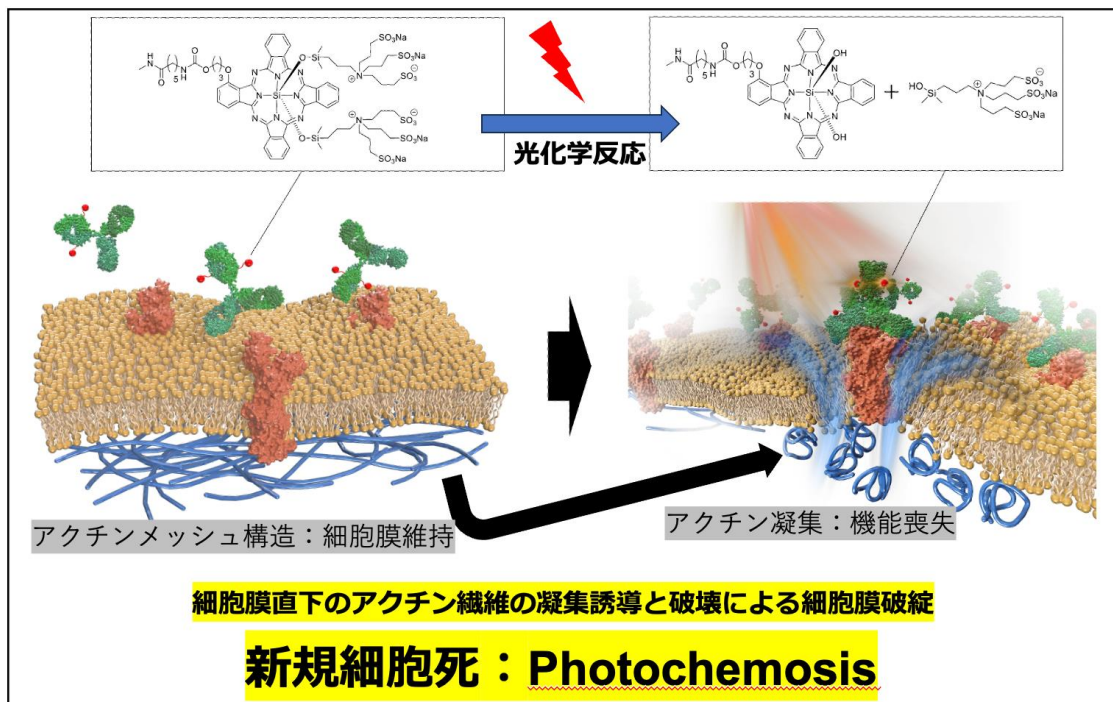


# “新しい細胞死でがん治療に光を”

## 近赤外光線免疫療法の細胞死メカニズム“Photochemosis”

### ～光化学反応による細胞膜裏打ち構造の破碎の詳細を解明し、臨床実装や集学治療を後押し～

- 近赤外光線免疫療法の細胞死メカニズム “Photochemosis” を産業技術総合研究所(産総研)の小椋俊彦上級主任研究員の開発した新しい画像化技術である走査電子誘電率顕微鏡 (SE-ADM) を用いることで詳細解明した。
- 細胞膜下を裏打ちしているアクチンフィラメントが重要な役割を果たしていること、および、光吸収剤である IR700 の光化学反応が、近赤外光照射によりアクチンフィラメントの凝集を引き起こし、その結果として細胞膜を破碎し細胞死を引き起こすことを実証した。
- 本研究結果による “Photochemosis” の細胞死理論構築と証明が達成でき、本解明によって、これまでのがん治療技術である手術、化学療法、放射線治療、がん免疫治療や既存の光治療として知られる光線力学療法と細胞死機序が完全に異なることから、近赤外光線免疫療法は新規の独立したがん治療技術で“第5のがん治療”であることが証明された。
- “Photochemosis” という新規細胞死の詳細が明らかになり、将来の他のがん治療技術との組み合わせ治療などの集学治療理論の学問的な裏付けとなる。



