

令和 2 年 4 月 9 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09356

研究課題名(和文)糖連結光感受性物質による癌細胞超選択的光線力学療法の開発

研究課題名(英文)Development of cancer cell selective photodynamic therapy by sugar-conjugated photosensitizer

研究代表者

片岡 洋望(Kataoka, Hiromi)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・教授

研究者番号：40381785

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文): Warburg効果を応用し, 光感受性薬剤(クロリン, クロリンe6)に様々な糖を連結した糖連結光感受性薬剤による癌細胞選択性の高い光線力学療法を検討した. N003HP-Gクロリンe6は, 現保険承認薬剤のTalaporfinに比べ5,000倍から34,000倍のPDTでの抗腫瘍効果を*in vitro*で発揮し, *in vivo*でも優れた抗腫瘍効果を発揮した. 体内代謝時間を遅延させる目的で新たに合成したアセチル化N003HP-Gクロリンe6(AcN003HP)は, 抗腫瘍効果を維持し, 代謝時間, 体外への排出時間が延長した.

研究成果の学術的意義や社会的意義

光線力学療法は, 低侵襲性かつ根治可能な癌局所治療で, 現在, 食道癌, 胃癌, 肺癌, 子宮頸癌, 脳腫瘍などに本邦では保険適用となっている. 第二世代のTalaporfinによるPDTが普及しているが, 薬剤の腫瘍選択性, 選択性が低いことが課題であった. われわれが今回, 医工連携で開発した糖連結光感受性薬剤は癌細胞選択性が高く優れた抗腫瘍効果を発揮し, 今後, より抗腫瘍効果の高く副作用の少ない第3世代の光線力学療法の候補となる可能性が期待される.

研究成果の概要(英文): We examined and developed new photodynamic therapy (PDT) with sugar-conjugated chlorin or chlorin e6 that have high tumor selectivity applying Warburg's effects. N003HP-G-chlorin e6 showed from 5,000 to 34,000 times stronger antitumor effects than that of Talaporfin PDT which is now approved in Japan. To slow down the metabolism of photosensitizer, we synthesize acetylated glucose-conjugated chlorin (AcN003HP) and evaluate its antitumor effect and excretion. AcN003HP showed longer excretion time from the body than N003HP-G-chlorin e6, and photodynamic therapy using AcN003HP showed very strong antitumor effects.

研究分野: 消化器内科学

キーワード: 光線力学療法 胃癌 食道癌

1. 研究開始当初の背景

光線力学療法 (Photodynamic Therapy: PDT)とは、腫瘍親和性のある光感受性物質が癌細胞や腫瘍血管に特異的に集積する特性を利用し、光感受性物質の集積した癌組織に特定波長の光線を照射し、活性酸素の惹起で癌細胞のみを選択的に破壊する治療法である。正常組織へのダメージが少なく副作用も少ないため、超高齢社会を迎えるわが国において低侵襲癌治療法として次世代 PDT の開発が期待されている。

わが国では Porfimer sodium (第1世代)と Talaporfin sodium (商品名: レザフィリン®) (第2世代)の2種の光感受性物質による PDT が保険適用になっている。食道癌、胃癌、子宮頸癌、肺癌が Porfimer sodium PDT において、Talaporfin では肺癌、脳腫瘍、そして、私たちが班員として携わった厚労省班研究医師主導治験の良好な成績をへて、2015年10月に化学放射線療法後再発食道癌が保険適用になった。Talaporfin PDT は治療後の暗所滞在の短縮、レーザー機器の高性能化などの進化がみられるが、問題点として Talaporfin の腫瘍集積性、抗腫瘍効果の弱さがあげられる。

究極の生体適合性分子である「糖」を光感受性物質のクロリンに連結したグルコース連結クロリン (G クロリン) PDT は、癌細胞への優れた選択性、特異性を可能にした癌細胞標的感光医薬で、Talaporfin PDT に比べ 20~50 倍の抗腫瘍効果を有することを報告してきた (Tanaka M, Kataoka H, 他. Mol. Cancer Ther., 2014, Anticancer Res., 2011)。また、G クロリン PDT の抗腫瘍効果は活性酸素惹起による直接細胞障害のみではなく、Calreticulin, high-mobility group box 1 (HMGB1) などのシグナルを介した抗腫瘍免疫 (細胞性免疫) の惹起が重要な役割を果たしていることを報告した (Tanaka M, Kataoka H, 他. Oncotarget, 2016)。

