

令和 5 年 5 月 25 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09696

研究課題名（和文）温度感受性に抗がん剤を放出する磁性ナノ粒子を用いた新規がん温熱化学療法の開発

研究課題名（英文）Development of novel hyperthermia chemotherapy for cancer using magnetic nanoparticles that release anticancer drugs in a temperature-sensitive manner

研究代表者

畦元 将隆（Azemoto, Masataka）

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：70264736

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：磁性ナノ粒子と交流磁場照射を用いた新規がん温熱治療(Thermal Knife)を開発した。一方で単層カーボンナノホーンとマグネタイトナノ粒子を複合化し、さらに抗がん剤であるゲムシタビンを内包させて、がん温熱療法と化学療法の複合治療を可能とする材料(Thermo-SWNH)の開発に成功した。Thermo-SWNHを用いたThermal Knifeを、局所浸潤性膀胱がんに対する新しい治療法とするための基礎研究を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

転移のない浸潤性膀胱がん（局所浸潤性膀胱癌）に対する治療の基本は根治的膀胱全摘術であるが、QOLを低下させるため膀胱を温存しつつ根治が可能な治療法が社会的に求められている。本研究をもとに、局所浸潤性膀胱がんに対するThermo-SWNHとThermal Knifeを併用した新しい治療法の開発のための基礎研究を行った。本研究による治療法では、化学療法とがん温熱治療の相乗効果が期待できる。Thermo-SWNHの投与は局注となるが、局所浸潤性膀胱癌の原発巣への投与は可能であり、臨床応用は可能と考えている。社会的にも学術的にも意義があると考えている。

研究成果の概要（英文）：We have developed a novel cancer treatment (Thermal Knife) using magnetic nanoparticles and alternating magnetic field irradiation. On the other hand, we are developing a material (Thermo-SWNH) that enables combined treatment of cancer hyperthermia and chemotherapy by combining single-walled carbon nanohorns (SWNH) and magnetite nanoparticles and encapsulating the anticancer drug gemcitabine. We conducted basic research to develop Thermal Knife using Thermo-SWNH as a new treatment for locally invasive bladder cancer.

研究分野：泌尿器系腫瘍

キーワード：癌温熱治療 癌化学療法 磁性ナノ粒子 ナノカーボン材料

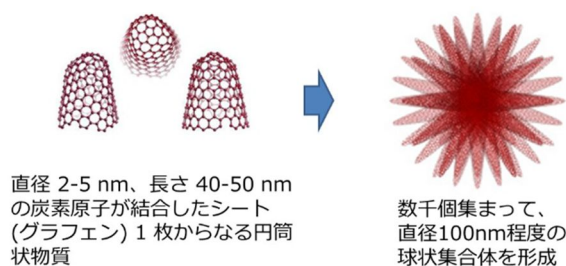
1. 研究開始当初の背景

私たちは正電荷リポソーム包埋型磁性ナノ粒子(以下、磁性ナノ粒子)を発熱体とする磁場誘導加温法を開発した。磁性のある酸化鉄微粒子(Fe_3O_4)をカチオン性のリン脂質で被覆した磁性ナノ粒子を腫瘍組織に注入し、磁性ナノ粒子だけが発熱する周波数で交流磁場発生装置によって磁場照射することで腫瘍組織のみを選択的に自在に加温できるため、非常に高いがん治療効果が得られる。狙った病巣を自由自在に熱で切るといったイメージから、私たちは磁性ナノ粒子と交流磁場発生装置を用いた新しい温熱治療を「サーマルナイフ(Thermal Knife)」と名付けた。

一方、局所浸潤性膀胱癌の治療の基本は根治的膀胱全摘除術であるが、尿路変更として多くの症例でウロスタマの造設が必要で、患者の QOL を低下させる。化学療法としてはジェムザールとシスプラチンベースのレジメンがある。しかし、ここ 20 年来抗がん剤のレジメンを含めて治療法の進歩はなく、浸潤性膀胱がんに対する新しい治療法の確立は社会的に急務なのである。

