

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 24 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591941

研究課題名(和文) 胃癌腹膜播種性転移に対するドラッグデリバリーシステムの開発

研究課題名(英文) Development of a novel drug delivery system for the treatment of peritoneal dissemination of gastric cancer

研究代表者

小濱 和貴 (Obama, Kazutaka)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・非常勤講師

研究者番号：50322649

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、消化器癌の腹膜播種に対する抗がん剤腹腔内投与における、より効果の高いドラッグデリバリーシステムの開発を主な目的とした。抗がん剤の担体となる徐放剤には、「ゼラチンハイドロゲルマイクロスフィア(微小球状のゼラチン：GM)」を作製、それに抗がん剤シスプラチン(CDDP)を含浸して、腹腔内投与用の抗がん剤徐放剤(GM-CDDP)の最適化を行った。癌の腹膜播種モデルマウスを作製、これにGM-CDDPやフリーのCDDPを投与する動物実験を行い、GM-CDDPが抗腫瘍効果に遜色なく、さらに副作用の軽減が確認された。現在は、投与初期の急な抗がん剤濃度上昇をより抑えられるような剤型の工夫を進めている。

研究成果の概要(英文)：The main purpose of this study was to develop a new delivery system for intraperitoneal administration of anti-cancer agents (ACA) against peritoneal dissemination that can reduce systemic toxicity and achieve high dose chemotherapy. As a carrier of ACAs, microspheres were prepared from gelatin of a non-toxic and biodegradable material for the sustained release of CDDP. The gelatin hydrogel microspheres incorporating CDDP (GM-CDDP) were able to release CDDP in the peritoneal cavity as a result of gelatin biodegradation. GM-CDDP was injected intraperitoneally into a mouse model of a peritoneal dissemination; their therapeutic efficacy and adverse effects were evaluated. Gelatin hydrogel microspheres decreased the adverse effects of CDDP and allowed high dose intraperitoneal chemotherapy for peritoneal dissemination of cancer cells due to controlled CDDP release. Currently, we are performing experiments for optimization of this carrier of ACAs for better clinical applications.

研究分野：胃癌治療

キーワード：ドラッグデリバリーシステム ゼラチン 徐放剤 腹膜播種

1. 研究開始当初の背景

胃癌、大腸癌などの消化器癌は、進行すると腹膜播種性転移を引き起こすことが多い。腹膜播種が生じると、腫瘍の進展そのもの以外に、随伴する症状(腸閉塞・腹水貯留・腹部膨満・腹痛・尿路閉塞など)が患者のQOL(生活の質)を著しく落とすこととなる。したがって、消化器癌の腹膜播種に対する治療法の確立が急務である。

現在の標準治療は抗悪性腫瘍剤の経静脈投与による全身化学療法であるが、腫瘍へ十分な濃度と量の薬剤が到達しない懸念がある。つまり、薬剤の腹膜への組織移行性の問題があるため、十分な治療効果を得られていないのが現状である。治療成績向上のためには薬剤投与量の増量が不可欠であるが、有害事象の増加も伴ってくるため限界がある。

一方で、腹腔内投与は直接腫瘍に薬剤を曝露することができるが、抗がん剤の有効濃度の維持が難しい。また、腹膜から吸収された後に体循環に入り、全身投与同様に副作用を引き起こす。したがって、腹膜播種巣への抗腫瘍効果を維持しつつ、副作用を最小限にするような投与方法を開発する必要がある。

2. 研究の目的

我々の研究グループは、以前よりドラッグデリバリーシステムという技術に着目し、薬剤効果発現と効果維持を効率的に行うための工夫を行ってきた。具体的には、ゼラチン誘導体を用いた薬剤徐放によるドラッグデリバリーシステム(DDS)を多数考案し、b-FGF, TGF- β , VEGF, BMP-2などの薬剤の徐放システムを報告してきている。ゼラチンは牛の骨髄や、豚の皮膚のコラーゲンから精製される生体適合性、生体吸収性の物質で、食品はもちろん、止血剤やカプセル等ですでに日常臨床に使用されている。

我々のグループは、そのゼラチンを用いたドラッグデリバリーシステムを利用して、腹膜播種に対する抗癌剤投与において最大限の効果と最小限の副作用を実現することができないかと考えた。つまり、単に薬剤をそのまま腹腔内に投与するのではなく、生体吸収性材料であるゼラチンを担体として抗癌剤を含浸し、徐放化して投与する。それによって、より長く腹腔内に抗癌剤を滞留させ、腹膜播種巣に有効な濃度・量の抗癌剤を曝露させるわけである。

この研究では、胃癌や大腸癌など消化器癌の腹膜播種に対する抗癌剤腹腔内投与における新しいドラッグデリバリーシステムの開発を計画した。

3. 研究の方法

(1) 抗癌剤腹腔内投与におけるドラッグデリバリーシステムの開発にかかわる基礎実験の実施: 『ゼラチンマイクロスフィア-シスプラチン (gelatin microsphere -CDDP (GM-CDDP))』を作製し、その最適化を行っ

