

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 26 日現在

機関番号：27102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861745

研究課題名(和文)ソノポレーション法を使用したHDAC阻害剤の導入による口腔癌治療法の開発

研究課題名(英文)The development of oral cancer treatment due to the introduction of HDAC inhibitors using sonoporation method

研究代表者

高橋 理 (Takahashi, Osamu)

九州歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：50611092

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：近年、癌治療における化学療法については様々な研究が展開されている。しかし臨床的には、薬剤の導入効率及び安全性の面で満足すべき方法は確立されていない。そこで我々は生体へのダメージが少なく、効率よく患部へ薬剤導入を可能にする方法としてマイクロバブルに着目した。
ヒト歯肉扁平上皮癌細胞であるCa9-22 cellに対して、抗体とマイクロバブルを使用して薬剤の導入を行ったところ導入効率は18%であった。また実際に臨床でも使用されている抗癌剤の導入によって細胞増殖抑制効果を認めた。

研究成果の概要(英文)：In recent years, various studies have been developed for cancer chemotherapy. However the method satisfactory in terms of transfer efficiency of the drug and safety has not been established. Therefore we focused on the microbubbles as efficient drug delivery to the cancer and less damage to the normal tissue.
Transduction efficiency for human gingival squamous carcinoma cells, where using antibodies and microbubbles was 18%. This method inhibited cancer cell proliferation.

研究分野：口腔癌

キーワード：口腔癌 ソノポレーション

1. 研究開始当初の背景

現在、癌は日本における死因の第一位を占めている。癌治療においては、外科的切除もしくは抗癌剤投与や放射線療法などが行われているが、これらの治療は機能障害や副作用といったものが大きな問題となっている。口腔領域の癌に対しては外科的切除が最も有効な成績を収めているが、機能温存や周囲組織への浸潤を考慮した際に、さらに腫瘍特異性が高く患者に対する負荷や副作用が少ない抗癌剤の開発および治療法の開発が求められている。

2. 研究の目的

バブルリポソームの表面の PEG の特性を利用し、抗体を修飾することによってバブルをさらに腫瘍特異性を向上させ、抗腫瘍効果を期待する。

3. 研究の方法

Ca9-22cell (ヒト歯肉扁平上皮癌細胞) と 528cell (抗 EGFR 抗体産生細胞) の上清を混合し、蛍光免疫染色を行い、Ca9-22cell に EGFR receptor が発現していることを確認した。

528cell の上清より抗 EGFR 抗体を精製し、SDS-PAGE で抗体の純度を確認した。

ソノポレーション法の効果を確認するために、Ca9-22cell への pVIVO1-GFP/LacZ プラスミド導入を行った。その後 X-gal 染色で、導入効率を確認した。

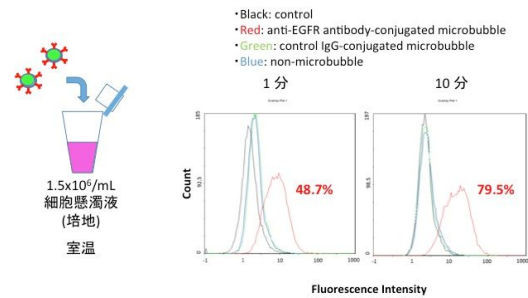
自分で精製した抗体及びコントロール抗体のマイクロバブルへの修飾を帝京大学に依頼した。その抗体付着マイクロバブルを使用してソノポレーション法による Ca9-22cell へのプレオマイシ

ン導入を行い、その後の細胞の状態変化について WST-8、FACS で検証を行った。

4. 研究成果

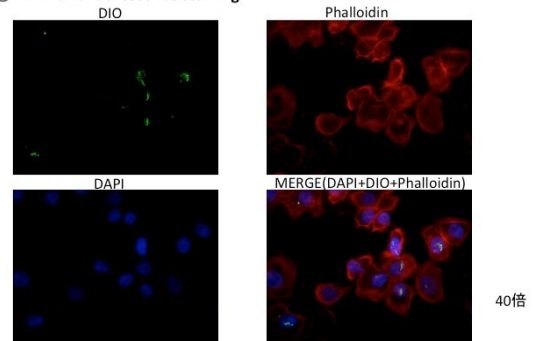
結果

(実験) マイクロバブルと抗体の特異的結合
①: Flow cytometric analysis (FACS)



