

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 26 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23791812

研究課題名(和文) 高分子ナノミセル内包MG132とマイクロイメージング技術の婦人科癌治療への応用

研究課題名(英文) Application and evaluation of proteasome Inhibitor MG132-loaded polymeric micelle using in vivo imaging technique

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：薬剤送達システム(Drug Delivery System; DDS)である高分子ミセルを用いた新規婦人科癌治療薬の開発を進展させた。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を用いて作成した高分子ミセル内包MG132は、子宮頸がんに対し、非修飾MG132と比較し有意な抗腫瘍効果の増強を持ち、同時に副作用も軽減することを示した。またIn vivoリアルタイム共焦点顕微鏡システムを用いた子宮頸癌HeLa細胞の皮下腫瘍モデルマウスをの観察では血中安定性、組織移行性、細胞選択性、蓄積効率、機能発現を詳細に検討した。治療効果向上を目指したDDS開発に寄与するシステムを構築した。

研究成果の概要(英文)：Proteasome inhibitor (PI) is attracting considerable attention as a new antitumor drug. We developed polymeric micelles incorporating PI MG132 with PEG polymers (MG132/m) to increase the antitumor effect and reduce strong side effects of PI. Subcutaneous xenograft mice models with human cervical cancer were established and were treated with MG132 or MG132/m. MG132/m had a stronger growth inhibitory effect compared to naked MG132. To analyze biodistribution of MG132 and MG132/m, we used intravital real-time confocal laser scanning microscopy (IVRTCLSM), which demonstrated that MG132/m had prolonged blood circulation and effective accumulation into tumors. Core-shell type micelles could be an outstanding drug delivery system for MG132 and possibly other PIs in the treatment of cervical cancer.

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：ドラッグデリバリーシステム 子宮頸がん プロテアソームインヒビター

#### 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。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。またミセル化 PI の技術は特許出願し (“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 PCT 出願) 東京大学知的財産として登録された。

#### 2. 研究の目的

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することを目的とした。体内での薬物動態を詳しく解析することで、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と考えた。

#### 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) に応用することで効果を高め、副作用を減弱させた薬剤の体内動態の検証を行う。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

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。

#### 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 6 件)

[1] T. Arimoto, K. Oda, S. Nakagawa, K. Kawana, T. Tsukazaki, K. Adachi, Y. Matsumoto, T. Yano, S. Kozuma, Y. Taketani, Retreatment with nedaplatin in patients with recurrent gynecological cancer after the development of hypersensitivity reaction to carboplatin, *J Obstet Gynaecol Res*, (2012).

[2] S. Kojima, K. Kawana, K. Tomio, A. Yamashita, A. Taguchi, S. Miura, K. Adachi, T. Nagamatsu, K. Nagasaka, Y. Matsumoto, T. Arimoto, K. Oda, O. Wada-Hiraike, T. Yano, Y. Taketani, T. Fujii, D.J. Schust, S. Kozuma, The Prevalence Of Cervical Regulatory T Cells in HPV-Related Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN)

Correlates Inversely with Spontaneous Regression of CIN, *Am J Reprod Immunol*, (2012).

[3] K. Shoji, K. Oda, T. Kashiyama, Y. Ikeda, S. Nakagawa, K. Sone, Y. Miyamoto, H. Hiraike, M. Tanikawa, A. Miyasaka, T. Koso, Y. Matsumoto, O. Wada-Hiraike, K. Kawana, H. Kuramoto, F. McCormick, H. Aburatani, T. Yano, S. Kozuma, Y. Taketani, Genotype-dependent efficacy of a dual PI3K/mTOR inhibitor, NVP-BEZ235, and an mTOR inhibitor, RAD001, in endometrial carcinomas, *PLoS One*, 7 (2012) e37431.