癌組織間質に存在する腫瘍会合性マクロファージ (Tumor associated macrophage: TAM) は、癌細胞の増殖、浸潤、転移、腫瘍血管新生の促進、腫瘍免疫抑制などに重要な役割を果たしている。TAM 表面のマンノース受容体に注目し、これまでの糖鎖工学技術を応用しマンノース連結クロリン (M クロリン) の合成に成功した。M クロリン PDT は癌細胞自身と TAM に優れた殺細胞効果を示し、マウス皮下腫瘍移植モデルでは、G クロリン PDT よりも優れた抗腫瘍効果を示した (Hayashi N, Kataoka H, 他. Mol. Cancer Ther., 2015) (特願 2013-161518, 特許第 6177044 号)。

今回、G クロリン、M クロリンの側鎖を修飾し検討を重ね、*in vitro* の PDT 実験で Talaporfin の 5,000 倍から 30,000 倍の抗腫瘍効果を発揮する薬剤 (N003HP-G クロリン e6, N003HP-M クロリン e6) の合成に成功した (表 1)。

表1. レザフィリン®, N003HP-Gクロリン, N003HP-MクロリンのPDT効果比較

	IC ₅₀ [μM]: 50%癌細胞殺細胞濃度		
	レザフィリン®	N003HP-Gクロリン	N003HP-Mクロリン (n=8)
食道癌細胞OE21	15.8 μM	0.00046 μM (34,000倍)	0.0032 μM (5,000倍)
胃癌細胞MKN45	10.9 μM	0.00059 μM (18,000倍)	0.00065 μM (16,000倍)
大腸癌細胞HT29	14.7 μM	0.0014 μM (10,000倍)	0.00048 μM (30,000倍)

* 赤字はレザフィリンに対する効果比率

2. 研究の目的

今回、これまでの薬剤の側鎖を修飾し、*in vitro* で非常に強力な抗腫瘍効果を発揮する N003HP-G クロリン e6(SC-N003HP)、グルコースの代わりにマンノースを連結させた N003HP-M ク

クロリン e6, さらに N003HP-G クロリン e6(SC-N003HP)の薬剤代謝時間を遅延させ, 体外排出時間を遅延させるためにアセチル化を行ったアセチル化 N003HP-G クロリン e6 の薬理薬効を検討することを目的とした。

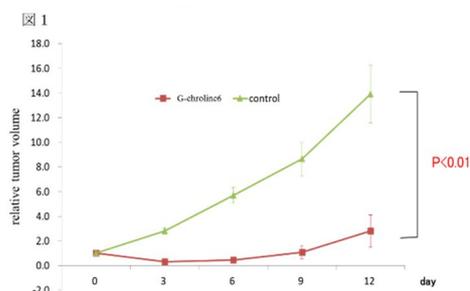
3. 研究の方法

- (1) N003HP-G クロリン e6(SC-N003HP)の *in vivo*での PDT 効果を Balb/c マウス皮下に CT26 マウス大腸癌細胞を移植したモデルで検討した. 光線照射は赤色レーザー664nm, 100J, 150 mW/cm²の条件で施行した。
- (2) TAM をターゲットにした N003HP-M クロリン e6 による皮下腫瘍モデルに対する PDT 効果を検討した。
- (3) アセチル化 N003HP-G クロリン e6 の, 腫瘍最大集積までの時間を, 皮下腫瘍モデルを用い, 分光光度計を用いて検討した。

4. 研究成果

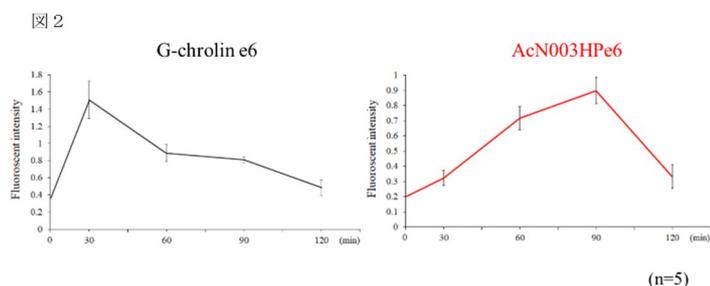
(1) 研究の主な成果

N003HP-G クロリン e6(SC-N003HP)は *in vivo*においても非常に強力な抗腫瘍効果を発揮し, 10匹中4匹で腫瘍が完全消失した(図1)。



N003HP-M クロリンは腫瘍組織中の TAM を約15%減少させた。

アセチル化 N003HP-G クロリン e6 は, N003HP-G クロリン e6(SC-N003HP)が皮下腫瘍への集積のピーク時間が投与後30分であったのに対し, アセチル化 N003HP-G クロリン e6 のピークは, 投与後90分と腫瘍集積への遅延を認めた(図2)。



