様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　７ 年　 ５ 月 ２８ 日現在

機関番号：３２６５１
研究種目：挑戦的研究（萌芽）
研究期間：2022～2024
課題番号：２２Ｋ１９９２３

研究課題名（和文）機能性高分子化合物による新規プレシジョンメカノセラピーの開発

研究課題名（英文）Development of precision mechanotherapy using functional antibody compounds

研究代表者
光永　眞人（Makoto, Mitsunaga）

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：４０４３３９９０

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　4,900,000円

研究成果の概要（和文）：光感受性抗体化合物と近赤外光の照射による新しいがん治療法である近赤外光免疫療法は、がん細胞膜に発現するタンパクを標的とした分子標的選択的な治療法であり、頭頸部がんに対して臨床実用化されている。近赤外光は生体にとって比較的無害な電磁波であるが、深部組織における光の減弱などの問題が知られている。本研究課題では、深部組織における減衰が少なく、生体に無害な音波である超音波を用いて、分子標的選択的な治療法の開発を行い、既存の近赤外光免疫療法と効果について比較検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義
ある種の光感受性物質は超音波感受性を持ち合わせる報告があるが、今回の検討で用いた光感受性抗体化合物には近赤外光免疫療法と同等の分子標的選択的・細胞選択的な超音波感受性を誘導し得なかった。抗体化合物の改良や光感受性物質の検討により本技術の有用性が見いだせる可能性があり、今後の更なる検討が望まれる。

研究成果の概要（英文）：Near-infrared photoimmunotherapy (NIR-PIT) is a new cancer treatment that involves the use of a photosensitizing antibody compound and irradiation with NIR light. Although NIR light is a relatively harmless form of electromagnetic radiation to the human body, it is known to have limitations such as attenuation in deep tissues. In this research project, we aimed to develop a molecularly targeted and selective therapy using ultrasound, a biologically harmless sound wave that experiences less attenuation in deep tissues. We also conducted a comparative study to evaluate the efficacy of this approach against the existing NIR-PIT.

研究分野：分子イメージング

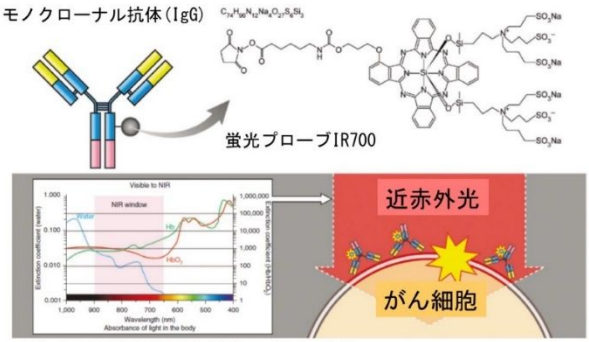
キーワード：抗体療法　がん　分子標的薬　近赤外線　メカノセラピー

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１（共通）

１．研究開始当初の背景

光免疫療法は、がん特異的に発現する細胞膜表面分子に対するモノクローナル抗体と光感受性物質を結合させた化合物および近赤外光によって、正常細胞に全く傷害を与えずにがん細胞のみをネクローシスによる機械的細胞死へ誘導する方法である(Mitsunaga et al. Nat Med 2011 PMID:22057348)。臨床試験が進み、本邦においては頭頸部がんに対して臨床実用化されるに至っている。近赤外光は生体にとって比較的無害な電磁波であるが、深部組織における光の減弱などの問題が知られており、光免疫療法による治療効果を制限する因子となり得る。

（右図）光免疫療法は正常細胞に傷害を与えず、光感受性物質を結合させた抗体化合物が特異的に結合したがん細胞のみを近赤外光によって細胞膜の破壊から細胞死へ誘導する治療法である。



近赤外領域は組織透過性が高い波長である

２．研究の目的

ある種の光感受性物質は超音波感受性を持つことが報告されている。本研究課題では、深部組織における減衰が少なく、生体に無害な音波である超音波を用いて、分子標的選択的な治療法の開発を行うことを目的とした。また、治療効果について既存の近赤外光免疫療法と比較検討を行った。

