

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：82629

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26860392

研究課題名(和文)単色X線ビームの光電効果を利用する新規制癌法の開発

研究課題名(英文)Development of phospholipid-adsorbed gold nanoparticles for cancer radiotherapy

研究代表者

鈴木 健一郎 (Suzuki, Ken-ichiro)

独立行政法人労働安全衛生総合研究所・その他部局等・研究員

研究者番号：30548384

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：がん患者は増加の一途を辿っており、がん根絶に向け、精密な診断や治療のための技術基盤を早急に強化する必要がある。そこで本研究では、金ナノ粒子のがん細胞標的化を達成するために、リン脂質被覆金ナノ粒子の作製、並びにPETトレーサー化について検討を行った。以上の結果、金ナノ粒子の表面におけるリン脂質の種類に依存して、金ナノ粒子のがん細胞への取込み量や金ナノ粒子の体内動態が変化することが初めて明らかとなった。これらの知見は、金ナノ粒子を用いた放射線によるがん治療効果を高める上で極めて重要であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Gold nanoparticles are useful for the development of cancer radiotherapy. Moreover, it has been shown that the modifications of gold nanoparticle surfaces are common approach to improve the radiotherapy enhancement. Therefore, future study for novel modification of gold nanoparticle surfaces should be focus on. However, the relationship between nanoparticle surface modification and exact effects for uptake of nanoparticles in the cancer cells or distribution of nanoparticles in the body remains unclear. In this study, we constructed specific four different typed phospholipid-adsorbed gold nanoparticles and demonstrated their uptake in the cancer cells and their distribution in the mouse body. From of our results, we expect that the phospholipid-modified gold nanoparticles will lead to key advances for human applications in the cancer radiotherapy.

研究分野：医学物理学

キーワード：X線 PET 金ナノ粒子 がん リン脂質 体内動態

1. 研究開始当初の背景

悪性腫瘍の標準的な初期治療法は腫瘍箇所を出来るだけ切除する外科手術である。当然、術後患者の身体機能に後遺症を残さないことが第一に求められる。しかし、癌細胞の多くは浸潤性が強く身体のあらゆる領域に転移する。そのため、現状の医療技術では、全ての腫瘍を完全に鑑別・摘出することは困難であり、高い確率で再発することが問題となっている。悪性腫瘍の完治を握る鍵は言うまでもなく診断治療方法の発展であり、再発の防止ためには、点在する腫瘍を明瞭に鑑別しかつ効率的に治療する新規制癌法を開発しなければならない。

現在、外科手術に代わる治療法としては、薬物療法や放射線療法が挙げられる。しかし、悪性腫瘍の性状や転移の状況によっては、抗癌剤や放射線による治療が困難な患者も多い。近年では、分子標的治療薬や分子追跡放射線治療機器の開発が推進されているが、両治療法とも癌標的効率の向上が目的であり外科手術の完全な代替法とはなりえない。加えて、巨額の創薬開発費や放射光建設費に伴って国民医療費の増大や国家財政の圧迫は避けられない。それゆえ、従来の治療法を更に発展させる画期的な新規制癌法の開発が必要不可欠である。

2. 研究の目的

癌患者は増加の一途を辿っており、癌根絶に向け、精密な診断や治療のための技術基盤を早急に強化する必要がある。本申請研究は、単色 X 線ビームの光電効果を利用する新規制癌法を開発を具現化するものである。その方法として、我が国の巧みなモノづくりの技術基盤である計測分析機器の原理を応用する。本制癌法は、X 線ビームにより金ナノ粒子の物理的特性を制御し、癌細胞のアポトーシス機構を誘導する。これまで取り組んできた診断法の開発と共に、癌再発の防止策となる我が国独自の新しい診断治療方法を世界に向け発信していく。

3. 研究の方法

本実験は、金ナノ粒子 (AuNPs) による癌細胞標的化を達成するため、リン脂質被覆金ナノ粒子を作製し、PET (Positron Emission Tomography) トレーサー化を試みた。具体的には、4 種類のリン脂質 (ホスファチジルコリン: PC、ホスファチジルセリン: PS、ホスファチジルグリセロール: PG、ホスファチジン酸: PA) を金ナノ粒子の表面に一層で被覆させ、生理食塩水に分散させた。さらに、理化学研究所に設置されている自己遮蔽型 PET 用小型サイクロトロンを用い、ニッケルから放射線核種である 64 銅を作製・精製し、ナノ粒子表面におけるスポンジ効果を利用し、64 銅イオンを脂質被覆ナノ粒子に吸着させて、PET トレーサーとした。作製されたリン脂質被覆金ナノ粒子に対し、薄層クロマトグ

ラフィー法 (TLC) を用い、リン脂質被覆金ナノ粒子表面における 64 銅の吸着性を確認した。

BALB/c ノードマウスに 64 銅で標識されたリン脂質被覆金ナノ粒子を微静脈から投与した。投与 24 時間後に、PET イメージングを行ない、各リン脂質被覆金ナノ粒子の体内動態を評価するとともに、剖検した後、ガンマカウンターを用い、各臓器別におけるリン脂質被覆金ナノ粒子の蓄積率を解析した。

