

医療分野研究成果展開事業/産学共創基礎基盤研究プログラム（産学共創）

平成 27 年度成果報告書（公開）

研究代表者 (所属機関・氏名)	京都府立医科大学 大学院医学研究科 大辻 英吾
参加機関	東京工業大学
研究開発課題	5-アミノレブリン酸（5-ALA）とランタニドナノ粒子（LNP）併用による深部微小癌局在診断技術の構築

## 1. 研究開発の目的

一般に、進行した消化器癌の外科手術の成績は良くないが、正確な病期病態診断ができれば、個々の患者に適した治療法を選択できるとともに、手術における切除範囲不足による再発の可能性も軽減できる。さらに、肉眼では捉えることができないリンパ節転移などの微小な癌転移の存在診断が可能となれば、過不足のないオーダーメイド手術や他の治療法選択が可能となる。このような微小転移巢の可視化する方法として光線力学診断が可能性を秘めているが、従来の光線力学診断は主に深達性の低い紫外～青色光を励起光として用いている事が問題となる。そこで本研究では、深達性の高い近赤外線（NIR）励起による深部微小転移を中心とした深部癌病巣の光線力学診断法の開発を目的とする（図1）。この方法は、5-アミノレブリン酸（ALA）の内服により光感受性物質であるプロトポルフィリン IX（PPIX）が癌特異的に集積する事、ランタニドナノ粒子（LNP）が正常組織の血管に比べて物質透過性が高い癌組織にある新生血管から透過・移行し、滞留し易いという EPR 効果 (Enhanced Permeation and Retention effect) を利用する。

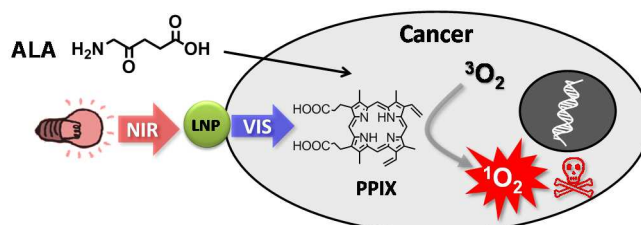


図1. 近赤外線励起による深部微小転移巢の光線力学診断法の開発

## 2. 研究開発の概要

- ①ランタニドナノ粒子（LNP）の合成：肝臓によって排出されにくく、癌細胞を標的とし、かつポルフィリンを強く励起できる 400 nm 付近に発光の大きい LNP 合成を目標とし、最適な合成プロトコールの開発を行い、糖または癌マーカー抗体で修飾され、かつ種々の直径をもつ LNP を合成する。
- ②癌細胞を用いた光線力学診断の条件検討：LNP および 5-ALA を用いた光線力学診断の in vitro での評価を、培養細胞を用いて行う。これらの結果を踏まえ、動物モデルへと適用範囲を拡げ、LNP の癌細胞への集積、近赤外線による癌細胞の可視化について検討する。
- ③正常細胞を用いた毒性試験：正常細胞を用いて種々の LNP の細胞毒性試験を行う。

### 3. 研究開発の成果（平成 27 年度）

#### （1）種々の組成を持つ LNP の安定供給（大量合成）【東京工業大学】

種々の合成法を検討した結果、LNP (Er) は  $\text{NaYF}_4(\text{Yb}/\text{Er} 40/2)$ 、LNP (Tm) は  $\text{NaYF}_4(\text{Yb}/\text{Tm} 20/0.7)$  の組成で発光強度が最大となった。これまで LNP (Er) の PPIX 励起能のみ確認していたが、LNP (Tm) にも励起能があることを見出した。これら発光強度の大きい LNP を安定に供給できる体制ができあがった。

#### （2）被膜分子と癌細胞に特異的に吸着するリガンド分子の検討【東京工業大学】

多くの癌細胞で過剰発現が認められている上皮成長因子受容体 (EGFR) のリガンドである上皮成長因子 (EGF) を LNP と結合させると、LNP の胃癌細胞 MKN45 への吸着が確認され、PPIX 励起能の向上も確認された。また、癌細胞はグルコース輸送体も過剰発現するため、グルコースと LNP の複合体を用いると、MKN45 細胞には吸着せず、子宮頸癌 HeLa 細胞には良く吸着し、PPIX 励起能も向上した。

#### （3）LNP の癌組織への集積の向上【京都府立医科大学】

LNP の単回投与では、腫瘍を摘出し、さらに EMCCD カメラでの撮影でかつ積算画像でないと LNP の発光により励起された PpIX が確認できない。しかし、初回の LNP 投与後 2 日後に再度 LNP を投与することで、腹腔内の播種巣でも EMCCD で積算すると観察が可能となった。さらに摘出すると積算することなしに腫瘍が確認できた。

#### （4）マウス腹膜播種の腹壁外からの観察【京都府立医科大学】

LNP と 5-ALA を投与し、バンドパスフィルターを用い、近赤外照射を行うと、体表からの観察でも、皮膚筋層を通過して腹膜播種の観察が可能であることを見出した。このことより LNP と 5-ALA を併用することは深部の癌に対する診断につながると考えられた。