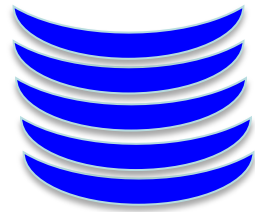


チタニア・シリカ水溶液と超音波の併用 による新しいがん治療法の開発

福岡大学 医学部 医学科

講師 高橋 宏昌

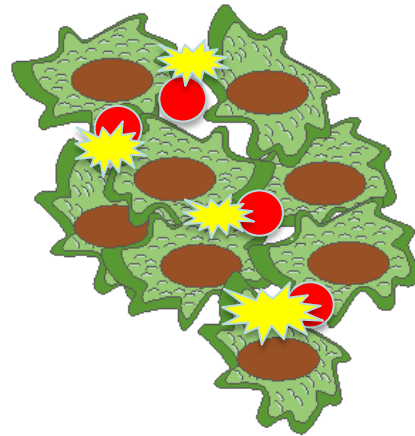
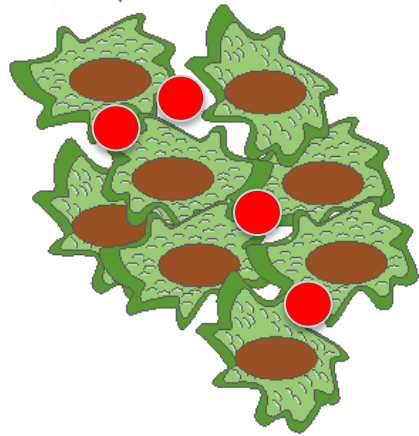
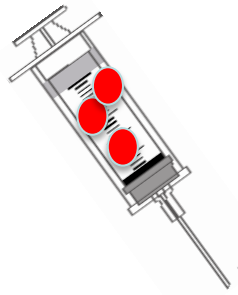
技術概要



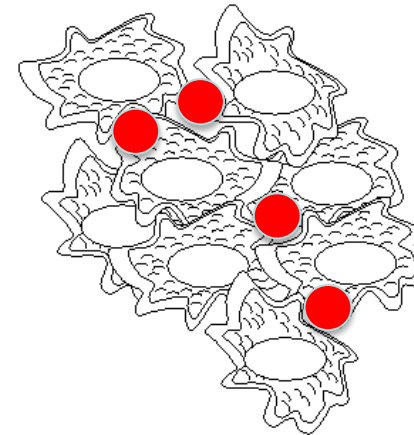
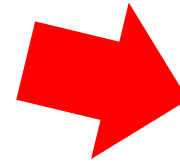
HIFU

(High Intensity Focus Ultrasound)

高密度焦点式超音波



Reactive oxygen species
活性酸素種



● チタニア・シリカ粒子

チタニア・シリカ粒子上に付着した
活性酸素種ががん細胞を破壊する

背景

酸化チタン(IV)であるチタニアは、白色の塗料、絵具、顔料などの着色料、光触媒、オフセット印刷用の感光体、触媒担体、太陽電池の素材などとして広く使用されている。光触媒は日本で発見され、日本で主に商品化が進んできたことから、「日本発のオリジナル技術」といわれ、現在も日本が世界の光触媒技術を牽引し続けている。



Wikipediaより引用

光触媒とは？

光を吸収して活性化することで、酸化力や還元力の強い物質を生成させ、それらの力で有害有機物を分解したり悪臭物質を分解できる物質。従って、クリーンエネルギーを利用した環境に優しい触媒と作用機構である。

光触媒の用途

1. 汚れ防止・セルフクリーニング
2. 室内での有害有機物質や悪臭有機物質の分解・脱臭
3. 鏡や透明板の曇り止め
4. 大気の浄化(NO_x や SO_x の除去)
5. 水質の改善(水中に溶存したり懸濁している有害有機物の分解)
6. 抗菌・防カビ・防藻・抗菌・殺菌等の作用
7. 水の分解(水素発生)
8. 色素増感型太陽電池の主要基材
9. 液晶やプラズマディスプレイなどの透明電極
10. 滑雪板効果

近年、チタニアを光触媒として用いた、新規がん治療としての研究が進められている。チタニアに紫外光を当てると励起され、活性酸素種が生じ、その強い酸化力でがん細胞を破壊しようとするものである。しかし、紫外光が組織の深部に到達し難く、その適応は限られるという問題点を有している。

Photodynamic therapy (PDT)

光線力学療法



そこで注目されるようになったのが、組織の深部に到達可能な超音波である。チタニアに超音波を照射することでも、活性酸素種が生成されることが報告されている。この現象を利用して、チタニアと超音波を併用したがん治療の可能性を示した報告も散見される。超音波を使用する利点として、紫外光に比べて生体内到達深度が深いこと、皮膚表面での火傷などの副作用が低いこと、超音波照射のON/OFFにより活性酸素発生が制御が可能であることが挙げられる。

Sonodynamic therapy (SDT)