またリン脂質は、悪性腫瘍へ特異的集積性が報告されていることから、癌細胞の性状に伴い取り込むリン脂質の種類に違いがあると仮説を建て、常法より癌細胞株 (ラットグリオーマ細胞) を培養し、共焦点レーザー顕微鏡を用い、蛍光物質で標識されたリン脂質被覆金ナノ粒子の取り込み能力について検討を行った。

4. 研究成果

初めに TLC を用い 4 種類のリン脂質被覆金ナノ粒子に対して 64 銅で標識した結果を図 1 に示す。この結果、全てのリン脂質被覆金ナノ粒子に対し 64 銅イオンがナノ粒子の表面に吸着することが明らかとなり、これより、リン脂質被覆金ナノ粒子の PET トレーサーが確立された。ただし、ホスファチジルコリンで被覆された金ナノ粒子は、生理食塩水中で凝集が認められた。そのため、ホスファチジルコリンで被覆された金ナノ粒子の体内動態は凝集粒子を含んだ結果となることに注意が必要である。

PA-AuNPs PS-AuNPs PG-AuNPs PC-AuNPs

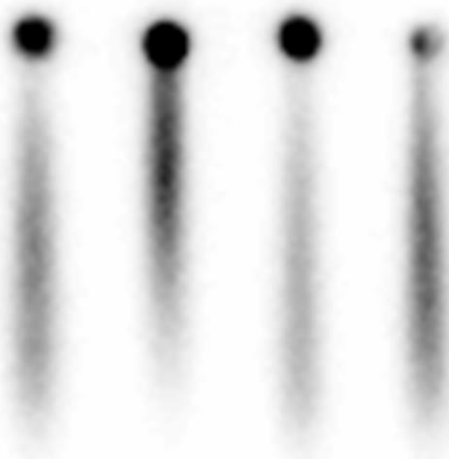


図 1. リン脂質被覆金ナノ粒子の PET トレーサー化 (ナノ粒子に 64 銅が吸着している)

次に、BALB/c ノードマウスにおける各種リン脂質被覆金ナノ粒子の PET 画像を図 2 に

示す。これらの結果、微静脈内に投与された各種リン脂質被覆金ナノ粒子は、肝臓に蓄積することが示唆された。さらに図3は脳、心臓、肺、脾臓、肝臓、腎臓における4種類のリン脂質被覆金ナノ粒子のガンマカウンターを用いた蓄積率評価のグラフである。これより、リン脂質被覆金ナノ粒子は、肝臓への蓄積率が全体的に高いことが分かった。また、ホスファチジルグリセロールで被覆された金ナノ粒子が、その他のリン脂質金ナノ粒子に比べて、各臓器への蓄積性が抑制されていることが示唆された。

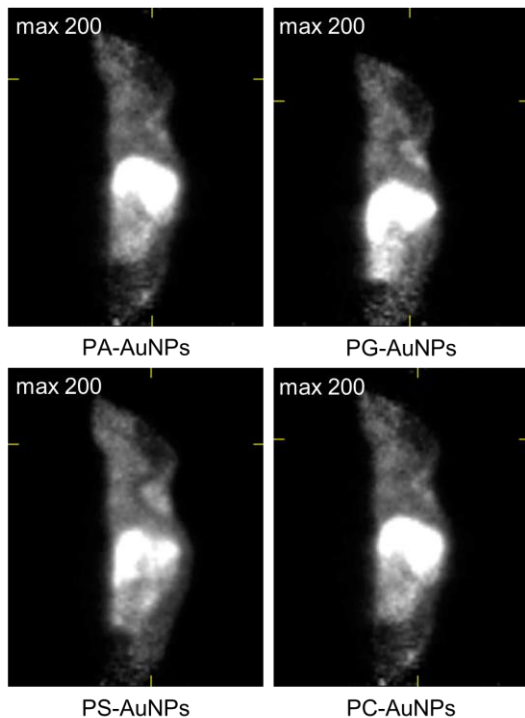


図2. マウス静脈内に投与した24時間後のリン脂質被覆金ナノ粒子のPETイメージング画像

最後に、ラットグリオーマ細胞株を用い、蛍光物質で標識したリン脂質被覆金ナノ粒子の取り込み能力について検討した(図4)。その結果、投与24時間後、全てのリン脂質被覆金ナノ粒子は、ラットグリオーマ細胞に取り込まれることが明らかとなった。さらに、ホスファチジルグリセロールで被覆された金ナノ粒子は、他のリン脂質被覆ナノ粒子に比べ、取り込みが抑制されていることが分かった。

