

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月18日現在

機関番号：32511

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K08000

研究課題名(和文) 高吸収クルクミンと組換えビフィズス菌とを用いた膵臓癌治療法の開発

研究課題名(英文) Development of the novel therapy against pancreatic cancer using highly absorbable curcumin preparation and recombinant bifidobacteria.

研究代表者

平 裕一郎 (TAIRA, Yuichiro)

帝京平成大学・薬学部・准教授

研究者番号：20581953

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究において、NF- κ Bの抑制活性を持ち、膵臓癌の臨床試験において安全性が高く、予後も良いクルクミンの高吸収型製剤であるセラクルミンの経口投与と、TNF- α または抗TRAIL-R1アゴニスト一本鎖抗体分泌ビフィズス菌の静脈内投与を組み合わせることにより、組換えビフィズス菌の抗腫瘍効果が増強されることが見出された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、NF- κ Bの抑制活性を持ち膵臓癌の臨床試験での安全性が高く予後も良い高吸収クルクミン製剤(セラクルミン)の経口投与とTNF- α または抗TRAIL-R1アゴニスト一本鎖抗体分泌ビフィズス菌の静脈内投与を組み合わせることによって新規な膵臓癌治療法の開発を目指すものである。本研究の成果として、セラクルミンの経口投与とTNF- α または抗TRAIL-R1アゴニスト一本鎖抗体分泌ビフィズス菌の静脈内投与を組み合わせることにより、ビフィズス菌の抗腫瘍効果が増強されることが見出された。

膵臓癌の新治療法の開発が望まれている状況にあることから、本研究は膵臓癌治療において意義のあるものになると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Theracurmin is a curcumin oral preparation having enhanced absorbability that inhibits NF- κ B activity and exhibits high safety and favorable prognosis in clinical studies on pancreatic cancer patients. In this study, we found that the anti-tumor activity of recombinant bifidobacteria, secreting TNF- α or agonistic antibodies against TRAIL-R1, was elevated by concomitant use of those recombinant bacteria and the oral administration of theracurmin.

研究分野：医療薬学

キーワード：ビフィズス菌 DDS 抗腫瘍薬 嫌気性菌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

天然物ウコンの主成分であるクルクミンは、カレーなどに香辛料として使用されているだけでなく、インドや中国の伝統医学の中で病気の治療に薬として使われてきた。現在までに、抗腫瘍効果、抗炎症、抗マラリア性など、様々な薬理作用が報告されている(Cell 2007)。NF- κ B は種々の癌で活性化している転写因子であり、癌の進行や抗癌剤への耐性などに関与していることが知られている。クルクミンはこの NF- κ B の活性を抑制し種々の癌細胞に対し増殖抑制効果やアポトーシス誘導効果を示すため、新規抗腫瘍薬として注目されている(Cell 2007)。これまでクルクミンは経口吸収率が非常に低い (Angew. Chem. Int. Ed. 2012) ことが問題であったが、近年、従来のクルクミンと比較してバイオアベイラビリティが 30 倍向上した高吸収クルクミン製剤 (セラクルミン) が開発された (Biol. Pharm Bull 2011 34)。実際、従来のクルクミンを用いた膵臓癌の臨床試験ではクルクミン摂取量が 8g/1 日に達したのに対し、セラクルミンを用いた膵臓癌の第 1 相試験では、クルクミン摂取量 400mg/1 日だけで従来のクルクミンを用いた臨床試験と比較して血中濃度が 5 倍に上昇している。腫瘍は退縮しなかったが、重篤な副作用もなく、予後もよいという有望な結果が得られている (World J Gastroenterol. 2014)。

ビフィズス菌をはじめとする偏性嫌気性菌は、静脈内に投与すると非常に高い選択性をもって腫瘍でのみ増殖する (Cancer Res. 1980)。これは、腫瘍の中心部に形成される嫌気的環境で偏性嫌気性菌の生存及び増殖が可能なためと考えられている。またグラム陽性菌のビフィズス菌は、死後もエンドトキシンを放出する危険性がない。以上の特徴を利用して、腫瘍組織に対する DDS (Drug delivery system) 担体としてのビフィズス菌の有用性が注目されつつある。例えばアネロファーマ社は、5-フルオロシトシン (5-FU) を 5-フルオロウラシル (5-FU) に転換する大腸菌シトシンデアミナーゼ (CD) を菌体内で発現する組換えビフィズス菌を作出し、この組換えビフィズス菌を 5-FU と共に固形癌患者に投与する (特許第 3642755) という臨床第 1 相試験を、2013 年から米国において開始した。現在のところ、組換えビフィズス菌が投与された患者に副作用の問題は生じていない (2016 年日本癌学会学術総会)。しかし、この方法では 5-FU を投与するため、CD により 5-FU から生じる 5-FU の毒性によって腫瘍内のビフィズス菌が減少する点、及び 5-FU 自体の副作用が問題となる。