超音波力学療法



活性酸素種の酸化力で細胞毒性を示す



● チタニア

★ Reactive oxygen species
活性酸素種

超音波照射による チタニアの励起メカニズムは、超音波照射時のチタニアの熱励起およびソノルミネッセンスとよばれる
発光現象によるものと言われている。

ソノルミネッセンス

液体中の気泡が超音波によって圧壊したときに起こる発光

液体に超音波を照射すると、キャビテーション現象によって無数の気泡が発生する。気泡は超音波が負圧になったときは膨張し、正圧になったときは収縮する。特に、超音波の共振径付近のサイズの気泡は音速に近い速度で急激に収縮するため、断熱圧縮の効果によって瞬間的に数千度以上の高温状態となる。このとき気泡の内部では、高温によって熱励起された原子・分子による発光や、ラジカルによる化学発光が生じる。また、強く圧縮された気泡からは電離した気体からのプラズマ発光も生じるといわれている。気泡内の高温場で生成した分子は液体中に溶け出し、様々なソノケミカル反応を起こす。このときに起こる化学発光もソノルミネッセンスの一部である。

従来技術とその問題点

チタニアは、フッ化水素酸、熱濃硫酸および溶融アルカリ塩には溶解するが、その他の酸、アルカリ、水および有機溶剤には溶解しない、という化学的性質を有している。また、酸化チタンはpH6前後に等電点を有しているため、酸化チタン粒子は、中性付近の水系溶媒中では凝集を生じてしまい、これを均一に分散させることは極めて難しい。そのため、酸化チタン自体を医薬品として使用することは非常に困難であるとされている。

新技術の特徴・従来技術との比較①

- 中野勝之（福岡大学工学部）らにより、酸化チタン粉末からチタニア・シリカ水溶液が調製されている（特許文献1～4）。このチタニア・シリカ水溶液は、酸化チタンと酸化ケイ素が結合した過酸化結合を有するチタニア・シリカ複合体からなる構造を有する**光触媒を含む高分散性の水溶液である。**
- 【特許文献1】特許第2913257号
- 【特許文献2】特許第3641269号
- 【特許文献3】特許第3642490号
- 【特許文献4】アメリカ特許第7175825号

われわれのチタニア・シリカ水溶液の特徴

福岡大学工学部で開発されたチタニア・シリカ水溶液は、“凜光”としてアサカ理研で製造・販売されている。凜光は過酸化結合を持った分子結合のチタニア・シリカで、これは当製品のみである。他社品は酸化チタンすなわちチタニアが主流で、普通、チタニア・シリカと言われる物は、酸化チタンとシリカを混ぜたものである。ノドープで過酸化結合を持った分子結合のチタニア・シリカは福岡大学中野教授の特許技術である。

このチタニア・シリカ複合体は、その酸化チタン構造部分が光触媒機能を、酸化ケイ素構造部分が超親水性機能を、また過酸化結合構造部分が可視光域吸収機能をそれぞれ発揮する画期的なインテリジェント光触媒としてすでに応用利用されている。

従来のチタニア水溶液との違いは、**チタニア・シリカ複合体が溶液中で均一に分散し、沈殿しにくい点である。すなわち、薬剤として物理的、化学的に安定しているといえる。**

しかしながら現在まで、このチタニア・シリカ複合体水溶液は、医療用途への応用について一切意図されていない。静脈内注射、局所注射、塗布等、種々の投与方法により、患者の体内に投与することが想定できる。また、通常使用されている抗腫瘍剤などの薬剤と併用することも可能である。

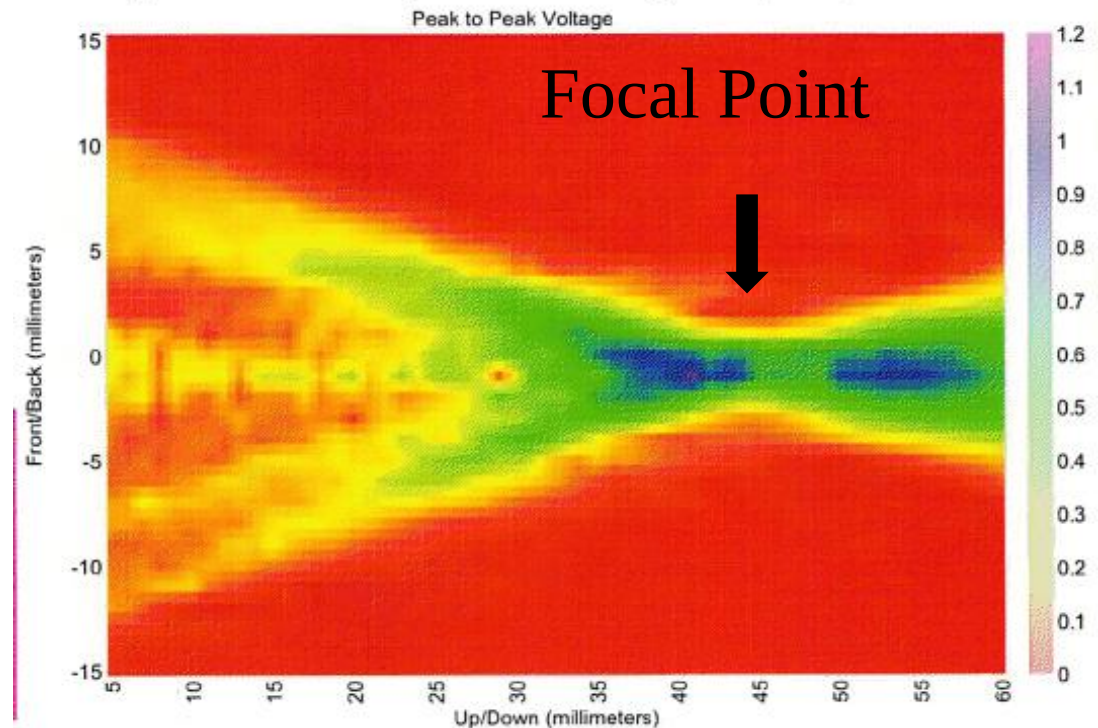


新技術の特徴・従来技術との比較②

HIFU(High Intensity Focus Ultrasound) 高密度焦点式超音波



トランスデューサ
(30mm 径)