本研究の概要図

## 【研究概要】

名古屋大学大学院医学系研究科・高等研究院・医工連携ユニット（JST 創発的研究支援事業 1 期生）の佐藤和秀 特任講師、同大学大学院医学系研究科総合保健学専攻 オミックス医療科学の佐藤光夫 教授、国立研究開発法人産業技術総合研究所（産総研）の小椋俊彦 上級主任研究員、同 岡田知子 テクニカルスタッフらの研究グループは、近赤外光線免疫療法の細胞死メカニズムを新開発の顕微鏡である走査型電子線誘電顕微鏡（SE-ADM）を用いることで解析し、その細胞死を“Photochemosis”と名付け新規細胞死としての詳細機序を明らかにしました。本研究成果は、JST 戦略的研究推進事業 CREST [細胞外微粒子] JPMJCR19H2、代表；小椋俊彦、分担；佐藤和秀）・JST 創発的研究支援事業 FOREST（創発的研究支援事業 1 期：JPMJFR2017、佐藤和秀）の支援のもとで実施されました。

近赤外光線免疫療法(Near Infrared Photoimmunotherapy; NIR-PIT)は、2020 年に世界に先駆けて日本で再発既治療頭頸部がんに限定承認され、日本各地で治療応用が進み、アジア・インド・中東・アフリカなどグローバルに展開されつつあります。光を用いた超選択的な治療として今後のさらなる展開が期待されていますが、その細胞死機序の詳細は未だ完全には明らかとなっておらず、従来のがん治療の4つの技術である手術、化学療法、放射線治療、がん免疫治療や、従来の光を用いた治療法の光線力学的治療(Photodynamic Therapy; PDT)との違いが不明でした。

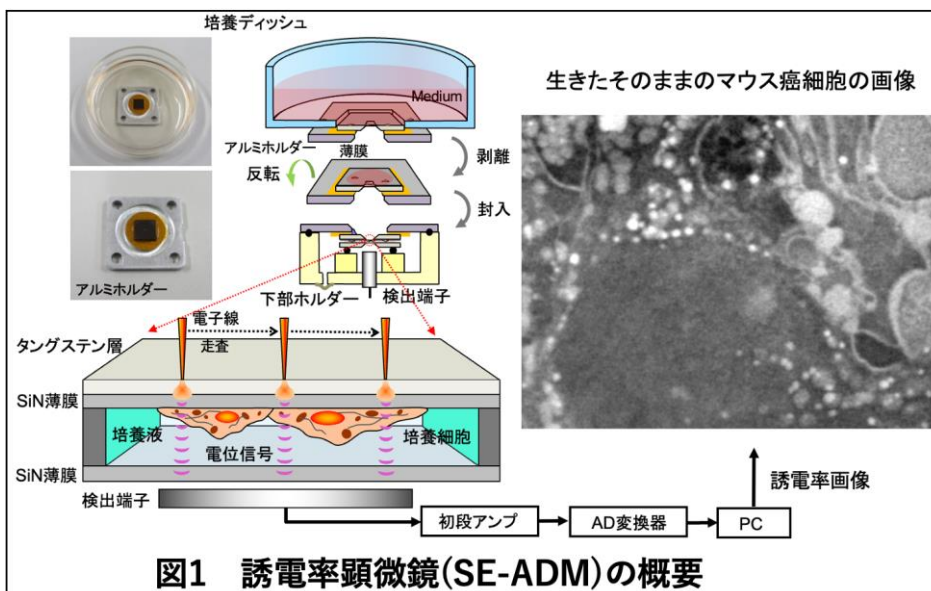
第一著者／責任著者の名古屋大学の佐藤和秀 特任講師らは 2018 年に ACS Central Science 誌に NIR-PIT の細胞死の起点が、光吸収体 IR700 の親水性側鎖軸配位子 ( $C_{14}H_{34}NO_{10}S_3Si$ ; シラノール) が光化学的配位子反応により結合体から解離することで、抗体を含む残りの構造が急速に疎水性となり、凝集することを証明していましたが(Sato K, et al, ACS Central Science, 2018, Nov 28;4(11):1559-1569.)、本光化学反応と作用点である細胞膜への影響と細胞死の詳細機序は未だ不明でした。

今回、産総研の小椋俊彦上級主任研究員の開発した新画像化技術である走査電子誘電率顕微鏡（SE-ADM）を用いて、NIR-PIT 治療の細胞を詳細観察し、生化学的、細胞生物学的な解析と合わせて、光吸収剤である IR700 の光化学反応が、近赤外光照射により細胞膜直下のアクチンフィラメントの凝集を引き起こしその細胞膜支持機能を破壊することによって、細胞内外の浸透圧較差に従って水が細胞内に流入して細胞が膨潤し細胞死が起こる分子機構を明らかにし、これまで報告のある細胞死とは異なる新規の細胞死として“**Photochemosis**”と名付けました。本治療機序は、従来の光治療として知られている PDT の報告されている細胞死機序と異なるものであり、光標的治療としての NIR-PIT の独自性の証明となり、NIR-PIT のさらなる普及と実装の科学的な裏付けになると期待されます。新規細胞死“**Photochemosis**”を提唱樹立し証明することで、NIR-PIT の細胞死がこれまでのがん治療技術である手術、化学療法、放射線治療、がん免疫治療と完全に異なることから、NIR-PIT が新規の独立したがん治療技術“第5のがん治療”であり、今後の様々ながん治療技術との組み合わせである集学治療の理論的な裏付けとなるもので、医療貢献できると考えられます。

