

令和元年6月10日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K20191

研究課題名(和文)高濃度NaClによる抗癌剤内包ミセルの抗腫瘍効果増強とその動態

研究課題名(英文) Enhancement of antitumor effect of micelle-incorporated anticancer drug by high concentration NaCl

研究代表者

上野 貴雄 (UENO, TAKAYOSHI)

金沢大学・附属病院・助教

研究者番号：30623649

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：ミセル化シスプラチンはミセルが崩壊することで、内包する抗癌剤が放出され、抗腫瘍効果を発揮する。ミセル化により血中の安定性が向上し、EPR効果で腫瘍内濃度は高まるが、集積効果に比して抗腫瘍効果の上昇が小さい。ミセル化薬剤は一種の徐放性の薬剤であり、内部の抗癌剤を一気に放出させることができれば、抗腫瘍効果が高まるのではないかと考えた。そこで、ミセルは塩化物イオン濃度が高いほど、溶液の温度が高いほど崩壊しやすい点に着目した。高濃度NaClの併用投与は、頭頸部癌Cell lineでは抗腫瘍効果が高まる結果が得られたが、OSC-19舌移植モデルマウスでは有意な結果が得られなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在のところ、頭頸部癌においてシスプラチンを凌駕する抗がん剤も分子標的薬もない。このシスプラチンの副作用軽減と効果を増強する方法の一つとしてミセル化がある。腫瘍への薬剤集積の増加に比して、抗腫瘍効果の上昇が少なく、ミセル化薬剤が徐放性である点が問題と考えた。シスプラチンは濃度依存性薬剤のため、ミセルの崩壊を人為的に早めることができれば抗腫瘍効果が高まるのではないかと考えた。想定したような結果は得られなかったが、引き続き癌の治癒率を高めるための手段を検討することは重要であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The micelle-incorporated cisplatin releases cisplatin which exhibits antitumor effect by disintegration of micelles. Micellization improves the stability of the drug in blood and increases the tumor concentration. However, the antitumor effect is lower than the accumulation effect. It was found that the micelle-incorporated cisplatin dissolved in high concentration NaCl had a high antitumor effect in vitro. However, in the head and neck cancer mouse model, the enhancement of the antitumor effect could not be confirmed.

研究分野：頭頸部癌

キーワード：頭頸部癌 抗癌剤 ミセル化

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

頭頸部癌の治療は外科治療や放射線治療などの局所療法と、全身療法である化学療法に分類される。局所療法は治療的に限界に近く癌治療率の大幅な向上は期待できないため、癌の生存率向上に関して化学療法への期待は大きい。化学療法については、現在のところシスプラチンを凌駕する抗がん剤も分子標的薬もない。このため、当院では既存のシスプラチンの効果を増強すべく、大量のシスプラチンを腫瘍の栄養動脈血管から投与する動注化学療法（以下、動注法）を早くから実践している。これにより局所制御率が向上し臓器温存率の向上に大きく貢献した。しかしながら、この動注法は腫瘍組織通過後、全身循環するシスプラチンの腎障害を軽減するために、チオ硫酸ナトリウムによる中和が必要である。このため、リンパ節や遠隔転移の制御は不十分である。また、腫瘍の栄養血管によっては動注そのものがないという問題がある。これらの問題点を打破しうる可能性を秘めているのが、東京大学工学部で開発された各種抗癌剤を高分子ミセル構造に内包した薬剤である。高分子ミセルが血中でゆっくり分解される点（血液中の安定性）、EPR効果（enhanced permeability and reaction：癌組織は血管壁の透過性亢進とリンパ系が未発達であるために高分子が集積しやすい環境を形成している。したがって、ミセル化抗癌剤は高い癌組織特異的、選択的に集積する）に基づき、がん細胞特異的、選択的に働く Drug delivery system を利用した薬物療法である。ミセル化薬剤により静脈投与でも動注法に匹敵する腫瘍内濃度が得られ、かつリンパ節や遠隔転移の制御が得られる。動注法では投与できない腫瘍にも集積し、優れた抗腫瘍効果を発揮する。ミセル化薬剤の腎障害軽減により動注時に中和が不要になる。このように申請者らは考え、早くからミセル化薬剤を使用しての頭頸部癌動物モデルでの基礎研究を行ってきた。

### 2. 研究の目的

これまでの研究からシスプラチンはミセル化することで、最大の有害事象である腎障害が軽減されることがわかった。腫瘍内での Pt 濃度は上昇したが、抗腫瘍効果についてはわずかに上昇するのみであった。ミセル化シスプラチンはミセルが崩壊することで、内包する抗癌剤が放出され、抗腫瘍効果を発揮する。ミセル化により血中の安定性が向上し EPR 効果で腫瘍内濃度は高まるが、内包する抗癌剤を放出するのに時間を要するため、集積効果に比して抗腫瘍効果が上がらないと考えた。シスプラチンは時間依存性薬剤ではなく、濃度依存性薬剤と考えられており AUC よりも Cmax が重要である。ミセルの崩壊を早め、シスプラチンを一気に放出させることができれば抗腫瘍効果が飛躍的に高まると考えられた。ミセル化薬剤は塩化物イオン存在下で徐々に崩壊する。ミセルは塩化物イオン濃度が高いほど、溶液の温度が高いほど崩壊しやすい点に着目し、抗腫瘍効果の発揮したい場所で、塩化物イオン濃度や環境温を上昇させることでミセルの崩壊を加速でき、抗腫瘍効果を増強できると仮説を立てた。