(2) 成果の国内外における位置づけとインパクト

今回報告した糖連結光感受性薬剤によるPDTは, 現在わが国の第2世代のPDT光感受性薬剤として保険適用になっているTalaporfinに比較し, *in vitro*そして*in vivo*において非常に強力な抗腫瘍効果を示した。また薬剤安全性試験や体内分布試験においてもTalaporfinよりも安全性が高い薬剤であることが明らかになっている。N003HP-Gクロリンe6(SC-N003HP)は, やや体外排

出が早すぎ、そのため十分な腫瘍集積性が発揮できていない可能性が考えられ、薬剤代謝、排泄の遅延を目的としてアセチル化N003HP-Gクロリンe6を合成した。アセチル化N003HP-Gクロリンe6は、抗腫瘍効果を減弱することなく、腫瘍集積ピークまでの時間を遅延させることに成功した。非臨床試験としてはこれまでの実験データから、臨床応用可能な第3世代のPDT薬剤の候補として十分な可能性があると考えられる。

(3) 今後の展望

臨床応用を目指し、すでに開始しているイヌなどの中型動物での自然発生癌症例でのPDTの検討を重ね、非臨床POCを取得してゆく。また企業との開発に関する連携を推進する。

(引用文献)

片岡洋望, 林 則之, 田中 守, 久保田英嗣, 矢野重信, 城 卓志. PDT に用いられる腫瘍親和性光感受性物質. 日本レーザー医学会誌, Vol. 36, No.2, 159-165, 2015.

Ichikawa H, Nishie H, Yano S, Komai Y, Yamaguchi H, Nomoto A, Suzuki T, Tanaka M, Shimura T, Mizoshita T, Kubota E, Tanida S, Kataoka H. Antitumor Effect of a Novel Photodynamic Therapy With Acetylated Glucose-conjugated Chlorin for Gastrointestinal Cancers. *Anticancer Res.* 2019 ;39(8):4199-4206. doi: 10.21873/anticancer.13580. PMID:31366506.

Osaki T, Hibino S, Yokoe I, Yamaguchi H, Nomoto A, Yano S, Mikata Y, Tanaka M, Kataoka H, Okamoto Y. A Basic Study of Photodynamic Therapy with Glucose-Conjugated Chlorin e6 Using Mammary Carcinoma Xenografts. *Cancers (Basel)*. 2019 8; 11(5). pii: E636.

