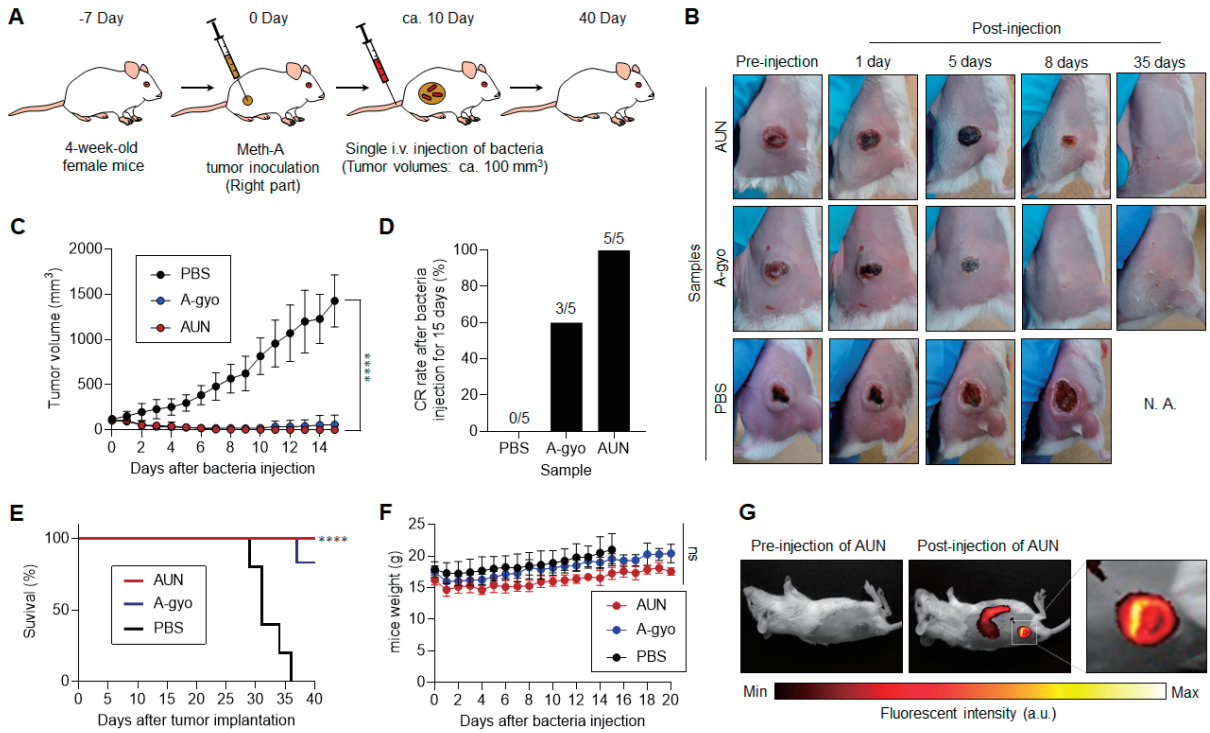
83　光合成細菌を活用する癌光療法の開発	都　英次郎

【目的】近年、低酸素状態の腫瘍内部で選択的に集積・生育・増殖が可能な嫌気性微生物（細菌）を利用した癌標的治療に注目が集まっている。従来の癌細菌療法は、既に米国や欧州ではヒトへの臨床試験が行われ、第 3 相試験に進んでいる例もある。本研究では、天然の光合成細菌が有する特異な抗癌活性・蛍光放射性と集積・増殖性を利用したマウス体内における癌光療法の有効性を検討することを目的としている。

【方法】サルコーマ（Meth-A）、大腸癌（colon-26）、薬物耐性乳腺癌細胞（EMT6/AR1）を背面移植した担癌モデルマウスならびにメラノーマ細胞（B16F10）をマウスの尾静脈に投与することで作製した転移性肺癌モデルマウス体内における光合成細菌（研究代表者が発見した細菌：A-gyo、AUN と命名）の性能評価・機能制御を検証した。

【結果】マウス尾静脈に細菌投与後（単回、ボーラス）、特に AUN を用いた場合、再現性良く腫瘍が完治することが判明した（下図 A〜F：代表例としてサルコーマモデルマウスの薬効試験を示す）。また、当該 AUN は火傷を伴わない温和な強度の近赤外光照射により、薬物耐性乳癌モデルマウス体内で腫瘍特異的に発光することが分かった（下図 G）。

