

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 6 日現在

機関番号：32643

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22591848

研究課題名（和文） 高分子ナノミセルによるドラッグデリバリーシステムを利用した婦人科腫瘍の治療戦略

研究課題名（英文） A new strategy for gynecologic malignancy using drug delivery system based on nanomicelles

研究代表者

中川 俊介 (NAKAGAWA SHUNSUKE)

帝京大学・医学部・講師

研究者番号：70270874

研究成果の概要（和文）：子宮頸癌はヒトパピローマウイルス(HPV)感染によって発症すると考えられる。HPV の癌蛋白である E6 はヒトの癌抑制蛋白をユビキチン化を介して分解する。プロテアソーム阻害剤はその標的蛋白の分解を阻害する。我々は、プロテアソーム阻害剤 MG132 内包ミセルを作成し、子宮頸癌のマウス皮下移植腫瘍に対して、このミセルが強い抗腫瘍効果を持つことを示した。この研究はドラッグデリバリーシステムをもちいた新規治療戦略となり得る。

研究成果の概要（英文）：Human Papillomavirus (HPV) has a crucial role in development of cervical cancer. HPV E6 oncoprotein inactivates tumor suppressors through ubiquitin-mediated degradation. Proteasome inhibitor suppresses degradation of target protein. We designed and created proteasome inhibitor MG132 containing nanomicelle. MG132 containing nanomicelle inhibited growth of xenograft tumor from HPV-positive cervical cancer cell lines. These data underscore the possibility that proteasome inhibitor MG132 containing nanomicelle might be an attractive new strategy for cervical cancer treatment based on drug delivery system.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目 外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：子宮頸癌、プロテアソーム阻害剤、ドラッグデリバリーシステム、ヒトパピローマウイルス

1. 研究開始当初の背景 HPV の持つ E6 癌蛋白はヒトの癌抑制蛋白である p53 等の癌抑制

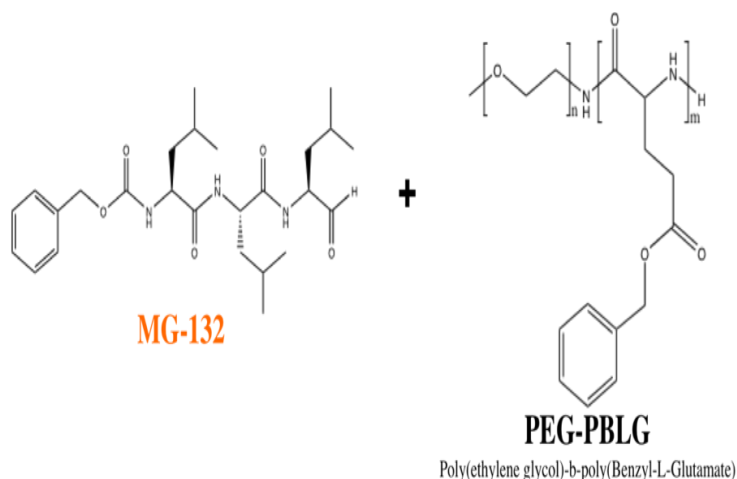
蛋白をユビキチン化を介して分解する。我々は、プロテアソーム阻害剤である Bortezomib が in vitro および in vivo において HPV 陽性の子宮頸癌の増殖を抑制することを見いだした。近年、多くのヒトの悪性腫瘍の治療における、ナノミセルをもちいた新規ドラッグデリバリーシステムの開発が進んでいる。このナノミセルをもちいた新規ドラッグデリバリーシステムをプロテアソーム阻害剤の投与に応用することが可能であるかを検討した。

2. 研究の目的 ナノミセルをもちいた新規ドラッグデリバリーシステムをプロテアソーム阻害剤に応用することにより、プロテアソーム阻害剤が腫瘍により集積し、より強い抗腫瘍効果を示すかを検討した。もし、このプロテアソーム阻害剤内包ナノミセルが裸剤に比べて、腫瘍に集積し、そのためにより強い腫瘍増殖抑制効果があることが示されれば、このプロテアソーム阻害剤内包ナノミセルは子宮頸癌の新規治療戦略となり得る。

3. 研究の方法

(1)MG132 内包ミセルの合成

プロテアソーム阻害剤 MG132 は下図に示すように疎水性を持つ。ミセルを形成する PEG-PBLG は疎水基と親水基をもち、疎水基は MG132 と結合し、MG132 を内部に内向するように、親水基はミセルの外側の被膜を形成する。このミセルは東京大学工学部の片岡研との共同研究により、開発した。



