

表在性膀胱がんに対する超音波・酸化チタンナノ粒子併用療法の開発

2009年3月修了 先端生命科学専攻 がん先端生命科学分野

学生証番 76503 氏名 荒川寛茂

指導教員 松村保広准教授

キーワード 超音波・酸化チタン・活性酸素・膀胱がん

【背景】

膀胱がんは腫瘍が粘膜層にのみ存在する表在性膀胱がん、筋層にまで浸潤し、転移・浸潤する可能性のある浸潤性膀胱がんの2つに大別される。初期診断において約8割が表在性膀胱がんとして発見されるため、現行の膀胱がん治療は表在性膀胱がんに対するものが主となっている。現在、表在性膀胱がんの標準的治療法には、尿道からカテーテルを挿入し外科的手術により腫瘍を取り除く経尿道的切除術（TUR-BT：Transurethral resection-bladder tumor）が主として行われ、追加治療としてTUR-BT後にmitomycin・doxorubicin等の抗がん剤膀胱内注入、さらに結核菌（BCG：Bacillus Calmette-Guerin）の膀胱内注入が行われている。しかし、追加治療を行っても高頻度で再発を繰り返し、より悪性度の高い浸潤性膀胱がんに進行する事が多い。また、BCGの膀胱内注入においては炎症や発熱などの副作用が起こることも問題となっている。初期治療後、膀胱がんが高頻度に再発・進行した際の根治術は腫瘍を含めた膀胱全摘術のみであり、その術後には患者は自己排尿が不可能になるため尿路の再建として尿路変向術（回腸導管造設術・自排尿型新膀胱造設術・導尿型新膀胱造設術）が必要となる。そのどれもが煩わしさや機能不安定等の問題があり患者の生活の質（QOL：Quality of life）が著しく低下してしまう。

以上のことから、表在性膀胱がんに対する治療法として既存のものとは比べて副作用を軽減し、より効果的に再発を防止出来るものの開発が求められている。

【目的】

本研究では、光触媒として知られている酸化チタン（TiO₂）に超音波（US：Ultrasound）を照射することにより細胞に対して毒性を持つ活性酸素を発生させ、それにより、がん細胞を殺すという全く新しい表在性膀胱がん治療法の開発を目指している。光触媒とは紫外線（UV：Ultraviolet）照射によって励起されることで粒子表面に活性酸素を発生させ、その酸化作用により有機物分解能や脱色作用を持つ材料のことである。この光触媒作用を持つTiO₂が超音波照射によっても活性酸素を発生させるという新たな知見が得られたので、その作用を再発率の高いがん種として知られる表在性膀胱がんの治療法に応用しようと考えた。この治療方法確立の利点としてUSがUVに比べて生体内到達深度が深いということ、皮膚表面での火傷などの副作用が低いということ、そして、US照射のON/OFFにより活性酸素発生の制御が容易である点が挙げられる。さらに、膀胱は他の臓器と比べて尿道を介して外部からのアクセスが比較的容易であり、かつ閉鎖的空間であるため、臨床応用するにあたり全身投与に不向きなTiO₂粒子などの金属を用いた治療を局所で効果的に行うことが可能な部位である。

【結果と考察】

TiO₂ に US を照射することで活性酸素の一種である 1 重項酸素が発生することを、活性酸素検出用蛍光試薬を用いて明らかにし、膀胱がん細胞株である RT112 の US×TiO₂ ナノ粒子併用療法による殺細胞効果を *in vitro* において確認した。また、活性酸素の Scavenger である L-histidine 処理を行うことで、1 重項酸素の発生が抑制され、さらに、US×TiO₂ ナノ粒子併用療法による殺細胞効果がキャンセルされるということを明らかにした。以上のことから、US×TiO₂ ナノ粒子併用療法により引き起こされる殺細胞効果は活性酸素種に依存しているということが示唆された。

効率的に腫瘍組織に活性酸素を作用させることを目的とした TiO₂ 粒子の active targeting を達成するため、immuno-TiO₂ nanoparticle を考え、その target 分子として、腫瘍マーカーとして用いられている EpCAM・CD44v6 という 2 種類の抗原が RT112 に発現しているか解析を行い、共に強発現していることを確認した。

TiO₂ ナノ粒子のマウス膀胱内注入および尾静脈投与後の、血清生化学検査・腎臓と肝臓の HE 染色標本における生化学的・病理学的評価により、TiO₂ ナノ粒子の生体への急性毒性は低いことが示唆された。

皮下腫瘍モデルマウスを用いて US×TiO₂ ナノ粒子併用療法による *In vivo* 治療実験を行い、治療効果を実証した。

膀胱がん細胞株である RT112 に Luciferase を強制発現させた RT112^{LUC} を作成・単離し、その細胞株を用いて体外から膀胱内腫瘍体積を非侵襲的に評価可能な表在性膀胱がん同所移植モデルマウスを作成した。

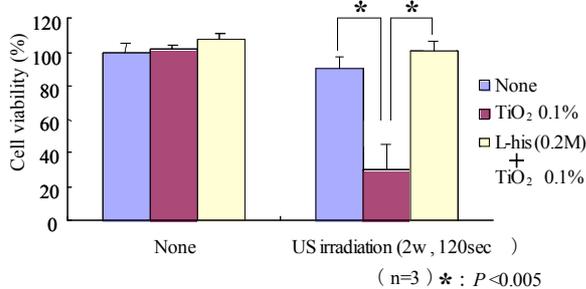


図1 活性酸素による殺細胞効果検証実験 (*in vitro*)
膀胱がん細胞株RT112を用いてUS出力0-2w, 照射時間120secにて無処理群・TiO₂×US・TiO₂×US×Scavenger 処理の3群を比較 (Student's *t*-test : mean ± SD)

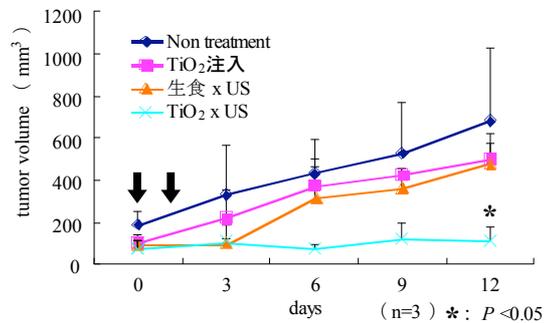


図2 *in vivo* 治療実験
膀胱がん細胞株RT112を用いて皮下腫瘍モデルを作成し、US出力0-2w, 照射時間120secにて無処理群・TiO₂ 注入のみ・生理食塩水×US・TiO₂×USの4群を比較 (Student's *t*-test : mean ± SD)

今後、TiO₂ 粒子表面に腫瘍特異的に発現する抗原に対する抗体を修飾した immuno-TiO₂ nanoparticle が完成し、その粒子を使用することで、副作用が低く効果的な治療が行えるよう、より一層の努力を続けるとともに、この研究がさらに進み表在性膀胱がんの標準治療法として確立し、臨床の現場で広く使用されることで、患者にとって副作用の少ない有意な治療法となることを期待する。