

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：12608

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K20196

研究課題名（和文）がん関連アミノ酸トランスポーターを標的とした光増感剤送達システムの開発

研究課題名（英文）Development of photosensitizer delivery systems targeting tumor-associated amino acid transporters

研究代表者

野本 貴大（Nomoto, Takahiro）

東京工業大学・科学技術創成研究院・助教

研究者番号：00734732

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究課題ではがん関連アミノ酸トランスポーターを標的とした薬物送達システム（DDS）を開発することを目的とし、DDSの基本骨格となる高分子を合成し、その側鎖にアミノ酸トランスポーターの基質と類似した構造を持つ分子を結合した。そして、特定のアミノ酸構造を持つ分子を側鎖に導入したところ、がん関連アミノ酸トランスポーターに認識されて腫瘍に選択的に集積することが明らかとなった。そしてこのDDSは光線力学療法に極めて有用であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腫瘍関連アミノ酸トランスポーターを標的としたDDSの構築に成功し、そのDDSを用いてマウス腫瘍モデルに対して光線力学療法を行ったところ、有意な腫瘍増殖抑制効果が得られることが明らかとなった。また、本DDSの設計についても構造の微調整が最終的な活性に大きく影響することも明らかにした。これらの知見は新たな医療モダリティを開発するにあたり有用なものであると期待される。

研究成果の概要（英文）：This research project was aimed at developing a drug delivery system (DDS) targeting tumor-associated amino acid transporters. A polymer was synthesized as the backbone of the DDS and molecules with structures similar to the substrates of the amino acid transporters were conjugated with the side chains of the polymer. When molecules with certain amino acid structures were introduced into the side chain, the DDS was recognized by the tumor-associated amino acid transporter and selectively accumulated within tumors. It was also demonstrated that this DDS should be useful for photodynamic therapy.

研究分野：薬物送達学

キーワード：薬物送達技術 光線力学療法 アミノ酸トランスポーター

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

光線力学療法 (photodynamic therapy: PDT) はがん組織に光増感剤を送達し、そこに光照射を行うことにより活性酸素を発生させて限局的な治療効果を得る低侵襲的な治療法である。PDT において光増感剤を腫瘍選択的に集積させることが重要だが、現在臨床で使用されている光増感剤は腫瘍選択性がなく、正常組織にも分布してしまい光過敏症を惹起することが問題になっている。この課題に対し、今まで研究実施者含め数多くの研究者が高分子ミセルやリポソームなどの薬物送達システム (drug delivery system: DDS) を用いて、enhanced permeability and retention (EPR) 効果による腫瘍集積性向上を行ってきた。しかし、EPR 効果を得るには、DDS を血中に長期的に滞留させる必要があり、正常組織中の血中にも薬物が多く存在し、実際には腫瘍と正常組織における薬物濃度比が極めて低い。したがって、PDT においては、EPR 効果以外の方法で光増感剤をがん細胞に選択的に送達しながら、正常組織・血中からは即座に消失することが求められる。近年、EPR 効果以外のアプローチとして、抗体に光増感剤を結合させたものが注目されている。しかし、この方法でも抗体は血中に長期的に残存してしまい、腫瘍と正常組織の薬物集積比はけっして高くない。さらに、適用範囲は標的抗原陽性の患者のみに限定されるのに加え、その患者のみに治療を行っても奏効率が必ずしも高くないことが示唆されている。この限定的な治療効果の原因は、抗体そのものに由来する。すなわち、現在は抗体 1 分子あたりに数個の光増感剤が結合しているものが開発されているが、抗原陽性の細胞であっても抗原の発現量が一定程度以上でないと、細胞殺傷に至る量の光増感剤が集積できない。また、がんの不均一性により、すべてのがん細胞に抗体が届かない場合も多い [Nanoscale 8, 12504-12509 (2016)]。したがって、安全性を担保しながら PDT による完全奏効率を高めるためには、下記の問いに答えることが必要であると考えた。

