

前立腺がん骨転移巣に対する抗 RANKL 抗体結合型 マグネタイトを用いた選択的温熱治療法の開発

名古屋市立大学大学院医学研究科

腎・泌尿器科学分野 講師 河合 憲康

中部大学

応用生物学部 准教授 堤内 要

名古屋市立大学大学院医学研究科

腎・泌尿器科学分野 大学院生 小林 大地

【緒言】私たちはサブミクロンオーダーの正電荷リポソーム包埋型磁性ナノ粒子 (Magnetic Cationic Liposome: MCL) を発熱体とする深在性がんの温熱治療を開発した。MCL だけが発熱する周波数で交番磁場発生装置によって磁場照射することで、がん組織のみの加温が可能である。前立腺がんを対象としてラット前立腺がん皮下移植モデル、ヒト前立腺がん細胞ヌードマウス皮下移植モデルを用いて実験を行い高い治療効果を得た。また前立腺がん骨転移モデルを用いて、骨転移に対する治療効果も示唆された。臨床応用を考えたときに経静脈的に MCL を投与し、選択的に目的病巣へ到達させる治療法の確立が必要となる。そこで末梢静脈から注射しても凝集しない、粒子が小さい新しい磁性ナノ粒子 (Magnetite Nano-particle: MNP) の開発が必要である。その上で標的臓器に対する抗体を結合した抗体結合型 MNP を開発し、経静脈投与し交番磁場照射によって選択的にがん転移巣を治癒する治療法の開発を目的とする。本研究ではがん転移の中でもがん骨転移の増悪の鍵となる Receptor activator of NF- κ B ligand RANKL に対する抗体を結合した MNP (抗 RANKL 抗体結合 MNP) を投与することで、がん骨転移巣に対する選択的な温熱治療法を開発することを目的として研究を行った。

【研究実施における今までの研究実績】

- 1). ラット前立腺がん細胞を用いてラット前立腺がん皮下移植モデルを作成し、これに対し磁場誘導加温法の治療効果を検討しラット前立腺がん腫瘍は増殖抑制されることが

確認された(Kawai N, et al. Prostate 2005;64:373-381)。

- 2). ヒト前立腺がん細胞株を用いたヌードマウス皮下移植モデルを用いた実験を行った。
ヒト前立腺がん細胞株 LNCap および PC-3 の 2 種類のいずれも増殖抑制のみならず、皮下腫瘍を完全退縮させることができた (Kawai N, et al. Prostate 2006;66:718-727)。
- 3). ラット頭頂部皮下にラット前立腺がんを移植し、頭頂骨浸潤モデルを作成し加温した。
前立腺がんは特異的に骨転移を起こすが、それは QOL と予後を規定する因子である。
そこで、磁場誘導加温法の前立腺がん骨転移巣治療の可能性を検討した。加温により骨浸潤は抑制され、骨転移巣治療の可能性が示唆された (Kawai N, et al. Prostate 2008;68:784-792)。しかし、このモデルでは研究途中でラットが死亡するという問題が残った。

ラット大腿部骨浸潤モデルを作成し、磁場誘導組織内加温法を実施した。再燃前立腺がんに対する臨床でもっとも使用される docetaxel との併用や docetaxel 単独例と骨浸潤巣への治療効果を比較した。docetaxel を併用しなくても、磁場誘導組織内加温法で十分に効果が認められた。

【結果】

1) 抗 RANKL 抗体結合 MNP の作成

Fe₃O₄ の重合体である MNP をポリ(ビニルピロリドン-co-メタクリル酸)ナトリウム塩 (P(VP-co-MA)) でポリマーコートする。N-シクロヘキシル-N'-(2-モルホリノエチル)カルボジイミド (CMCD) 試薬を用い抗 RANKL 抗体を結合させた。粒子径 14-15nm の径の小さい MNP ができ、さらに抗体を結合させることができた。

2) In vitro 細胞取込実験

RANKL を発現しているマウス骨芽細胞株を用いて、抗 RANKL 抗体結合 MNP の吸着を、鉄の濃度を用いて評価した。100mm シャーレに 1.0×10^6 の MC3T3-E1 を培養し、1mg/ml の抗 RANKL 抗体結合 MNP 200 μ L を添加した。4 時間振盪培養をした後、細胞を回収して溶解した。その後、鉄濃度を測定し、1 細胞あたりに取り込まれた MNP 量を算定した。抗 RANKL 抗体結合 MNP はコントロールとした抗 HER2 抗体結合 MNP より有意に MC3T3-E1 に結合していることが示された。

3) in vivo 抗 RANKL 抗体結合 MNP を用いた集積の確認と磁場誘導加温法

ラット前立腺癌細胞 PCa1 (Prostate. 2012; 72:533-541) を SD ラットに皮下移植したが、本研究期間内では生着を確認することができなかった。BALB nu/nu マウスに尾静脈から注射したが本研究期間中に骨転移モデルを確立することができなかった。BALBc nu/nu

の皮下移植モデルを用いて、皮下に抗 RANKL 抗体結合 MNP を局注して、交番磁場を照射すると発熱することを認めた。1), 2) で in vitro までは標的指向性がある抗 RANKL 抗体結合 MNP を作成することはできた。しかし、3) の in vivo では標的指向性とさらに温熱効果を確認するまでにはいたらなかった。