

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究 (C)
研究期間：2006～2009
課題番号：18591611
研究課題名 (和文) 脳腫瘍に対する温度可逆性ポリマーを用いたドラッグデリバリーシステムの開発
研究課題名 (英文) Novel drug delivery system using thermo-reversible polymer for brain tumor
研究代表者
常喜 達裕 (JOKI TATSUHIRO)
東京慈恵会医科大学・医学部・講師
研究者番号 30226378

研究分野：医歯薬学
科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学
キーワード：ドラッグデリバリーシステム、ポリマー、脳腫瘍

1. 研究計画の概要

脳腫瘍治療には、手術、放射線治療、化学療法などの集学的治療が必要である。しかし、全身投与による化学療法は脳血管関門の存在から脳腫瘍に対しては効果に限界がある。また、悪性脳腫瘍が髄腔内播種は起こすが遠隔転移を起こさないという特性から本疾患に最も適した術後化学療法は脳局所療法であり、有効な DDS の開発は治療に苦慮している本疾患に対して福音となる。

(1) 温度可逆性ポリマーの使用

本研究開発の特色・独創的な点は、ドラッグデリバリーシステム (DDS) の手段として温度可逆性ポリマーを使用することである。本ポリマーは、完全科学合成物で、温度感応性高分子と親水性高分子との共重合体であり、疎水性・親水性に関わらず各種薬剤・サイトカインなどを自由に包埋することができる。また、0度で流動性のゾル、室温以上でゲル状という特異な物性を示し、分子設計により任意に転移温度を設定することができる。また、転移温度を変化させることで包埋した薬剤の徐放時間を調節することができる。このこ

とから、従来のポリマーの欠点である腫瘍摘出腔内での不安定性、脱落の問題や、腫瘍摘出腔全体に塗布することが出来ないことなど問題を解決することが出来る。

(2) プロテオソームインヒビター

プロテオソームインヒビターは、細胞内の蛋白合成を阻害し細胞死を誘発することにより変性疾患等の疾病を誘導すると考えられている。近年、プロテオソームインヒビターを化学療法剤と併用することにより腫瘍細胞に対する薬剤の効果が上昇する報告が散見されるようになった。プロテオソームインヒビターと化学療法剤の併用により抗腫瘍効果が増加する治験が得られれば新たな脳腫瘍治療法の可能性を示せることとなる。

2. 研究の進捗状況

これまでに小児脳腫瘍である髄芽腫から作成された培養細胞 3 種 (DA0Y, ONS-76, D283) と成人脳腫瘍細胞から作成された培養細胞 (U87MG, T98G) の 5 細胞を用いて in vitro study を行った。温度可逆性ポリマーにプロテオソームインヒビター (PI) の一種である MG132 (CALBIOCHEM社) を包埋し徐放させ殺細胞実験

を行った。殺細胞効果は、MTS assayとFACscanを用いて検討し、投与濃度を1nMから10 μ Mまで濃度勾配をもうけて殺細胞効果を判定した。MG132の殺細胞効果を判定するために投与の度を1nMから10 μ Mまで濃度勾配をもうけて殺細胞効果を判定した。この結果、1 μ Mの濃度ではすべての細胞が、薬剤暴露時間24時間後からG1 arrestの状態となり細胞分裂を停止しすることが判明した。PIがどのように細胞に作用しているかを観察するために蛍光免疫染色を行った。1 μ MのPIに24時間暴露した細胞を染色したところ細胞質内に大量のユビキチン化したタンパクを認めた。このユビキチン化されたタンパク質が経時的にどのような動きをするかについて蛍光顕微鏡を用いて検討を行い核内から細胞質へ異動することを突き止めた。これにより、細胞が機能停止に陥り細胞死につながっていると考えている。現在、ヌードマウス皮下腫瘍モデルを用いてin vivo studyを行っている。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

温度可逆性ポリマーにプロテオソームインヒビターを包埋させ上方させることに成功した。さらに、in vitro studyにおいて徐放した薬剤が脳腫瘍培養細胞5 cell lineにおいて殺細胞効果があることが判明した。また、殺細胞効果が大量のユビキチンの細胞質での蓄積で起こることを突き止めた。現在、本研究の最終段階として行われるヌードマウス皮下腫瘍モデルを作成し in vivo studyを行っている。

4. 今後の研究の推進方策

ヌードマウス皮下腫瘍モデルをU87MG脳腫瘍様細胞で作成し、皮下腫瘍が約5mm大になったところで腫瘍周囲にPIを包埋した温度可逆性ポリマーをシリンジで注入する in

vivo study を行っている。この実験でも in vitro study との同様の結果が得られれば本局所療法が脳内でも効果を発揮する可能性が証明される。最終的には、脳腫瘍モデルが必要であるがこれには、さらなる大動物がひるようであると考えている。この研究は、次のステップと考えている。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計 4 件)

- 1) 常喜達裕 プロテオソームインヒビターと温度可逆性ポリマーを用いた新たな脳局所療法の開発 日本脳神経外科学会第66回総会 2007年10月7日高輪プリンスホテル
- 2) 常喜達裕 プロテオソームインヒビターと温度可逆性ポリマーを用いた脳局所療法 2007年11月26日 日本脳腫瘍学会
- 3) 常喜達裕 プロテオソームインヒビター包埋温度可逆性ポリマーを用いた新たな局所療法の開発 日本脳神経外科学会 第67回総会 盛岡 2008年10月15日
- 4) 常喜達裕 脳腫瘍に対する温度可逆性ポリマーを用いたドラッグデリバリーシステムの開発 第26回日本脳腫瘍学会 愛媛県松山市 2008年12月1日