

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 革新的がん医療実用化研究事業
(英語) Practical Research for Innovative Cancer Control
- 研究開発課題名： (日本語) 口腔がんに対する磁性抗がん治療薬の実用化
(英語) A novel treatment for oral cancer using intrinsic magnetized paclitaxel
- 研究開発担当者 (日本語) 公立大学法人横浜市立大学大学院医学研究科 循環制御医学
教授 石川 義弘
- 所属 役職 氏名： (英語) Yokohama City University Graduate School of Medicine
Professor and Chair, ISHIKAWA Yoshihiro
- 実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日
- 分担研究 (日本語) 口腔がんに対する磁性抗がん治療薬の実用化
開発課題名： (英語) A novel treatment for oral cancer using intrinsic magnetized
paclitaxel
- 研究開発分担者 (日本語) 公立大学法人横浜市立大学大学院医学研究科 口腔外科学
教授 藤内 祝
- 所属 役職 氏名： (英語) Yokohama City University Graduate School of Medicine
Oral and Maxillofacial Surgery
Professor, TONAI Iwai
- 分担研究 (日本語) 口腔癌治療の検討
開発課題名： (英語) Study of oral cancer treatment
- 研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構 放射線医学総合研究所
分子イメージング診断治療研究部 機能分子計測チーム
チームリーダー 青木伊知男

所属 役職 氏名: (英 語) Functional and Molecular Imaging Team, Department of Molecular Imaging and Theranostics, National Institute of Radiological Sciences (NIRS), National Institutes for Quantum and Radiological Science and Technology (QST) Team Leader: Ichio Aoki

分 担 研 究 (日本語) MRI 技術開発

開 発 課 題 名: (英 語) Development of MRI technique

II. 成果の概要 (総括研究報告)

和文

現在、本研究の内容は論文投稿準備中であるため非公開とする。

研究開発代表者である石川義弘教授らのグループは、横浜市立大学 江口晴樹客員教授の協力の下、独自に開発した市販薬の薬効成分の磁性化技術を用いて、臨床でもがん治療の多くに使用されている化合物 X の磁性化に成功した。磁性化合物 X は磁石に引き寄せされる性質があるため、生体に投与した後、体外から磁石を用いることで、ドラッグデリバリーが可能である。さらには、磁性という特徴のため、MRI の T2 強調画像で濃度依存的に低信号を示す(黒く写る)ことが分かっている。

最初に、化合物 X が磁性化後も磁性化前の抗腫瘍効果を保持しているかの確認を培養細胞を用いて行った。その結果、磁性化前の市販化合物 X と同様の抗腫瘍効果を示すことが分かった。また、磁性化前の化合物 X が示すような、G2/M 期での細胞周期停止作用やアポトーシス誘導作用についても同様の傾向を示した。以上より、磁性化合物 X は市販化合物 X と同等の抗腫瘍効果とその抗腫瘍メカニズムを示すことが分かった。

横浜市立大学 口腔外科学教授である藤内祝教授の協力のもと磁性化合物 X を口腔がん腫瘍モデルマウスの尾静脈に投与し、体外から磁石のついた特殊ジャケットを腫瘍部位に当てておき、化合物 X が集積するかを確かめた。腫瘍を摘出し、特殊染色を行ったところ、磁石未使用のマウスではほとんど染色されていないのに対して、磁石を使用したマウスでは染色が確認できた。以上より、磁石により磁性化合物 X は任意の場所に集積することができることがわかった。

上記の結果を基盤として、実際に口腔がん腫瘍モデルマウスに対して、磁性化合物 X を用いて治療を行った。その結果、磁石未使用群でも腫瘍抑制効果を認めたが、磁石を用いることでより強い腫瘍抑制効果があることが確認できた。

MRI の実験においては、分担研究者である国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構 放射線医学総合研究所・分子イメージング診断治療研究部 青木伊知男チームリーダーらのグループの協力のもと、口腔がんモデルマウスに対して磁性化合物 X と市販化合物 X を投与する群で MRI 撮影を行った。マウスの舌に腫瘍を作り、それぞれのマウスの腫瘍部に磁石を当てて磁性化合物 X もしくは化合物 X の磁石集積が MRI で確認されるか検討した。その結果、T2 強調画像において磁性化合物 X 投与群で薬剤の集積が確認された。市販化合物 X では確認できなかった。臨床試験に関しては、横浜市立大学 浦野勉客員教授のアドバイスをもとに計画した。臨床応用を念頭に GMP 基準での合成を行うため再現性のある磁性化合物 X の合成をを行い、プロトコルの確立に成功している。

以上より、磁性化合物 X は磁石を用いることで生体内の任意の場所に集積し、効果を示すことで副作用が少なく、効果の高い口腔がん治療が可能になる可能性が高いと思われる。

英文

We previously reported a novel magnetic organic compound, N,N'-bis(salicylidene)ethylenediamine iron Fe(Salen), as an anti-cancer agent with intrinsic magnetic property (Eguchi H, Ishikawa Y et al, *Scientific Reports*, 2015). In addition to anticancer effect, its magnetic property allowed us to achieve the following outstanding functions: 1) It can be attracted by a magnet. 2) It can be visualized by magnetic resonance imaging (MRI). 3) It *per se* generates cytotoxic heat when exposed to alternating magnetic field (AMF).