この社会的な要請を受けて、私たちは温度感受性に抗がん剤を放出するナノ粒子による温熱化学療法を開発することとした。単層カーボンナノホーン(SWNH)は、グラフェン 1 枚からできた円錐状の物質で、通常直径が約 100nm 程度の球形集合体を形成している。SWNH は酸化処理を行い、開孔部を形成することで様々な物質を鞘の内部に取込むことができ、その物質を再び外部に放出することができる(図 1)。研究分担者の中部大学応用生物学部 堤内要教授とともに単層カーボンナノホーンとマグネタイトナノ粒子を複合化し、さらに抗がん剤であるゲムシタピンを内包させて、がん温熱療法と化学療法の複合治療を可能とする材料の開発に成功し、私たちはその材料に「Thermo-SWNH」と名付けた。そこで、Thermo-SWNH と Thermal knife の併用によって、温熱がん治療効果と抗がん剤の作用との相乗効果により、より強い抗がん作用が期待できると考えた。

図 1 単層カーボンナノホーンの模式図



2. 研究の目的

本研究の目的は浸潤性膀胱がんに対する Thermo-SWNH と Thermal Knife の併用療法を確立するための基礎研究をおこなうことである。臨床応用のために解決すべき課題は 1). 抗がん剤内包マグネタイト結合ナノホーン粒子(Thermo-SWNH)の最適化と安定供給体制 2). 定量的スクリーニング系の構築(in vitro, in vivo での腫瘍退縮効果確認) 3). 交流磁場発生装置の製造の 3 点である。私たちは Thermal Knife の研究を長年おこなっており、前立腺がんを中心にその成果を報告してきた²⁻⁵⁾。そこで Thermo-SWNH と Thermal Knife の併用療法を浸潤性膀胱がんに対する新しい治療法として確立するための基礎研究として 1). 抗がん剤内包マグネタイト結合ナノホーン粒子(Thermo-SWNH)の最適化と 2). 定量的スクリーニング系の構築(in vitro, in vivo での腫瘍退縮効果確認)を主たる目的とし、交流磁場発生装置は、非臨床の段階のもではあるが、従来のものを用いることで改良点を模索する。

3. 研究の方法

1) 抗がん剤内包マグネタイト結合ナノホーン粒子の作成

マグネタイト結合ナノホーン粒子分散液(Fe 5.0mg/ml)1ml に抗癌剤ゲムシタピン溶液

(500ul)250 μlを加える。一晚放置して、スピンドフィルターで低分子量画(MW<100,000)を取り除く方法で作成した。

2) 抗がん剤ゲムシタピンの取り込み / 放出挙動測定

抗がん剤内包マグネタイト結合ナノホーン粒子溶液に 1.0ml のリン酸緩衝生理食塩水(PBS)を加える(図 2-1)。24 時間静置したのち、時間経過とともにスピンドフィルターで粒子を分離し、遊離ゲムシタピンの吸光度を測定した(図 2-2)。24 時間経過後に交流磁場を照射し、同様の操作で遊離ゲムシタピンの吸光度を測定(図 2-3)

図 2-1 ゲムシタピン取り込み

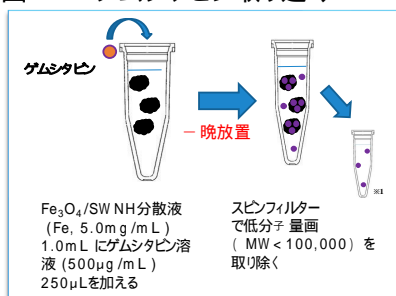


図 2-2 自然放出

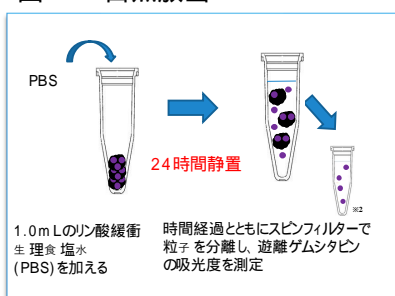
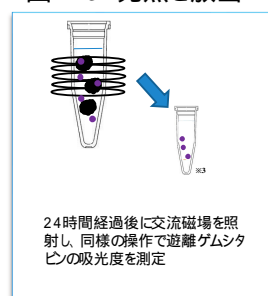