そこで、申請者らは生物活性を有する蛋白質を高レベルで分泌発現可能な組換えビフィズス菌を作出し (Yuichiro Taira, Isao Ishida. PCT/WO2014/010758、平裕一郎、平郁子、石田功他特願 2014-003441)、上記の問題点の解決を図った。なおこの技術により申請者らは、静脈内投与するだけで抗腫瘍効果を発揮する組換えビフィズス菌の作出に成功している。

膵臓癌は、本邦における死亡者数が約 28,000 人/年にのぼり、(1)膵臓が体の深部にあり異変の発見が困難である、(2)浸潤性に発育し早期転移しやすい、(3)間質が多く血管が乏しい (Oncol. Rep. 2002) という特徴を持ち、癌の中でも診断と治療が困難である。そのため、膵臓癌に対して有効性が高く、有害事象の少ない新治療法が望まれている (膵癌診療ガイドライン)。腫瘍組織内の嫌気的環境は化学療法に対する抵抗性の原因と考えられている (J Natl Cancer Inst, 2007) が、膵臓癌の特徴(3)が生み出す嫌気的環境は、嫌気性菌のビフィズス菌にとっては生息しやすく、利点となり得ると考えられる。また、セラクルミンの膵臓癌における臨床試験での高い安全性と良好な予後、クルクミンによる NF- κ B の活性化抑制作用、TNF- α 及び TRAIL-R1 アゴニストの抗腫瘍効果に対する耐性に NF- κ B 活性化が大きく関与するという知見 (Biochim Biophys Acta. 2010、Mol Cancer 2011、Scientific Reports 2011) を合わせて考えると、セラクルミンと抗腫瘍蛋白質 (TNF- α 及び抗 TRAIL-R1 アゴニスト一本鎖抗体) を分泌する組換えビフィズス菌を組み合わせる膵臓癌の治療を試みるのは、これまでになく安全で効果の高い治療法となる可能性がある。

2. 研究の目的

本研究は、NF- κ B の抑制活性を持ち、膵臓癌の臨床試験において安全性が高く、予後も良いクルクミンの高吸収型製剤であるセラクルミンの経口投与と、TNF- α または抗 TRAIL-R1 アゴニスト一本鎖抗体分泌ビフィズス菌の静脈内投与を組み合わせることにより、新規な膵臓癌治療法の開発を目指すものである。

TNF- α や TRAIL アゴニストを用いた臨床試験では、TNF- α や TRAIL アゴニスト非感受性の癌が問題となり、その原因として NF- κ B の活性化があると言われている。セラクルミンを併用投与することで、NF- κ B の活性化を抑制することにより TRAIL-R1 アゴニストなどに非感受性の癌の感受性を高め、膵臓癌に対して有効性が高く、有害事象の少ない治療法につなげることを目的とする。

3. 研究の方法

ヌードマウスにヒト膵臓癌細胞を移植し、腫瘍塊の平均値が 100 ~ 200mm³ に到達時に群分けを実施する。群分け後、セラクルミンの経口投与及び抗 TRAIL-R1 アゴニスト一本鎖抗体分泌ビフィズス菌または TNF- α 分泌ビフィズス菌の静脈内投与を実施する。継時的に週 2 回、体重とノギスで腫瘍径を測定する。

4. 研究成果

ヒト膵臓癌細胞 BxPC-3 細胞でセラクルミンと抗 TRAIL-R1 アゴニスト一本鎖抗体分泌ビフィズス菌を併用した場合の抗腫瘍効果を *in vivo* で検討したところ、組換えビフィズス菌の投与 30 日後の抗腫瘍効果について、セラクルミン 1 日 1 回単独投与群の抗腫瘍効果と抗 TRAIL-R1 アゴニスト一本鎖抗体単独投与群の抗腫瘍効果の和が、セラクルミンと TRAIL-R1 アゴニスト一本鎖抗体併用投与群の抗腫瘍効果の値と同一となり、併用により上乗せ効果が得られた。

同じく BxPC-3 細胞で、セラクルミンの経口投与と TNF- α 分泌ビフィズス菌静脈投与を併用した場合の抗腫瘍効果を *in vivo* で検討したところ、TNF- α 分泌ビフィズス菌単独投与群と比較して、セラクルミンの経口投与と TNF- α 分泌ビフィズス菌の併用投与群は、組換えビフィズス菌の投与 4 日で有意な抗腫瘍効果が見られたのに対して、TNF- α 分泌ビフィズス菌単独投与群では、組換えビフィズス菌の投与 11 日からでしか有意な抗腫瘍効果が見られず、セラクルミンの経口投与と抗腫瘍効果をもつ蛋白質を分泌するビフィズス菌の静脈内投与を併用することにより、迅速な抗腫瘍効果の発現が可能であることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 6 件)

