

令和 5 年 6 月 10 日現在

機関番号：12602

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K20796

研究課題名（和文）がん幹細胞を標的にした新規近赤外光線免疫療法の開発

研究課題名（英文）Development of novel near-infrared photoimmunotherapy targeting cancer stem cell

研究代表者

岡田 隆平（Okada, Ryuhei）

東京医科歯科大学・東京医科歯科大学病院・特任助教

研究者番号：60806454

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究ではがん幹細胞を標的にした新規近赤外光線免疫療法の開発を目的としていた。共同研究者から譲渡を受けたがん幹細胞の細胞膜抗原に対するモノクローナル抗体に光感受性物質であるIR700を結合させ、新規の抗体-光感受性物質複合体の作成に成功した。薬剤の品質に関しては液体クロマトグラフィを用いて評価を行った。また培養細胞を用いて、実際に近赤外光線免疫療法を施行し、その有効性を確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究を通して、がん幹細胞を標的とした新規の抗体-光感受性物質複合体の作成に成功し、その効果を培養細胞を用いて証明した。本薬剤を用いれば、がん組織中においてヒエラルキーの頂点に位置するとさせるがん幹細胞を特異的に破壊できる可能性がある。今後さらなる追加実験が必要ではあるが、新たながん治療となる可能性があり、頭頸部がんのみならず多くのがん患者を救うことが期待される。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to develop a novel near-infrared photoimmunotherapy (NIR-PIT) targeting cancer stem cells. A monoclonal antibody targeting the surface protein expressed on the cancer stem cells was conjugated to a photosensitizer, IR700. The successful conjugation was confirmed with high performance liquid chromatography. Cytotoxicity of the new conjugate was evaluated with in vitro studies.

研究分野：頭頸部外科学

キーワード：近赤外光線免疫療法 光免疫療法 IR700 がん幹細胞

## 1. 研究開始当初の背景

近赤外線免疫療法 (アルミノックス™) は細胞特異的ながん治療法であり、破壊したい細胞の表面に発現しているタンパク質に結合するモノクローナル抗体に光感受性物質である IRDye700DX (IR700) を結合させた抗体-光感受性物質複合体 (antibody-photoabsorber conjugate: APC) を使用する。APC を患者に経静脈的に投与し、病変に励起光を照射すると、APC が急激に親水性から疎水性へと変化し、APC が結合している細胞のみが特異的に破壊されるというものである (Sato, et al. ACS Cent Sci. 2018)。本治療法は APC が細胞表面の標的分子に結合し、かつ近赤外光を照射された場合にのみ殺細胞効果を示すため極めて細胞特異性が高く、細胞実験では隣り合う細胞でも標的分子を発現していなければ障害されないことが証明されている (Mitsunaga, et al. Nat Med. 2011)。切除不能な局所進行また局所再発頭頸部がんにおいては上皮成長因子受容体 (EGFR) を標的とした APC (セツキシマブ-IR700 複合体、セツキシマブサロタロカンナトリウム、アキラルックス®) と励起光を発生させるレーザー装置 (BioBlade®) が 2020 年に世界に先駆け本邦で承認を受けて、2021 年より保険診療で施行されており、今後さらなる発展が期待されているところである。本治療を用いれば、腫瘍内の狙った細胞のみを特異的に破壊することができるが、マウスを使用した実験では腫瘍細胞を標的に近赤外線免疫療法を施行すると、いったん腫瘍は縮小するものの再増大してくることが多く別のアプローチの研究も進んでいる。

一方で、がん幹細胞仮説は、組織幹細胞と同様にがんにも幹細胞様の細胞が存在するというものである。がんは不均一な細胞集団であることが知られているが、その中でがん幹細胞のみが腫瘍形成能を持つとされている。がん幹細胞は治療抵抗性や再発の主因と考えられているため、前述の近赤外線免疫療法後の再増大もこのような細胞によるものの可能性があり近赤外線免疫療法の新たな標的として期待されている。がん組織中からがん幹細胞を選択的に排除できれば有効な治療となる可能性がある (Nagaya, et al. Mol Cancer Res. 2017)。

## 2. 研究の目的

本研究の目的はがん幹細胞を標的とした新規近赤外線免疫療法を開発することである。がん組織中からがん幹細胞を特異的に取り除くことができれば、単独治療としても効果が期待できる上に他治療との併用療法での相乗効果も期待できるものである。最終的には本治療が臨床応用されることまでを目標としている。がん幹細胞表面タンパク質は頭頸部がん以外の他のがん腫においても共通して見られるため、有効な治療法が少ない他癌腫に対しても応用できる可能性がある。

## 3. 研究の方法

### がん幹細胞を標的とした新規 APC の作成

本研究ではがん幹細胞の表面に発現するタンパク質に対するモノクローナル抗体に光感受性物質である IR700 を結合させた。具体的にはモノクローナル抗を 5 倍の物質量の IR700 NHS エステルとアルカリ性下に混和しカラムを用いて精製した。作成した APC は高速液体クロマトグラフィーを用いて品質評価を行った。合成サンプルをサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) に流し、タンパク質の吸収波長として 280nm を、IR700 の吸収波長として 689nm のそれぞれを評価した。コントロールとして IR700 を結合させていない抗体を用いた。

### 新規 APC を用いた近赤外線免疫療法の in vitro での効果の評価

作成した APC を複数の頭頸部がん細胞株に結合させ、光の照射を行った。具体的には培養細胞をプレート上に生着させ、APC を混合した培養液中でインキュベートした。その後、培養液を交換し、レーザーシステムを用いて 689nm の光を照射した。照射線量は段階的に条件設定を行った。細胞傷害性については CCK8 アッセイを用いた。

## 4. 研究成果

### がん幹細胞を標的とした新規 APC の作成

280nm の吸収ピークに一致して 689nm のピークを確認できた。これにより新規モノクローナル抗体に IR700 が適切に結合できていることが確認された。

### 新規 APC を用いた近赤外線免疫療法の in vitro での効果の評価

光の照射のみ、APC への暴露のみでは細胞死はコントロールと比べて上昇しなかった。APC へ暴露させ、光を照射した際にのみ細胞死が確認された。光の照射量が多いほど、細胞死が進むことが証明され、培養細胞での新規 APC を用いた近赤外線免疫療法の効果を実証した。

これらの成果からがん幹細胞を標的とした新規近赤外光線免疫療法の礎を築くことができた。継続研究として、さらに動物モデルを用いた治療効果の検証を予定である。最終的には臨床試験を経て臨床応用することを目標としている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Ryuhei Okada
2. 発表標題 Near-infrared photoimmunotherapy: A newly developed cancer therapy
3. 学会等名 1st Joint Meeting of Tri-Head and Neck Society 2022 (招待講演) (国際学会)
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	玉井 恵一  (Tamai Keiichi)		

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