た。さらにマウスを用いた腹腔内投与実験でその薬物動態を検討し、その徐放性を確認した。徐放性の確認に際しては、ゼラチンの量と抗がん剤の量、そしてマイクロスフィアの大きさ、などの条件検討を行って、最適なGM-CDDPが作製できるように工夫した。

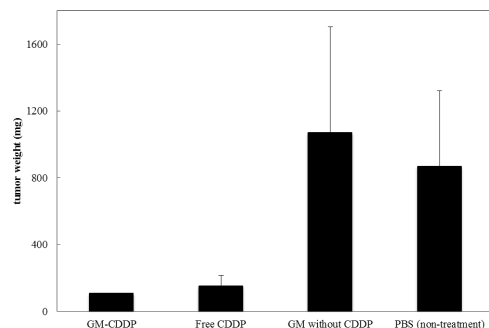
(2) 実験動物モデルとしてマウスの大腸がん細胞株を用いた腹膜播種モデルの作製を行った。

(3) このマウス腹膜播種モデルを用いて、最適化されたGM-CDDPの抗腫瘍効果や有害事象発生に関してデータを取ることにした。具体的には、GM-CDDPおよびfree-CDDPをモデル動物に投与し、抗腫瘍効果(マウス腹腔内腫瘍重量の変化)や有害事象の程度(血液検査による腎機能障害や骨髄抑制の評価、体重減少の程度)を比較した。

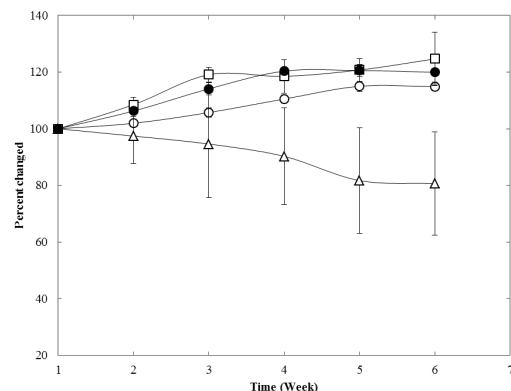
(4) 同様の内容を、大腸癌細胞だけでなく、他の癌種(胃癌など)でも検討し、腹膜播種巣に対する当該ドラッグデリバリーシステムの有用性について評価する。

4. 研究成果

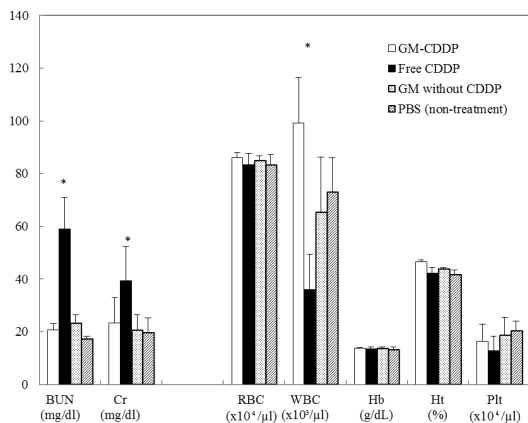
(1) 上記マウスの腹膜播種モデルを用いて、最適化したGM-CDDPと徐放化していないCDDPを腹膜播種モデルマウスに投与し、抗腫瘍効果や有害事象軽減効果を比較した。



上のグラフは、縦軸が腫瘍の重量、横軸は左からGM-CDDP群・フリーのCDDP群・ゼラチンマイクロスフィアのみ投与した群・未治療群を示している。左2群を比較すると、抗腫瘍効果は、GM-CDDPでもフリーの徐放化されていないCDDPでも同程度で遜色はないことが分かった。

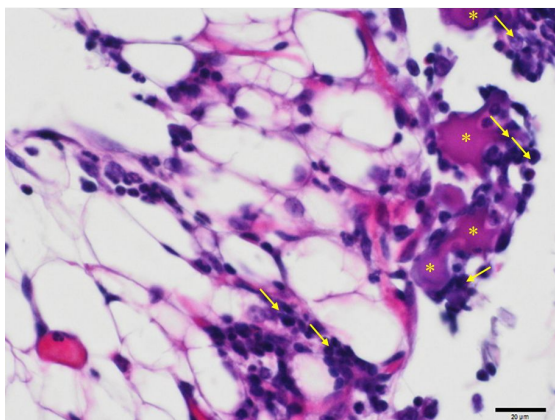


上(前ページ)のグラフは、縦軸が担癌モデルマウスの体重、横軸は時間経過となっており、上記4群の、抗癌剤(もしくはコントロール薬剤)腹腔内投与による体重の経時変化を見たものである(□:GM-CDDP群、■:フリーのCDDP群、▨:ゼラチンマイクロスフィアのみ投与した群、○:未治療群)で示されるフリーの徐放化されていないCDDP投与群は、治療が進むにしたがって食欲不振から徐々に体重減少が進んでいるが、示されるGM-CDDPを投与した群は、体重減少がほとんど見られず、コントロール群と大差ない経過を示していることが分かった。



