

令和元年6月6日現在

機関番号：14501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K15581

研究課題名(和文) 過酸化ナノチタン粒子の原子設計と新規ラジカル放射線増感療法の開発

研究課題名(英文) A novel strategy for radiosensitization using titanium peroxide nanoparticles

研究代表者

佐々木 良平 (SASAKI, RYOHEI)

神戸大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：30346267

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究で使用する過酸化チタンナノ粒子の放射線増感の原理は、放射線照射によってチタン原子-酸素の原子間の結合の結晶構造の変化・崩壊よりヒドロキシラジカルが生成するし、更に持続的に高濃度の過酸化水素を発生する事をCell-free実験系、細胞実験などである。その実証としてカタラーゼやグルタチオンなどの抗酸化物質が腫瘍細胞内で持続的に発生していることを証明した。その双方により、金ナノ粒子を上回る腫瘍増殖抑制効果が確認できた。腫瘍への局所注入療法にて腫瘍増殖抑制効果が見られる濃度において、マウスの体重変化などの毒性がないことを確認できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで放射線増感剤は実用化されている化合物はなく、過酸化チタンナノ粒子は難治癌に対する治療戦略の中で極めて有望な候補物質といえる。動物実験では、腫瘍増殖抑制効果が認められた濃度設定において、体重減少などの有害反応は認められていないが、今後前臨床試験や臨床試験への移行するためには、ナノ粒子の均一な製造方法や表面修飾方法を更に検討していく必要があると思われる。

研究成果の概要(英文)：Polyacrylic acid (PAA)-modified titanium peroxide nanoparticles (PAA-TiO<sub>x</sub>NPs) are promising radiosensitizers. PAA-TiO<sub>x</sub>NPs were synthesized from commercial TiO<sub>2</sub> nanoparticles that were modified with PAA and functionalized by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment. To realize practical clinical uses for PAA-TiO<sub>x</sub>NPs, their tissue distribution and acute toxicity were evaluated using healthy mice and mice bearing tumors derived from xenografted Mhuman pancreatic cancer cells. Such high accumulation could be associated with enhanced permeability and retention effects of the tumor, as PAA-TiO<sub>x</sub>NPs are composed of inorganic particles and polymers, without tumor-targeting molecules.

研究分野：放射線腫瘍学

キーワード：Nanoparticle Radiosensitization Cancer

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

難治癌では、細胞自体が放射線照射を含めた細胞障害に対して、既に防御機構を獲得しており既存の発想では治癒に導くことは難しい。放射線療法はラジカル(酸化系)を局所に発生させる優れた局所治療であるが、その抵抗性腫瘍では多くの場合、グルタチオンやカタラーゼといった細胞内のラジカル消去を担う(還元系)分子が過剰に発現しているため、放射線照射の間接効果の主役であるヒドロキシラジカルを瞬時に消去してしまうことに原因がある。放射線療法の治療効果比は、これらの酸化・還元系のバランスによって既定されるが、新たな放射線増感療法の開発には、この酸化系を増強するか、還元系を減弱させるかのいずれかを達成し、がん細胞を死に誘導する必要がある。

申請者らはこれまでに医工連携共同研究の中で、多数の無機物ナノ粒子、有機化合物ライブラリーの中から、ROSの生成量の飛躍的に増加させる物質を網羅的に探索し、二酸化チタンを原材料にした過酸化チタンを独自の手法で、約50-70ナノメートルにナノ粒子化することに成功した。また、X線照射により数十倍以上の大量のヒドロキシラジカルを生成することを初めて発見し、その成果を権威ある国際学会に報告してきた。

## 2. 研究の目的

過酸化チタンナノ粒子がどの悪性腫瘍に対し放射線抵抗性を克服し抗腫瘍効果を発揮できるかを *in vitro*, *in vivo* で検証する。またその安全性を *in vivo* 実験で検証する。細胞表面マーカー等を標的とした *in vivo* tumor targeting を検証する。これまでは金ナノ粒子が研究対象の大部分だったが、生体親和性(bio-compatibility)の高いナノチタン酸化物は、放射線照射によるエネルギー付与により不対電子が放出されると水と反応して多量のラジカルを発生し、世界的にも類似の報告のない極めて新規性の高い放射線増感療法となる。その併用療法は組織内照射や通常照射だけでなく、粒子線治療の効果を増幅させる無限の可能性を有している。進行がんや骨軟部肉腫などの難治疾患にも展開が期待される。

