

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21791542

研究課題名(和文) ナノミセル内包MG132の抗腫瘍薬としての応用とリアルタイムイメージング

研究課題名(英文) Enhanced Antitumor Activity of Proteasome Inhibitor MG132-loaded Polymeric Micelle Drug Carriers, Analyzed by *In Vivo* Real-Time Confocal Microangiography

研究代表者 松本 陽子 (MATSUMOTO YOKO)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：10466758

研究成果の概要(和文)：

ミセル化PI(MG132 ミセル)を東京大学臨床医工学部門片岡研究室の協力を得て開発した。その効果を調べるためHeLa担癌マウスを用い、非ミセルMG132と比較した。その結果、ミセル化することにより薬剤の効果が増強し、副作用が減少していることを示した。また、薬剤の安定性、血管滞留性、腫瘍組織への選択的集積性などをリアルタイムで映像化する技術の開発にも上記研究室と協力し取り組んだ。腫瘍組織及び他の臓器への薬剤の取り込みを、共焦点顕微鏡リアルタイムイメージングシステムを用いて撮影し、組織への薬剤の取り込みや作用時間を比較した。ミセル化PIは、投与後腫瘍組織内の新生血管に深く浸透し、腫瘍細胞内に多く、長時間取り込まれることが示された。ナノミセルを用いた新たな薬物治療のがん領域への臨床応用に対する可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：

Macromolecular carriers for therapeutic agents are attractive as they can improve the performance of certain drugs by prolonged blood circulation, reduced nonspecific accumulation in normal tissues and preferential tumor accumulation due to the enhanced permeability and retention (EPR) effect. Core-shell type polyion complex (PIC) micelles have received considerable attention as a promising macromolecular carrier system. Antitumor drug-loaded micelles containing platinum and taxane have been reported to have strong target effects with decreased side effects. Proteasomes degrade or process intracellular proteins, some of which represent mediators of cell-cycle progression and apoptosis, such as the cyclins, caspases, BCL2 and nuclear factor of κ B (NF- κ B). Proteasome inhibitor (PI) is attracting considerable attention as a new antitumor drug widely effective for various cancers. Bortezomib was the first PI to enter clinical development and was approved by the FDA in 2003 for the treatment of relapsed and refractory multiple myeloma. However, this drug has been known to cause strong side

effects such as interstitial pneumonia. By applying PIC micelles technology to PI, we might possibly increase the antitumor effect and reduce side effects.

We developed a new class of polymeric micelles incorporating PI MG132 through the polymer-drug complex formation between MG132 and poly- (ethylene glycol)-*b*-poly (benzyl-L-glutamate) block copolymers (MG132/m). To analyze biodistribution of free MG132 and MG132/m, we used a Nikon A1R confocal laser scanning microscope system. Blood circulation and accumulation at the tumor (HeLa-H2BGFP cervical carcinoma) and normal tissue were evaluated by visual image.

To evaluate the *in vivo* antitumor effect of MG132/m, subcutaneous xenograft models were established by transplanting human cervical cells (Hela and CaSki) into severe combined immunodeficient (SCID) mice. The SCID mice were treated with free MG132 or MG132/m intravenously (1 mg/kg/dose) twice a week for 4 weeks.

In vivo real-time confocal micro-angiography demonstrated that MG132/m had prolonged blood circulation and effective accumulation into solid tumors. Analysis of tumor size following injection of MG132 or MG132/m indicated that MG132/m had a stronger growth inhibitory effect against cervical cancers.

Core-shell type polyion complex micelles could be an outstanding drug delivery system for MG132 and possibly other proteasome inhibitors in the treatment of cervical cancer.

交付決定額

(金額単位：円)			
	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：外科系臨床医学

科研費の分科・細目：産婦人科学

キーワード：ナノテクノロジー、プロテアソームインヒビター、DDS

1. 研究開始当初の背景

HPV E6 遺伝子が p53 をはじめとする癌抑制蛋白にユビキチン付加し、プロテアソームに分解させる。この機序が子宮頸癌の発癌に重要な役割を持っている。プロテアソームインヒビターは子宮頸癌に有効である可能性が高く、アポトーシス関連癌抑制蛋白

の発現を回復させることから、抗癌剤と併用することで治療効果を増幅させることが予測された。さらに、一般試薬として入手可能なプロテアソームインヒビターである MG132 を子宮頸癌担癌マウスに投与し、その有用性が検証されている。その結果、プロテアソームインヒビターは単剤でも抗腫瘍効果を示した。また免疫染色で p53 をはじ

めとする複数の HPV ターゲット癌抑制蛋白の発現増加を確認した。また、VELCADE を抗癌剤と併用することで抗腫瘍効果が有意に高まることも確認した。

そこでさらに、前述した高分子ミセルに MG132 を封入し、薬剤を安定に運搬し、腫瘍に選択的に取り込ませることにより、より安全で効果的な抗腫瘍効果を期待できると考えた。

