

様 式 C - 1 9、F - 1 9 - 1、Z - 1 9 （共通）

## 科学研究費助成事業

## 研究成果報告書



令和 6 年 6 月 24 日現在

機関番号：32206

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15562

研究課題名（和文）高密度集束超音波を応用した肝・胆道悪性腫瘍に対する超低侵襲治療法の開発

研究課題名（英文）Ultraminimally invasive treatment of liver and biliary tract malignancies by applying high intensity focused ultrasound

研究代表者

皆川 卓也（Minagawa, Takuya）

国際医療福祉大学・国際医療福祉大学成田病院・講師

研究者番号：90626714

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000 円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、高密度集束超音波と金属ナノ粒子/金属製体内ステントを用いた新規の超低侵襲抗腫瘍療法の開発である。本研究では、蛍光イメージング技術を用いたマウスモデルにて二酸化チタンナノ粒子およびチタン合金製ステントに照射する超音波の周波数および強度に関する至適条件の検証を行い、肝細胞癌細胞株に依じて至適条件が異なることを見出した。また、ヒト肝細胞癌株であるHepG2を用いた肝細胞癌ブタモデルが肝細胞癌大動物モデルとして有用であることが示された。一方で、JHH-4を用いた肝細胞癌ブタモデルの作成には至らなかったが、条件を変更することで新たな大動物モデルの作成が得られる可能性についても示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によりヒト肝細胞癌ブタモデルが確実に増産することが可能となり、治療モデルとしても機能することが示されれば、治療効果の検証のみならず組織学的な変化についても検証することが可能となり、肝・胆道悪性腫瘍に対する新規治療法の開発に寄与することが期待される。また、チタンを用いた医療資材に高密度収束超音波を照射することで抗腫瘍効果が示されれば、既存の治療法の弱点を克服した新規のドラッグデリバリーまたはデバイス開発にも貢献することが期待される。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study is to develop a novel, minimally invasive anti-tumour therapy using high intensity focused ultrasound and metal nanoparticles/metal internal stents. In this study, the optimal conditions for the frequency and intensity of ultrasound irradiation of titanium dioxide nanoparticles and titanium alloy stents were verified in a mouse model using fluorescence imaging technology, and it was found that the optimal conditions differed according to the hepatocellular carcinoma cell line. It was also shown that the porcine model of hepatocellular carcinoma using HepG2, a human hepatocellular carcinoma line, is useful as a large animal model of human hepatocellular carcinoma. On the other hand, although we did not succeed in creating a porcine model of human hepatocellular carcinoma using JHH-4, the possibility of creating a new large animal model by changing the conditions was also suggested.

研究分野：外科学

キーワード：フリーラジカル 高密度集束超音波 二酸化チタン 肝細胞癌 胆道癌 大動物モデル

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

高悪性度腫瘍である肝細胞癌および胆道癌は集学的治療を要する。特に、手術非適応のために抗癌剤治療やステント留置など姑息的治療の需要が多いが、これらの治療成績には大いに改善の余地がある。近年、高密度集束超音波( high-intensity focused ultrasound: HIFU ) が悪性腫瘍に対する新たな治療法として注目されている。HIFU は、多数の超音波発信源から目的部位 1 点に超音波エネルギーを集束して熱エネルギーに変換することで強力な細胞障害作用を有する。そのため、切除不能肝癌に対する HIFU の治療効果が報告されているが、専門性の高い治療方法である一方、治療効果が限定的であり、肝細胞癌や胆道癌を対象とした治療法確立には至っていない。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、既存の治療法とは全く異なる新たなアプローチとして、二酸化チタン粒子・チタン合金製ステントへの HIFU 照射により発生するフリーラジカルを介した抗腫瘍効果の検証を大動物実験モデルで行い、超低侵襲抗腫瘍療法を確立することである。本研究では、二酸化チタンへの超音波照射により極めて高濃度の OH ラジカルが生成する「二酸化チタン・超音波触媒法」を応用している。また、HIFU では一般的な超音波機器よりも超音波エネルギーを集束させ、より大きな熱エネルギーに変換するため、細胞障害作用も高まると予測される。特に、超音波装置は実臨床の診断・治療に必須であり、場所を選ばずに安全・簡便・安価に繰り返し行うことが可能である点は、本研究結果の実臨床への応用・汎用化に重要である。

## 3. 研究の方法

### (1) 超音波照射至適条件の検証

サリチル酸溶液中にて二酸化チタンナノ粒子およびチタン合金製ステントに様々な周波数の超音波(0.5 - 7MHz)を種々の強度(1-2kW/cm<sup>2</sup>)で所定時間照射し、生成したラジカル量を Aminophenyl Flourescein を用いた蛍光イメージングで測定する。次に、ヒト肝細胞癌細胞株(HepG2)を二酸化チタンナノ粒子含有培地で培養し、HIFU 照射(0.5 - 7MHz、1-2kW/cm<sup>2</sup>)が細胞増殖能に与える影響を trypan blue exclusion assay にて評価する。

### (2) 肝細胞癌ブタモデルの作製および検証

生後 6 週程度の免疫不全ブタ(IL2RG-/Y)の肝臓および腹部皮下にヒト肝細胞癌細胞株を局所注射にて細胞移植を行う。ヒト肝細胞癌細胞株として HepG2 および JHH-4 を用い、10<sup>7</sup>cells を局所注射する。移植後 6 週で肝全摘および皮膚および皮下組織の摘出を行い、腫瘍形成の有無、腫瘍性状について病理組織学的に検討を行う。また、播種の有無を確認するために、両側肺全摘も同時に行い、同様に組織学的な検討を行う。

#### 4. 研究成果

##### (1) 超音波照射至適条件の検証

Aminophenyl Flourescein を用いた蛍光イメージングでは超音波強度に比例してフリーラジカルが生成されることが示された。また、3MHz の周波数で最大のフリーラジカルが生成されることも示された。

##### (2) 肝細胞癌ブタモデルの作製および検証

HepG2 を局所注射した免疫不全ブタの肝臓には門脈浸潤の傾向の強い肝細胞癌が複数形成されていた。門脈血流を介した腫瘍増殖の傾向が示唆された。また、皮下への局所注射でも同様に静脈浸潤の傾向を示す肝細胞癌の形成が認められた。

JHH-4 を局所注射した免疫不全ブタの肝臓および皮下には腫瘍形成は認められなかった。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------