

令和 4 年 5 月 27 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09175

研究課題名（和文）膵癌の転移臓器指向性に着目した臓器特異的転移形成促進性微小環境の解明

研究課題名（英文）Elucidation of organ-specific metastasis formation-promoting microenvironment focusing on metastatic organ-directedness of pancreatic cancer

研究代表者

宮坂 義浩 (MIYASAKA, Yoshihiro)

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：40507795

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：膵癌は豊富な間質増生を特徴とし、間質の組織圧が高く乏血性であることや、間質が物理的障壁となることで癌細胞への治療薬送達を阻害しているという問題がある。本研究では、膵癌間質組織に特異的に送達することができるナノ粒子によるdrug delivery systemを開発し、マウスモデルで膵癌の間質制御作用のあるchloroquineを、通常の5分の1という低用量で安全かつ確実に投与可能とすることに成功した。これにより間質制御が可能となり、さらにgemcitabineを併用することで、腫瘍縮小効果が得られることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵癌は発見時に進行しており、化学療法が必要となることが多いが、現在その効果は限定的である。その原因として薬剤送達の障壁となる間質増生が顕著であり、単に血流を介したdrug delivery systemでは十分な効果は得られていない。

本研究では、ナノ粒子によるdrug delivery systemを介してchloroquineを投与することで間質を制御しつつ、抗癌剤を投与することで効果を上昇させることに成功した。この手法を取ることで他の薬剤への応用も可能と考えられ、臨床的意義があるものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Pancreatic cancer is characterized by abundant stroma. This prevents the delivery of therapeutic drugs to cancer cells by high tissue pressure and hypervascularity in the stroma, and the stroma acts as a physical barrier. In this study, we developed a drug delivery system using nanoparticles that can specifically deliver drugs to the pancreatic cancer stroma. Furthermore, we succeeded in safely and reliably administering chloroquine, which has a regulatory effect on the stroma of pancreatic cancer, at a dose as low as one-fifth the usual dose in a mouse model. This system enables stromal control and, when combined with gemcitabine, has been shown to reduce the size of tumors.

研究分野：医歯薬学

キーワード：膵癌 desmoplasia drug delivery system ナノ粒子

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

膵癌は極めて予後不良な疾患であるが、その理由のひとつに他癌腫と比較して治療抵抗性が高いことが挙げられる。膵癌は豊富な間質増生を特徴とし、間質の組織圧が高く乏血性であることや、間質が物理的障壁となることで治療薬剤の癌細胞への送達を阻害していることが主な治療抵抗性の原因と考えられており、間質増生を抑制することで薬剤送達効率を改善する様々な試みがなされている。しかし、未だ効果的な治療法は開発されていない。そこで我々は薬剤送達の障壁となる膵癌間質にあっても豊富に存在する免疫細胞を膵癌治療のキャリアとする新たなアプローチで薬剤送達効率を改善できるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

膵癌組織中に誘導される免疫細胞を膵癌治療薬のキャリアとする新たな Drug delivery system (DDS)を開発することで効率的な薬剤送達を実現することで副作用を軽減しつつ、膵癌患者の予後を改善することを目的とした。

具体的には、膵癌組織中に豊富に存在する免疫細胞にナノ粒子を結合させたものをキャリアとすることで高効率な DDS を開発し、これまで全身投与では治療効果が得られなかった薬剤を効率的に送達することを目指した。

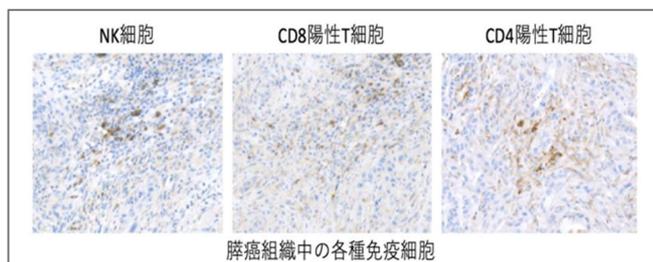
3. 研究の方法

(1)膵癌組織中に誘導される免疫細胞の解析

膵癌組織中に誘導される免疫細胞を免疫染色、FACS などで検討し、癌組織特異的な免疫細胞を探索する。

(2)膵癌組織に特異的に送達可能なナノ粒子による DDS の開発と薬物動態の確認

膵臓癌の間質に特異的に集積するものを探索する。薬物動態の確認のため、膵癌細胞と間質の主な構成細胞である膵星細胞を同所共移植したマウスに、ナノ粒子に ICG を封入したものもしくは裸の ICG を静脈注射して体内動態を観察する。



