

# DNA 標的型金ナノ粒子と放射線治療併用による がん細胞増感制御法

名古屋大学大学院

医学系研究科 総合保健学専攻 助教 余語克紀

産業技術総合研究所

生命工学領域 主任研究員 三澤雅樹

## 1. 研究の背景・目的

放射線治療は、体への負担が少なく機能温存が可能であり、高齢化が進むわが国のがん治療で有効である。しかし、潜在的な転移巣に対して単独での治療効果は必ずしも十分でなく辺縁からの再発が起こり得る。したがって、治療成績のさらなる向上には、原発巣周りの潜在的な転移巣にまで十分な線量を細胞レベルで投与方法の開発が必要である。原発巣を放射線の集中照射で制御し、同時に周囲の潜在的な転移巣は、その時発生する散乱線を積極的に利用する方法として金ナノ粒子の併用が有望である[1-3]。従来は、十分な治療効果の増強を得るのに、致死量に近い高濃度の金ナノ粒子を必要とし、臨床応用への壁となっていた。放射線によるがん細胞の死滅は、DNA 損傷が引き金になる。我々は、金ナノ粒子に正電荷を修飾し、DNA 指向性を持つ金ナノ粒子を開発した。中間エネルギー帯の  $\gamma$  線(高線量率小線源治療;380keV)による DNA 損傷に対して、DNA 標的型金ナノ粒子の増強効果を調べたところ、従来より、1,000 倍薄い濃度で十分な DNA 損傷の増強効果(約 1.5 倍)を得られ、金ナノ粒子の用量を減らすための解決の糸口を得た[4]。また、現在の放射線治療の主流で高エネルギーMV X 線の併用に対しても同様の効果を得られた[論文 2]。しかし、DNA 標的型金ナノ粒子と高エネルギーMV X 線の併用に対して、細胞実験での実証データはまだない。本研究では、DNA 標的型金ナノ粒子と高エネルギーMV X 線との併用に対して、細胞レベルで治療効果上積みの検証を行い、次の動物実験や臨床応用への橋渡しのためのデータを得ることを目的とする。

## 2. 研究の対象と方法

金ナノ粒子にアミノ基を修飾し、表面をプラス電荷にすることで、DNA 標的型金ナノ粒子とした。比較として用いた従来型の金ナノ粒子は、合成の過程で用いたクエン酸により、表面電荷がマイナスとなっている。金ナノ粒子は、走査型透過型電子顕微鏡(STEM)による観察、ゼータ電位の測定、動的光散乱法による測定から特性を評価した(粒径、表面電荷など)。

DNA 標的型金ナノ粒子による放射線の増強効果を、細胞レベルで定量化して比較、および細胞毒性を調べた。放射線照射後の培養細胞の生存率を定量化した。細胞の生存率は、細胞のコロニー形成能力を指標として評価した。DNA 標的型金ナノ粒子のあり/なしで生存率曲線の変化を比較した。効果を検証するがん細胞として、ヒト由来の HeLa(子宮頸がん)を選んだ。

高エネルギーMV X線は、愛知県がんセンターのリニアック(放射線治療機)からの6 MV X線を用いた。

## 3. 研究結果

### がん細胞のコロニー形成試験の開始

本研究助成金のもと、細胞実験を行うための研究環境を整備することができた。今年度からは、細胞生存率の評価法として、放射線生物学分野でスタンダードとなるコロニー形成能の試験を始めた。効果を検証するがん細胞として、まずヒト由来の HeLa(子宮頸がん)に的を絞って、開始した。細胞への照射法を検討した結果、フラスコに封入した状態でX線を照射し、照射後にディッシュに播種し、コロニーを形成させる方法を採用した。照射した線量が均一であること、照射線量の正確さを、プレート下に置いたフィルムで確認した。実際の照射の様子を図1に示す。

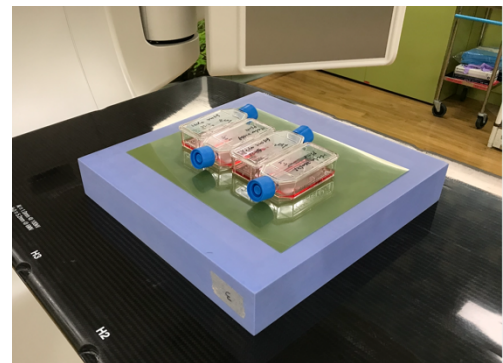


図1.がん細胞へのX線照射の様子

## がん細胞への効果実証

DNA 標的型金ナノ粒子(+AuNP)を細胞培養液に入れ、X線を照射した。+AuNPは、前年度の毒性試験の結果を参考とした濃度で投与した。また比較として従来型金ナノ粒子(-AuNP)を用いた。X線を照射し、線量を変えて、金ナノ粒子併用による細胞の生存率をコロニー形成試験から評価した。