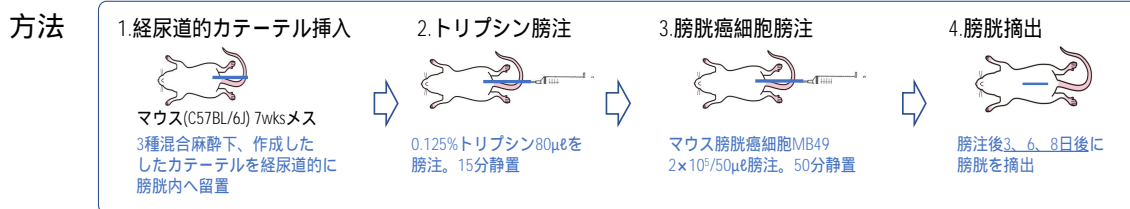
図 2-3 発熱と放出



3) 筋層非浸潤性膀胱癌モデル作成

マウスに経尿道的にカテーテルを挿入。粘膜バリアを破壊するためのトリプシンを膀胱注後、膀胱癌細胞を膀胱注し、後日膀胱を摘出する(図 3)。

図 3 筋層非浸潤性膀胱癌モデル作成方法



4) HIKESHI の検討

原発巣である前立腺に対し放射線治療と温熱治療の併用療法を行った 2 症。全例全骨盤部に 72Gy の放射線照射に並行してラジオ波誘電加熱装置(Thermotron RF-8)を用い、週 1 回 30 分の温熱治療を 4 回を基本に行った。治療前後で前立腺針生検を行い、病理組織学的な治療効果の判定と、Hsp70, Hikeshi の発現を評価した。

4. 研究成果

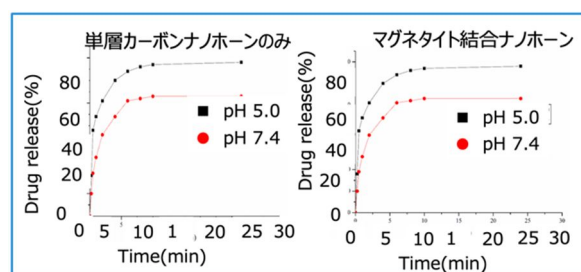
1) がん剤内包マグネタイト結合ナノホーン

粒子の作成をおこなった。

2) 抗がん剤(ゲムシタピン)内包マグネタイト結合ナノホーンからの抗がん剤の放出を確認した。

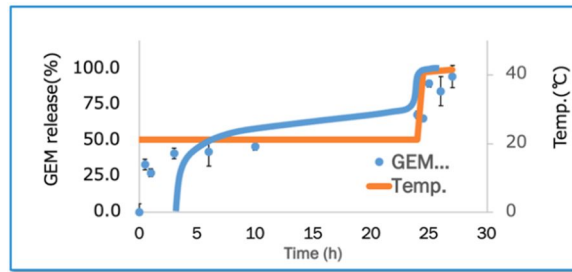
・10 時間で薬物放出が飽和し、取り込ませたゲムシタピンのうち 50-70% が放出された(図 4)。