MG-132 micelle



(2)MG132 内包ミセルの腫瘍集積性の検討

MG132 内包ミセルを黄色の蛍光でラベルし、蛍光ラベルした MG132 内包ミセルが腫瘍に集積するかを検討した。HPV 陽性の子宮頸癌由来細胞株 HeLa 細胞に恒常的に蛍光蛋白 GFP が発現するシステムを構築した。この GFP 発現子宮頸癌由来細胞株 HeLa 細胞をヌードマウスの皮下に移植し、尾静脈から投与した黄色の蛍光でラベルした MG132 内包ミセルがこの腫瘍に集積するかを観察した。

(3)MG132 内包ミセルの抗腫瘍効果

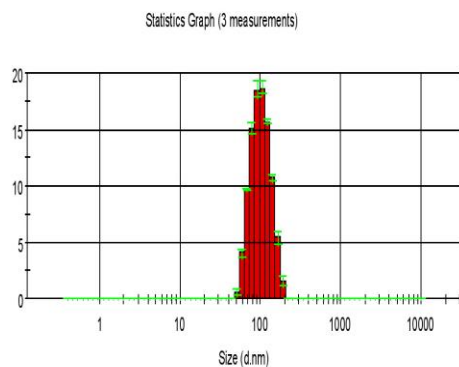
上記の図に示すように、ミセルは親水基を外側に向けて、疎水基は内側で MG132 と結合し、MG132 を内包する形で形成された。このミセルの抗腫瘍効果を検討するために、HPV 陽性の子宮頸癌由来細胞株をヌードマウスの皮下に移植し、一定のサイズに移植腫瘍が増殖した時点で、マウスの尾静脈から MG132 内包ミセル、MG132 裸剤、コントロールとして生殖を静脈内に投与し、移植腫瘍のサイズを計測

し、抗腫瘍効果を検討した。

4. 研究成果

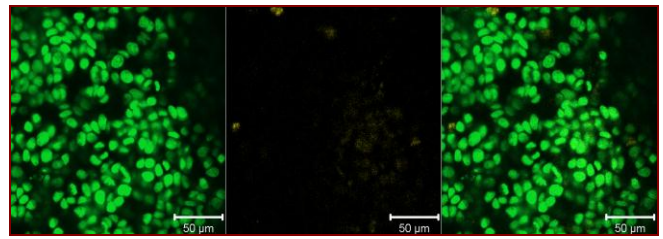
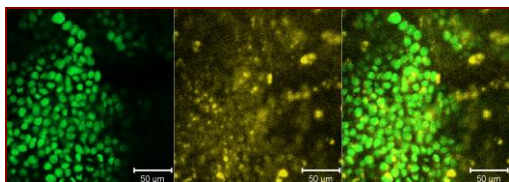
(1) MG132 内包ミセルの合成

我々の開発したナノミセルは直径約 100 nm であった。このミセルをマウスの尾静脈より投与し、血中での安定性を検討したところ、MG132 裸剤と比べ、長時間に渡り血中で安定であることが示された。



(2) MG132 内包ミセルの腫瘍集積性の検討

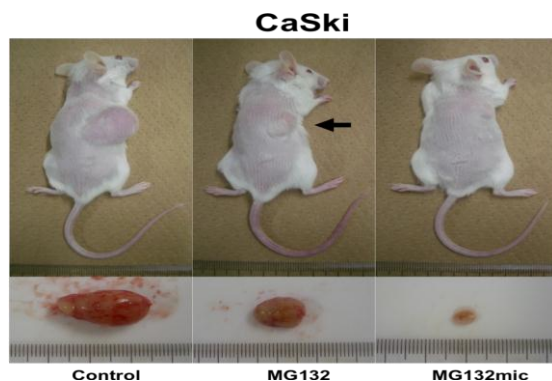
GFP 発現 HeLa 細胞移植腫瘍に MG132 裸剤および MG132 内包ミセルが集積するかを検討した。図の上段に示すように、黄色で蛍光ラベルした MG132 内包ミセルは GFP でラベルした HeLa 細胞に強い集積性を示した。これに対して、下段に示すように、裸剤の MG132 は腫瘍集積性を示さなかった。以上より、MG132 内包ミセルはその高い腫瘍集積性から強い抗腫瘍効果をもたらすことが期待された。



