

令和元年5月30日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11226

研究課題名(和文) 難治性頭頸部癌に対する次世代高分子ナノDDSの開発

研究課題名(英文) Development of the next generation polymeric nano DDS for intractable head and neck cancer

研究代表者

松本 有 (Matsumoto, Yu)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80548553

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では高分子ナノDDSに様々な機能を賦与し、生体内動態を評価することにより分子修飾を最適化する。ナノDDSの抗腫瘍効果の評価のために舌癌細胞株および口腔癌細胞株を用いた。血中滞留性評価に基づき、外殻を構成する最適なPEG鎖長を分子量12000と決定した。標的指向分子であるcRGDをナノDDS表面に搭載し、その搭載率を最適化し20%と決定した。IVIS発光蛍光イメージングシステムや生体リアルタイム共焦点レーザー走査型顕微鏡を用いて高分子ナノDDSの腫瘍内動態評価を行った。cRGD搭載ナノDDSが腫瘍や転移リンパ節への集積を向上させ、抗腫瘍効果とモデルマウスの生存率を改善することを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腫瘍組織の血管透過性に依存した「受動的ターゲティング」ナノDDSでは治療が難しいがんを克服したいと考えています。標的指向分子を搭載した次世代の高分子ナノDDSを開発しました。細胞実験や動物実験を行い、cRGDを搭載したナノDDSが腫瘍や転移性リンパ節に集積して治療効果を改善することを確認しました。今後も様々な分子修飾による作り込みと機能評価を行い、ナノDDSの開発を進めます。

研究成果の概要(英文)：The study aims to incorporate multiple functions into the polymeric nano DDS. The intravital kinetics of the nano DDS were analyzed to optimize the molecular modification. The tongue carcinoma cells and oral carcinoma cells were used to analyze the antitumor activity of the nano DDS. The PEG length was determined as the molecular weight of 12000 according to the blood circulation assay. The tumor-targeting molecule was installed on the surface of nano DDS, and the linking ratio was optimized as 20%. IVIS imaging system and intravital confocal microscopy were used to analyze the intratumoral distribution of the nano DDS. Our results suggested that the installation of the cRGD peptide on the nano DDS promoted the targeting of tumor and metastatic lymph node, and improved antitumor efficacy and survival.

研究分野：生体イメージング

キーワード：生体イメージング ナノテクノロジー

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

1. 研究開始当初の背景

頭頸部癌治療の問題は、「生命予後」と「機能・整容温存」という、相反する2つの目標を両立することにある。これを達成するため機能温存手術、切除・再建術、放射線化学療法、強度変調放射線治療などが開発されてきた。頭頸部癌の9割以上は扁平上皮癌である。代表的な導入化学療法はシスプラチン、5-フルオロウラシル、ドセタキセルの3剤を用いた TPF 療法であるが、副作用管理が難しく投薬減量や治療中断を余儀なくされるという問題がある。頭頸部癌を対象とした分子標的治療薬が数種類臨床で用いられており、プラチナ製剤の代用となり得るかどうか検討されている。現段階では高薬価に比して効果は限定的であり、間質性肺炎、出血、梗塞、皮疹など新たな副作用が問題である。遺伝子・核酸医薬の開発も進んでいる。理論的には腫瘍選択性の高い抑制効果が得られる可能性があるが、生体内安定性や投与法が確立されておらず臨床応用には至っていない。

シスプラチンを腫瘍細胞に効率よく送達し非特異的な体内分布を抑制することが出来れば、頭頸部癌に対する治療効果を高めながら副作用を低減することが期待できる。これを実現する技術が薬物送達システム(DDS)である。申請者らはナノテクノロジーを応用し、親水性高分子のポリエチレングリコール(PEG)とポリアミノ酸からなるブロック共重合体の自己会合によって形成される高分子ナノDDSの開発を行っている。

2. 研究の目的

本研究ではシスプラチン内包高分子ナノDDSに分子修飾を施し高機能化する。頭頸部癌、特に転移癌と難治性癌を標的とし、EPR効果への上乗せ効果として「腫瘍選択性」および「腫瘍浸透性」を高めた次世代型の能動的ターゲティングDDSを開発する。生体顕微鏡を駆使して高分子ナノDDSの生体内挙動を解析し、構成分子の違いが薬物動態に及ぼす影響を明確にする。これを高分子の合成段階へフィードバックすることにより高分子ナノDDSを最適化する。研究期間内には以下のことを明らかにする。