本研究の推進により、リン脂質を被覆した金ナノ粒子のPETトレーサー化を実現した。従来の研究では、ポリエチレングリコール等を用い、化学結合から金ナノ粒子表面を修飾する技術が汎用されてきた。しかし、化学的修飾による分散安定法は手間がかかるだけでなく、生体内において、ポリエチレングリコール等で被覆された金ナノ粒子に対して、血清蛋白質の非特異的な吸着が起こり、免疫

の異常を誘発させる可能性が疑われていた。一方、我々のリン脂質の物理吸着による分散技術は、生体に存在するリン脂質を活用している。したがって、血清蛋白質の非特異的な吸着を減少させ、免疫異常を阻止できる可能性がある(論文執筆中)。すなわち、これは、安全性の高い、ナノ粒子のドラッグデリバリーシステムを構築できる可能性を示唆している。他方、近年では、モンテカルロシミュレーションを用い、単色X線ビームによる金ナノ粒子表面における光電効果現象が解明され、極めて低いエネルギーの単色X線源(100 keV程度)で、癌細胞を破壊できることが議論されている。したがって今後は、リン脂質の物理吸着性の違いが金ナノ粒子表面の光電効果現象に及ぼす影響について、検討することが極めて重要であると思われる。

さらに我々は、PETイメージング法やガンマカウンターを用いた体内動態評価により、リン脂質被覆金ナノ粒子の中で、特にホスファチジルグリセロールで被覆された金ナノ粒子において、臓器への低蓄積性を見出した。また同リン脂質被覆金ナノ粒子は *In vitro* で細胞への取込み量の減少が確認された。これらの結果を総合的に理解すれば、各臓器への蓄積性や細胞への取り込み(細胞認識)が、ナノ粒子表面におけるリン脂質組成に依存していることが示唆された。すなわち、ホスファチジルグリセロール被覆金ナノ粒子の低臓器蓄積性によって、血中滞留時間を増加させることが可能になると考えられるため、癌治療効果を高める上で非常に有効であると思われる。したがって、今後は、リン脂質被覆金ナノ粒子表面に対し、抗体医薬を結合させ、癌集積性を高めるための研究が極めて重要である。

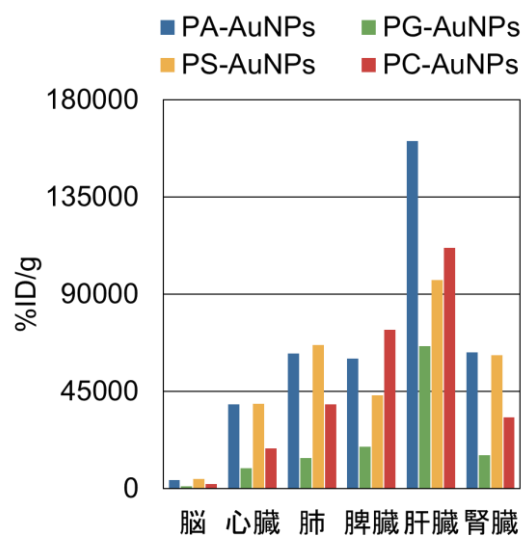


図3. リン脂質被覆金ナノ粒子の臓器別蓄積率評価

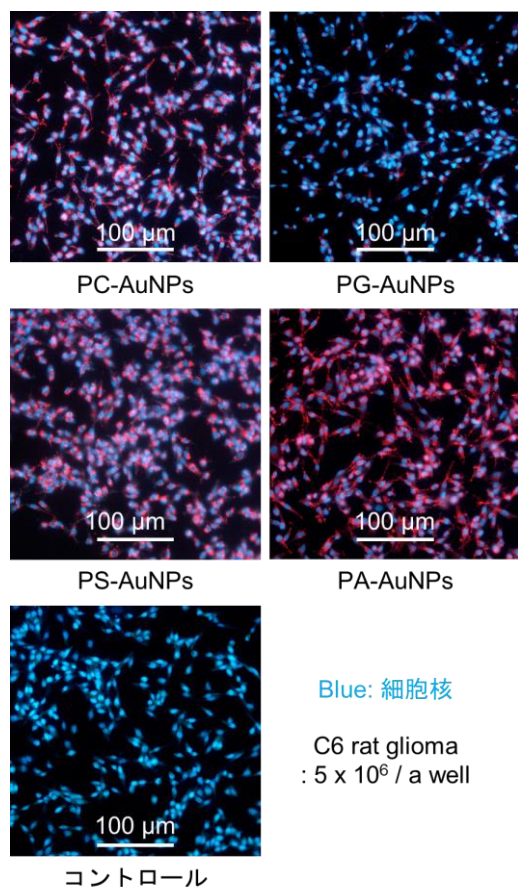


図4. リン脂質被覆金ナノ粒子の細胞への取り込み

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)

Ken-ichiro Suzuki (2014) Development of Soft-colloid regulation method by self-assembly for nanotoxicology and nanomedicine. The European Colloid and Interface Society, Proceedings, p74.

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

鈴木 健一郎 (SUZUKI Ken-ichiro)
独立行政法人労働者健康安全機構
労働安全衛生総合研究所・任期付研究員
研究者番号：30548384