

令和 4 年 5 月 26 日現在

機関番号：12601
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2019～2021
課題番号：19K09115
研究課題名(和文) 大腸癌腹膜播種に対する腹腔内化学療法におけるドラッグデリバリーシステムの工夫

研究課題名(英文) Drug delivery system in intraperitoneal chemotherapy for peritoneal dissemination of colorectal cancer

研究代表者

江本 成伸 (Emoto, Shigenobu)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：30803267

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：大腸癌腹膜播種の動物モデルにおいて、抗がん剤の腹腔内投与はある程度有効である可能性が示唆された。ミセル化、ゲルによる徐放などの工夫を加えてさらに効果を高め、また毒性を軽減することを目的としたさまざまな実験系を試したが、再現性をもって統計的な有意差のある成果を得ることができなかった。実臨床において、腹膜播種治療は依然として困難を極めており、引き続き、基礎的なデータを集積する努力を続ける必要がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腹膜播種治療における、抗がん剤の腹腔内投与は、現在複数の臨床試験が行われており、一定の成果が報告され始めている。さらに効果を増大し、かつ毒性を軽減するためのドラッグデリバリーシステムの構築は、腹膜播種患者のさらなる予後改善につながると考えられる。今回の研究で達成された、腹膜播種動物モデルの確立は今後の研究を進めていく上で、非常に意義のあることと考えられる。薬剤投与の方法のアイデアは無限であり、新しい様々なドラッグデリバリーシステムについて、医工連携を進めて引き続き研究していく必要がある。

研究成果の概要(英文)：It was suggested that intraperitoneal administration of anticancer drugs may be effective to some extent in an animal model for peritoneal dissemination of colorectal cancer. We tried various experimental systems aimed at further enhancing the effect and reducing toxicity by adding ideas such as micellarization and sustained release by gel, but we could not obtain results with statistically significant differences with reproducibility. In clinical practice, treatment for peritoneal dissemination remains extremely difficult, and efforts to continue to collect basic data are needed.

研究分野：腫瘍外科学

キーワード：腹膜播種 ドラッグデリバリー 大腸癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

腹膜播種を伴う大腸癌は全体の約 5%と頻度は少ないものの、肝・肺転移と比較して予後が悪いことで知られている。原因として化学療法が効きにくいことや、手術による切除後も再発率が高いことなどが挙げられる。胃癌や卵巣癌において腹膜播種に対する治療としてパクリタキセル (PTX) による腹腔内化学療法 (IP 療法) による良好な成績が得られている。これは抗癌剤を直接腹腔内に投与することで、腫瘍表面より直接抗癌剤を浸透させ、腫瘍内の抗癌剤濃度を高く保つこと、血中濃度の上昇を抑え、全身への副作用を軽減させることを目的としている。

IP 療法においては、投与後の薬物動態が非常に重要である。PTX は脂溶性のため、腹膜からの吸収が遅く、腹腔内に長時間高い抗癌剤濃度を維持できることや、血中濃度が上昇しにくく副作用が少ない、といった特徴がある。そのため、胃癌・卵巣癌においては腹腔内投与に適した薬剤として PTX の有効性が報告されている。

当科において胃癌に対する PTX の IP 療法 (第 I 相～第 III 相試験) を施行しており生存期間の中央値が 23.6 ヶ月と非常に良好な成績が得られている。肉眼的に播種が消失する症例も散見される (Yamaguchi H, Watanabe T, *Cancer*. 2013; 119(18):3354-8, Ishigami H, Kitayama J, *J Clin Oncol*.2018;36(19):1922-9)。大腸癌においても、動物実験において IP 療法の有効性が示されており、当科において 2016 年 8 月より腹膜播種を伴う大腸癌に対する PTX による IP 療法の第 I 相試験が終了し (Muro K, et al. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2019;83(1):145-150, Muro K, et al. *Int J Colorectal Dis*. 2020;35(10):1945-1949)、第 II 相試験を計画中である。

一方で、粒子径が 20-100 nm の粒子はナノ粒子と呼ばれ、腫瘍に集積し、滞留しやすい性質をもつ (EPR 効果)。IP 療法の効果をさらに高めるために、PTX をミセル化し、粒子径を大きくしたナノ粒子化製剤である NK105 を用いて動物実験を行い、腹膜播種に対する効果および有害事象、さらに血中および腹腔内における薬物動態を明らかにする。NK105 については、すでにヒトにおいて様々な癌腫で phase II 試験が行われており、現在進行再発乳癌における phase III 試験が進行中である。ナノミセル化 PTX のなかでは、最も近い将来に保険適用が見込まれる薬剤である。