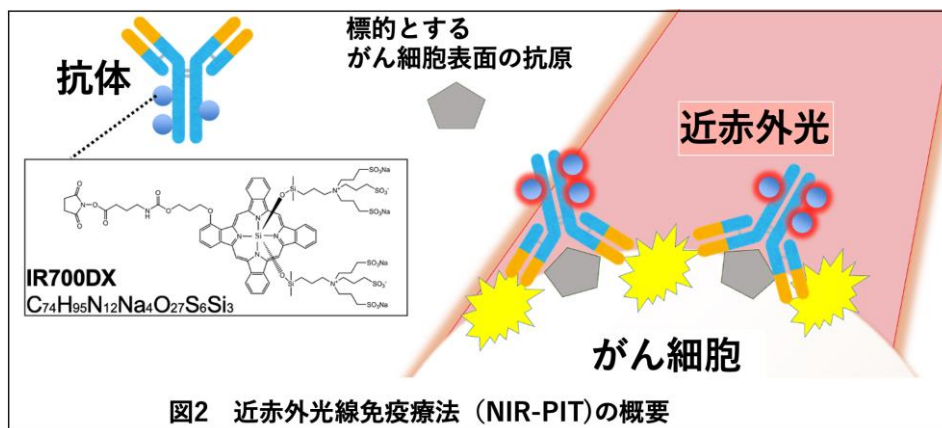
本研究成果は、2025 年 2 月 18 日付（日本時間 2 月 19 日）米国化学会雑誌『ACS nano』のオンライン先行版に掲載されました。

# 1. 背景

最近、新しい画像化技術である走査電子誘電率顕微鏡 (SE-ADM) が産総研の小椋俊彦 上級主任研究員によって開発されました (図 1)。この技術では、放射線損傷なしに、8nm の空間分解能で水溶液中のさまざまな生物学的サンプルを観察することができます (Ogura T and Okada T, Sci. Rep., 2016、6、29169)。この分析では生きた細胞のナノスケールでの画像化が可能になり、これまで報告されていない新たな変化の検出が可能になります。



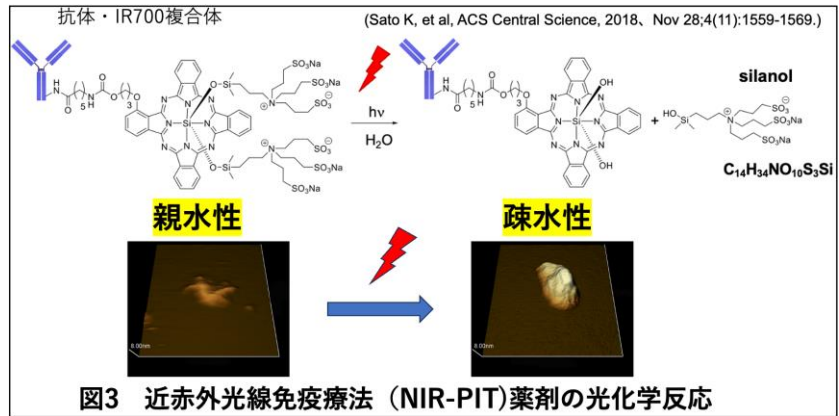
近年、光を用いた医療技術開発が次世代の新規治療方法として脚光を浴びています。その中でも、2011年に米国立がんセンター(NCI/NIH)の小林久隆 博士らにより報告された新しいがん治療法である近赤外線免疫療法(Near Infrared Photoimmunotherapy; NIR-PIT)は新規のがん治療技術として注目されています (図 2)。この治療法は、これまでと異なる方法でがん細胞を標的破壊できることから、手術・放射線・化学療法・がん免疫療法に続く、“第 5 のがん治療”として期待されており、世界に先駆けて日本で 2020 年 9 月に EGFR<sup>\*1</sup> を高発現する再発既治療頭頸部がんに対して、限定承認を受けて保険適用されています。しかし、第 III 相試験開始時点では、NIR-PIT による細胞死のメカニズムは解明されておらず、これが NIR-PIT の臨床承認に向けた大きなハードルとなっていました。