In the course of our stud with the cooperation of Prof. Eguchi in Yokohama City University, we identified the magnetic chemical key structure of Fe(salen) generating the magnetic property using Super Photon ring-8 GeV (Spring 8) (RIKEN). This result showed that the unique angle configuration of Fe-O-Fe (146.359 °) in the crystal structure of Fe(Salen) plays an important role in generating original magnetism. Based on the proven magnetic performance of Fe(Salen) that is attributed to its specific molecular structure, we primarily hypothesized that the Fe(Salen) molecule can endow a commercially available anti-cancer drug, compound X, with intrinsic magnetic property by chemically tethering the drug counterpart. Compound X, as one of the most studied chemotherapeutic molecules in the history of medicinal chemistry, revealed that the pharmacological activity is closely associated with its chemical structure. Here, we have designed specific covalent linkage of the Fe(Salen), to a commercial available drug, such as compound X. Fe(Salen) serves as a magnetically-responsive scaffold, generating the magnetic property in addition to the classic cytotoxic property of compound X. Therefore, such a covalent coupling each low molecular weight anti-cancer drugs can be an effective method for improving the therapeutic index of clinically used agents. Our aim is to developing a novel treatment using M- compound X on oral cancer.

In 2014 and 2015, the magnetic characterizations of the magnetized compound X (hereafter M-compound X) revealed that the M-compound X exhibits spontaneous magnetization, enabling them easily attracted by a permanent magnet. Besides, they exhibited similar anti-cancer effect to original compound X in human oral cancer cell lines (OSC-19 and HSC-3 cells), while they induced apoptosis and specific arrest in cell cycle analysis, suggesting that M-compound X retained the characteristic as derived from compound X itself.

In *in vivo* study with the cooperation of Prof. Thonai in Yokohama City University in 2016, a magnet attachment from outside of body increased the anti-cancer effect of M-compound X on mice models that implanted with HSC-19, compared with control or administration without a magnet. Furthermore, we established the repeatable protocol of M-compound X. In a MR imaging of the M-compound X with the cooperation of Dr. Aoki in National Institute of Radiological Sciences (NIRS), noticeable contrast intensity was obtained *in vitro* and *in vivo*, whereas no signal in the compound X.

In conclusion, M-compound X might increase the anti-cancer effect at the focal site to treat and decreased the systematic drug concentration, resulting in reduction of side effect. In this regard, various conventional anti-cancer drugs could be similarly magnetized, permitting novel synergistic drug development toward the future cancer chemotherapy.

研究開発代表者： 公立大学法人横浜市立大学 循環制御医学 石川 義弘
総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌0件、国際誌3件）

1. Sato I, Umemura M, Mitsudo K, Fukumura H, Kim J-H, Hoshino J, Nakashima H, Kioi M, Nakakaji R, Sato M, Fujita T, Yokoyama U, Okumura S, Oshiro H, Eguchi H, Tohnai I and Ishikawa Y : Simultaneous hyperthermia-chemotherapy with controlled drug delivery using single-drug nanoparticles. *Scientific Reports*, 2016, 6:24629.
2. Kim J-H, Eguchi H, Umemura M, Sato I, Yamada S, Hoshino Y, Masuda T, Aoki I, Sakurai K, Yamamoto M, and Ishikawa Y : Magnetic metal complex-conducting copolymer core-shell nanoassemblies for single-drug anticancer platform, *NPG Asia Materials*, 2017, 9, e367.
3. Ohtake M, Umemura M, Sato I, Akimoto T, Oda K, Nagasako A, Kim J-H, Fujita T, Yokoyama U, Nakayama T, Hoshino Y, Ishiba M, Tokura S, Hara M, Masuda T, Aoki I, Takemura Y, Eguchi H, Kawahara N and Ishikawa Y : Hyperthermia and chemotherapy using Fe(Salen) nanoparticles might impact glioblastoma treatment, *Scientific Reports*, 2017, 7: 42783.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 大竹 誠、梅村 将就、秋本 大輔、江口 晴樹、石川 義弘、川原 信隆：神経膠芽腫に対する有機磁性体化合物を用いた化学温熱同時療法。第75回日本脳神経外科学術集会総会，福岡，2016年9月
2. Kim JH, Eguchi H, Umemura M, Ishikawa Y : Anticancer Nanomagnet-loaded Smart Nano-Ensembles for Magneto-Drug Delivery, MRI, and Hyperthermal Cancer Targeting. AsiaNano, Sapporo, 2016.3
2. Nakakaji R, Umemura M, Ohtake M, Oda K, Kioi M, Eguchi H, Tohnai I, and Ishikawa Y : An application of a novel intrinsic magnetized paclitaxel for oral cancer. 第75回日本癌学会学術大会，横浜，2016.10
3. Umemura M, Oda K, Ishikawa Y : The function of Transient Receptor Potential Canonical 3 (TRPC3) Channel in cell proliferation. The 94th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, Hamamatsu, 2017,3

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当なし

(4) 特許出願

1. 日本：特願 2016-549888 号
2. シンガポール：11201702260R
3. EU：14902283.2