2. 研究の目的

1) ナノスケールのミセルに薬物を内包して投与する方法を、新規がん治療薬として注目されているプロテアソームインヒビターに適用する。発癌メカニズムおよび基礎研究から照らしあわせ抗腫瘍効果を大いに期待する子宮頸癌・卵巣癌をはじめ、多種の婦人科癌に対して臨床応用を目指す。2) ナノミセルの性質から血中の動態が議論されており、既存の抗癌剤を内包したミセルは臨床応用されている。実際に抗腫瘍効果が増強し副作用は減少していることが知られている。しかし *in vivo* で腫瘍組織にどのくらいの時間をかけて、どの程度、どのような形で取り込まれるのかは現在分かってはいない。共焦点レーザー顕微鏡を用いたリアルタイムイメージングにより、血液中に投与した抗腫瘍薬内包ミセルがどのように取り込まれていくのかを映像化し、解析することで、更に治療効果を高めた薬剤の調整、投与方法、薬剤選択が可能になる。

3. 研究の方法

がん治療の新たなデバイスである高分子ミセル型ナノキャリアの技術を新規抗悪性腫瘍薬プロテアソームインヒビター(PI)に適用することで効果を高め、副作用を減弱させた薬剤の開発・検証を行う。また、薬剤の安定性、血管滞留性、腫瘍組織への選択的集積性などをリアルタイムで映像化する技術を用いてミセル化 PI の体内動態を検証する。

4. 研究成果

ミセル化 PI (MG132 ミセル) を東京大学臨床医工学部門片岡研究室の協力を得て開発した。その効果を調べるため Hela 担癌マウスを用

い、非ミセル MG132 と比較した。その結果、ミセル化することにより薬剤の効果が増強し、副作用が減少していることを示した。また、薬剤の安定性、血管滞留性、腫瘍組織への選択的集積性などをリアルタイムで映像化する技術の開発にも上記研究室と協力し取り組んだ。腫瘍組織及び他の臓器への薬剤の取り込みを、共焦点顕微鏡リアルタイムイメージングシステムを用いて撮影し、組織への薬剤の取り込みや作用時間を比較した。ミセル化 PI は、投与後腫瘍組織内の新生血管に深く浸透し、腫瘍細胞内に多く、長時間取り込まれることが示された。ナノミセルを用いた新たな薬物治療のがん領域への臨床応用に対する可能性が示された。現在論文執筆中、またミセル化 PI の技術は特許出願され(“プロテアソームインヒビター内包高分子ミセル” 発明者：片岡一則、松本陽子他 4 名 権利者：東京大学 種類：特許権 番号：WO/2010/098265 出願年月日：2010 年 2 月 PCT 出願) 東京大学知的財産として登録された。研究成果は第 3 回国際ナノバイオ学会にて発表した。また 2010 年 8 月 Nikon ハイデルベルグイメージングセンターおよび Carl Zeiss micro imaging center からの招待レクチャーを行った。(Yoko Matsumoto et al, Enhanced Antitumor Activity of Proteasome Inhibitor MG132-loaded Polymeric Micelle Drug Carriers, Analyzed by *In Vivo* Real-Time Confocal Micrography)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

Matsumoto Y, Nomoto T, Cabral H, Matsumoto Y, Watanabe S, Christie RJ, Miyata K, Oba M, Ogura T, Yamasaki Y, Nishiyama N, Yamasoba T, Kataoka K. Direct and instantaneous observation of intravenously injected substances using intravital confocal micro-videography. *Biomedical optics express*. 2010. 1209-1218

[学会発表] (計 2 件)

① Third International NanoBio Conference , ETH Zurich, Switzerland, August 24-27, 2010

“Enhanced Antitumor Activity of Proteasome Inhibitor MG132-loaded Polymeric Micelle Drug Carriers, Analyzed by *In Vivo* Real-Time Confocal Microangiography”

Yoko Matsumoto¹, Yu Matsumoto², Yuichiro Miyamoto¹, Horacio Cabral², Nobuhiro Nishiyama², Shunsuke Nakagawa¹, Tetsu Yano¹, Yuji Taketani¹, Kazunori Kataoka²

② 第 61 回日本産科婦人科学会学術講演会、国立京都国際会館、2009 年 4 月 3 日～5 日
高得点演題「高分子ナノミセル内包抗悪性腫瘍薬の組織内取り込みに対する高速蛍光イメージングシステムを用いた *in vivo* リアルタイム解析」

松本陽子、中川俊介、宮本雄一郎、曾根献文、矢野 哲、武谷雄二、松本 有、Cabral Horacio、西山伸弘、片岡一則

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称：プロテアソームインヒビター内包高分子ミセル

発明者：片岡一則、松本陽子他 4 名

権利者：東京大学

種類：特許権

番号：W0/2010/098265

出願年月日：2010 年 2 月 19 日

国内外の別：外国 (PCT 出願)

○取得状況 (計◇件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松本 陽子 (MATSUMOTO YOKO)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：10466758

(2) 研究分担者
なし

(3) 連携研究者
なし