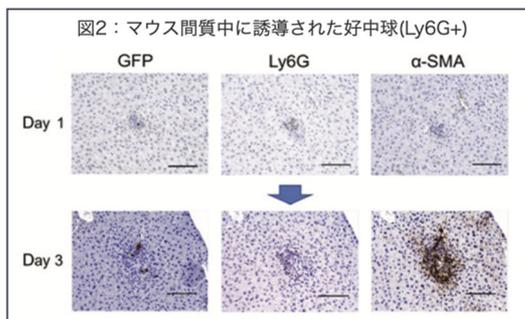
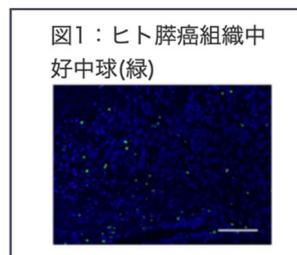
(3)ナノ粒子に内包する薬剤の探索

本 DDS で効果のある薬剤を in vivo, in vitro で検討する。

4. 研究成果

(1)膵癌組織中に誘導される免疫細胞の解析

まず、膵癌間質中の免疫細胞の中でも好中球に着目して研究を行った(図1)。好中球が固形癌の転移を促進する機構の一つとして、好中球の生体防御反応である好中球細胞外トラップ(NETs)が知られている。我々は膵癌転移巣においても NETs が促進的に働くという仮説を立てた。まず、GFP を導入した膵癌細胞を脾臓に注入する肝転移モデルマウスを用いて、転移巣で誘導される好中球及び癌関連線維芽細胞(CAF)を免疫染色で確認した。癌細胞注入後1日目から微小転移巣に好中球の集簇がみられ、それに引き

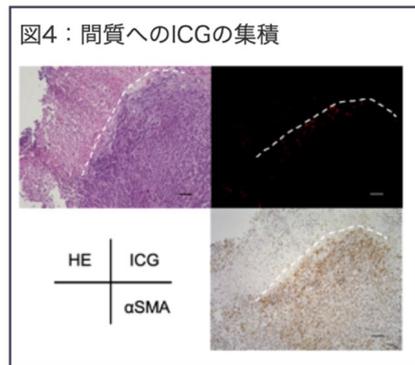
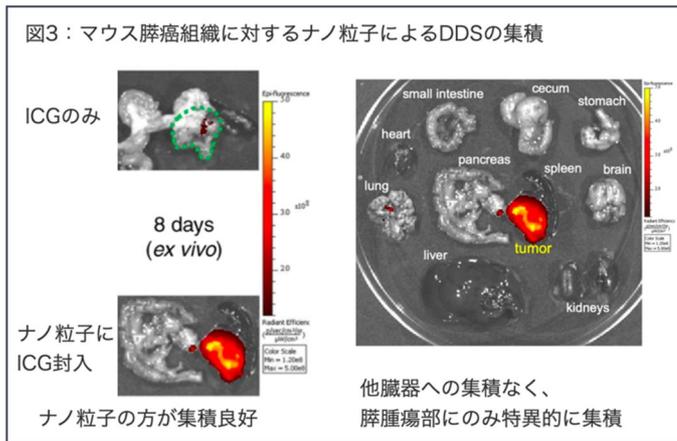


続いて、2日目以降に SMA 陽性の CAF の集簇が認められた(図2)。また、in vitro では膵癌細胞と間接共培養することにより NETs の形成が促進されることを明らかにした。しかしながら間質内の好中球の数は少なく、理想的な DDS とはなり得ないと判断した。

(2) 膵癌組織に特異的に送達可能なナノ粒子による DDS の開発と薬物動態の確認

PLGA を主成分としたナノ粒子を用いた DDS を採用することとした。その理由として、粒子が大きくなることで、血中滞留性の上昇が期待できることと、Enhanced Permeability and Retention 効果による、腫瘍集積性の向上が期待できたためである。

薬物動態の確認として、膵癌細胞と間質の主な構成細胞である膵星細胞を同所共移植したマウスに、ICG を封入したナノ粒子もしくは裸の ICG を静脈注射して体内動態を観察した。その結果、In Vivo Imaging System で、ICG が腫瘍にのみ集積することを確認した (図 3)。特に腫瘍内の SMA 陽性の領域、つまり癌間質に特異的に集積することも確認した (図 4)。さらに、8 日間と長期間集積が持続することや、遠隔転移巣にも集積することを確認した。このことから、本 DDS を用いることで、より低用量の薬剤投与が可能になると考えた。