- ・超音波を一点に集めることにより、その焦点で高いエネルギーを作る。
- ・HIFU療法は前立腺がんの焼灼に臨床応用されている。
- ・HIFUは生体の外部から生体内の深部にまで到達することが可能であることから、非侵襲の状態で生体内深部に存在するターゲット部位にまで到達させることが可能である。目的病巣のみを破壊することが可能。周囲の正常な組織や臓器には何も影響がないとされる。

**現在まで、HIFUとチタニア・シリカ
を併用してがんの治療に用いようと
した報告はなく、われわれが世界初
である。**

目的

チタニア・シリカ複合体水溶液とshort pulse, short durationのHIFUを併用し、扁平上皮癌細胞株における殺細胞効果を検討する。

方法

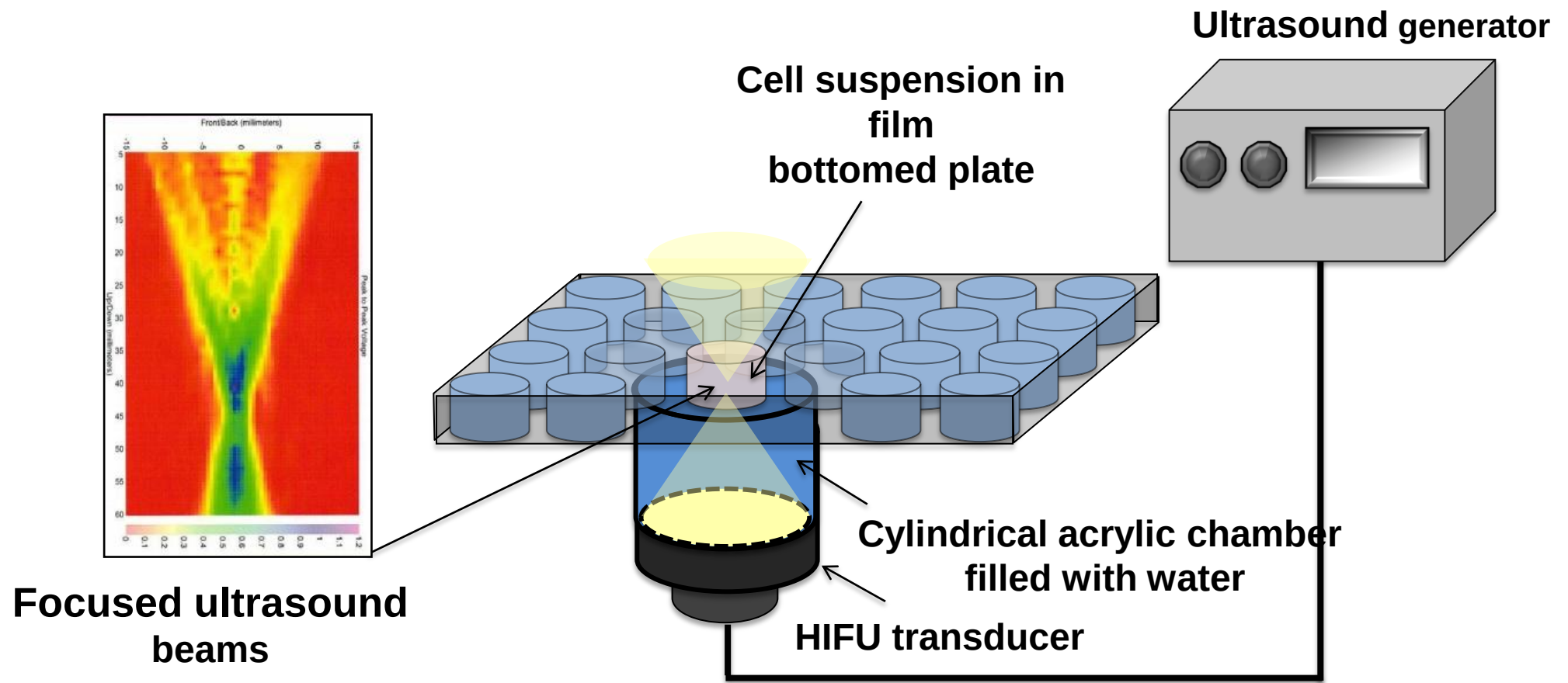
細胞: Oral squamous cell carcinoma cell line (HSC-2)

試薬: チタニア・シリカ複合体水溶液; R-A-TS (Anatase titania silica)
“RINKOH” (Titania Global Science and Technology LLP, Fukuoka, Japan)



Properties of “RINKOH”

