

放射線プロテクション機能を有するナノメディシンの開発

研究代表者

長崎 幸夫 筑波大学数理物質系 教授

共同研究者

松本 孔貴 筑波大学医学医療系 助教
(現 同大附属病院 助教)



1. 研究の背景と達成目標

放射線は原発事故や核戦争など一歩間違えると極めて危険であるものの放射線治療やラジウム温泉など、適正に利用すれば人類社会に大きく寄与する「諸刃の剣」の代表例である。しかし世界的に行われている放射線治療に対しても多くの患者がその副作用に苦しんでいる状況は否定できない。安全で効果の高い放射線保護剤は放射線を効果的に利用できる上で人類の悲願であり、特に福島原発事故で苦しむ人々にとって、喫緊の課題である。事故後6年経過しても炉心近傍で500シーベルト以上の高度汚染が報告され、今後何年かかるかが懸念される。申請者らは最近、抗酸化剤を自己組織化することにより、副作用が無く、強い活性酸素種消去能を有するRNP(図1)が放射線の保護に有望であることを見だし、本研究では①その設計の最適化、②毒性評価及び③放射線プロテクション効果に関して検討することを目標とした。

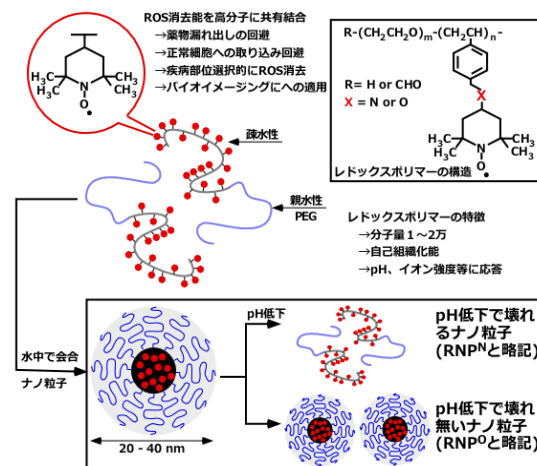


図1 悪玉活性酸素種を選択的に除去する新しいレドックス高分子の設計

2. 主な研究成果と社会、学術へのインパクト

- 放射線被曝に対するダメージを低減する分子組織型抗酸化剤(RNP)を設計した。
- RNPは細胞毒性や遺伝子突然変異誘導発能を有さず、一週間程度ではほぼ完全に排出されることを確認した。
- 担がんマウスに対する被曝プロテクション効果を既存薬、アミフォスチンと比較検討したところ、RNPは被曝に伴う体重減少や延命効果で著しい効果を発揮した。しかも腫瘍増殖抑制効果はほぼ同等か若干RNPが優位であった。
- 世界的に放射線がん治療が行われている現状で、その治療効果を低減させることなく、副作用を著しく低減させるRNPは非常に有望であるだけでなく、将来の宇宙旅行や原発事故除染作業など、様々な用途が期待される。

3. 研究成果

i. 材料の合成

親水性のポリエチレングリコール(PEG)末端からクロロメチルスチレン(PCMS)を重合せしめ、得られたPEG-*b*-PCMSのクロロメチル基にNH₂-TEMPOをアミノリシス反応により導入させ、抗酸化能を有するブロック共重合体PEG-*b*-PMNTを合成した(図省略)。

ii. RNPの作製

PEG-*b*-PMNTをDMFに150mg/mLの濃度で溶かし、その溶液を透析膜に入れて密閉し、蒸留水に対して透析を行うことでRNPを作製した。蒸留水は透析開始から2、4、8、20時間ごとに交換し、24時間後に透析膜内の溶液を回収した。RNPは動的光散乱法(DLS)により、粒径と粒径分布を測定した(図略)。粒径(Z-Ave)は34nm、多分散指数(PDI)は0.17となり粒径分布がそろった粒子の作製に成功した。

iii. マクロファージ細胞(RAW264.7細胞)、ヒト白血病Tリンパ芽球細胞(MOLT-4)を10³cells/wellで96ウェルプレートに播種した。24時間培養後にRNPを500μMから2倍希釈で投与した(n=5)。その24時間後にWST-8アッセイによって450nmの吸光度を測定することにより、細胞生存率を測

定したところ、どの濃度においても細胞生存率が90%を超える結果が得られた。以上より500 μ M以下のRNPでは細胞毒性が見られないことが確認された(図略)。

iv.RNPの放射線保護効果

RNPの効果検証のため、Colon-26(マウス大腸がん細胞)を用いて、担がんマウス(BALB/C、5週齢、雌)を作製し、これを用いて動物実験を行った。放射線保護効果の評価のためにRNPを皮下投与後、大腿部に移植した腫瘍組織を中心に放射線を照射した。比較対照として、生理食塩水(Saline)を投与した群も用意した。全ての群に於いてn=7とした。