(3) MG132 内包ミセルの抗腫瘍効果

HPV 陽性の CaSki 細胞をヌードマウスの皮下に移植し、移植腫瘍に対して、MG132 裸剤および MG132 内包ミセルを投与し、それぞれの抗腫瘍効果を検討した。下図に示すように、MG132 裸剤単独でも、コントロールに比べ、腫瘍形成の抑制効果を示した。腫瘍の取り出し、ウエスタンブロットで検討したところ、HPV E6 癌蛋白の分解の標的となる p53 等の癌抑制蛋白の発現の回復が確認された。MG132 内包ミセル投与症例では、ほぼ腫瘍形成が阻害され、ミセルはその腫瘍集積性から、きわめて強い抗腫瘍効果をもたらすことが、判明した。

以上より、MG132 内包ミセルは HPV 陽性子宮頸癌に対して、新規のドラッグデリバリーシステムをもちいる治療戦略となりうることが示された。



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 19 件)

① Regulation of SIRT1 determines initial step of endometrial receptivity by controlling E-cadherin expression.

Shirane A, Wada-Hiraike O, Tanikawa M, Seiki T, Hiraike H, Miyamoto Y, Sone K, Hirano M, Oishi H, Oda K, Kawana K, Nakagawa S, Osuga Y, Fujii T, Yano T, Kozuma S, **Taketani Y**.

Biochem Biophys Res Commun. 2012 Aug 3;424(3):604-10.

② Retreatment with nedaplatin in patients with recurrent gynecological cancer after the development of hypersensitivity reaction to carboplatin.

Arimoto T, Oda K, Nakagawa S, Kawana K, Tsukazaki T, Adachi K, Matsumoto Y, Yano T, Kozuma S, **Taketani Y**.

J Obstet Gynaecol Res. 2013 Jan;39(1):336-40.

③ Genotype-dependent efficacy of a dual PI3K/mTOR inhibitor, NVP-BEZ235, and an mTOR inhibitor, RAD001, in endometrial carcinomas.

Shoji K, Oda K, Kashiyama T, Ikeda Y, Nakagawa S, Sone K, Miyamoto Y, Hiraike H, Tanikawa M, Miyasaka A, Koso T, Matsumoto Y, Wada-Hiraike O, Kawana K, Kuramoto H, McCormick F, Aburatani H, Yano T, Kozuma S, **Taketani Y**.

PLoS One. 2012;7(5):e37431.

④ Genome-wide single nucleotide polymorphism arrays as a diagnostic tool in patients with synchronous endometrial and ovarian cancer.

Ikeda Y, Oda K, Nakagawa S, Murayama-Hosokawa S, Yamamoto S, Ishikawa S, Wang L, Takazawa Y, Maeda D, Wada-Hiraike O, Kawana K, Fukayama M, Aburatani H, Yano T, Kozuma S, **Taketani Y**.

Int J Gynecol Cancer. 2012 Jun;22(5):725-31.

⑤ Resveratrol promotes expression of SIRT1 and StAR in rat ovarian granulosa cells: an implicative role of SIRT1 in the ovary.

Morita Y, Wada-Hiraike O, Yano T, Shirane A, Hirano M, Hiraike H, Koyama S, Oishi H, Yoshino O, Miyamoto Y, Sone K, Oda K, Nakagawa S, Tsutsui K, **Taketani Y**.

Reprod Biol Endocrinol. 2012 Feb 23;10:14.

⑥ β -catenin (CTNNB1) S33C mutation in ovarian microcystic stromal tumors.

Maeda D, Shibahara J, Sakuma T, Isobe M, Teshima S, Mori M, Oda K, Nakagawa S, **Taketani Y**, Ishikawa S, Fukayama M. Am J Surg Pathol. 2011 Oct;35(10):1429-40.

⑦ The mechanism and implications of hScrib regulation of ERK.

Nagasaka K, Massimi P, Pim D, Subbaiah VK, Kranjec C, Nakagawa S, Yano T, **Taketani Y**, Banks L.

Small GTPases. 2010 Sep;1(2):108-112.

⑧Multifunctional transcription factor TFII-I is an activator of BRCA1 function.

Tanikawa M, Wada-Hiraike O, Nakagawa S, Shirane A, Hiraike H, Koyama S, Miyamoto Y, Sone K, Tsuruga T, Nagasaka K, Matsumoto Y, Ikeda Y, Shoji K, Oda K, Fukuhara H, Nakagawa K, Kato S, Yano T, **Taketani Y**.

Br J Cancer. 2011 Apr 12;104(8):1349-55.

⑨Interstitial pneumonitis induced by pegylated liposomal doxorubicin in a patient with recurrent ovarian cancer. Inaba K, Arimoto T, Hoya M, Kawana K, Nakagawa S, Kozuma S, **Taketani Y**. Med Oncol. 2012 Jun;29(2):1255-7.