サルコーマモデルマウスに対する薬効試験と薬物耐性乳癌モデルマウス体内で発光する光合成細菌



83. 光合成細菌を活用する癌光療法の開発

都　英次郎

北陸先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科

Key words：光合成細菌，微生物創薬，癌，診断，治療

緒　言

悪性腫瘍を取り囲む血管の周囲構造は、正常な血管内皮細胞とは異なり、癌組織や炎症部位の血管内皮細胞間には 200 nm 程度の広い隙間が開口している。このため、10～100 nm 程度にサイズが制御されたナノ粒子は、EPR（Enhanced Permeation and Retention）効果によって癌組織に特異的に集積することが可能である。EPR 効果は、ドラッグデリバリーシステム関連の論文で数多く引用され、癌選択的化学療法の最も大きな支柱となっている。しかし、EPR 効果に関する疑義、批判も数多く存在する。実際、固形癌に対しては、癌組織での血流の不均一性、癌中心部での高い組織圧といった EPR 効果（腫瘍選択性）を阻害する環境要因がいくつもあり、EPR 効果そのものが有用ではないという致命的な欠陥が判明している。また、EPR 効果を利用した薬物担持体は、その研究に長い年月と多大な費用を掛けたにも関わらず、上記の環境要因によりヒト臨床で成功していない。

一方、腫瘍へのターゲット性能を改善するために、癌細胞特異的な抗体などを薬物担持体に搭載する戦略がとられている。例えば、セキツマブ®やアバスチン®といった大腸癌を標的とするモノクロナール抗体が既に臨床応用されている。しかし、抗体は癌細胞を取り囲む厚い組織（間質）を透過することが困難である。また、抗体の標的となるバイオマーカー（抗原）は患者間で完全には同一でないことから、より高い選択性と薬効を得るためには各癌患者に適した抗体を利用する必要性があるが、これも現時点では実現していない。さらに抗体の作製そのものに多大な手間とコストが掛かるため、費用対効果も高いとは言えない。

また、早期肺癌、原発性悪性脳腫瘍、食道癌等を対象とした光を利用する診断・治療の従来法として、病巣部分にレザフィリン®等の光増感剤を集積させ、そこに光を照射することにより発生する蛍光ならびに活性酸素で癌を画像診断し、治療にも応用させる、光線力学的診断・治療法があるが、生体透過性の低い可視光レーザーを利用するため深部組織の癌細胞の診断、治療は容易ではない。また、光増感剤自体の癌細胞特異性も十分ではない。しかも、腫瘍内は酸素濃度が低いため、光増感剤では効果的に活性酸素を発生させることが出来ないことが問題となっている。

このような経緯の中、近年、低酸素状態の腫瘍内部で選択的に集積・生育・増殖が可能な嫌気性微生物（細菌）を利用した癌標的治療に注目が集まっている。従来の癌細菌療法は、既に米国や欧州ではヒトへの臨床試験が行われ、第 3 相試験に進んでいる例もある。しかし、従来の癌細菌療法は、基本的には抗癌剤の運搬という、いわゆる従来型のドラッグデリバリーシステムの概念を出ない。また、使用される細菌は、多くの場合、遺伝子組換えによって弱毒化したサルモネラ菌やリステリア菌であり、体内で再び強毒化するリスクを常に伴っている。

本研究では、天然の光合成細菌が有する特異な抗癌活性・蛍光放射性と集積・増殖性を利用したマウス体内における癌光療法の有効性を検討することを目的としている。

このように本研究は、腫瘍がユニバーサルに有する低酸素状態に着目し、当該癌微小環境に自発的かつ高選択的に集積・増殖し、かつ高い免疫賦活化作用と共に体の中を容易に透過する近赤外光によって任意に機能させることができる、“光合成細菌”そのものを医薬として活用するという、全く異なるアプローチである。実際、国内外の研究において、当該細菌を実際の癌の診断・治療に利用した研究は皆無であり、未踏の研究領域である。本研究を実現できれば、従来技術の課題を解決し、“癌光細菌療法”の医療応用への可能性を拡張できる。