- | | |
|--------------------------|--------------------------|
| ① 正常マウス、放射線照射無し、生理食塩水投与 | (0Gy + Saline w/o tumor) |
| ② 担癌マウス、放射線照射無し、生理食塩水投与 | (0Gy + Saline) |
| ③ 担癌マウス、20Gy照射+生理食塩水投与 | (20Gy + Saline) |
| ④ 担癌マウス、20Gy照射+アミフォスチン投与 | (20Gy + Amifostine) |
| ⑤ 担癌マウス、20Gy照射+RNP投与 | (20Gy + RNP) |

照射後19日目まで2-3日おきにマウスの体重と腫瘍のサイズを計測した。図2aに示すように、20Gyの放射線照射は、腫瘍成長を優位に抑制した。また、アミフォスチン投与群(20Gy+Amifostine)やRNP投与群(20Gy+RNP)に於いての腫瘍の抑制効果は、生理食塩水投与群(10Gy+Saline)をより上回る傾向にあった。RNPは腫瘍集積傾向があるにもかかわらず、腫瘍増殖抑制効果を維持することは興味深い。図2bに体重増減の推移を示す。未照射担がんマウスは10日を過ぎて著しい体重減少を示すのに対し、照射群は5日程度体重減少をしました。しかし、RNP投与群はアミフォスチン群と比較して体重回復が優位に大きく、被曝ダメージが小さいことが示された。最後に被曝による延命効果を図2cに示す。未照射群が44日で全滅するのに対し、照射群が49日で全滅と治療効果を示した。アミフォスチン投与群は49日の段階で60%生存と被曝保護効果を示した。一方、RNPでは49日で100%生存と著しい放射線に対する保護効果を示した。

このように、RNPは放射線治療に対して治療効果を低減すること無く、その副作用を著しく低減させることが確認された。これらの効果は、RNPが治療に非常に有望であるだけでなく、将来の宇宙旅行や原発事故除染作業など、様々な用途が期待される。

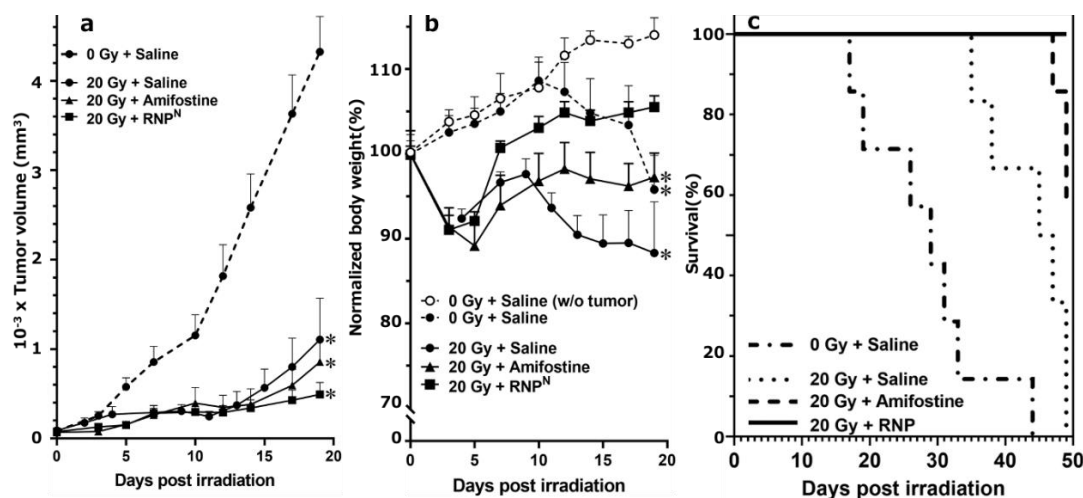


図2 担がんマウスへの放射線照射におけるRNPの効果

4. 今後の展開

アミフォスチンのような低分子抗酸化剤は正常細胞の電子伝達系を破壊し、強い副作用が惹起するのに対し、組織化によりサイズを拡大した抗酸化剤RNPはその副作用を極限まで低下させ、高い効果を発揮させた。このようにこれまでまったく考慮されてこなかった会合や組織化をくすりの概念に導入し、新しい創薬領域の創出を目指していく。実際、我々の最近の研究で、パーキンソン病薬であるL-ドーパの組織化や肝性脳症薬としてのオルニチンの組織化により高い効果を発揮することが確認されつつある。

5. 発表実績

- ・米元千秋、金 雅寛、フェリシアノ チト、バビータ シャシュニ、長崎幸夫、放射線治療における副作用の低減を目指した抗酸化ナノ粒子の設計と評価、第69回高分子年次大会(コロナウィルス感染拡大に伴い、要旨発行を持って発表とする)