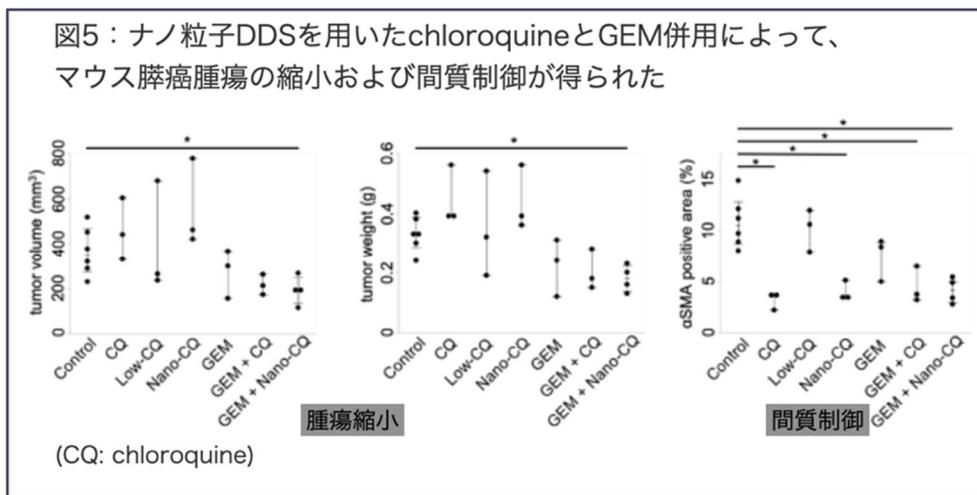


(3) ナノ粒子に内包する薬剤の探索

投与薬剤として、まず chloroquine について検討を行った。当研究室ではこれまで、chloroquine が膵癌間質における主たる構成細胞である膵星細胞の autophagy を抑制することで、その活性化を抑制することを報告してきた。しかしながらその効果を得るためには、実臨床での許容用量以上の高用量の投与が必要で、副作用も懸念されていた。このため、本 DDS を用いて chloroquine を投与することでそれらの問題を改善し得ると考え、実験を行った。その結果、通常の 5 分の 1 という低用量で、確実に膵癌の間質増生抑制ができることを明らかにした。

次に、chloroquine のみでは腫瘍の縮小効果は不十分であったため、chloroquine 投与と併用することで腫瘍抑制効果が得られる薬剤を検討した。その結果、膵癌に対して一般的に使用される gemcitabine を併用すると、gemcitabine 単剤に比較して確実に腫瘍縮小効果が得られることを明らかにした (図 5)。これはナノ粒子による DDS を用いて chloroquine を投与することで確実に間質を減らし、これにより gemcitabine の薬剤送達効率が上がったことに寄与すると考える。

研究着想時には免疫細胞をキャリアとする DDS を予定していたが、本研究結果で十分に目的を達成し得たと判断し、この結果を査読付き英文論文に報告した。



5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Matsumoto Sokichi, Nakata Kohei, Sagara Akiko, Guan Weiyu, Ikenaga Naoki, Ohuchida Kenoki, Nakamura Masafumi	4. 巻 22
2. 論文標題 Efficient pre-treatment for pancreatic cancer using chloroquine-loaded nanoparticles targeting pancreatic stellate cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Oncology Letters	6. 最初と最後の頁 633
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/ol.2021.12894	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 Takesue S, Ohuchida K, Shinkawa T, Otsubo Y, Matsumoto S, Sagara A, Yonenaga A, Ando Y, Kibe S, Nakayama H, Iwamoto C, Shindo K, Moriyama T, Nakata K, Miyasaka Y, Ohtsuka T, Toma H, Tominaga Y, Mizumoto K, Hashizume M, Nakamura M	4. 巻 56
2. 論文標題 Neutrophil extracellular traps promote liver micrometastasis in pancreatic ductal adenocarcinoma via the activation of cancer-associated fibroblasts	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 596 ~ 605
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/ijo.2019.4951	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3件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 松本奏吉、仲田興平、伊達聡美、関維雨、相良亜希子、池永直樹、大内田研宙、中村雅史
2. 発表標題 膵癌に対するナノ粒子DDSの有用性の検討
3. 学会等名 第57回九州外科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松本奏吉、仲田興平、関維雨、相良亜希子、池永直樹、大内田研宙、大塚隆生、中村雅史
2. 発表標題 ナノ粒子DDSを用いた新規膵星細胞活性化抑制剤の開発
3. 学会等名 第75回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Matsumoto S, Nakata K, Ikenaga N, Date S, Guan W, Sagara A, Ohuchida K, Ohtsuka T, Nakamura M
2. 発表標題 Efficient Targeted Therapy for Pancreatic Cancer Using Nanosystem and Focusing on the Suppression of Pancreatic Stellate Cell Activation
3. 学会等名 14th World Congress of International Hepeto-Pancreato-Biliary Association (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔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	寅田 信博 (TORATA Nobuhiro) (00398075)	九州大学・大学病院・臨床検査技師 (17102)	
研究分担者	森山 大樹 (MORIYAMA Taiki) (70586859)	九州大学・大学病院・准教授 (17102)	
研究分担者	大内田 研宙 (OHUCHIDA Kenoki) (20452708)	九州大学・大学病院・講師 (17102)	

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
---------	---------