

パーティクルを使用した、放射線による、抗癌剤、癌免疫療法剤の標的療法の開発。

Targeted cancer chemotherapy and immunotherapy, using radiosensitive particles, directed by radiation.

原田 聡¹⁾ 佐藤 隆博²⁾
Satoshi HARADA Takahiro SATOH

¹⁾岩手医科大学大学 ²⁾高崎量子応用研究所イオンビーム開発研究室

（概要）

放射線に反応して、抗癌剤、免疫療法剤を放出するパーティクルを作成。そのパーティクルを、左下腿に腫瘍を移植したマウスに、静脈から注入する。注入一定時間後に、腫瘍を照射し、マウスを屠殺、腫瘍を剖出、大気 micro PIXE camera のターゲットに加工する。次に、パーティクルに含まれる Fe、抗癌剤や免疫療法剤に含まれる Pt を micro PIXE camera を用いて画像化する。腫瘍内のパーティクル画像より、放射線による腫瘍内のパーティクルからの抗癌剤、免疫療法剤の放出率を計測する。放出された抗癌剤と放射線照射による抗腫瘍効果増強、抗癌剤限局化作用による副作用軽減について検討する。

キーワード：

Micro PIXE camera, 放射線, Drug Delivery System (DDS), 抗癌剤, 免疫療法剤

1. 目的

実験目的を、(I) 当方で施行可能な実験と、(II)機施設にて施行する実験の2点に分けて記載する。

(I) 放射線に反応して抗癌剤を放出する Particle（以下、放射線感受性パーティクルと略記）の P-selectin 抗原標識化、および放射線照射による P-selectin 抗原誘導の観察。放出された抗癌剤と放射線の併用による抗腫瘍増強効果の測定、パーティクルによる抗癌剤限局化作用による抗癌剤副作用軽減作用の測定。

(II) 腫瘍に放射線を照射した担癌マウスにおける、P-selectin 抗原標識放射線感受性パーティクルの静脈注入後の腫瘍への集積と、集積したパーティクルへの放射線照射による、パーティクルからの抗癌剤、あるいは免疫療法剤の放出。

2. 実施方法

下記の実験を本学と貴施設で施行する。本学で施行する項目は、①、②、④、⑥、貴施設で施行する項目は③、⑤である。

- ① C3He/N マウス（6 週年齢、♂）の左下腿に移植した、マウス乳がん腫瘍、MM48、MM46 に対して、100 KeV X 線、10, 20, 30 Gy を照射し、照射 1, 3, 6, 9, 12, 24, 48 時間後に腫瘍採取、腫瘍の一部から免疫染色法により P-selectin 誘導率を測定、その最大となる時点を求める。
- ② P-selectin 抗原誘導が最大となった時点で、P-selectin 抗体で標識した放射線感受性パーティクルを尾静脈より注入、経時的に腫瘍を剖出、micro PIXE camera のサンプルに加工する。
- ③ ②貴施設で micro PIXE camera で腫瘍中のパーティクルを画像化し、経時的集積を観察、その最大となる経時的観察点を求める。
- ④ 腫瘍へのパーティクル集積が最大となった時点で、第 2 回目の 100 KeV X 線、10, 20, 30 Gy を照射し、照射 1 時間後に腫瘍を剖出、micro PIXE camera のサンプルに加工する。
- ⑤ Micro PIXE camera を施行し、腫瘍中のパーティクルからの放出を観察、破裂率を算出する。
- ⑥ 上記①～⑤と同条件での Treatment を施行し、Growth delay 法で治療効果増強を計測する。副作用軽減作用計測のため、マウスの毛羽立ち、下痢、死亡も観察する。

3. 結果及び考察、今後の展開等

結果：

- ① 放射線照射後、72 時間後に P-selectin の誘導は 10, 20, 30 Gy 照射時ともに照射 72 時間後に、照射線量依存性に最大となり、 $55.1 \pm 1.7\%$ までの細胞が P-selectin 陽性となった。
- ② 照射 72 時間後に P-selectin 抗体で標識した放射線感受性パーティクルを尾静脈より注入した。
- ③ パーティクル注入後 12 時間で腫瘍へのパーティクル集積が完了する事を確認した。
- ④ パーティクル注入 12 時間後に第二回目の放射線照射を施行、その 1 時間後のパーティクルからの抗癌剤放出（カルボプラチン放出）を、パーティクルの放射線による破裂率で計測した。破裂率は線量依存性に増加し、最大 $68.6 \pm 3.9\%$ であった。
- ⑤ 上記①～④の治療の結果、放射線と放出された抗癌剤との併用効果により、抗腫瘍効果は EF 1.4 と増強し、パーティクルによる抗癌剤限局化作用のため、副作用は有意に低下した。

