

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

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する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 γ 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[5]。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。また、本手法がさらに粒子

線治療にも適用可能かどうか、粒子線誘発の DNA 損傷に対して、DNA 標的型金ナノ粒子の増強効果を調べる。

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。

DNA 標的型金ナノ粒子の DNA 損傷に対する増強効果を、粒子線(重粒子線など)による DNA 分子の切断能力の違いとして定量化し、比較した。プラスミド DNA と DNA 標的型金ナノ粒子 (64 ng / ml) を混合したバッファー溶液を 0.5ml エッペンチューブに封入して重粒子線照射を行った。効果判定は、重粒子線によるプラスミド DNA の form 変化を DNA 電気泳動により分離し定量化して行った。DNA 二本鎖切断(DSB)は直線状、一本鎖切断(SSB)は開いた環状、切断なしは超らせん状 DNA のバンドとなるため、照射前後のそれぞれの割合を算出した。

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 光子線は、名古屋大学 工学部 コバルト 60 照射室の γ 線、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

粒子線誘発の DNA 損傷に対する効果の検証

粒子線誘発の 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。現時点では、DNA 標的型金ナノ粒子が、重粒子線誘発の DNA 損傷(一本鎖および二本鎖切断)に対して有意な増強効果を示すデータは得られていない(図 1, 2)。

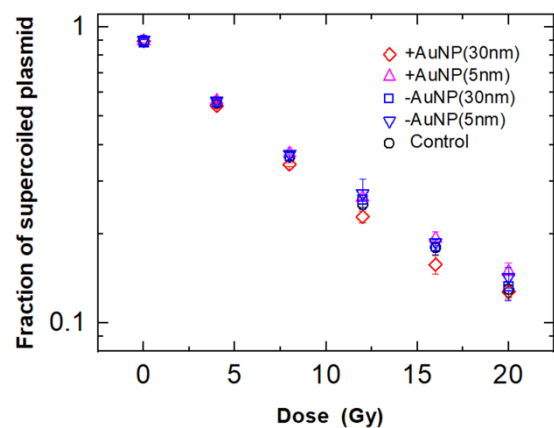


図 1. 重粒子線による DNA 一本鎖損傷

金ナノ粒子の表面電荷を、プラス/マイナス、および粒径を 5-30nm と変化させたが、有意な変化は見られていない。

がん細胞への効果実証

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。昨年度から、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)に的を絞り、開始した。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、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。今年度は、昨年度よりもさらに低濃度の+AuNP に対しても、増強効果を示唆するデータが得られた(未発表)。

4. 考察

今年度は、本手法がさらに粒子線治療にも適用可能かどうか、粒子線誘発の 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。まず重粒子線誘発の DNA 損傷を調べたが、現時点では、有意な増強効果を示すデータは得られていない。重粒子線誘発の DNA 損傷に対して、増強効果はないか、もしくは、検出感度よりも小さいと考えられる。増強効果は粒子線の線質に依存する可能性も考えられ、今後、他の粒子線に対する効果を調べるのが課題の一つである。

昨年度に続き、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進めた。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、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。また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

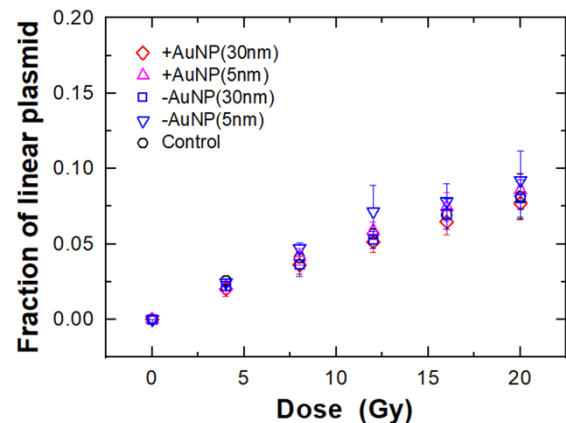


図2. 重粒子線によるDNA二本鎖損傷

る因子を明らかにする。

本研究助成のもと、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(放射線ナノメディスンの開発)にも発展しており、今後いくつかの成果へつながると考えられる。共同研究者の支援の輪も広がっており、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。量子科学技術研究開発機構(QST)の平山亮一博士の研究協力に感謝申し上げます。

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 Frochot, 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.
5. 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.

6. 論文発表

1. K Yogo *et al*, Luminescence imaging of water irradiated by protons under FLASH radiation therapy conditions, *Phys. Med. Biol.* (2023), 68: 15NT02.
2. 余語克紀ほか、放射線-光-ナノテクで目指す「がん死ゼロ」社会、名古屋大学医学部保健学科3回ヘルスサイエンス研究会、2024年4月22日；ポスター発表