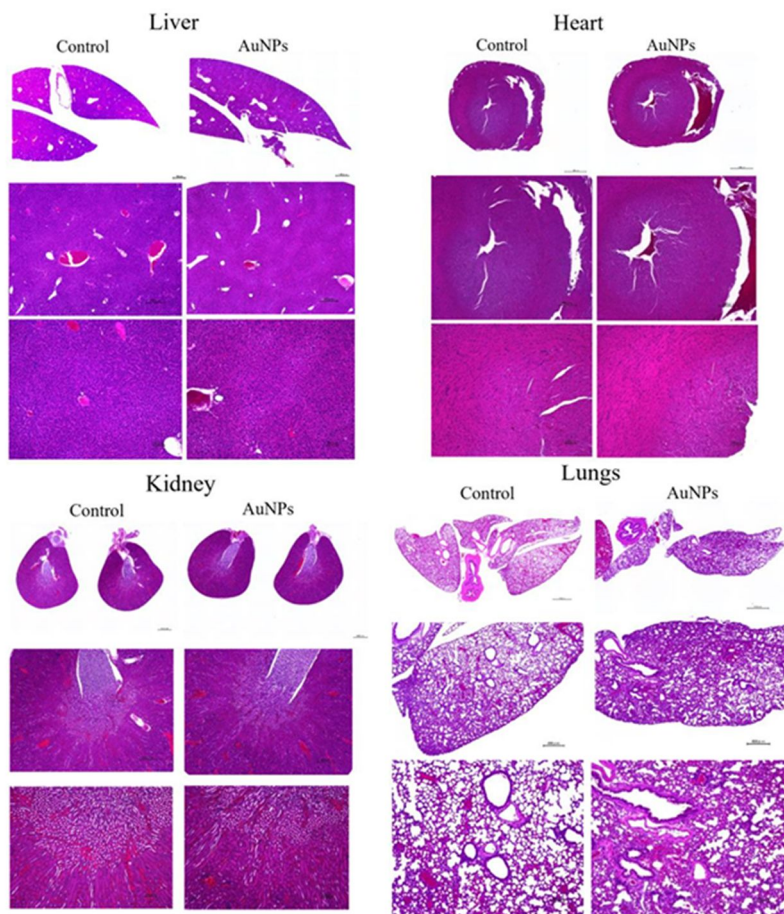


図 9 : In vivo で、金ナノ粒子添加で肺・心臓・肝臓・腎臓などの主要臓器に問題となる所見がないことを確認した。



5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Kashin Masahiko, Kakei Yasumasa, Teraoka Shun, Hasegawa Takumi, Yamaguchi Akinobu, Fukuoka Takao, Sasaki Ryohei, Akashi Masaya	4. 巻 2020
2. 論文標題 Gold Nanoparticles Enhance EGFR Inhibition and Irradiation Effects in Head and Neck Squamous Carcinoma Cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BioMed Research International	6. 最初と最後の頁 1~10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1155/2020/1281645	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Sato Takumi, Kakei Yasumasa, Hasegawa Takumi, Kashin Masahiko, Teraoka Shun, Yamaguchi Akinobu, Sasaki Ryohei, Akashi Masaya	4. 巻 15
2. 論文標題 Gold Nanoparticles Enhance the Tumor Growth-Suppressing Effects of Cetuximab and Radiotherapy in Head and Neck Cancer In Vitro and In Vivo	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 5697~5697
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cancers15235697	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yasumasa Kakei, Masaya Akashi
2. 発表標題 Gold Nanoparticles Enhance EGFR Inhibition and Irradiation Effects in Head and Neck Squamous Carcinoma Cells
3. 学会等名 the 25th International Conference on Oral and Maxillofacial Surgery（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 寛 康正
2. 発表標題 金ナノ粒子と癌研究
3. 学会等名 マイクロメカトロニクス実装技術委員会 2021年度第1回公開研究会（招待講演）
4. 発表年 2022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
研究協力者	明石 昌也 (Akashi Masaya)	神戸大学・歯科口腔外科・教授 (14501)	
研究協力者	寺岡 駿 (Teraoka Shun)	神戸大学・歯科口腔外科・医学研究員 (14501)	
研究協力者	可信 雅彦 (Kashin Masahiko)	神戸大学・歯科口腔外科・医学研究員 (14501)	
研究協力者	佐藤 匠 (Sato Takumi)	神戸大学・歯科口腔外科・医学研究員 (14501)	
連携研究者	山口 明啓 (Yamaguchi Akinobu) (70423035)	東洋大学・理工学部・教授 (32663)	
連携研究者	佐々木 良平 (Sasaki Ryohei) (30346267)	神戸大学・放射線腫瘍科・教授 (14501)	

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