上記の棒グラフは、腎機能(BUNやCr)や血球数を示したグラフである。黒いバーのフリーのCDDP群はBUNやCrが高値、すなわち腎機能の低下がみられ、WBC(白血球)の血液中における数値が他のグループに比べて低下していた。これは、シスプラチンによる腎毒性と血液毒性を示している。一方、徐放化したGM-CDDP投与群ではいずれもコントロール群と同程度の値を示しており、血球減少や腎機能悪化などの、臨床的大きな問題となる有害事象を軽減できることが確認された。

これらのことから、我々が作製し最適化したGM-CDDPは、抗腫瘍効果を保ちながら有害事象を軽減できることを、モデルマウスを用いて示すことができたといえる。



上の写真は、大網の乳斑(Milky spot)のヘマトキシリン・エオジン染色像である。矢印

で示されているのが腫瘍細胞で、*で示されているのがゼラチンマイクロスフィア-シスプラチンである。この写真で示されるように、腹膜播種の腫瘍細胞は大網の乳斑に集まることが知られているが、ゼラチンマイクロスフィアも同様に乳斑に集まっていることが見て取れる。腫瘍細胞はマトリックスメタロプロテアーゼを分泌して転移を成立させやすくすると考えられているが、これによってゼラチンマイクロスフィアに含浸されている抗がん剤が放出されることから、癌細胞近傍での抗がん剤濃度の上昇が期待でき、これも腫瘍特異的に作用して有害事象を軽減するのに一役買っているのではないかと考えられる。

現在、胃癌や他の癌腫で同様の効果が得られるのか、評価する。大腸がんや胃癌などで標準治療が無効であった腹膜播種患者に対する(第1・2相)臨床試験の実施に向けて、この担体や徐放剤の安全性をさらに検討していく、などに関する実験を継続中である。また、ゼラチンマイクロスフィアを用いて徐放化する際に、その剤型にもっと工夫を施すことで、初期のバースト(投与直後に薬剤濃度が急上昇する現象)を軽減できないか、という課題にも取り組んでおり、より臨床応用に近い剤型を実現すべく現在も実験を継続中である。

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7件)

Gunji S, Obama K, Matsui M, Tabata Y, Sakai Y. A novel drug delivery system of intraperitoneal chemotherapy for peritoneal carcinomatosis using gelatin microspheres incorporating cisplatin, *Surgery*, 査読有, vol.154, 2013, 991-9, doi: 10.1016/j.surg.2013.04.054.

Hirai K, Tabata Y, Hasegawa S, Sakai Y, Enhanced intestinal anastomotic healing with gelatin hydrogel incorporating basic fibroblast growth factor, *J Tissue Eng Regen Med*, 査読有, 2013, doi: 10.1002/term.1835. [in press]

Saito T, Tabata Y, Hypoxia-induced angiogenesis is increased by the controlled release of deferoxamine from gelatin hydrogels, *Acta Biomater*, 査読有, 2014, 3641-3649, doi: 10.1016/j.actbio.2014.04.021.

[学会発表](計3件)

小濱和貴、消化器癌腹膜播種性転移に対

する DDS 徐放化を用いた治療法の開発、
第 2 回 DDS 徐放化再生医療研究会、
2012 年 12 月 22 日、京都大学再生医科学研究所（京都市）

久森重夫、岡部寛、小濱和貴、角田茂、
田中英治、坂井義治、腹膜播種を伴う進
行胃癌患者に対する TS-1/CDDP を用い
た術前化学療法の有用性、第 68 回日本
消化器外科学会総会、2013 年 7 月 17 日、
シーガイア（宮崎市）

久森重夫、岡部寛、角田茂、水本素子、
坂井義治、腹膜播種陽性進行胃癌に対す
る術前化学療法の有用性、第 87 回日本
胃癌学会総会、2015 年 3 月 4 日、広島
県立総合体育館（広島市）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小濱 和貴（OBAMA, Kazutaka）

京都大学・医学研究科（研究院）・その他
（非常勤講師）

研究者番号：5 0 3 2 2 6 4 9

(2) 研究分担者

坂井 義治（SAKAI, Yoshiharu）

京都大学・医学研究科（研究院）・教授

研究者番号：6 0 2 7 3 4 5 5

田畑 泰彦（TABATA, Yasuhiko）

京都大学・再生医科学研究所・教授

研究者番号：5 0 2 1 1 3 7 1