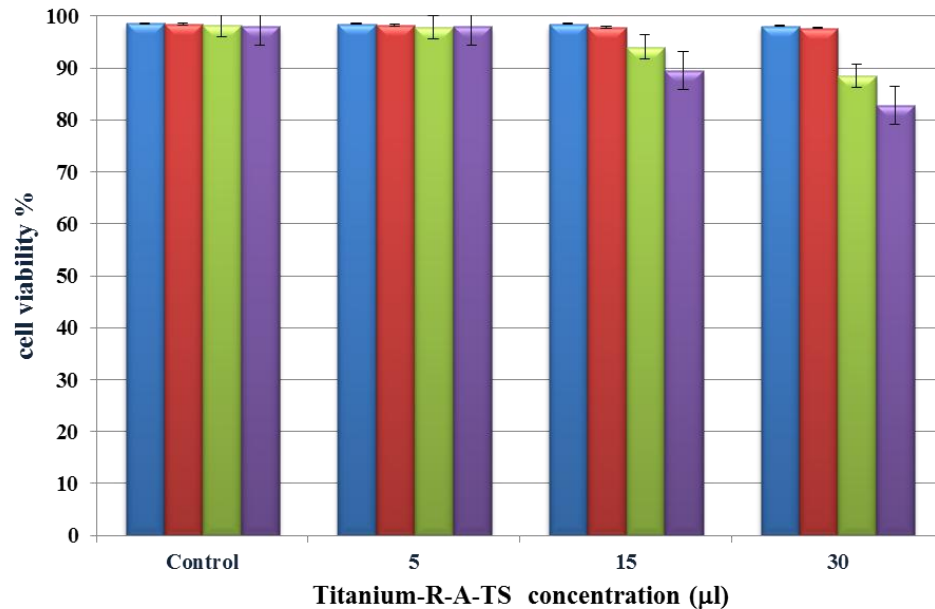
Hydrogen ion concentration (pH)	6～9
Solid concentration	～1%
Average particle size	10-30nm



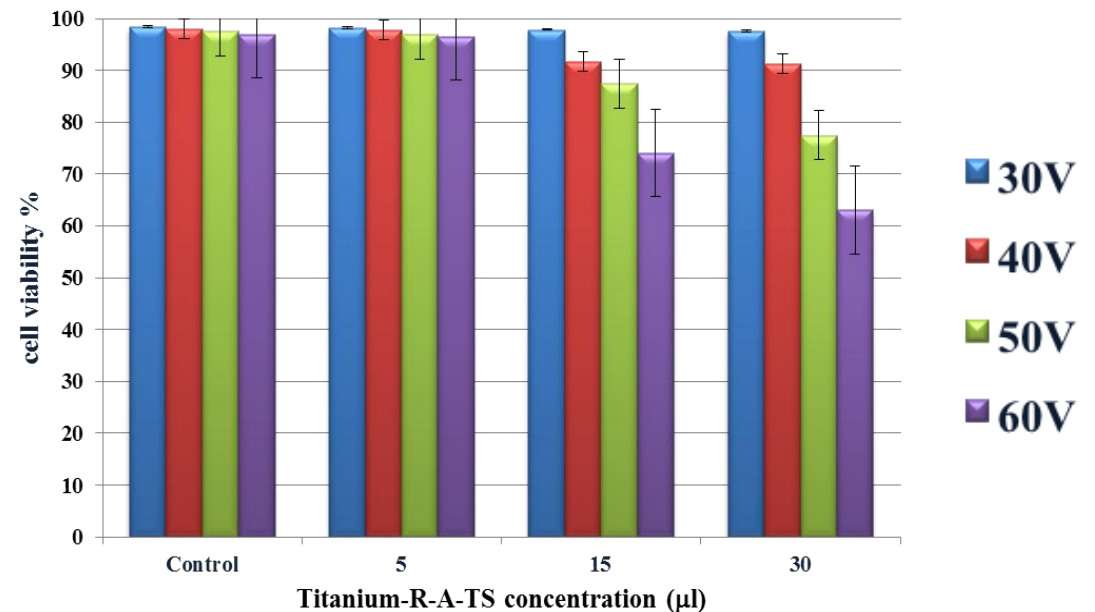
HIFU (frequency, 3.5 MHz; burst rate, 100 Hz; duty cycle, 50%) in the presence and/or absence of “RINKOH”. Cell viability of the cells exposed to different US intensities of 60, 100, 160, and 210 W/cm² was measured immediately after HIFU irradiation for 0, 0.1, 1, or 3 seconds. 24ウェルプレート(底がフィルムになっている)の各ウェルに試薬を滴下し、細胞懸濁液を加え合計500μlとなるようにした。超音波照射した直後に、細胞生存率をセルカウンター(NucleoCounter, Chemometec, Allerod, Denmark)で計測した。