2. 研究の目的

大腸癌腹膜播種動物モデルにおけるナノ粒子化パクリタキセル (nano PTX) の有効性と薬物動態を明らかにする。BALB/c マウスに大腸癌細胞株 Colon 26 を腹腔内注入し、腹膜播種モデルを作成する。これに対して、生理食塩水、PTX および NK105 を腹腔内投与したうえで犠牲死させ、腹膜播種に対する効果を比較する。また、同時に血液、肝臓・腎臓・末梢神経を採取し生化学的および組織学的に有害事象を比較する。Nano PTX の有用性が示唆された場合、ラットもしくはウサギを用いて、各薬剤の腹腔内投与後の血中および腹腔中の PTX 濃度を経時的に測定し、薬物動態を明らかにする。

IP 療法自体が、DDS の工夫を念頭にいた治療方法であるが、本研究ではさらに治療効果を高めることを目的としている。薬物の「腹腔内滞留性」および「組織への浸透性」が最も重要な 2 点であるが、近年研究が盛んなナノ粒子化製剤の EPR 効果を組み合わせることに着目したことが独創的な点である。ナノ粒子化製剤はミセルにより粒子径が大きくしてあることが特徴であり、腹腔内滞留性の向上が予想される。また、ミセルと細胞膜の親和性により播種組織への浸透力が強い可能性も考えられる。動物実験によりこれらの仮説の真偽を明らかにする。

3. 研究の方法

In vitro においては、Colon 26 の細胞培養において PTX、nano PTX (NK105) を用いて MTS アッセイを行う。In vitro では両者の抗腫瘍効果に差はないことが予想される。次に、4-7 週齢の BALB/c マウスに大腸癌細胞株 Colon 26 を腹腔内投与 (IP) し、腹膜播種を形成させる。同時に腹膜播種との効果の差を見るために皮下腫瘍も作成しておく。その後、7 日目、14 日目、21 日目に、nano PTX (NK105) およびコントロールとなる従来の PTX および生理食塩水を IP する。28 日目に、播種結節および皮下腫瘍の重量を測定し、薬剤の効果を判定する。犠牲死時には麻酔下に心臓採血を行い、肝機能・腎機能を測定して有害事象の指標とする。実験途中において、癌の進行により、著しい体重減少などの悪液質がみられた場合には、倫理基準に従い安楽死させる。In vivo においては、nano PTX において EPR 効果が発揮されることや、腹腔内の薬剤滞留性の向上が予想されることから、抗腫瘍効果の増大が期待される。また、IP 後の薬物動態を検討するために、同様の播種モデルにおいて、各薬剤投与後、4, 24, 48 時間後にマウスを犠牲死させて各群における腹腔内残留液、播種結節、肝臓、血液を採取し、PTX 濃度を HPLC にて測定する。

4. 研究成果

大腸癌細胞株 **Colon26** を用いて、各薬剤の細胞増殖に与える影響を評価するために **MTS** アッセイを行った。実験試薬としては、当初パクリタキセルとナノ粒子化パクリタキセルである **NK105** を使用する予定であったが、大腸癌に対するキードラッグであるイリノテカンとその前駆体である **SN38** をミセル化した **NK102** を入手することができたため、そちらを用いることとした。細胞濃度を 5×10^4 、 1×10^4 として、**SN38** と **NK102**、および比較のため **5FU** を濃度を変えて投与し、細胞増殖に与える影響を評価した。いずれの薬剤も用量依存性に細胞増殖の抑制が見られ、概ね実験前に予想した結果であった。

次に、**Balb/c** マウスの腹腔内に **Colon 26** を注入し腹膜播種モデルを作成した。注入する細胞数を 10 万個として接種した。その後、7, 14, 21 日目にそれぞれ 1ml に調整した、**1:PBS**(コントロール)、**2:SN38:4mg/kg**、**3:NK102:10mg/kg**、**4:NK102:30mg/kg** を腹腔内投与した。接種より **23-29** 日目にマウスを安楽死させ解剖した。播種重量の平均は **1>2>3>4** となり、**1** と **3** では統計学的有意差を認めた。しかし、腹膜播種腹膜播種によるマウスの死亡、薬剤による副作用と思われるマウスの死亡が比較的多く見られ、再現性のあるデータが得られなかった。