1 Ikuko Taira, Yuichiro Taira, Masakazu Kato, Yoshimi Shimizu, Katuhiro Isoda, Hiromi Saitou and Isao Ishida Reviving Previous Therapeutics by Recombinant Anaerobic Bifidobacteria, Biomed J Sci Tech Res., 2019, 12(5)

2 Shimizu Y, Mashima-Nemoto T, Hazawa M, Taira Y, Taira I, Ishida I, Isoda K The hepatoprotective effect of lycopene on Con A-induced liver injury in mice. Die Pharmazie 2018 73(7) 393-395

3 Isoda K, Nozawa T, Taira Y, Taira I, Shimizu Y, Ishida I Effects of surface charge and palladium on hepatic and kidney injury induced by polystyrene nanoparticles co-administered to mice with paraquat and cisplatin. Die Pharmazie 2018 73(3) 165-168

4 Utoguchi N, Taira Y Forefront of Cancer Targeting Therapy Yakugaku zasshi : Journal of the Pharmaceutical Society of Japan 2018 138(7) 901-902

5 Taira Y, Taira I, Nisikawa T, Ishida I Development of an Anticancer Therapy Using Recombinant Bifidobacterium as a New Drug Delivery System (DDS) Yakugaku zasshi : Journal of the Pharmaceutical Society of Japan 2018 138(7) 923-930

6 Isoda K, Daibo T, Yushina K, Yoshioka Y, Tsutsumi Y, Akimoto Y, Kawakami H, Taira Y, Taira I, Yanoshita R, Nishimura T, Ishida I Hepatotoxicity, nephrotoxicity, and drug/chemical interaction toxicity of platinum nanoparticles in mice. Die Pharmazie, 2017 72(1) 10-16

〔学会発表〕(計 17 件)

1 日本薬学会第 139 年会(千葉)(2019 年 3 月 21 日、幕張メッセ)

報道機関向け講演ハイライト選定「EPR 効果増強剤によるビフィズス菌腫瘍内集積数の増大」、製剤学(2 件/164 件)

2 日本薬学会第 139 年会(千葉)(2019 年 3 月 21 日、幕張メッセ)「EPR 効果増強剤によるビフィズス菌腫瘍内集積数の増大」加藤雅和、平裕一郎、平郁子、川口愛夏、矢部貴美恵、大野華世、小倉祐太、後藤凧、清水芳実、磯田勝広、齋藤浩美、石田功

3 日本薬学会第 139 年会(千葉)(2019 年 3 月 21 日、幕張メッセ)「金ナノ粒子の薬物相互作用による傷害性の検討」越後谷美幸、磯田勝広、田中杏樹、藤盛千咲、木下結賀、佐藤梨花子、平裕一郎、平郁子、清水芳実、石田功

4 第 62 回日本薬学会 関東支部大会(2018 年 9 月 15 日、帝京平成大学薬学部)大会企画シンポジウム「DDS 研究からの創薬イノベーション」

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「3 大学合同 DDS 研究シンポジウム」

平裕一郎 「遺伝子組換えビフィズス菌を DDS に用いたがん治療薬の開発」

5 第 62 回日本薬学会 関東支部大会(2018 年 9 月 15 日、帝京平成大学薬学部)「HepG2 細胞とマウスに対する金ナノ粒子の安全性の検討」藤盛千咲、磯田勝広、越後谷美幸、平裕一郎、平郁子、石田功

6 第 62 回日本薬学会 関東支部大会(2018 年 9 月 15 日、帝京平成大学薬学部)「金ナノ粒子は薬物相互作用により急性腎傷害を誘導する」田中杏樹、磯田勝広、平裕一郎、平郁子、石田功

7 第 62 回日本薬学会 関東支部大会(2018 年 9 月 15 日、帝京平成大学薬学部)「がん細胞死誘導活性をもつ TRAIL-R1 を標的とした新規 3 価 VHH 抗体分泌ビフィズス菌の安全性」西川毅、藤園友里、小出圭悟、平郁子、平裕一郎、石田功

8 第 62 回日本薬学会 関東支部大会(2018 年 9 月 15 日、帝京平成大学薬学部)「CL4 指向性抗腫瘍蛋白質を分泌する組換えビフィズス菌の作製」榎本健太、清水芳実、山内友梨奈、平裕一郎、平郁子、磯田勝広、齋藤浩美、石田功