## 3. 研究の方法

本研究計画は、過酸化チタンナノ粒子による放射線増感効果を利用した抗腫瘍効果を明らかにするため、細胞、動物実験による放射線増感効果の評価、ROS生成メカニズムの解明、がん細胞に特異的な生体分子修飾バイオ中空カプセルの開発、動物実験による毒性評価、難治癌に対する過酸化チタンナノ粒子含有バイオ中空カプセルの放射線増感療法の検証を行う。放射線療法、メタルナノ粒子生成、がん特異的表面分子ターゲティング技術といった複数分野の融合研究であるため、理学、応用化学、および医学分野のそれぞれの専門家が緊密に連携し、専門的知識の相互供与を円滑に実施する。

## 4. 研究成果

本研究の新規性は、放射線増感効果の因子として申請者らが独自に開発した過酸化チタンナノ粒子を用いたことである。従来の放射線増感剤として研究されてきた有機物化合物と比べて、このメタルナノ粒子は、粒子サイズの操作や粒子表面への抗体修飾が可能といった利便性を有し、新しい放射線増感物質として期待できる。これまで放射線増感効果を有するメタルナノ粒子として、高原子番号ナノ粒子、特に金ナノ粒子の研究が報告されているが、その増感原理はX線と原子との光電効果によるものであるため、光子のエネルギーや粒子サイズの影響が一定しないという問題点があり、現在でも臨床応用には至っていない。それに対して、本研究で使用する過酸化チタ

ンナノ粒子の放射線増感の原理は、放射線照射によってチタン原子 - 酸素の原子間の結合の結晶構造の変化・崩壊よりヒドロキシラジカルが生成するし、更に持続的に高濃度の過酸化水素を発生する事をCell-free実験系、細胞実験などで確認出来た。その実証としてカタラーゼやグルタチオンなどの抗酸化物質が腫瘍細胞内で持続的に発生していることを証明し得た。その双方の効果により、従来の金ナノ粒子を上回る動物実験での腫瘍増殖抑制効果が確認出来、有用な放射線増感物質に成り得ることが確認出来た。また動物実験での腫瘍への局所注入療法にて腫瘍増殖抑制効果が確認出来る濃度設定において、マウスの体重変化などを指標にした毒性がないことを確認出来た。ナノ粒子の分散方法は過酸化チタンナノ粒子に直接表面抗原を付着させる方法に変更した。

## 5 . 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計6件)

1. Teraoka S, Kakei Y, Akashi M, Iwata E, Hasegawa T, Miyawaki D, Sasaki R, Komori T. Gold nanoparticles enhance X-ray irradiation-induced apoptosis in head and neck squamous cell carcinoma in vitro. *Biomed Rep.* 2018 Nov; 9(5):415-420. doi: 10.3892/br.2018.1142.
2. Kishimoto M, Akashi M, Kakei Y, Kusumoto J, Sakakibara A, Hasegawa T, Furudo S, Sasaki R, Komori T. Ionizing Radiation Enhances Paracellular Permeability Through Alteration of Intercellular Junctions in Cultured Human Lymphatic Endothelial Cells. *Lymphat Res Biol.* 2018 Aug;16(4):390-396. doi: 10.1089/lrb.2017.0072.
3. Morita K, Suzuki T, Nishimura Y, Matsumoto K, Numako C, Sato K, Nakayama M, Sasaki R, Ogino C, Kondo A. In vivo tissue distribution and safety of polyacrylic acid-modified titanium peroxide nanoparticles as novel radiosensitizers. *J Biosci Bioeng.* 2018 Feb 7. pii: S1389-1723(17)30749-1. doi: 10.1016/j.jbiosc.2018.01.012.
4. Shimizu Y, Akasaka H, Miyawaki D, Mukumoto N, Nakayama M, Wang T, Osuga S, Inubushi S, Yada R, Ejima Y, Yoshida K, Ishihara T, Sasaki R. Evaluation of a Small Animal Irradiation System for Animal Experiments Using EBT3 Model GAFCHROMIC™ Film. *Kobe J Med Sci.* 2018 Jan 17;63(3):E84-E91.
5. Morita K, Miyazaki S, Numaki C, Ikeno S, Sasaki R, Nishimura Y, Ogino C, Kondo A, Characterization of titanium dioxide nanoparticles modified with polyacrylic acid and H2O2 for use as a novel Radiosensitizer, *Free Radical Research*, 2016 Dec;50(12):1319-1328.
6. 佐々木 良平、長田 雅昭、医学における放射線治療の現況、*Japanese journal of veterinary clinical oncology*, 2017; 23:61-66