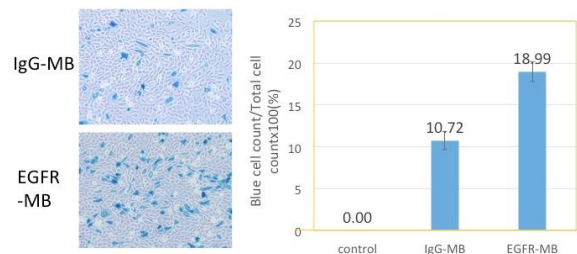
結果

(実験) マイクロバブルと抗体の特異的結合
②: Immunofluorescence staining



結果

(実験) マイクロバブルと抗体の特異的結合
③: X-gal

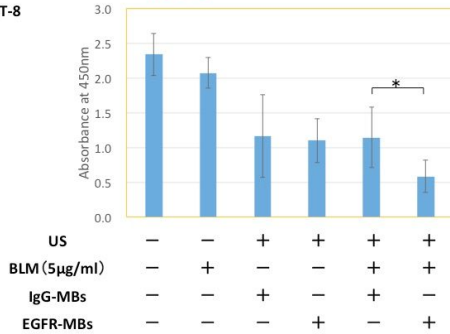


結果:WST-8 48 h

(実験)

マイクロバブルと抗体の特異的結合

③:WST-8

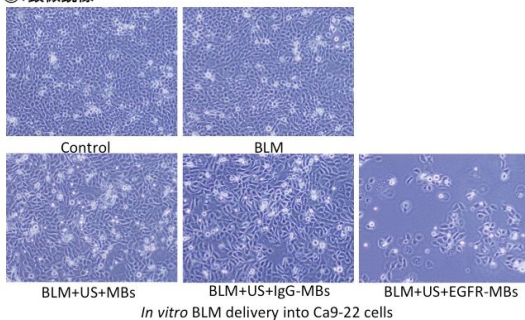


結果

(実験)

マイクロバブルと抗体の特異的結合

③:顕微鏡像

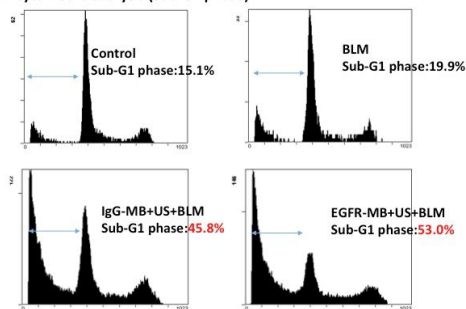


結果

(実験)

マイクロバブルと抗体の特異的結合

③:Flow cytometric analysis (sub-G1 phase)



結果のまとめ

- 抗 EGFR 抗体付着マイクロバブルと Ca9-22 細胞との特異的結合を、FlowCytometry、蛍光免疫染色により確認した。
- ガラクトシダーゼプラスミドの導入効率は、抗 EGFR 抗体付着マイクロバブル群のほうが IgG 付着マイクロバブル群より約 2 倍の導入効率を認めた。

- WST-8 assay では、抗 EGFR 抗体付着マイクロバブルに超音波、BLM を併用した群で有意な細胞数の減少を認めた。
- IgG 付着マイクロバブルと超音波、BLM を併用した群での SubG-1 期の細胞は 45.8%であったのに対し、抗 EGFR 抗体付着マイクロバブルと超音波、BLM を併用した群では、SubG-1 期の細胞は 53.0%であった。

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 0 件)

[学会発表] (計 1 件)

「口腔癌細胞株に対する抗体修飾マイクロバブルとソノポレーションを用いた drug delivery system の開発」 平林文香 岩永賢二郎 高橋理 富永和宏 , 日本口腔科学会
2016 年 04 月 16 日

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 理 (Takahashi Osamu)

九州歯科大学 歯学部 歯学科 助教

研究者番号：50611092

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()