- ・ 光免疫療法の選択性を維持しながら血中からは薬物を早期に排出させる方法はないか？
- ・ 一般的な抗体が標的としている分子以外のがん関連分子を標的とすることが必要ではないか？
- ・ 標的分子の数に制限されずに光増感剤を大量に細胞に送り届ける方法はないか？

2. 研究の目的

本研究課題では上記の問いに答えるべく、がん関連アミノ酸トランスポーターを標的とした高分子コンジュゲート型 DDS を開発することを目的とした。研究実施者は、今までに、高分子側鎖にアミノ酸トランスポーターの基質となる構造を適切に導入することで、アミノ酸トランスポーター介在型エンドサイトーシスにより大量に細胞に取り込まれ、がんの数時間以内に極めて効率的に集積することを見出している。また、分子量の最適化により、血中から早期に排出され、正常組織にはほとんど集積しない DDS を構築することに成功している。実際、腫瘍/血液の薬物濃度比が 3 以上という、EPR 効果や抗体では容易に達成できない極めて高い値を得ることができている。本研究では上述の研究実施者の見出した知見を、汎用性の高い DDS へと昇華すべく、側鎖にアミノ酸トランスポーターの基質をリガンド分子として多数導入した高分子と、大量の薬物(光増感剤)を担持させた高分子を連結した、アミノ酸トランスポーター標的高分子コンジュゲートを開発することを目的とした。

3. 研究の方法

アミノ酸トランスポーター標的高分子コンジュゲートの設計において重要な部分はアミノ酸トランスポーターに認識されるアミノ酸部と近傍の構造であり、認識部位を阻害しないように、アミノ酸トランスポーターの基質を側鎖に導入することとした。

本研究では、開発する DDS について特に下記の性能を明らかにすることとした。

1. 選択性
アミノ酸トランスポーターに選択的に集積可能であるか？
[競合阻害実験により検証した。]
2. 送達性
単純な抗体-光増感剤コンジュゲートよりも効率的に光増感剤を標的細胞に送達できるか？
[光増感剤の蛍光を利用して細胞内分布を観察し、さらに蛍光強度から細胞内取込量、腫瘍内集積量を定量した。]
3. 消失性
血中や正常組織からは即座に消失されるか？
[腫瘍内集積量定量と同様に光増感剤の蛍光強度から定量的に評価した。]
4. 光選択的細胞殺傷性
既存の DDS よりも優れた PDT 効果を示すか？
[マウス腫瘍モデルを用いて抗腫瘍効果を評価した。]

上記の検討を遂行する間に、高分子の構造が体内動態等に大きく影響することが考えられた。それ故に、上記の検討結果を下記の高分子の物性にフィードバックして構造の最適化を随時行い、アミノ酸トランスポーター標的 DDS に求められる物性を明らかにした。

A. DDS に結合する光増感剤

本高分子コンジュゲートに使用する光増感剤として水溶性の光増感剤と疎水性の光増感剤の両方を検討することとした。水溶性の光増感剤は高分子に多数結合させることができるものの、過剰に導入すると DDS の標的認識機能の低下が懸念された。一方、疎水性の光増感剤は多数結合すると凝集体を形成する可能性が考えられた。DDS に結合する光増感剤の物性が DDS の活性にどのように影響するかを検討した。

B. リガンド分子の導入量

側鎖のアミノ酸トランスポーター基質構造分子の密度が高すぎると、アミノ酸トランスポーターの基質認識部位へのアクセスを阻害する可能性があるため、基質構造分子の密度がアミノ酸トランスポーターとのアフィニティにどの程度影響するかを調べた。

C. 側鎖化学構造の最適化

複数のアミノ酸トランスポーター基質構造分子を高分子の側鎖に導入し、どのような構造ががん関連アミノ酸トランスポーターに選択的かつ効率的に結合することができるかを評価した。

以上の検討を通じて、がん関連アミノ酸トランスポーターを標的として迅速に集積しながらも、血中や正常組織からは早期に排出され、腫瘍と正常組織の薬物集積比極めて高くすることができる、全く新しい高分子コンジュゲート型 DDS の設計理論の構築を試みた。