外殻を構成するPEGの最適な鎖長を決定する。

標的組織に浸透し標的細胞へ到達するための最適な粒子径を決定する。

外殻表面に搭載する最適ナリガンド導入率を決定する。

これらの分子修飾の最適化は、高分子ナノDDSの血中滞留性、血中安定性、臓器・組織移行性、標的指向性、薬剤放出を多角的・総合的に評価することで可能となる。

3. 研究の方法

本研究では頭頸部癌、特に転移癌と難治性癌を標的とし、舌癌頸部リンパ節転移モデルマウス:SAS-L1(ヒト舌癌リンパ節転移細胞株)および難治性癌モデルマウス:HSC-2(ヒト舌癌細胞株)を用いた。シスプラチン内包高分子ナノDDSに環状型RGDペプチド(cRGD)を搭載した標的指向性高分子ナノDDSの機能評価を行った。血中滞留性、腫瘍選択性、腫瘍内分布、抗腫瘍効果などを評価した。

4. 研究成果

cRGDを搭載したナノDDSの血中半減期は5.0時間、非修飾のナノDDSは5.5時間であった。cRGD搭載ナノDDSおよび非修飾ナノDDSを、赤色および黄色の蛍光試薬で標識してモデルマウスに投与し、生体顕微鏡で観察した。cRGD搭載ナノDDSは腫瘍の血管壁に集積し、速やかに血管外

の腫瘍組織へ浸透し腫瘍細胞に到達した。本研究により、標的指向性ナノDDSが難治性頭頸部癌に対する新たな治療戦略になり得ることを示した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計19件)