方法、結果および考察

1. 担癌モデルマウスを用いた抗腫瘍効果の検証

サルコーマ（Meth-A）、大腸癌（colon-26）、薬物耐性乳腺癌細胞（EMT6/AR1）を背面移植した担癌モデルマウスならびにメラノーマ細胞（B16F10）をマウスの尾静脈に投与することで作製した転移性肺癌モデルマウス体内における光細菌の性能評価・機能制御を検証した。研究代表者のこれまでの研究により、天然の光細菌（*Rhodopseudomonas palustris*）が、マウス体内に移植した大腸癌に有効であることが判明している［1，2］。しかし、実際の動物臨床現場で頻繁に発生し、かつ大腸癌に比較して診断・治療が困難な乳腺癌への適用性を調査する必要性がある。また、これまで *Rhodopseudomonas palustris* の抗癌活性を引き出すためには、強力な近赤外レーザーを照射し細菌自体を発熱させる必要性があった。このため腫瘍のみならず患部周辺の正常な組織も火傷をする危険性があった。

2021 年、研究代表者は、強力な近赤外レーザーを用いなくても、マウスの尾静脈に単回投与するだけで高い抗癌活性を示す新たな機能性光細菌 2 種類（AUN、A-gyo と命名）を偶然発見した（特願 2022-082458、特願 2022-082460）。従って、本研究では、当該細菌を用いた抗腫瘍効果を検証した（図 1～4）。この結果、細菌投与後、再現性良く腫瘍が完治することが判明した。また、当該機能性光細菌（AUN）は、火傷を伴わない温和な強度の近赤外光照射により薬物耐性乳癌モデルマウス体内で腫瘍特異的に発光することが分かった（図 3D）。

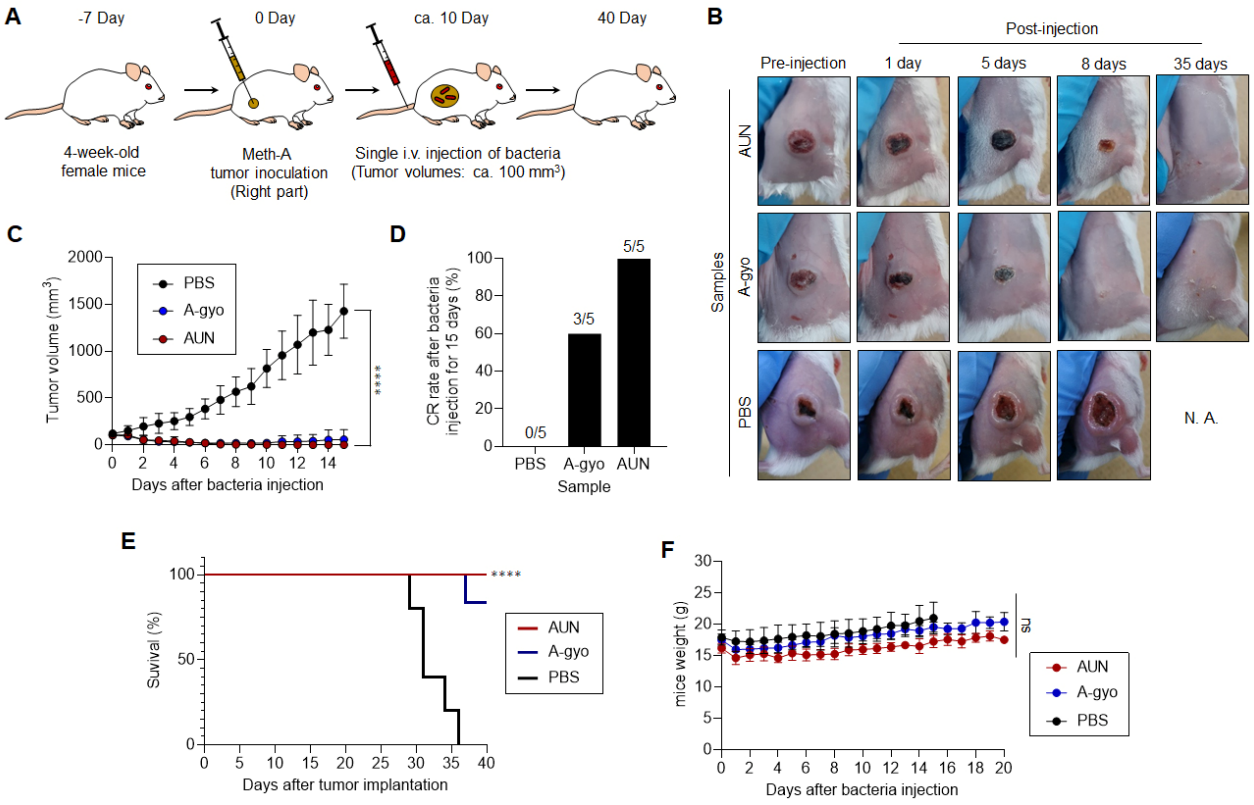


図 1. サルコーマモデルマウスに対する薬効試験

A) 実験計画。

B) 治療経過の様子。

C) 抗腫瘍効果。P＜0.0001, by two-way ANOVA test.