図 4 PBS への自然放出



薬物放出飽和後に交流磁場を照射したところ、約 20 の温度上昇が認められ、さらなる薬物放出挙動が確認できた(図 5)。

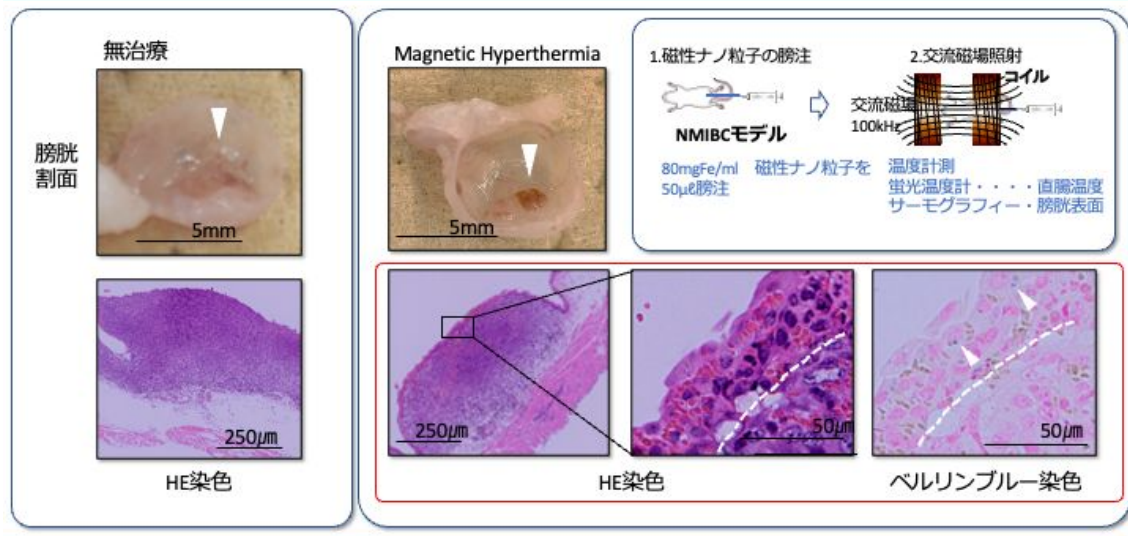
図 5 交流磁場照射による発熱と放出



3) 筋層非浸潤性膀胱癌モデル作成

3 日後は生着せず、6 日目以降で 100%生着。8 日目は筋層浸潤を認めた。6 日目適切と思われた(図 6)。

筋層非浸潤性膀胱癌モデル作成 図 6

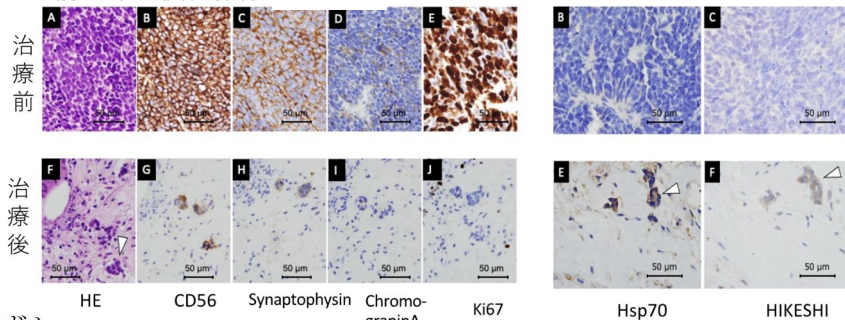


4) HIKISHI の検討

症例 1(図は 7)病理組織検査では小細胞癌と診断された。膀胱浸潤により尿閉を来してい

たが、放射線治療・温熱治療併用療法により、画像上 CR となり尿閉は解除された。NSE は 91.6 から 16.0ng/ml と正常値となった。治療後の病理組織検査で、治療 Grade 3 であり、わずかに

前立腺生検組織像 図 7

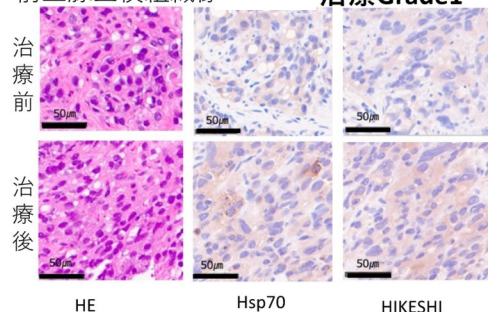


わずかに残存する前立腺癌細胞にHsp70,Hikeshiを認めた

に残存した癌細胞はHIKESHIが陽性

であった。症例 2(図 8)は Gleason's score (以下 GS)5+4=9 の adenocarcinoma があり、膀胱に浸潤していたため尿閉を来していた。放射線治療・温熱治療併用療法を施行したが、画像上では SD、尿閉も解除できなかった。PSA は 42.5 から 31.7ng/ml への下降にとどまった。治療後の病理組織検査では治療 Grade 1、残存した癌細胞には HIKESHI が顕著に認められた。

前立腺生検組織像 図 8 治療Grade1



核内へのHsp70の移行を認めた

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 畦元将隆
2. 発表標題 短期間作成可能なマウス筋層非浸潤性膀胱癌モデルの確立と時期温熱治療の効果の検証
3. 学会等名 第7回 日本泌尿器腫瘍学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 河合 憲康、永井隆、恵谷俊紀、飯田啓太郎、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

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

〔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
研究分担者	河合 憲康 (kawai noriyasu) (20254279)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・准教授 (23903)	
研究分担者	安藤 亮介 (ando ryosuke) (30381867)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・教授 (23903)	
研究分担者	恵谷 俊紀 (etani toshiki) (30600754)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・講師 (23903)	
研究分担者	戸澤 啓一 (tozawa keiichi) (40264733)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・教授 (23903)	
研究分担者	安井 孝周 (yasui takahiro) (40326153)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・教授 (23903)	
研究分担者	堤内 要 (tsutsumiuchi kaname) (50329851)	中部大学・応用生物学部・教授 (33910)	
研究分担者	内木 拓 (naiki taku) (50551272)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・講師 (23903)	

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