### 〔学会発表〕(計8件)

1. 北山 雄己哉, 山田 託也, 赤坂 浩亮, 西村 勇哉, 五十嵐 一紀, 松本 有, 佐々木 良平, 竹内 俊文、In situ ステルス性獲得にもとづく長期血中滞留性金ナノ粒子内包分子インプリントナノゲルの創製、第40回日本バイオマテリアル学会、2018.11.12-13、京都

2. 西村 勇哉, 森田 健太, 荻野 千秋, 犬伏 祥子, 佐々木 良平, 近藤 昭彦、過酸化チタンナノ粒子の併用による放射線増感治療法の開発、第 34 回日本 DDS 学会、2018.6.21-22、長崎
3. 北山 雄己哉, 山田 託也, 木口 健太郎, 吉田 碧衣, 赤坂 浩亮, 西村 勇哉, 五十嵐 一紀, 松本 有, 佐々木 良平, 竹内 俊文、放射線治療のための金ナノ粒子内包分子インプリントポリマーナノゲルの開発、第 40 回日本バイオマテリアル学会、2018.11.12-13、京都
4. 佐々木 良平、IMRT について ~ 有望な放射線治療とは ~、第 37 回日本口腔腫瘍学会、2019.1.24-25、長崎
5. Sachiko Inubushi, Yoshiko Fujita, Ryohei Sasaki、Bystander effect of exosomes derived from cervical adenocarcinoma cells in response to irradiation、International Society for Extracellular Vesicles 2018.2.-6, Barcelona, Spain
6. Sachiko Inubushi, Yoshiko Fujita, Ryohei Sasaki, Effect of exosome of radiation-induced cervical adenocarcinoma, 第 10 回日本 RNAi 研究会/第 5 回日本細胞外小胞学会、2018.2.29-31、広島
7. 赤坂 浩亮、中山 雅央、棕本 成俊、荻野 千秋、西村 勇哉、森田 健太、京谷 勉輔、佐々木 良平、CT、MRI での検討に基づく過酸化チタンナノ粒子を用いた Theranostic drug の基礎的検討、日本放射線腫瘍学会第 30 回学術大会、2017.11.17-19、大阪
8. 中山雅央、赤坂浩亮、棕本成俊、荻野千秋、西村勇哉、森田健太、佐々木良平、金ナノ粒子との比較による過酸化チタンナノ粒子の放射線増感効果の有用性の検討、日本放射線腫瘍学会第 30 回学術大会、2017.11.17-19、大阪

〔図書〕(計 1 件)

1. 宮脇大輔、清水康之、佐々木良平、第 2 章 がん薬物療法のマネジメントに役立つ情報と活用術、検査所見 2)異常所見画像 p101-127、外来患者をサポートする がん薬物療法マネジメントブック、監修：南博信、平井みどり、2016/9/30 発行、発行所 株式会社じほう

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等：特記事項無し

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：荻野 千秋

ローマ字氏名： Chiaki Ogino

所属研究機関名：神戸大学

部局名：工学研究科

職名：教授

研究者番号(8桁): 00313693

研究分担者氏名: 佐藤 和好  
ローマ字氏名: Kazuyoshi Sato  
所属研究機関名: 群馬  
部局名: 工学部  
職名: 准教授  
研究者番号(8桁): 40437299

研究分担者氏名: 沼子 千弥  
ローマ字氏名: Tiya Numako  
所属研究機関名: 千葉大学  
部局名: 理学研究科  
職名: 准教授  
研究者番号(8桁): 80284280

研究分担者氏名: 中山 雅央  
ローマ字氏名: Masao Nakayama  
所属研究機関名: 神戸大学  
部局名: 医学研究科  
職名: 医学研究員  
研究者番号(8桁): 60582004

研究分担者氏名: 赤坂 浩亮  
ローマ字氏名: Hiroaki Akasaka  
所属研究機関名: 神戸大学  
部局名: 医学部附属病院  
職名: 特命助教  
研究者番号(8桁): 20707161

研究分担者氏名: 犬伏 祥子  
ローマ字氏名: Sachiko Inubushi  
所属研究機関名: 神戸大学  
部局名: 医学研究科  
職名: 特命助教  
研究者番号(8桁): 60585959

## (2)研究協力者

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、研究者個人に帰属されます。