D) CR 達成率。

E) マウス生存率。P＜0.0001, Log-rank（Mantel-Cox）test.

F) マウス体重測定。

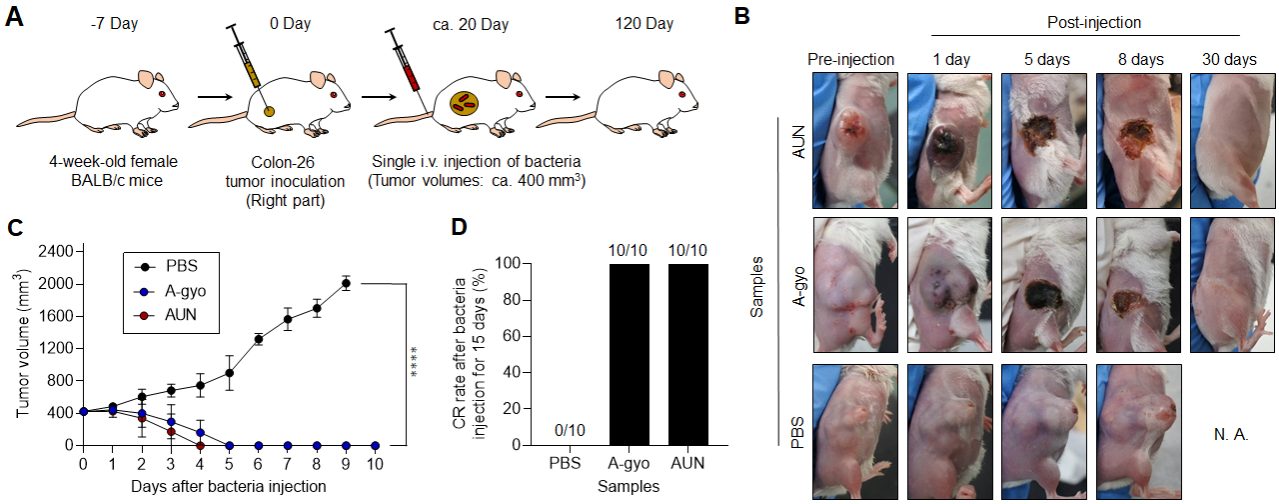


図 2. 大腸癌モデルマウスに対する薬効試験

A) 実験計画。

B) 治療経過の様子。

C) 抗腫瘍効果。P＜0.0001, by two-way ANOVA test

D) CR 達成率。

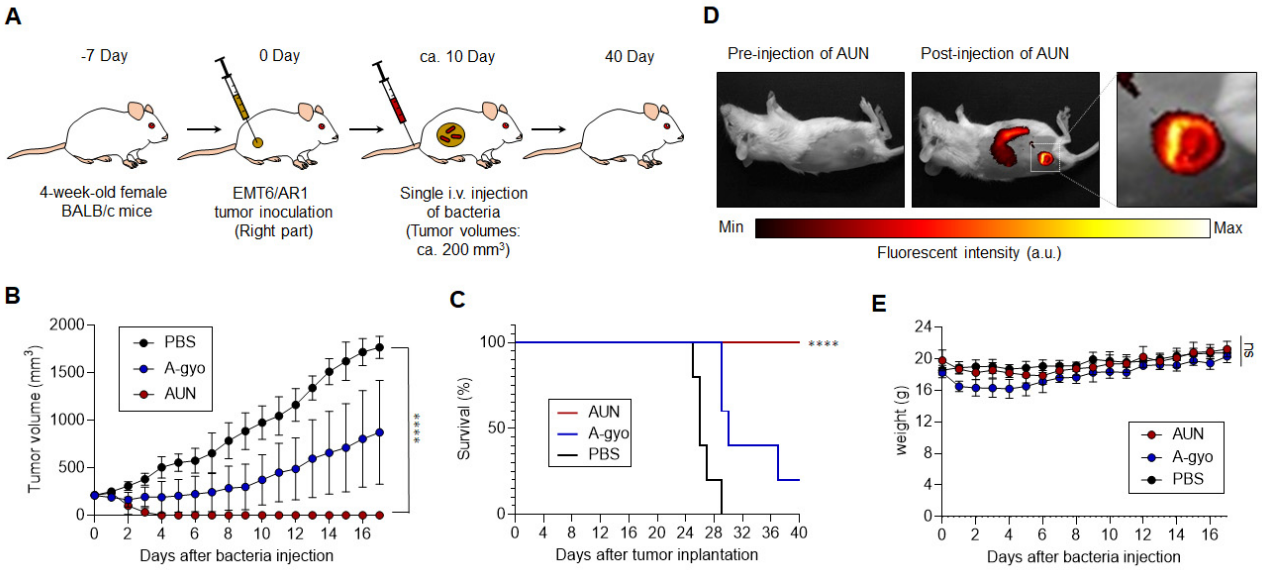


図 3. 薬物耐性乳癌モデルマウスに対する薬効試験

A) 実験計画。

B) 治療経過の様子。P＜0.0001, Student's two-sided t-test used for analysis in comparison to PBS.

C) マウス生存率。P＜0.0001, Log-rank（Mantel-Cox）test.

D) マウス体重測定。

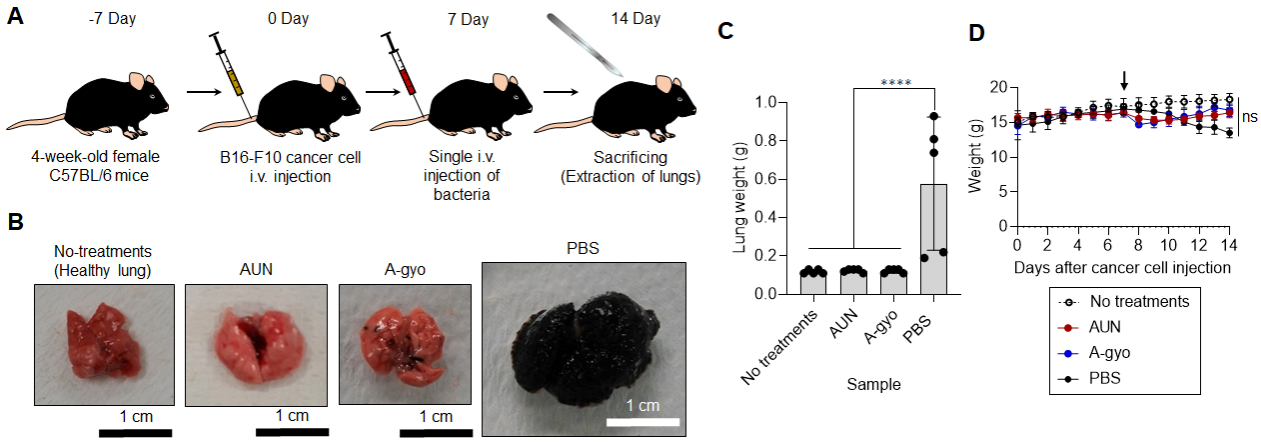


図 4. 転移性肺癌モデルマウスに対する薬効試験

A) 実験計画。

B) 治療後の肺の様子。

C) 抗腫瘍効果（肺重量の比較試験）。P＜0.0001, by two-way ANOVA test.

D) マウス体重測定。

また、当該細菌による抗腫瘍効果が様々な免疫細胞（T 細胞、NK 細胞、マクロファージなど）により惹起されていることが明らかとなった（Data not shown）。さらに、マウスを用いた生体適合性試験（血液学的検査、組織学的検査など）を行った結果、いずれの検査からも光合成細菌そのものが生体に与える影響は極めて少ないことがわかった（Data not shown）。

本研究成果を論文としてまとめ、プレプリントサーバー（BioRxiv）に投稿し［3］、現在某誌にて査読中である。

文　献

1) Yang X, Komatsu S, Reghu S, Miyako E. Optically activatable photosynthetic bacteria-based highly tumor specific immunotheranostics. Nano Today 37, 101100 (2021). https://doi.org/10.1016/j.nantod.2021.101100

2) Reghu S, Miyako E. Nanoengineered *Bifidobacterium bifidum* with optical activity for photothermal cancer immunotheranostics. Nano Letters 22, 1880-1888 (2022). https://doi: 10.1021/acs.nanolett.1c04037

3) Goto Y, Iwata S, Miyako E. Discovery of intratumoral oncolytic bacteria toward targeted anticancer theranostics. BioRxiv https://doi.org/10.1101/2022.10.25.513676