### 3. 研究の方法

上記の目的について検討するために以下の方法で研究を遂行した。

- 1) 頭頸部扁平上皮癌細胞株 OSC-19, OSC-20, KB を用いてミセル化シスプラチン (NC-6004) を加えたあとに、各種濃度の NaCl (0.9%, 5%, 10%, 20%) を培養液に投与し、37 で培養, LD50 値を求め、高濃度 NaCl にて抗腫瘍効果が高まるか検討した。
- 2) in vivo での評価に用いるため、従来の cell line 移植頭頸部癌モデルマウスより、臨床に即した Patient-derived xenograft モデルマウスの作成。手術を行った頭頸部扁平上皮癌患者の腫瘍を NOD/scid マウスの背部皮下に移植し PDX モデルマウスを作成した。
- 3) 頭頸部癌モデルマウスにてミセル化シスプラチン (NC-6004) を尾静脈より投与し、高濃度 NaCl (20%) を各種投与方法 (局所投与、動脈投与) によりミセル化シスプラチン (NC-6004) の抗腫瘍効果が高まるかを検討した。

### 4. 研究成果

- 1) ミセル化シスプラチンに各種濃度の NaCl に溶解し添加し、37 で反応させた後、37 で頭頸部癌細胞株である OSC-19, OSC-20, KB とともに培養, LD50 値を求めたところ、NaCl の濃度が高いほど抗腫瘍効果が高まることがわかった。また、ミセル化薬剤と NaCl を反応させる温度を 37 より高めたところ、LD50 値が低下し、抗腫瘍効果が高まることわかった。
- 2) in vivo での評価に用いるため、従来の頭頸部癌モデルマウスより臨床に即した Patient-derived xenograft モデルマウスの作成を行った。およそ 20 例へ移植を行い、その内、3 例で生着を認めた。生着したマウス背部腫瘍を更に継代し、生着を確認した。第 2 世代までは、移植腫瘍のサイズのバラツキが大きく、抗癌剤の効果の検討は難しかった。第 3 世代以降でマウス数を増やしたところ、腫瘍のサイズのバラツキは安定しつつある。
- 3) より臨床に即した PDX モデルマウスを用いて、in vivo での抗腫瘍効果の評価を行いたかったが、前述のごとく今回の研究での利用は困難であった。このため、OSC-19 舌癌モデルマウスにて評価をおこなった。従来のシスプラチンに比して、ミセル化薬剤は 24 時間で腫瘍内 Pt 濃度が約 4 倍の高い集積効果を認めた。抗腫瘍効果は従来シスプラチンとほぼ同様であった。腫瘍周囲への 20% 高濃度 NaCl 投与の追加にて、0.9% 投与と比較して明ら

かな抗腫瘍効果の上昇を認めなかった。これは腫瘍周囲への投与が、液量として 0.2ml が限界であったことが原因と考えられた。マウス頸部からカテーテルを挿入し、動脈投与でより多くの高濃度 NaCl の投与を試みたが、手技の難しさもあり、本研究の期間中に有効な投与量の設定が困難であった。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

1 Endo K, Ueno T, Ishikawa K, Nakanishi Y, Kondo S, Wakisaka N, Yoshizaki T. Auris Nasus Larynx. DOI: 10.1016/j.anl.2018.10.007. 査読あり 2019 Jun;46(3):431-436.

2 Seishima N, Kondo S, Wakae K, Wakisaka N, Kobayashi E, Kano M, Moriyama-Kita M, Nakanishi Y, Endo K, Imoto T, Ishikawa K, Sugimoto H, Hatano M, Ueno T, Koura M, Kitamura K, Muramatsu M, Yoshizaki T. Sci Rep. DOI: 10.1038/s41598-017-18732-w. 査読あり 2018 Jan 17;8(1):918.

3 Yoshizaki T, Kondo S, Endo K, Nakanishi Y, Aga M, Kobayashi E, Hirai N, Sugimoto H, Hatano M, Ueno T, Ishikawa K, Wakisaka N. Cancer Sci. DOI: 10.1111/cas.13473. 査読あり 2018 Feb;109(2):272-278.

〔学会発表〕(計 4 件)

1 上野貴雄、近藤悟、吉崎智一、上咽頭癌をはじめとした頭頸部癌における血中循環腫瘍細胞の検出方法の開発、第 31 回日本口腔・咽頭科学会、2018/9/13-15、名古屋

2 上野貴雄、当院における鼻副鼻腔乳頭腫の HPV 感染状況の検討、第 119 回日本耳鼻咽喉科学会、2018/5/30-6/2、横浜

3 Ueno T. A Case Report: Orbital floor and maxillofacial reconstruction using a bone fixation device from hydroxyapatite/poly(L-lactide) composites with nasal septal flap. 4th Congress of European ORL-HNS. 2017/10/7-10/10.Barcelona,Spain

4 Ueno T, Endo K, Tsuji A, Kondo S, Wakisaka N, Muroso S, Yoshizaki T. Assessment of antitumor activity and acute peripheral neuropathy of NC-4016. 4th Congress of Asian Society of Head and Neck Oncology & 第 39 回日本頭頸部癌学会 Joint Meeting. 2015/6/3-6 Kobe, Japan.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年 :

国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年 :

国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

## 6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名 :

ローマ字氏名 :

所属研究機関名 :

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。