第一著者・責任著者の佐藤和秀 特任講師らは 2018 年の ACS Central Science 誌で、



NIR-PIT による細胞死のメカニズムの起点として、この治療法による細胞死の引き金となる物質を特定しました。具体的には、複合体を近赤外光で照射すると、IR700<sup>※2</sup> (シリカフタロシアニン (SiPc) ) の親水性側鎖軸配位子 (C<sub>14</sub>H<sub>34</sub>NO<sub>10</sub>S<sub>3</sub>Si; シラノール) が光化学的配位子反応により複合体から解離し、抗体を含む残りの構造は急速に疎水性となり、凝集しました (図3) (Sato K, et al, ACS Central Science, 2018, Nov 28;4(11):1559-1569.)。この光化学反応によって、がん細胞膜上の表面抗原に対する抗体が凝集し、細胞破壊が誘発され、光化学反応が NIR-PIT による細胞死の開始の起点となっていることを明らかにしていました。しかし、この反応が標的細胞にどのような影響を与え、細胞破裂を引き起こすのかについては、解明されておらず、NIR-PIT の細胞死の詳細は未だに不明でした。



## 2. 研究成果

まず、20%スクロース液で細胞外液を高張条件にした場合では、NIR-PIT の細胞死は減少しました。また、4℃で細胞機能を停止しても室温の場合と NIR-PIT 細胞死の効果に変化はありませんでした。このことから、細胞膜の物理的破綻と細胞外からの水の流入が細胞死に係ることがわかりました。アクチン重合阻害薬を用いると、NIR-PIT の細胞死は抑制されました。SE-ADM を用いた解析で細胞膜直下に黒色の凝集粒子が生成されていることがわかり、さらにアクチン重合阻害剤でこの粒子は減少しました。アクチン蛋白の生化学的解析で、NIR-PIT によってアクチン蛋白が凝集していることがわかりました。また、アクチン GFP 恒常発現細胞の細胞膜上のアクチンが、NIR-PIT の近赤外照射直後に蛍光を喪失する(凝集による構造変化)ことがリアルタイムに観察されました。また、本反応は生体内の腫瘍でも同様の反応が起きておりました。チューブ内の蛋白化学解析では、抗体・IR700 複合体(trastuzumab-IR700)、標的とする抗原 (HER2)、アクチン(actin)はすべて近赤外光照射で凝集しました。ちなみに、他の水溶性の光吸収薬剤を用いた比較検討ではこのような変化は生じなかったため、アクチンに対しての反応は NIR-PIT に特異的な変化であると考えられました。

以上の実験結果から、近赤外光の照射により、IR700 の 2 つのシラノール基が光解離し、残りのシリコンフタロシアニン構造が凝集する反応がまず起こります。この親水性から疎水性への急激な変化は、受容体結合だけでなく、細胞膜と受容体タンパク質を支える皮質アクチン網目構造の凝集も引き起こします。この細胞膜直下の細胞骨格アクチンの破壊により、細胞膜を維持する機能が失われ、浸透圧の関係で細胞内に水が入り込み、細胞が破裂します。この一連の現象が NIR-PIT の細胞死のメカニズムであり、従来の細胞死のメカニズム (アポトーシスやネクローシスなど) とは全く異なるもので

す。

上記、NIR-PIT の細胞死機序として、細胞膜直下のアクチン繊維（皮質アクチン網）が破綻することで細胞膜構造の維持ができなくなり、細胞内外の浸透圧較差で水分が流入し細胞死が破裂する：“**Photochemosis**”機序を解明しました（図4）。

これまでのがん治療技術である手術、化学療法、放射線治療、がん免疫療法や既存の光治療である光線力学療法はアポトーシスないしはネクローシスが細胞死のメカニズムとして知られていましたが、NIR-PIT は機序の全く異なる新概念の“**Photochemosis**”が細胞死のメカニズムであり、NIR-PIT の第5のがん治療技術としての地位が証明・樹立できました。