結果

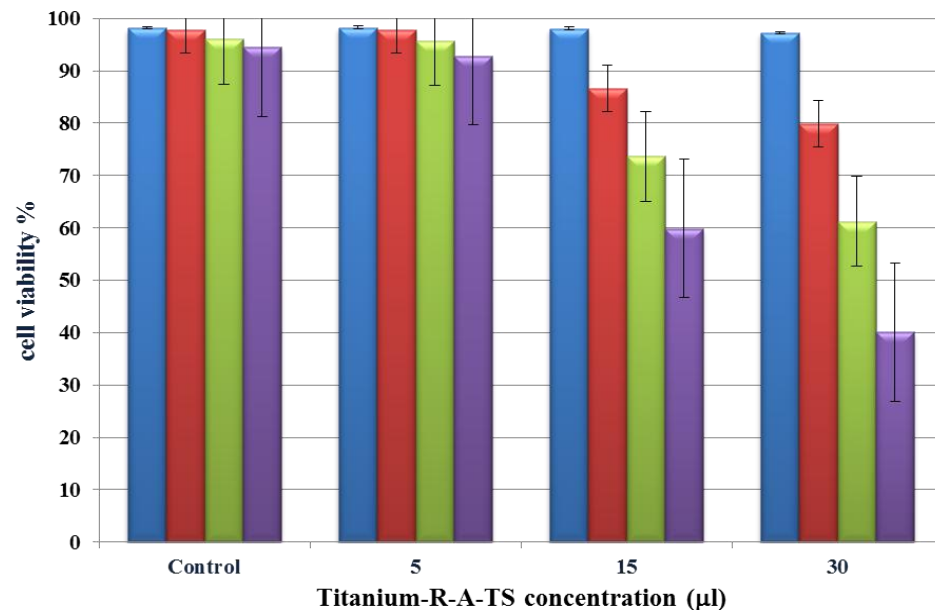
A. Sonication time 0.5 sec



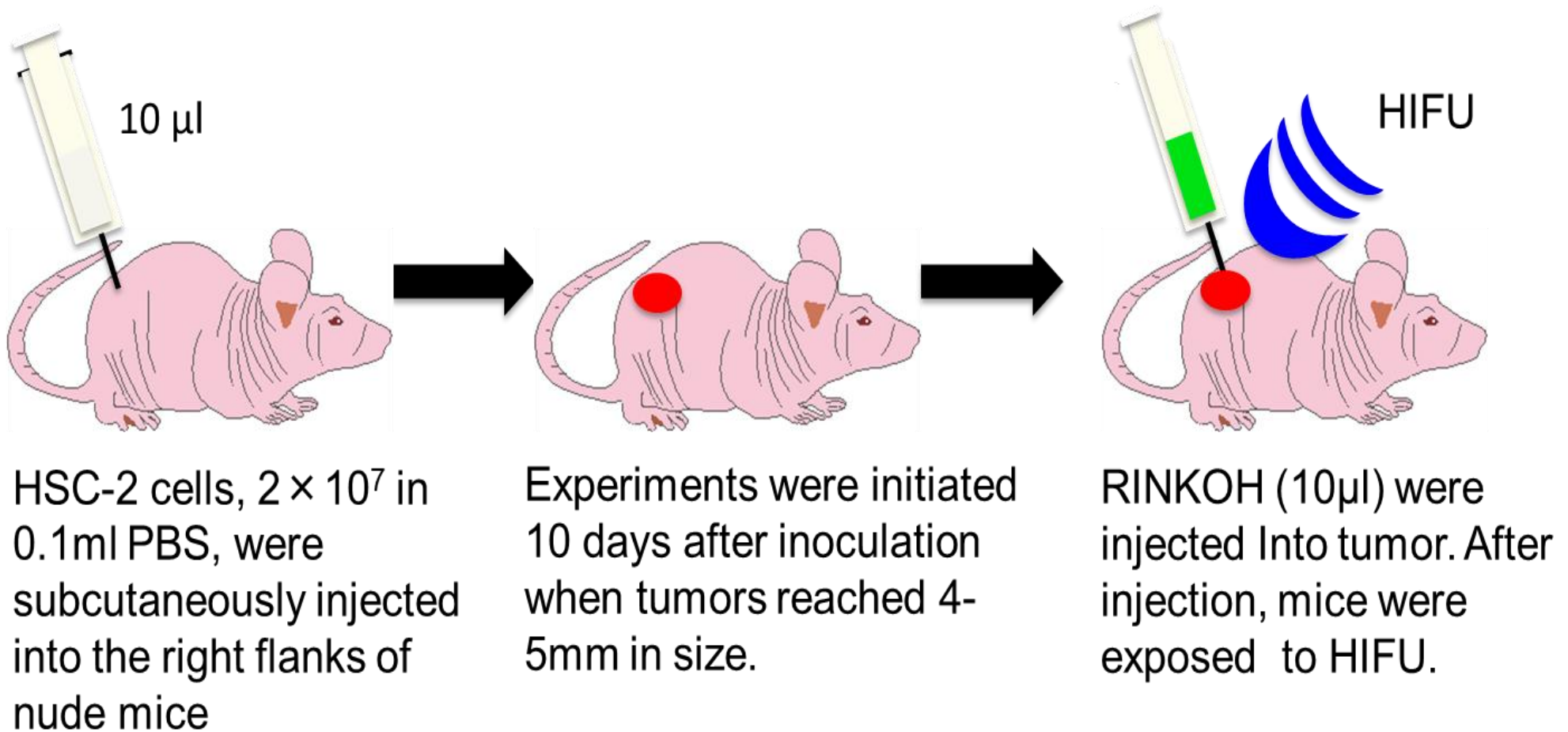
B. Sonication time 1.0 sec



C. Sonication time 3.0 sec



本実験で、HIFU照射のみのコントロールでは殺細胞効果は低かったが、チタニア・シリカ複合体水溶液を併用すると、HIFUのintensityとduration、またはチタニア・シリカ複合体の濃度按比例して、殺細胞効果が高くなることが確認できた。