⑩Second-line chemotherapy with docetaxel and carboplatin in paclitaxel and platinum-pretreated ovarian, fallopian tube, and peritoneal cancer.

Arimoto T, Nakagawa S, Oda K, Kawana K, Yasugi T, **Taketani Y**. Med Oncol. 2012 Jun;29(2):1253-4.

⑪Rsf-1 (HBXAP) expression is associated with advanced stage and lymph node metastasis in ovarian clear cell carcinoma.

Maeda D, Chen X, Guan B, Nakagawa S, Yano T, **Taketani Y**, Fukayama M, Wang TL, Shih IeM.

Int J Gynecol Pathol. 2011 Jan;30(1):30-5.

⑫Mucosal carcinoma of the fallopian tube coexists with ovarian cancer of

serous subtype only: a study of Japanese cases.

Maeda D, Ota S, Takazawa Y, Ohashi K, Mori M, Imamura T, Nakagawa S, Yano T, **Taketani Y**, Fukayama M.

Virchows Arch. 2010 Nov;457(5):597-608.

⑬The cell polarity regulator hScrib controls ERK activation through a KIM site-dependent interaction.

Nagasaka K, Pim D, Massimi P, Thomas M, Tomaić V, Subbaiah VK, Kranjec C, Nakagawa S, Yano T, **Taketani Y**, Myers M, Banks L.

Oncogene. 2010 Sep 23;29(38):5311-21.

⑭Bilateral microscopic adenocarcinoma of the fallopian tubes detected by an endometrial cytologic smear.

Maeda D, Takazawa Y, Ota S, Takeuchi Y, Seta A, Nakagawa S, Yano T, **Taketani Y**, Fukayama M.

Int J Gynecol Pathol. 2010 May;29(3):273-7.

⑮Aromatase inhibitor anastrozole as a second-line hormonal treatment to a recurrent low-grade endometrial stromal sarcoma: a case report.

Shoji K, Oda K, Nakagawa S, Kawana K, Yasugi T, Ikeda Y, Takazawa Y, Kozuma S, **Taketani Y**.

Med Oncol. 2011 Sep;28(3):771-4.

⑯Identification of DBC1 as a transcriptional repressor for BRCA1.

Hiraike H, Wada-Hiraike O, Nakagawa S, Koyama S, Miyamoto Y, Sone K, Tanikawa

M, Tsuruga T, Nagasaka K, Matsumoto Y, Oda K, Shoji K, Fukuhara H, Saji S, Nakagawa K, Kato S, Yano T, **Taketani Y.** Br J Cancer. 2010 Mar 16;102(6):1061-7.

⑰Repression of estrogen receptor beta function by putative tumor suppressor DBC1.

Koyama S, Wada-Hiraike O, **Nakagawa S,** Tanikawa M, Hiraike H, Miyamoto Y, Sone K, Oda K, Fukuhara H, Nakagawa K, Kato S, Yano T, **Taketani Y.** Biochem Biophys Res Commun. 2010 Feb 12;392(3):357-62.

⑱Genome-wide single-nucleotide polymorphism arrays in endometrial carcinomas associate extensive chromosomal instability with poor prognosis and unveil frequent chromosomal imbalances involved in the PI3-kinase pathway.

Murayama-Hosokawa S, Oda K, **Nakagawa S,** Ishikawa S, Yamamoto S, Shoji K, Ikeda Y, Uehara Y, Fukayama M, McCormick F, Yano T, **Taketani Y,** Aburatani H. Oncogene. 2010 Apr 1;29(13):1897-908.

⑲Clinicopathological Significance of Loss of ARID1A Immunoreactivity in Ovarian Clear Cell Carcinoma.

Maeda D, Mao TL, Fukayama M, **Nakagawa S,** Yano T, **Taketani Y,** Shih IeM. Int J Mol Sci. 2010;11(12):5120-8.

[学会発表] (計2件)

①日本癌学会 臓器別シンポジウム 2011

プロテアソーム阻害剤をもちいた新規子宮頸癌の治療戦略

中川俊介

②FIGO 2012 Rome Italy Genome-wide single nucleotide polymorphism arrays as a diagnostic tool in patients with synchronous endometrial and ovarian cancer. Ikeda Y, Oda K, **Nakagawa S,**

[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、中川俊介他

権利者: 片岡一則、中川俊介他

種類: 出願PCT/JP2010/052556

番号: W02010098265 A1

出願年月日: 2010年2月19日

○取得状況 (計0件)

[その他] ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中川 俊介 (NAKAGAWA SHUNSUKE)

帝京大学・医学部・講師

研究者番号: 70270874