考察、および今後の展望；

放射線感受性パーティクルを用いた抗癌剤標的化は、放射線-抗癌剤併用療法における、抗腫瘍効果増強と副作用軽減に効果的と考えられた。今後、臨床応用に発展させるつもりである。

4. 引用(参照)文献等

1. S Harada, S Ehara, K Ishii, H Yamazaki, S Matsuyama, T Sato, et al. Targeted delivery of chemotherapeutic agents using improved radiosensitive liquid core microcapsules and assessment of their antitumor effect. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2009; 75:455-62.
2. S Harada, S Ehara, K Ishii, A Tanaka, T Sato, S Matsuyama, et al. Improved radiosensitive microcapsules using H202. Int J PIXE 2010; 20:29-36.
3. S Harada, S Ehara, K Ishii, A Tanaka, T Sato, S Matsuyama, et al. Increasing antitumor effects of chemoradiotherapy by drug efflux inhibition with encapsulated Anti-RLIP-76. Int J. PIXE 2011; 21:39-46.
4. S Harada, S Ehara, K Ishii, H Yamazaki, S Matsuyama, T Sato, et al. Decreasing size of radiosensitive capsules from micro to nano, and its increased antitumor effect and decreasing adverse effect. I Int J PIXE 2012; 22:57-64.
5. V. Torchilin. Tumor delivery of macromolecular drugs based on the EPR effect. Adv Drug Deliv Rev 2011; 63:131-5.
- 22
6. S Harada, S Ehara, K Ishii, T Sato, M Koka, et. al. Targeted concurrent chemoradiotherapy, by using improved, microcapsules that release carboplatin in response to radiation, improves detectability by computed tomography as well as antitumor activity while reducing adverse effect invivo. Biomed. Pharmacother. 2015; 70: 196-205.
7. T. Segawa, S. Harada, T. Sato, S Ehara. Delivery and Effectiveness of Carboplatin via Targeted Delivery Compared to Passive Accumulation of Intravenously Injected Particles Releasing Carboplatin upon Irradiation. Radiat. Res. 2020; 193: 263-273. 2020.
8. Denis E Hallahan and Subbulakshmi Virudachalam. Accumulation of P-selectin in the lumen of irradiated blood vessels. Radiat. Res. 1999; 152: 6-13.
9. G. Hariri, Y. Zhang, A. Fu, et. al. Radiation-Guided P-Selectin Antibody Targeted to Lung Cancer. Ann Biomed Eng. 2008; 36(5): 821-830.
10. Hong J, Zhang Z, Lv W, Zhang M, Chen C, Yang S, et al. Icaritinsynergistically enhances the radiosensitivity of 4T1 breast cancer cells. Plos One 2013; 8:1-9.
11. de Souza CM, Araujo e Silva AC, de Jesus Ferraciolli C, Moreira GV, Campos LC, dos Reis DC, et al. Combination therapy with carboplatin and thalidomide suppresses tumor growth and metastasis in 4T1 murine breast cancer model. Biomed Pharmacother 2014; 68:51-7.
- 12 Donnelly ET, Kelley M, Rockwell S. Effects of RSR13 and oxygen on the cytotoxicity of cisplatin and carboplatin to EMT6 mouse mammary tumor cells in vitro and in vivo. Cancer. Chemother Pharmacol 2004; 53:43-50.

13. Moulder JE, Rockwell S. Hypoxic fractions of solid tumors: experimental techniques, methods
23
of analysis, and a survey of existing data. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1984; 10:695-712.
- 14 Harada S, Ehara S, Ishii K, Tanaka A, Sato T, Matsuyama S, et al. Improved radiosensitive
microcapsules using H2O2. Int. J. PIXE 2010; 20:29-36.
15. Harada S, Ehara S, Ishii K, Tanaka A, Sato T, Matsuyama S, et al. Increasing antitumor effects of
chemoradiotherapy by drug efflux inhibition with encapsulated Anti-RLIP-76. Int. J. PIXE 2011;
21:39-46.