1. Watanabe S, Hayashi K, Toh K, Kim HJ, Liu X, Chaya H, Fukushima S, Katsushima K, Kondo Y, Uchida S, Ogura S, Nomoto T, Takemoto H, Cabral H, Kinoh H, Tanaka HY, Kano MR, Matsumoto Y, Fukuhara H, Uchida S, Nangaku M, Osada K, Nishiyama N, Miyata K, Kataoka K, In Vivo Rendezvous of Small Nucleic Acid Drugs with Charge-Matched Block Cationomers to Target Cancers, *Nat Commun*, 10, 1894, 2019, 査読有
2. Urata S, Iida T, Yamamoto M, Mizushima Y, Fujimoto C, Matsumoto Y, Yamasoba T, Okabe S, Cellular Cartography of the Organ of Corti Based on Optical Tissue Clearing and Machine Learning, *Elife*, 8, 2019, 査読有
3. Narushima M, Yamasoba T, Iida T, Matsumoto Y, Yamamoto T, Yoshimatsu H, Timothy S, Pafitanis G, Yamashita S, Koshima I, Pure Skin Perforator Flaps: The Anatomical Vascularity of the Superthin Flap, *Plast Reconstr Surg*, 142, 351e-360e, 2018, 査読有
4. Kiyama Y, Kikkawa YS, Kinoshita M, Matsumoto Y, Kondo K, Fujimoto C, Iwasaki S, Yamasoba T, Manabe T, The Adhesion Molecule Cadherin 11 Is Essential for Acquisition of Normal Hearing Ability through Middle Ear Development in the Mouse, *Lab Invest*, 98, 1364-1374, 2018, 査読有
5. Takeuchi T, Kitayama Y, Sasao R, Yamada T, Toh K, Matsumoto Y, Kataoka K, Molecularly Imprinted Nanogels Acquire Stealth in Situ by Cloaking Themselves with Native Dysopsonic Proteins, *Angew Chem Int Ed Engl*, 56, 7088-7092, 2017, 査読有
6. Miyano K, Cabral H, Miura Y, Matsumoto Y, Mochida Y, Kinoh H, Iwata C, Nagano O, Saya H, Nishiyama N, Kataoka K, Yamasoba T, Crgd Peptide Installation on Cisplatin-Loaded Nanomedicines Enhances Efficacy against Locally Advanced Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Bearing Cancer Stem-Like Cells, *J Control Release*, 261, 275-286, 2017, 査読有
7. Li J, Dirisala A, Ge Z, Wang Y, Yin W, Ke W, Toh K, Xie J, Matsumoto Y, Anraku Y, Osada K, Kataoka K, Therapeutic Vesicular Nanoreactors with Tumor-Specific Activation and Self-Destruction for Synergistic Tumor Ablation, *Angew Chem Int Ed Engl*, 56, 14025-14030, 2017, 査読有
8. Kamogashira T, Iwasaki S, Kashio A, Kakigi A, Karino S, Matsumoto Y, Yamasoba T, Prediction of Intraoperative Csf Gusher and Postoperative Facial Nerve Stimulation in Patients with Cochleovestibular Malformations Undergoing Cochlear Implantation Surgery, *Otol Neurotol*, 38, e114-e119, 2017, 査読有
9. Chen Q, Osada K, Ge Z, Uchida S, Tockary TA, Dirisala A, Matsui A, Toh K, Takeda KM, Liu X, Nomoto T, Ishii T, Oba M, Matsumoto Y, Kataoka K, Polyplex Micelle Installing Intracellular Self-Processing Functionalities without Free Cationomers for Safe and Efficient Systemic Gene Therapy through Tumor Vasculature Targeting, *Biomaterials*, 113, 253-265, 2017, 査読有
10. Anraku Y, Kuwahara H, Fukusato Y, Mizoguchi A, Ishii T, Nitta K, Matsumoto Y, Toh K, Miyata K, Uchida S, Nishina K, Osada K, Itaka K, Nishiyama N, Mizusawa H, Yamasoba T, Yokota T, Kataoka K, Glycaemic Control Boosts Glucosylated Nanocarrier Crossing the Bbb into the Brain, *Nat Commun*, 8, 1001, 2017, 査読有
11. Yi Y, Kim HJ, Mi P, Zheng M, Takemoto H, Toh K, Kim BS, Hayashi K, Naito M, Matsumoto Y, Miyata K, Kataoka K, Targeted Systemic Delivery of siRNA to Cervical Cancer Model Using Cyclic RGD-Installed Unimer Polyion Complex-Assembled Gold Nanoparticles, *J Control Release*, 244, 247-256, 2016, 査読有
12. Stirland DL, Matsumoto Y, Toh K, Kataoka K, Bae YH, Analyzing Spatiotemporal Distribution of Uniquely Fluorescent Nanoparticles in Xenograft Tumors, *J Control Release*, 227, 38-44, 2016, 査読有
13. Nomoto T, Fukushima S, Kumagai M, Miyazaki K, Inoue A, Mi P, Maeda Y, Toh K, Matsumoto Y, Morimoto Y, Kishimura A, Nishiyama N, Kataoka K, Calcium Phosphate-Based Organic-Inorganic Hybrid Nanocarriers with Ph-Responsive on/Off Switch for Photodynamic Therapy, *Biomater Sci*, 4, 826-38, 2016, 査読有
14. Nishida H, Matsumoto Y, Kawana K, Christie RJ, Naito M, Kim BS, Toh K, Min HS, Yi Y, Matsumoto Y, Kim HJ, Miyata K, Taguchi A, Tomio K, Yamashita A, Inoue T, Nakamura H, Fujimoto A, Sato M, Yoshida M, Adachi K, Arimoto T, Wada-Hiraike O, Oda K, Nagamatsu

- T, Nishiyama N, Kataoka K, Osuga Y, Fujii T, Systemic Delivery of Sirna by Actively Targeted Polyion Complex Micelles for Silencing the E6 and E7 Human Papillomavirus Oncogenes, J Control Release, 231, 29-37, 2016, 査読有
15. Matsumoto Y, Nichols JW, Toh K, Nomoto T, Cabral H, Miura Y, Christie RJ, Yamada N, Ogura T, Kano MR, Matsumura Y, Nishiyama N, Yamasoba T, Bae YH, Kataoka K, Vascular Bursts Enhance Permeability of Tumour Blood Vessels and Improve Nanoparticle Delivery, Nat Nanotechnol, 11, 533-8, 2016, 査読有
 16. Matsumoto Y, Miyamoto Y, Cabral H, Matsumoto Y, Nagasaka K, Nakagawa S, Yano T, Maeda D, Oda K, Kawana K, Nishiyama N, Kataoka K, Fujii T, Enhanced Efficacy against Cervical Carcinomas through Polymeric Micelles Physically Incorporating the Proteasome Inhibitor MG132, Cancer Sci, 107, 773-81, 2016, 査読有
 17. Koyama H, Kashio A, Sakata A, Tsutsumiuchi K, Matsumoto Y, Karino S, Kakigi A, Iwasaki S, Yamasoba T, The Hearing Outcomes of Cochlear Implantation in Waardenburg Syndrome, Biomed Res Int, 2016, 2854736, 2016, 査読有
 18. Kikuta S, Matsumoto Y, Kuboki A, Nakayama T, Asaka D, Otori N, Kojima H, Sakamoto T, Akinori K, Kanaya K, Ueha R, Kagoya R, Nishijima H, Toma-Hirano M, Kikkawa Y, Kondo K, Tsunoda K, Miyaji T, Yamaguchi T, Kataoka K, Mori K, Yamasoba T, Longer Latency of Sensory Response to Intravenous Odor Injection Predicts Olfactory Neural Disorder, Sci Rep, 6, 35361, 2016, 査読有
 19. Anraku Y, Kishimura A, Kamiya M, Tanaka S, Nomoto T, Toh K, Matsumoto Y, Fukushima S, Sueyoshi D, Kano MR, Urano Y, Nishiyama N, Kataoka K, Systemically Injectable Enzyme-Loaded Polyion Complex Vesicles as in Vivo Nanoreactors Functioning in Tumors, Angew Chem Int Ed Engl, 55, 560-5, 2016, 査読有