- ① control
- ② “RINKOH”
- ③ HIFU
- ④ “RINKOH” + HIFU

Ultrasonic probe; Sonitron HIFU 5000

Frequency : 1MHz

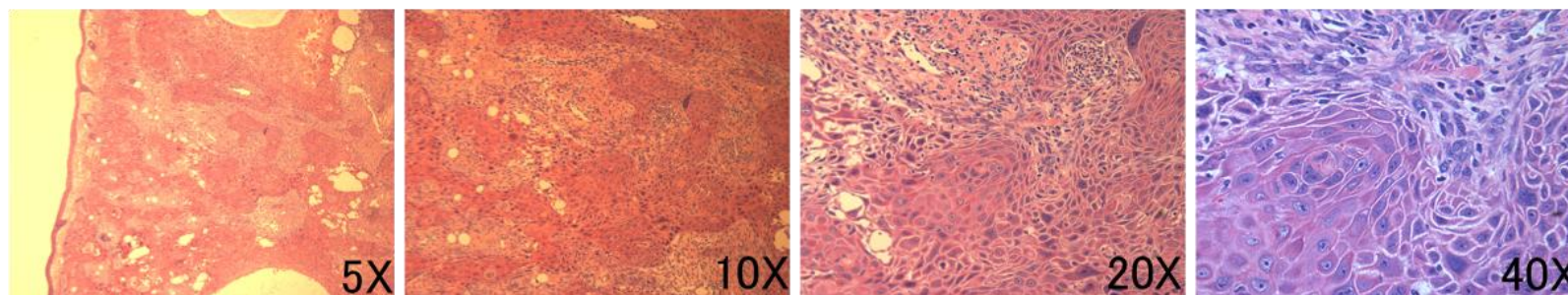
Intensity : 100, 160, 210 W/cm²

Duty : 50%

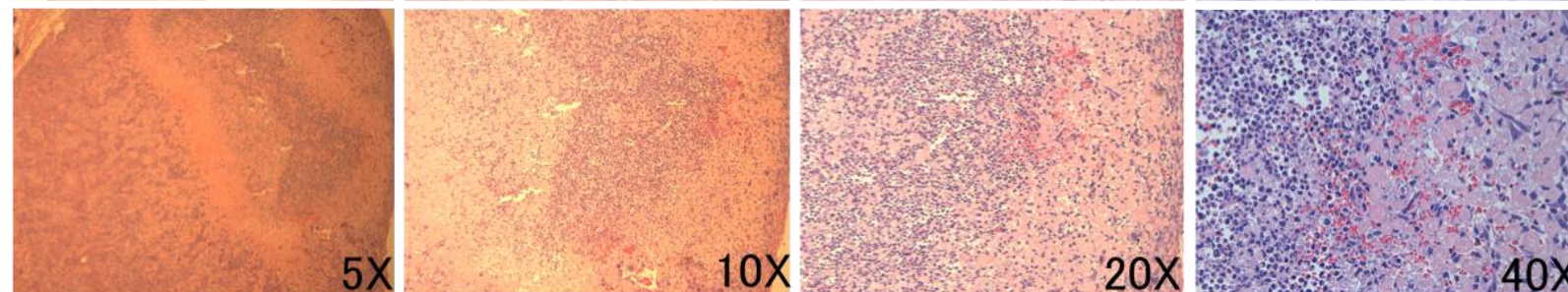
Duration : 3 sec

結果

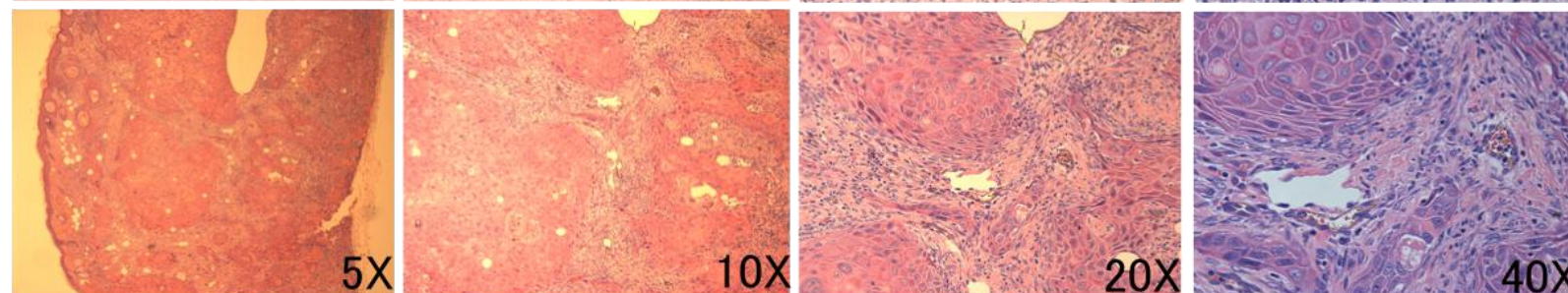
Control
(-)HIFU
(-)RINKOH



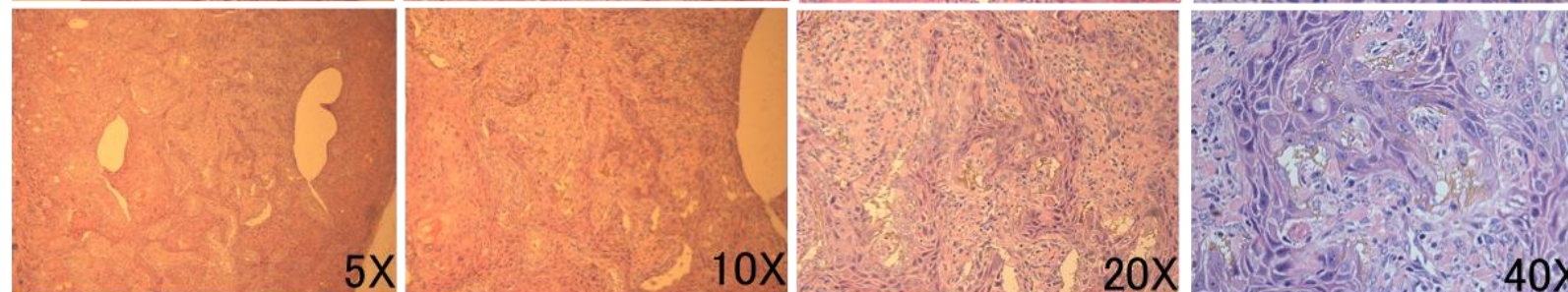
Control
(+)HIFU
(-)RINKOH



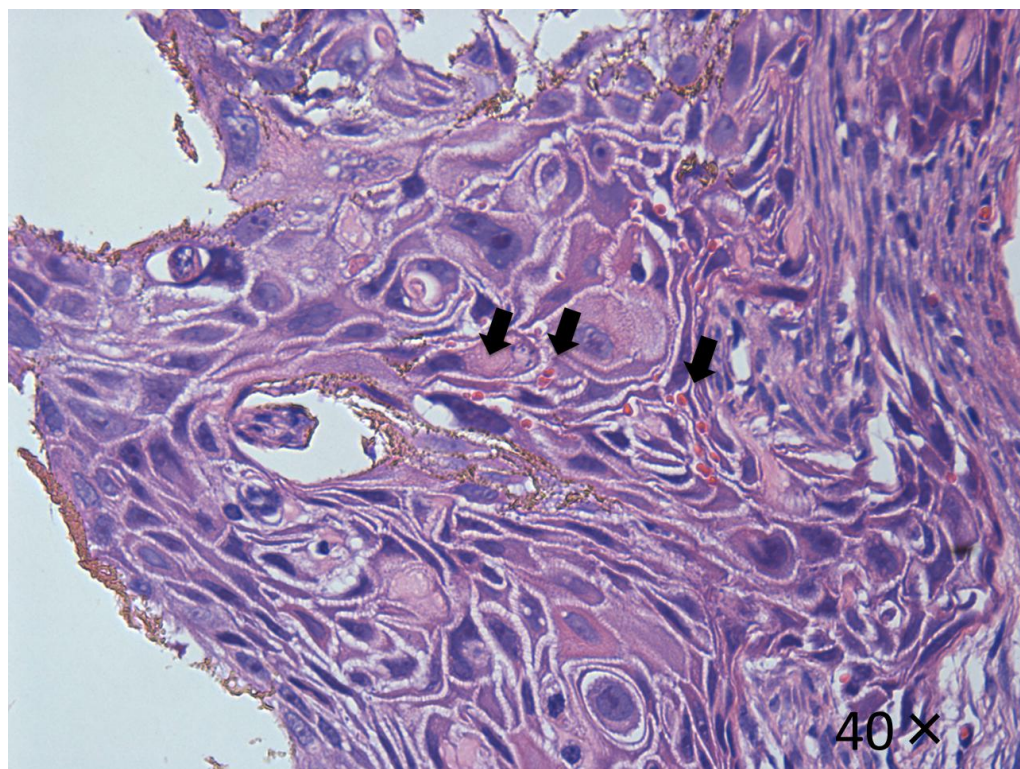
Control
(-)HIFU
(+)RINKOH



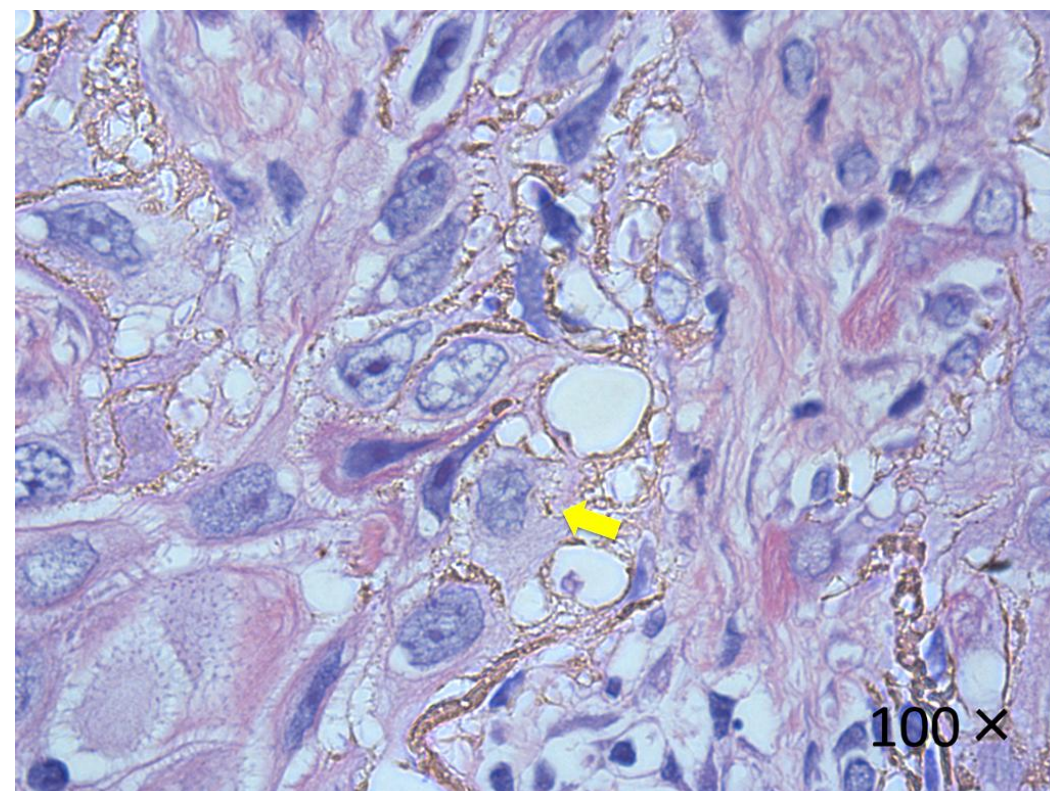
Treated
(+)HIFU
(+)RINKOH



RINKOHのみの治療群と、RINKOH/HIFU併用群でのみ、チタニア・シリカ複合体と思われる褐色の粒子が、腫瘍内に観察できた。



HIFUのみの治療群と、
RINKOH/HIFU併用群で腫瘍
内の出血を確認(黒矢印)。



細胞質内に褐色の粒子が取り
込まれている(黄矢印)。

考察

*In vitro*にてHIFU照射のみのコントロールでは、殺細胞効果は低かったが、チタニア・シリカ複合体水溶液を併用すると、HIFUの intensityとduration、またはチタニア・シリカ複合体の濃度に比例して、殺細胞効果が高くなることが確認できた。**HIFUによって、チタニア・シリカ複合体粒子が励起され、生成された活性酸素種によりがん細胞が破壊されていると考えられる。**