Nishie H, Kataoka H, Yano S, Yamaguchi H, Nomoto A, Tanaka M, Kato A, Shimura T, Mizoshita T, Kubota E, Tanida S, Joh T. Excellent Antitumor Effects for Gastrointestinal Cancers Using Photodynamic Therapy with a Novel Glucose Conjugated Chlorin e6. *Biochem Biophys Res Commun.* 496(4):1204-1209, 2018.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Nishie H, Kataoka H, Yano S, Yamaguchi H, Nomoto A, Tanaka M, Kato A, Shimura T, Mizoshita T, Kubota E, Tanida S, Joh T.	4. 巻 496(4)
2. 論文標題 Excellent Antitumor Effects for Gastrointestinal Cancers Using Photodynamic Therapy with a Novel Glucose Conjugated Chlorin e6.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 1204 ~ 1209
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1016/j.bbrc.2018.01.171.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kataoka H, Nishie H, Hayashi N, Tanaka M, Nomoto A, Yano S, Joh T	4. 巻 5(8)
2. 論文標題 New photodynamic therapy with next-generation photosensitizers	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Ann Transl Med.	6. 最初と最後の頁 183 ~ 183
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21037/atm.2017.03.59.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yano Tomonori, Kasai Hiroi, Horimatsu Takahiro, Yoshimura Kenichi, Teramukai Satoshi, Morita Satoshi, Tada Harue, Yamamoto Yoshinobu, Kataoka Hiromi, Kakushima Naomi, Ishihara Ryu, Isomoto Hajime, Muto Manabu	4. 巻 8
2. 論文標題 A multicenter phase II study of salvage photodynamic therapy using talaporfin sodium (ME2906) and a diode laser (PNL6405EPG) for local failure after chemoradiotherapy or radiotherapy for esophageal cancer	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 22135-22144
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.14029.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kato A, Kataoka H, Yano S, Hayashi K, Hayashi N, Tanaka M, Naitoh I, Ban T, Miyabe K, Kondo H, Yoshida M, Fujita Y, Hori Y, Natsume M, Murakami T, Narumi A, Nomoto A, Naiki-Ito A, Takahashi S, Joh T.	4. 巻 16(6)
2. 論文標題 Maltotriose conjugation to a chlorin derivative enhances the antitumor effects of photodynamic therapy in peritoneal dissemination of pancreatic cancer.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Mol Cancer Ther.	6. 最初と最後の頁 1124-1132
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/1535-7163.MCT-16-0670.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Osaki T, Hibino S, Yokoe I, Yamaguchi H, Nomoto A, Yano S, Mikata Y, Tanaka M, Kataoka H, Okamoto Y.	4. 巻 8: 11(5)
2. 論文標題 A Basic Study of Photodynamic Therapy with Glucose-Conjugated Chlorin e6 Using Mammary Carcinoma Xenografts.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancers (Basel)	6. 最初と最後の頁 pii: E636
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers11050636.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ichikawa H, Nishie H, Yano S, Komai Y, Yamaguchi H, Nomoto A, Suzuki T, Tanaka M, Shimura T, Mizoshita T, Kubota E, Tanida S, Kataoka H.	4. 巻 39 (8)
2. 論文標題 Antitumor Effect of a Novel Photodynamic Therapy With Acetylated Glucose-conjugated Chlorin for Gastrointestinal Cancers.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anticancer Res.	6. 最初と最後の頁 4199-4206
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.13580.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 片岡洋望
2. 発表標題 食道癌治療の新展開 光線力学療法を中心に -
3. 学会等名 第29回日本消化器内視鏡学会東海セミナー (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中 守, 西江裕忠, 片岡洋望
2. 発表標題 シンポジウム1. 消化管疾患の新たな診断と治療. 当院における食道癌化学放射線療法後の局所遺残再発例に対するタラポルフィンナトリウム用いた光線力学療法について.
3. 学会等名 第61回日本消化器内視鏡学会東海支部例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 片岡洋望
2. 発表標題 教育講演：糖鎖結光感受性物質による次世代光線力学療法開発の試み。
3. 学会等名 第39回日本レーザー医学会総会（Laser Week in Tokyo）（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木健人、田中 守、市川 紘、西江裕忠、吉田道弘、片岡洋望
2. 発表標題 Talaporfinを用いた光線力学療法の血管新生阻害効果
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tanaka M, Nishie H, Kataoka H
2. 発表標題 Efficacy of photodynamic therapy with a new photosensitizer as a salvage treatment for local failure after definitive chemoradiotherapy for esophageal cancer
3. 学会等名 DDW 2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加藤晃久, 林 香月, 片岡洋望.
2. 発表標題 膵癌腹膜播種に対する糖鎖結光感受性物質を用いた新規光線力学療法の開発.
3. 学会等名 第25回日本消化器関連学会週間(JDDW2017 FUKUOKA)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西江裕忠, 片岡洋望, 市川 紘, 野尻 優, 稲垣智史, 野村智史, 林則之, 片野敬仁, 岡本泰幸, 尾関啓司, 志村貴也, 溝下 勤, 久保田英嗣, 谷田諭史, 城 卓志.
2. 発表標題 次世代光感受性物質による光線力学診断法を用いた腹膜播種検出能の検討.
3. 学会等名 第25回日本消化器関連学会週間(JDDW2017 FUKUOKA)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 片岡洋望
2. 発表標題 LASERE0システムを用いた化学放射線療法後再発食道癌に対する第2世代光線力学療法.
3. 学会等名 第25回日本消化器関連学会週間(JDDW2017 FUKUOKA) (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西江裕忠, 片岡洋望, 林 則之, 田中 守, 矢野重信, 野元明宏, 城 卓志
2. 発表標題 腫瘍集積性および排泄性を向上させた次世代光感受性物質による光線力学療法の有用性.
3. 学会等名 第27回日本光線力学学会学術講演会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西江裕忠, 片岡洋望, 市川 紘, 田中 守, 野元昭宏, 矢野重信, 城 卓志.
2. 発表標題 糖鎖連結光感受性物質の開発の現状と将来展望.
3. 学会等名 第38回日本レーザー医学会総会.
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 片岡洋望
2. 発表標題 教育講演：がん微小環境における免疫病態と光線力学療法
3. 学会等名 PhotoDynamic Medicine PDM2019・第29回日本光線力学学会学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 グリコシル化クロリンe6誘導体，または，その薬学的に許容される塩，医薬組成物，	発明者 矢野重信，片岡洋望，西江裕忠，城卓志，福本圭介，仲	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-554260号	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	野本 貴大 (Nomoto Takahiko) (00734732)	東京工業大学・科学技術創成研究院・助教 (12608)	
研究分担者	矢野 重信 (Yano Shigenobu) (60011186)	奈良女子大学・大和・紀伊半島学研究所・協力研究員 (14602)	
研究分担者	野元 昭宏 (Nomoto Akihiro) (60405347)	大阪府立大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授 (24403)	
連携研究者	西山 伸宏 (Nishiyama Nobuhiro) (10372385)	東京工業大学・科学技術創成研究院・教授 (12608)	