大腸癌腹膜播種の動物モデルにおいて、抗がん剤の腹腔内投与はある程度有効である可能性が示唆された。ミセル化による **DDS** の工夫を加えてさらに効果を高め、また毒性を軽減することを目的とした実験系を試したが、再現性をもって統計的な有意差のある成果を得ることができなかった。実臨床において、腹膜播種治療は依然として困難を極めており、引き続き、基礎的なデータを集積する努力を続ける必要がある。

腹膜播種治療における、抗がん剤の腹腔内投与は、現在複数の臨床試験が行われており、一定の成果が報告され始めている。さらに効果を増大し、かつ毒性を軽減するためのドラッグデリバリーシステムの構築は、腹膜播種患者のさらなる予後改善につながると考えられる。今回の研究で達成された、腹膜播種動物モデルの確立は今後の研究を進めていく上で、非常に意義のあることと考えられる。薬剤投与の方法のアイデアは無限であり、新しい様々なドラッグデリバリーシステムについて、医工連携を進めて引き続き研究していく必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Komatsu Koichi, Emoto Shigenobu, Abe Shinya, Nozawa Hiroaki, Kawai Kazushige, Sasaki Kazuhito, Murono Koji, Ishihara Soichiro	4. 巻 -
2. 論文標題 Perineal Approach, the Closest Approach to the Pelvic Floor, in Perineal Hernia Repair After Abdominoperineal Resection	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Diseases of the Colon & Rectum	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/DCR.0000000000002442	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 Emoto Shigenobu, Yokoyama Yuichiro, Nozawa Hiroaki, Kawai Kazushige, Sasaki Kazuhito, Murono Koji, Kishikawa Junko, Ozawa Tsuyoshi, Abe Shinya, Nagai Yuzo, Anzai Hiroyuki, Sonoda Hirofumi, Ishibashi Rei, Koike Kazuhiko, Ishihara Soichiro	4. 巻 -
2. 論文標題 Preoperative diagnosis of obstructive colitis in colorectal cancer patients who underwent self-expandable metallic stent insertion as a bridge to surgery	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Asian Journal of Surgery	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.asjsur.2022.02.026	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 Noguchi Tatsuki, Ando Takumi, Emoto Shigenobu, Nozawa Hiroaki, Kawai Kazushige, Sasaki Kazuhito, Murono Koji, Kishikawa Junko, Ishi Hiroaki, Yokoyama Yuichiro, Abe Shinya, Nagai Yuzo, Anzai Hiroyuki, Sonoda Hirofumi, Hata Keisuke, Sasaki Takeshi, Ishihara Soichiro	4. 巻 -
2. 論文標題 Artificial Intelligence Program to Predict p53 Mutations in Ulcerative Colitis Associated Cancer or Dysplasia	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Inflammatory Bowel Diseases	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ibd/izab350	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 Emoto Shigenobu, Hata Keisuke, Nozawa Hiroaki, Kawai Kazushige, Tanaka Toshiaki, Nishikawa Takeshi, Shuno Yasutaka, Sasaki Kazuhito, Kaneko Manabu, Murono Koji, Iida Yuuki, Ishii Hiroaki, Yokoyama Yuichiro, Anzai Hiroyuki, Sonoda Hirofumi, Ishihara Soichiro	4. 巻 -
2. 論文標題 Risk factors for non-reaching of ileal pouch to the anus in laparoscopic restorative proctocolectomy with handsewn anastomosis for ulcerative colitis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Intestinal Research	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5217/ir.2020.00158	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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	石原 聡一郎 (Ishihara Soichiro) (00376443)	東京大学・医学部附属病院・教授 (12601)	
研究分担者	田中 敏明 (Tanaka Toshiaki) (30647540)	東京大学・医学部附属病院・講師 (12601)	
研究分担者	畑 啓介 (Hata Keisuke) (60526755)	東京大学・医学部附属病院・特任講師 (12601)	
研究分担者	野澤 宏彰 (Nozawa Hiroaki) (80529173)	東京大学・医学部附属病院・准教授 (12601)	
研究分担者	川合 一茂 (Kawai Kazushige) (80571942)	東京大学・医学部附属病院・講師 (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------