*In vivo*にてHIFUのみの治療群と、RINKOH/HIFU併用群で腫瘍内の出血を確認した。**HIFUのみでも、ある程度の殺細胞効果はあるが、RINKOHを併用することで、大きな相乗効果が得られると考えられる。**

RINKOH/HIFU併用群でのみ、細胞質内にチタニア・シリカ複合体粒子が取り込まれた。これは、HIFUがチタニア・シリカ複合体粒子を細胞内に通過させたと考えられる。そのメカニズムとして、HIFUによるキャビテーションジェットが細胞膜に一過性の微細孔を開けるソノポレーションが関与していると予想される。

想定される用途

- 現状では、体表面近く(口腔がん、皮膚がん、乳がん等)のがん治療。
- 白癬菌・カンジダ菌・癬風菌に対して抗真菌薬として利用。
- 骨髓炎に対する局所療法に抗菌薬として利用。

本技術は、本来は全てのがん種に有効な治療方法となることが期待されるが、先ずはチタニア・シリカ溶液の投与や超音波照射が局所で可能という口腔がんターゲットを合わせている。局所的な治療という観点からは、既存の 外科手術・化学療法・放射線療法に比べて、副作用のほとんど無い優しい治療法となることを示しており、他の新規ながん治療法の開発に比べて、非臨床および臨床試験の容易さも示唆している。コンセプトの検証が済んでいることと、先ずは局所治療が意図されていることを考え合わせると実用化の可能性は高いと言える。

展望

- チタニア・シリカ複合体粒子がリポソームなどに内包または吸着された形態の薬剤を開発（内部に気体を含有するとともに、チタニア・シリカ複合体粒子を内包または吸着させたリポソーム）。