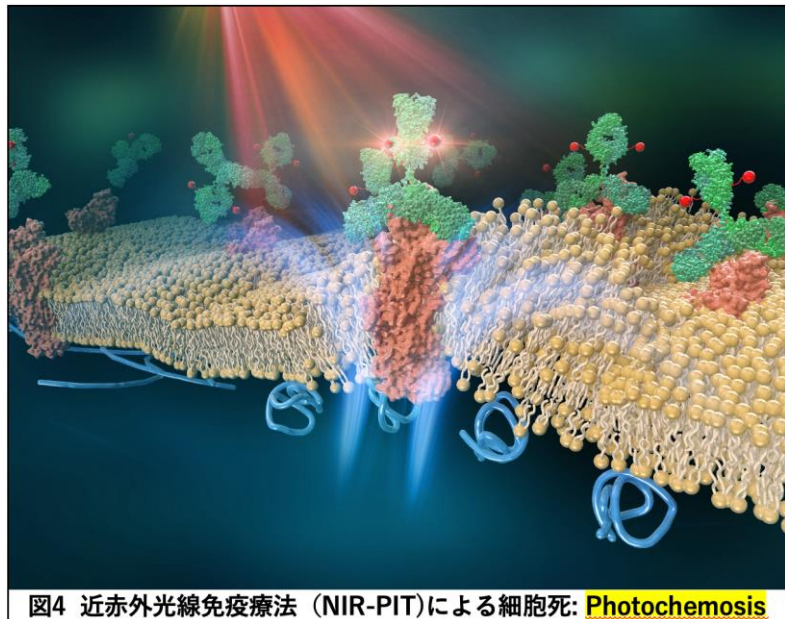


図4 近赤外光線免疫療法（NIR-PIT）による細胞死: **Photochemosis**

### 3. 今後の展開

このユニークな細胞死“**Photochemosis**”により、NIR-PIT は既存の抗がん剤や放射線治療、手術などとは全く異なる“第5のがん治療技術”として注目され、その治療効果とともに既存の標準治療への組み込みが期待できます。本機序解明を科学的な裏付けとして NIR-PIT は他の様々ながん治療法との併用が期待でき、集学的ながん治療への応用が期待されています。特に、NIR-PIT とがん免疫療法（免疫チェックポイント阻害剤など）の併用療法は、大きな効果が期待でき、将来的には多くの患者さんの治療選択肢となる可能性があります。

引き続き、人類が手にしたこの新規のがん治療技術によるがん細胞の変化の詳細解明や、治療の手立てが少ないがんへの適応を目指した新規治療を目的とした研究を行っていきます。

### 4. 支援・謝辞

本研究は、2019 年度から始まった JST 戦略的研究推進事業 CREST [細胞外微粒子]「革新的液中ナノ顕微鏡開発と細胞外微粒子の包括的解明」(グラント番号: JPMJCR19H2, 代表;小椋俊彦、分担;佐藤和秀)の支援のもとで行われたものです。また、第一著者・責任著者の佐藤和秀は JST 創発的研究支援事業 FOREST の創発研究者(1 期生)「時間・空間光励起制御による革新的疾患モデル開発解明研究」(グラント番号: JPMJFR2017)として支援を受けております。

## 【用語説明】

\*1)EGFR:

がん細胞の表面に特異的に高発現しているタンパク質の一つ。このタンパク質を標的として結合する治療用の抗体薬が多数開発されている。

\*2)IR700:

ケイ素フタロシアニン骨格を持った、水溶性の光感受物質。690nm 付近の波長の光を吸収し、700nm の蛍光を発する。

## 【論文情報】

雑誌名: **ACS nano**

論文タイトル: **Photoinduced Actin Aggregation Involves Cell Death: A Mechanism of Cancer Cell Cytotoxicity after Near-Infrared Photoimmunotherapy**

著者: Kazuhide Sato<sup>1,2,3,4,5†\*</sup>, Tomoko Okada<sup>3,6 †</sup>, Ryu Okada<sup>1,2</sup>, Hirotohi Yasui<sup>2</sup>, Mizuki Yamada<sup>2,7</sup>, Yoshitaka Isobe<sup>2</sup>, Yuko Nishinaga<sup>2</sup>, Misae Shimizu<sup>2</sup>, Chiaki Koike<sup>2</sup>, Rika Fukushima<sup>2,7</sup>, Kazuomi Takahashi<sup>2</sup>, Shunichi Taki<sup>2</sup>, Ayako Kato<sup>2</sup>, Mitsuo Sato<sup>7</sup>, Toshihiko Ogura<sup>3,6</sup>

DOI:[10.1021/acsnano.5c00104](https://doi.org/10.1021/acsnano.5c00104)

English ver.

[https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical\\_E/research/pdf/Acs\\_250219en.pdf](https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Acs_250219en.pdf)