

## 機能性磁性ナノ粒子を利用した温熱誘導型遺伝子発現システムの開発

山口, 雅紀

<https://doi.org/10.15017/1500701>

---

出版情報：九州大学, 2014, 博士（工学）, 課程博士  
バージョン：  
権利関係：全文ファイル公表済

氏 名 : 山口 雅紀

論 文 名 : 機能性磁性ナノ粒子を利用した温熱誘導型遺伝子発現システムの開発

区 分 : 甲

## 論 文 内 容 の 要 旨

がん温熱療法を臨床応用する際の問題点として、腫瘍組織特異的に加温することが困難であることが挙げられる。この問題を解決するために、腫瘍標的性をもつ機能性磁性ナノ粒子と交番磁場を利用した温熱療法が開発されている。これは、交番磁場照射でヒステリシス損失により発熱する磁性ナノ粒子の性質を利用している。さらに、磁性ナノ粒子と交番磁場を利用した温熱療法後に強力な抗腫瘍免疫が誘導されることが報告されており、この免疫誘導にはがん細胞内からの抗原ペプチドの放出とそれに起因する T 細胞の腫瘍組織への浸潤が重要であると考えられている。温熱療法による抗腫瘍免疫を賦活することができれば、温熱療法により原発がんを治療した後に、身体に備わる免疫系により再発・転移がんをも治療可能な理想的ながん治療法の開発が可能になる。T 細胞の増殖・分化を促進する治療遺伝子などを利用することにより抗腫瘍免疫を賦活させることが可能になると考えられるが、これら治療遺伝子を体内で発現させる際の副作用を考慮する必要がある。したがって、温熱療法の課題である局所性を克服し、腫瘍組織内特異的に治療遺伝子を発現させるシステムを開発することが重要である。また、がん細胞内からどのような抗原ペプチドが放出しているか、どのような T 細胞が抗原ペプチドを認識し、腫瘍組織へ浸潤しているかを解析することが抗腫瘍免疫をさらに賦活する上では不可欠の要素である。そこで本研究では、温熱療法による加温をスイッチとして目的遺伝子を大量発現させる「温熱誘導型遺伝子発現システムの開発」、および「腫瘍浸潤リンパ球の解析」、「抗原ペプチドの解析」を並行して行い、磁性ナノ粒子と交番磁場を利用した温熱療法により誘導される抗腫瘍免疫を賦活する治療法の開発を目指した。

第 1 章では、本研究の背景、目的を示し、本研究の方針について説明した。

第 2 章では、本研究の関連分野の既往の研究を紹介し、本研究の意義について説明した。

第 3 章では、加温をスイッチとして目的遺伝子を大量発現する温熱誘導型遺伝子発現システムの開発を試みた。まず、目的遺伝子発現プラスミドベクターと tTA 発現プラスミドベクターを作製後、*LacZ* 遺伝子を用いたレポーターアッセイを行った結果、加温をスイッチとして目的遺伝子が発現し、tTA による発現量の増強が観察できた。さらに、機能性の向上を目的として One-pack システムを開発した。この One-pack システムは、ウイルスプロモーターを利用した構成的遺伝子発現システムに匹敵する活性を示した。次に、One-pack システムを利用したがん治療応用への検討では、加温と tTA による治療遺伝子 *HSV-tk* および *TNF- $\alpha$*  の発現増強により強くがん細胞の増殖が抑制され、温熱療法と遺伝子療法の併用効果が示された。

第 4 章では、機能性磁性ナノ粒子 MCL と交番磁場を利用して、第 3 章で開発した遺伝子発現システムを磁場誘導型遺伝子発現システムへ発展させた。まず *in vitro* において、磁場照射の加温により HSP プロモーターが駆動し、tTA により目的遺伝子の発現が増強されることを示した。担がんマウスを用いた動物実験においても、腫瘍組織特異的に加温可能であり、磁場照射により目的遺伝子

の発現を制御可能であることを示した。また、治療後の腫瘍体積を経時的に観察したところ、30日間強く腫瘍組織の増大を抑制できた。さらに、磁場照射を行わなかった条件では、目的遺伝子の発現は誘導されなかったことから、開発したシステムは磁場照射により目的遺伝子の発現を厳密に制御可能であることが示された。以上の結果より、本システムは、温熱療法により誘導された抗腫瘍免疫を賦活する治療法を開発する上で有用なツールとなると考えられる。

第5章では、機能性磁性ナノ粒子 NPrCAP/M と交番磁場を利用して、抗腫瘍免疫のメカニズム解析を行った。まず、治療から14日後のマウスを観察したところ、腫瘍組織の退縮、腫瘍流入領域リンパ節内におけるT細胞の増加がみられ、温熱療法により抗腫瘍免疫が誘導されたことが示唆された。そして、腫瘍組織、腫瘍流入領域リンパ節に浸潤してきたT細胞のTCRのレパトワ解析を行うことで、腫瘍を特異的に認識して攻撃しているT細胞の質的解析を行った。その結果、温熱療法により誘導され腫瘍組織に浸潤しているT細胞の多くがTCR  $V\beta 11$  遺伝子を発現していることが示された。そして、抗腫瘍免疫をさらに賦活することを目的として、腫瘍流入領域リンパ節に浸潤してきたT細胞を活性化させる抗原ペプチドの探索を行ったところ、TRP-2ペプチドが有用であることが分かった。以上の結果より、人工T細胞を利用したTCR遺伝子療法、および抗原ペプチドを利用したワクチン療法を温熱療法と併用することにより、抗腫瘍免疫をさらに賦活することが可能となり、がんを「不治の病」たらしめている再発・転移がんの根治も見込める画期的ながん治療法となると考えられる。

第6章では、本論文の総括を行い、本研究の成果を踏まえた今後の展望について述べた。

〔作成要領〕

1. 用紙はA4判上質紙を使用すること。
2. 原則として、文字サイズ10.5ポイントとする。
3. 左右2センチ，上下2.5センチ程度をあげ，ページ数は記入しないこと。
4. 要旨は2,000字程度にまとめること。  
(英文の場合は，2ページ以内にまとめること。)
5. 図表・図式等は随意に使用のこと。
6. ワープロ浄書すること（手書きする場合は楷書体）。  
この様式で提出された書類は，「九州大学博士学位論文内容の要旨及び審査結果の要旨」  
の原稿として写真印刷するので，鮮明な原稿をクリップ止めで提出すること。