〔学会発表〕(計7件)

1. 生体顕微鏡を用いた血管透過性の可視化, 松本有, 日本薬学会第 139 年会, 幕張メッセ、千葉県千葉市, 2019.3.22 (招待講演)
2. 高速共焦点/二光子顕微鏡を用いた生体イメージング, 松本有, 金沢大学がん進展制御研究所「多光子顕微鏡セミナー」, 金沢大学、石川県金沢市, 2018.8.1 (招待講演)
3. 高速共焦点顕微鏡を用いた生体イメージング, 松本有, 第2回岡山大学最先端イメージングセミナー, 岡山県岡山市, 2017.5.26 (招待講演)
4. Manipulation of Tumor Vascular Bursts, Matsumoto Y, Inoue Y, Toh K, Miyano K, Cabral H, Igarashi K, Iwasaki S, Yamasoba T, Kataoka K, 14th Taiwan-Japan Conference on Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Kaohsiung Veterans General Hospital, Kaohsiung, Taiwan, 2017.12.2 (招待講演)
5. 生体イメージングによる DDS 開発と nano Eruption の発見, 松本有, ナノキャリア株式会社セミナー, 柏の葉オープンイノベーションラボ K01L サロン、千葉県柏市, 2016.9.28(招待講演)
6. 生体イメージングによるドラッグデリバリーシステムの生体内評価および最適化, 松本有, The 9th International Conference of Otolology & Neurotology, 東京医療センター、東京都目黒区, 2016.6.1
7. 生体イメージングによるドラッグデリバリーシステムの追跡, 松本有, 日本薬学会第 136 年会, パシフィコ横浜、神奈川県横浜市, 2016.3.29 (招待講演)

〔産業財産権〕

取得状況 (計2件)

1. 名称：前庭機能評価装置及び非ヒト動物における前庭機能の評価方法
 発明者：藤本 千里、鴨頭 輝、岩崎 真一、松本 有
 権利者：藤本 千里、鴨頭 輝、岩崎 真一、松本 有
 種類：特許
 番号：特願 2015-072693
 取得年：2018
 国内外の別：国内
2. 名称：薬剤送達用のキャリア、コンジュゲートおよびこれらを含んでなる組成物並びにこれらの投与方法
 発明者：片岡 一則、安楽 泰孝、西山 伸宏、宮田 完二郎、石井 武彦、松本 有、福里 優、溝口 明祐、横田 隆徳、桑原 宏哉、仁科 一隆、水澤 英洋
 権利者：片岡 一則、安楽 泰孝、西山 伸宏、宮田 完二郎、石井 武彦、松本 有、福里

優, 溝口 明祐, 横田 隆徳, 桑原 宏哉, 仁科 一隆, 水澤 英洋

種類: 特許

番号: 特願 2017-012663

取得年: 2017

国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等

<https://iconm.kawasaki-net.ne.jp/kklab/index.html>

<http://utokyo-ent.org>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

該当無し

(2) 研究協力者

研究協力者氏名: 宮野 一樹

ローマ字氏名: Miyano Kazuki

研究協力者氏名: カブラル オラシオ

ローマ字氏名: Cabral Horacio

研究協力者氏名: 井上 雄太

ローマ字氏名: Inoue Yuta

研究協力者氏名: 五十嵐 一紀

ローマ字氏名: Igarashi Kazunori

研究協力者氏名: 藤 加珠子

ローマ字氏名: Toh Kazuko

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。