まだプレリミナリーなデータであるが、DNA 標的型金ナノ粒子(+AuNP)と従来型金ナノ粒子(-AuNP)、および対象(Control)との間に、有意な効果増強を示唆する結果が得られている(図2)。

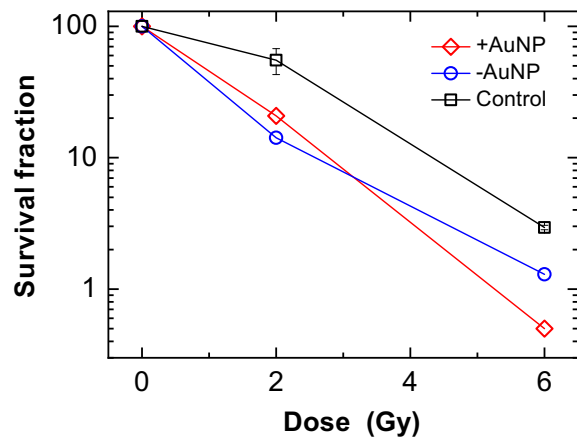


図2. X線照射後の細胞生存率

## 4. 考察

前年度からの本研究助成金のもと、DNA 標的型金ナノ粒子と高エネルギーMV X線の併用によって、X線誘発のDNA損傷対して増強効果の実証データを得られた。高エネルギーX線は現在の放射線治療の主流であり、本提案手法が多くのがん患者へ適応できる可能性を示すことができた(論文発表2)。

本年度は、がん細胞に対する治療上積みの検証実験として、X線照射後のコロニー形成能力の評価を始めた。プレリミナリーなデータながら、DNA 標的型金ナノ粒子による有意な効果増強を示唆する結果が得られてきた。今後、DNA 標的型金ナノ粒子の投与の最適化、さらにデータ数の追加を行い、実験データを固めていく予定である。さらに増強効果を最適化するため、がん細胞への集積性などを評価し、鍵となる因子を明らかにする。

本研究助成のもと、高エネルギーMV X線を用いた細胞実験での効果実証を行うことができ、有望な結果が出始めた。また金以外の新規ナノ粒子の研究(放射線ナノメディシンの開発)にも発展しており、今後数年でいくつかの成果へつながると考えられるデータを得ている。さらに学内研究費(2件)の獲得につながった。共同研究者の支援の輪も広がっており、今後、中・大型予算の獲得につなげていきたいと考えている。最後に、貴重な研究の機会をいただきました本助

成、また評価いただきました審査員の先生方、サポートいただきました事務局の方々に、心から感謝申し上げます。

## 5. 文献

1. JF Hainfeld, FA Dilmanian, DN Slatkin, HM Smilowitz, Radiotherapy enhancement with gold nanoparticles. *J Pharm Pharmacol* (2008), 60: 977-985.
2. P Retif, S Pinel, M Toussaint, C Frochet, R Chouikrat, T Bastogne, M Barberi-Heyob, Nanoparticles for radiation therapy enhancement: the key parameters. *Theranostics* (2015), 5: 1030-1044.
3. Y Chen, J Yang, S Fu, J Wu, Gold nanoparticles as radiosensitizers in cancer radiotherapy. *Int J Nanomedicine* (2020), 15: 9407-9430.
4. K Yogo, M Misawa, M Shimizu, *et. al.*, Effect of gold nanoparticle radiosensitization on plasmid DNA damage induced by high-dose rate brachytherapy, *Int J Nanomedicine* (2021), 16: 359-370.

## 6. 論文発表

1. 余語 克紀、[展望・解説] 放射線治療「せめる/まもる」薬剤の探索；輪ゴム DNA の損傷評価、放射線化学（115号）2023 4月
2. K Yogo, M Misawa, H Shimizu, T Kitagawa, R Hirayama, Ishiyama, H Yasuda, S Kametaka and S Takami, Radiosensitization Effect of Gold Nanoparticles on Plasmid DNA Damage Induced by Therapeutic MV X-rays, *Nanomaterials* (2022), 12(5): 771.
3. 余語克紀、平山亮一、保田浩志、三澤雅樹、総説「プラスミド DNA 損傷を指標とした放射線保護剤/増感剤の探索-放射線治療併用のアミノ酸と金ナノ粒子を中心として-」、放射線生物研究 *Radiation Biology Research Communications* 56(3), 260-279, 2021
4. 余語克紀ほか、がん治療用 X 線誘発の DNA 損傷に対する金ナノ粒子の放射線増感効果、第 12 回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム、2022 年 9 月 10 日 Web 開催；口頭発表
5. 余語克紀ほか、Study for radioprotector/radiosensitizer candidates using plasmid DNA assays,

第4回 CIBoG リトリート (第15回 NAGOYA グローバルリトリート)、2023年2月20日；  
ポスター発表

6. 余語克紀ほか、がん放射線治療 x イメージング x ナノテクノロジー > がん死 0 へ、名古屋大学医学部保健学科 2 回ヘルスサイエンス研究会、2023年4月26日；ポスター発表