4. 研究成果

α -アミノ酸 *N*-カルボン酸無水物の開環重合により DDS の基本骨格となる高分子を合成し、その側鎖にアミノ酸トランスポーターの基質と類似した構造を持つ分子を結合した。そして、特定のアミノ酸構造を持つ分子を側鎖に導入したところ、がん関連アミノ酸トランスポーターに認識されて培養がん細胞に取り込まれることが、阻害剤を用いた実験で明らかとなった。また、その取り込みの効率は側鎖に基質構造を導入しなかった高分子よりも高かった。そして、この基質構造を持つ高分子は正常細胞に対しては取り込み効率が低いことも示された。また、細胞内取り込みの経路を共焦点レーザー走査型顕微鏡により評価したところ、アミノ酸トランスポーター介在型エンドサイトーシスで取り込まれることが示唆された。光増感剤を搭載した DDS で PDT 効果を検討したところ、がん細胞に対して強い殺傷効果をもたらすことが明らかとなった。

In vivo の研究では、この基質構造導入高分子をマウス腫瘍モデルに対して投与したところ、腫瘍組織に選択的に集積することが示唆された。また、光照射を行うと有意な抗腫瘍効果が得られることも明らかとなった。一方、この基質構造とは異なる構造を側鎖に導入した DDS では腫瘍への選択性が低下し、正常組織に対してもダメージをもたらす可能性が示唆された。

これらの実験について、様々な基質構造と導入量で検討を重ねた結果、基質構造を過剰に導入すると DDS の水溶性が著しく低下し、導入量が低すぎると腫瘍への選択的集積性が低下する傾向が見られ、構造と導入量の微調整が極めて重要であることが示された。また、光増感剤については、適切な物性のものを用いることで、がん関連アミノ酸トランスポーターへの標的性を低下させないことが示唆された。

以上の検討により、がん関連アミノ酸トランスポーターを標的とした DDS の開発に成功し、光増感剤送達システムとして極めて有用であることを示すことができた。また、がん関連アミノ酸トランスポーターを標的とした DDS の設計に関する知見が蓄積され、この知見は今後の DDS 開発において活用されることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3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 Muttaqien Sjaikhurrizal El, Nomoto Takahiro, Dou Xuebo, Takemoto Hiroyasu, Matsui Makoto, Nishiyama Nobuhiro	4. 巻 328
2. 論文標題 Photodynamic therapy using LCST polymers exerting pH-responsive isothermal phase transition	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Controlled Release	6. 最初と最後の頁 608 ~ 616
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jconrel.2020.09.036	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 Sun Xiaohang, Nomoto Takahiro, Takemoto Hiroyasu, Matsui Makoto, Guo Haochen, Sun Yudi, Miura Yutaka, Nishiyama Nobuhiro	4. 巻 329
2. 論文標題 Potential urinary monitoring of the enhanced permeability and retention effect using MMP-2-responsive poly(ethylene glycol) derivatives	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Controlled Release	6. 最初と最後の頁 513 ~ 523
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jconrel.2020.09.004	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 Komoto Kana, Nomoto Takahiro, El Muttaqien Sjaikhurrizal, Takemoto Hiroyasu, Matsui Makoto, Miura Yutaka, Nishiyama Nobuhiro	4. 巻 112
2. 論文標題 Iron chelation cancer therapy using hydrophilic block copolymers conjugated with deferoxamine	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 410 ~ 421
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14607	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 2件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 野本貴大	
2. 発表標題 超低侵襲ケミカルサージェリーを目指した高分子コンジュゲート型DDSの設計	
3. 学会等名 日本薬学会第141年会（招待講演）	
4. 発表年 2021年	

1. 発表者名 Takahiro Nomoto
2. 発表標題 Drug delivery using functional polymer-conjugates
3. 学会等名 Topical Meeting on Condensed-Matter Chemistry on Actinides (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 野本貴大、Dou Xuebo、武元宏泰、西山伸宏
2. 発表標題 多価環状RGDペプチド担持高分子型光増感剤によるphotochemical internalizationの検討
3. 学会等名 LASER WEEK IN KOCHI
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
---------------------------	-----------------------	----

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