- チタニア・シリカ粒子表面に、標的細胞による認識と取り込みを促進させるパイロット分子を結合し、active targetingにつなげる事が可能であれば、あらゆる部位の癌治療が可能になると想定される。
- チタニア・シリカ複合体水溶液とともに、低出力超音波で音響キャビテーション現象を惹起するガス封入バブル（気泡）、例えばマイクロバブルまたはナノバブルである音響キャビテーション現象増強物質を併用する。音響キャビテーション現象増強物質としては、例えば、ソナゾイド（sonazoid™）、レボビスト（levovist™）またはオプチゾン（optizon™）などが挙げられる。

実用化に向けた課題

- チタニア・シリカ複合体水溶液はすでに光触媒として商品化され、安価に大量生産が可能である。製品安全性は確認されているが、局所注射、静脈内注射による生体への安全性は未解明である。
- *In vivo*での詳細な抗腫瘍効果の確認が必要である。
- 現在入手可能な市販の超音波治療装置は口腔内での使用は形状的に適していないので、今後、専用の装置の開発研究が必要となる。口腔内または頸部からの超音波をより効率的に照射するためには、超音波プローブの小型化が望まれる。

企業への期待

新規抗癌剤の開発に取り組みたい企業と、
共同・受託研究で非臨床試験および臨床試験を完遂し、安全で効果の高いがん治療法として実用化したい。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 水溶性チタニア・シリカ複合体を用いた薬剤
- 出願番号 : 特願2012-189311
- 出願人 : 福岡大学
- 発明者 : 高橋宏昌、立花克郎
中野勝之

お問い合わせ先

福岡大学

産学官連携コーディネータ 芳賀 慶一郎

TEL 092-871-6631 (内線2809)

FAX 092-866-2308

e-mail khaga@adm.fukuoka-u.ac.jp