３．研究の方法

がん細胞株を 96well プレートに播種、細胞接着後後に光感受性抗体化合物(濃度：0～30 μg/mL)を添加した。

一定時間の反応後に試薬を除去・洗浄し培養液で置換した。

蛍光顕微鏡にて抗体化合物の標的選択的な局在を評価した。

① 近赤外光の照射（0～10J/cm^2）

② 超音波処置（周波数 1.0 MHz，超音波強度 0.1～3.0 W，Duty cycle 10～100 %）を行った照射後翌日に細胞傷害性について顕微鏡観察および Cell Counting Kit-8 を用いて評価を行った。

③ 近年研究代表者らが開発した病原体に対する光免疫療法についても同様の効果が得られるかどうか検討を試みた。

４，研究成果

① 近赤外光の照射群は既報と同様に、抗体の結合した細胞選択的に、抗体の濃度、近赤外光の照射エネルギー量に依存した細胞傷害性を認めた。

② 超音波の処置群は、超音波強度を上げることで、細胞傷害性を認めた。一方で、抗体選択性のある細胞傷害性は誘導されなかった。今回用いた光感受性抗体化合物の条件検討においては、有意な抗体特異的超音波感受性を見出せなかった。

③ 過去に報告してきた黄色ブドウ球菌の細胞壁構成成分であるペプチドグリカン以外の分子標的としてタイコ酸やプロテイン A を標的とした光感受性抗体化合物を用いた photoimmuno-antimicrobial strategy の検討を行い、ペプチドグリカンと同様の近赤外光による殺菌効果を認めた。プロテイン A 変異のある黄色ブドウ球菌においては殺菌効果を認めず、抗体による高い標的選択性が示された。

考察

光感受性物質である 5-アミノレブリン酸などのポルフィリン系薬剤には超音波感受性があることが報告されており、悪性脳腫瘍に対して海外では sonodynamic therapy として臨床試験が実施されている。超音波は光と異なり 10 ㎝ を超える深部組織における効果が期待でき、光線治療の欠点を補完する利点がある。

がん細胞における sonodynamic therapy の作用機序として次のような報告がされている、①ソノケミカル経路：超音波によりマイクロバブルが崩壊→ソノルミネッセンス→感受性物質が活性化→活性酸素種生成→細胞死　②ソノメカニカル経路：超音波による物理的刺激でカルシウムチャネルが開く→細胞内のカルシウム濃度上昇→ミトコンドリア破壊→アポトーシス（細胞死）　③熱分解（ピロリシス）経路：水や薬剤の熱分解によってフリーラジカルが発生→活性酸素種を通じてがん細胞にダメージ　作用が期待できる条件として、治療標的細胞に超音波感受性物質が局在することが重要である。超音波には、周波数（0.5～3 MHz）と強度（0.5～3 W/cm²）のパラメーターがあり治療効果に影響を与える、また、集束型トランスデューサーを用いることでより効果的な精密照射を実施することも可能である。

今回の結果からは、超音波感受性は認めるものの、近赤外光のような選択性は得られなかった。標的細胞あたりの光感受性色素の局在が十分でないことが最も影響したと推察された。今後薬剤の改良について検討を進めていく方針である。

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計1件（うち査読付論文　1件／うち国際共著　1件／うちオープンアクセス　0件）

１．著者名 Iwase Tadayuki、Ito Kimihiro、Nishimura Takashi、Miyakawa Kei、Ryo Akihide、Kobayashi Hisataka、Mitsunaga Makoto	４．巻 18
２．論文標題 Photoimmunotechnology as a powerful biological tool for molecular-based elimination of target cells and microbes, including bacteria, fungi and viruses	５．発行年 2023年
３．雑誌名 Nature Protocols	６．最初と最後の頁 3390～3412
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41596-023-00874-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕　計2件（うち招待講演　0件／うち国際学会　0件）

１．発表者名 光永眞人，西村尚，伊藤公博，宮川敬，梁明秀，小林久隆，　岩瀬忠行
２．発表標題 光免疫療法を応用した標的選択的な病原体除去法photoimmuno-antimictobial strategyの開発
３．学会等名 日本光線力学学会
４．発表年 2023年

１．発表者名 光永眞人
２．発表標題 光免疫療法を活用した病原体制御法の開発
３．学会等名 光免疫療法研究会
４．発表年 2024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

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