[4] S. Kojima, K. Kawana, K. Tomio, A. Yamashita, A. Taguchi, S. Miura, K. Adachi, T. Nagamatsu, K. Nagasaka, Y. Matsumoto, T. Arimoto, K. Oda, O. Wada-Hiraike, T. Yano, Y. Taketani, T. Fujii, D.J. Schust, S. Kozuma, The prevalence of cervical regulatory T cells in HPV-related cervical intraepithelial neoplasia (CIN) correlates inversely with spontaneous regression of CIN, *Am J Reprod Immunol*, 69 (2013) 134-141.

[5] A. Miyasaka, K. Oda, Y. Ikeda, O. Wada-Hiraike, T. Kashiyama, A. Enomoto, N. Hosoya, T. Koso, T. Fukuda, K. Inaba, K. Sone, Y. Uehara, R. Kurikawa, K. Nagasaka, Y. Matsumoto, T. Arimoto, S. Nakagawa, H. Kuramoto, K. Miyagawa, T. Yano, K. Kawana, Y. Osuga, T. Fujii, Anti-tumor activity of olaparib, a poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitor, in cultured endometrial carcinoma cells, *BMC cancer*, 14 (2014) 179.

[6] A. Taguchi, K. Kawana, K. Tomio, A. Yamashita, Y. Isobe, K. Nagasaka, K. Koga, T. Inoue, H. Nishida, S. Kojima, K. Adachi, Y. Matsumoto, T. Arimoto, O. Wada-Hiraike, K. Oda, J.X. Kang, H. Arai, M. Arita, Y. Osuga, T. Fujii, Matrix metalloproteinase (MMP)-9 in cancer-associated fibroblasts (CAFs) is suppressed by omega-3 polyunsaturated fatty acids in vitro and in vivo, *PLoS One*, 9 (2014) e89605.

〔学会発表〕(計 8件)

(1) 2011/6/10 日本DDS学会(東京)

松本陽子 他

卵巣癌治療リポソーム化ドキソルビシン

Doxilによる間質性肺炎の検討

(2) 2011/12/16 The 12th US- Japan

Symposium on Drug Delivery Systems (Maui,

US) Yoko Matsumoto

Clinical course and features of fatal interstitial pneumonitis induced by pegylated liposomal doxorubicin (PLD) and analysis of PLD- induced lung injury using real- time intravital microscope

(3) 2012/4/13 第64回日本産科婦人科学会学術講演会(神戸)

松本陽子 他

リポソーム化ドキソルビシン(ドキシル)による薬剤性間質性肺炎等重篤な副作用の発生に関する生体リアルタイム薬剤動態解析を用いた基礎的検討

(4) 2012/9/19 第71回日本癌学会学術総会(札幌)

松本陽子 他

Enhanced Antitumor Activity of Proteasome Inhibitor MG132-loaded Polymeric Micelle Drug Carriers

(5) 2013/4/6 The 104th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research (Washington, DC, USA)

西田晴香、松本陽子 ほか

Analysis of antitumor effect of human papillomavirus E6 siRNA- loaded polymeric micelles on human cervical cancer

(6) 2013/5/10 第65回日本産科婦人科学会学術講演会(札幌)

西田晴香、松本陽子 ほか

子宮頸癌担癌マウスにおけるHPV E6 siRNA内包ミセルを用いた新規分子標的薬の抗腫瘍効果の検討

(7) 2013/7/21 the 40th Annual Meeting  
&Exposition of the Controlled Release  
Society

Honolulu, HA, USA

Haruka Nishida, Yoko Matsumoto, et al

Analysis of antitumor effect of human  
papillomavirus E6 siRNA- loaded polymeric  
micelles on human cervical cancer

(8) 2013/12/16 12th US- Japan Symposium  
Drug Delivery Systems (Maui, HA, USA)

Yoko Matsumoto et al

Antitumor effect of human papillomavirus  
E6 siRNA- loaded polymeric micelles on  
human cervical cancer

〔図書〕(計 1件)

プリンシプル産科婦人科 第3版 婦人科編  
「画像診断」「コラム DDS」  
メジカルビュー 2014年3月24日刊行

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0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