9 日本薬学会第 138 年会(金沢)(2018 年 3 月 28 日、ホテル日航金沢他)「ビフィズス菌の蛋白質発現量向上に向けたプロモーターの探索と体内動態解析」清水芳実、榎本健太、磯田勝広、平裕一郎、平郁子、齋藤浩美、石田功

10 日本薬学会第 138 年会(金沢)(2018 年 3 月 27 日、ホテル日航金沢他)「TNF- α 発現・

分泌組換えピフィズス菌のマウス悪性黒色腫モデルを用いたがん免疫療法への応用検討」加藤雅和、平裕一郎、平郁子、清水芳実、磯田勝広、斎藤浩美、石田功

11 日本薬学会第138年会(金沢)(2018年3月26日、ホテル日航金沢他)「PVP修飾銀ナノ粒子の医薬品に対する安全性に関する検討」望月優摩、小野壮平、磯田勝広、平裕一郎、平郁子、石田功

12 第61回日本薬学会 関東支部大会(2017年9月16日、慶応義塾大学薬学部)「PVP修飾銀ナノ粒子の安全性評価」小野壮平、磯田勝広、望月優摩、平裕一郎、平郁子、石田功

13 第61回日本薬学会 関東支部大会(2017年9月16日、慶応義塾大学薬学部)「TNF- α 発現・分泌ピフィズス菌の作製および抗腫瘍効果の検討」加藤雅和、平裕一郎、平郁子、河津衣里子、高原優樺、竹澤玲美、中井亮佑、清水芳実、磯田勝広、斎藤浩美、石田功

14 Euro Tox. (2017年9月10日 Bratislava, Slovak National Theatre) 「Influence of nanoclay particles on hepatotoxicity and drug interaction toxicity in mice」Katsuhiko Isoda, Yuichiro Taira, Ikuko Taira, Tetsuji Nishimura, Isao Ishida.

15 日本薬学会第137年会(仙台)(2017.3.26) 一般シンポジウム 「がんターゲティング療法の最前線」オーガナイザー(平裕一郎)

平裕一郎 「組換えピフィズス菌をDDSとして用いた癌治療法の開発」

16 日本薬学会第137年会(仙台)(2017年3月27日、東北大学) 「粒子径による銀ナノ粒子の傷害性と薬物相互作用に関する検討」青木幸菜、磯田勝広、上田舞子、小林直樹、平郁子、平裕一郎、石田功

17 第31回日本DDS学会(2015年7月2日、東京) 「抗TRAIL受容体アゴニスト一本鎖抗体発現・分泌ピフィズス菌の抗腫瘍効果の解析」平裕一郎、西川毅、平郁子、Akter Jesmin、磯田勝広、斎藤浩美、石田功

〔図書〕(計4件)

1 清水芳実、平郁子、平裕一郎、石田功 「抗体薬物複合体におけるDDS技術の開発動向」、医薬品モダリティの特許戦略と技術開発動向(技術情報協会) pp(2019)

2 平裕一郎、平郁子、石田功 「組換えピフィズス菌を用いた医薬品リバイバル技術」、バイオ医薬品の開発と市場(シーエムシー出版) pp 118-129 (2018)

3 平裕一郎、平郁子、石田功 「抗体薬物複合体におけるDDSの評価」、DDS先端技術の製剤への応用開発(技術情報協会) pp 484-492 (2017)

4 平裕一郎 「抗EGFR抗体-緑膿菌外毒素Aサブユニット融合体とピフィズス菌DDSによる抗腫瘍薬の開発」、抗体薬物複合体(ADC)の設計開発(シーエムシー出版) pp 119-128 (2016)

〔産業財産権〕

取得状況(計1件)

名称: 組換え偏性嫌気性グラム陽性菌

発明者: 西川毅、平裕一郎、平郁子、石田功

権利者: 帝京平成大学

種類: 特許

番号: 10266601

取得年: 2019年

国内外の別: 国外(米国)

〔その他〕

ホームページ等

帝京平成大学 薬学部特設サイト 研究 ユニット紹介 抗体・DDSユニット

<http://pharm.thu.ac.jp/research/unit/dds.html>

帝京平成大学 薬学部特設サイト 研究 研究活動 私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

<http://pharm.thu.ac.jp/research/grant.html>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 石田 功

ローマ字氏名: ISHIDA Isao

所属研究機関名: 帝京平成大学

部局名: 薬学部

職名: 教授

研究者番号(8桁): 00415556

研究分担者氏名：平 郁子

ローマ字氏名：TAIRA Ikuko

所属研究機関名：帝京平成大学

部局名：薬学部

職名：准教授

研究者番号(8桁): 60453693