

令和 4 年 5 月 22 日現在

機関番号：34306

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22982

研究課題名(和文)アミノ酸クラスターに基づく腎標的化ハイブリッドDDSによる腎癌診断・治療法の開発

研究課題名(英文)Development of renal targeted drug delivery system using amino acid cluster for the diagnosis and treatment of renal cell carcinoma

研究代表者

勝見 英正(Katsumi, Hidemasa)

京都薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：30434666

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、アミノ酸ポリマーをコアとするセリン修飾高分子(アミノ酸クラスター)を新しい腎臓標的化分子として用いた腎臓標的型ドラッグデリバリーシステム(DDS)を開発するとともに、治療が困難とされる腎細胞癌の新規診断・治療法の構築を試みた。マウス静脈内投与後の¹¹¹In標識アミノ酸クラスターは急速に腎臓中へ移行した。また、腎臓以外の臓器への分布はほとんど見られず、腎臓選択性に優れた体内動態を示した。SPECT/CTによる臓器分布イメージングにおいても、腎臓選択的な体内動態が確認された。治療用放射性核種などを搭載したアミノ酸クラスターは腎細胞癌モデルマウスにおいて、腎臓中の癌増殖を顕著に抑制した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腎細胞癌の治療効率が低い要因として、腎臓へ薬物が分布しにくいこと、あるいは薬物の腎臓選択性が低いことなどが挙げられることから、腎臓へ効率良く薬物を送達する腎臓指向型ドラッグデリバリーシステム(DDS)の開発が強く望まれる。本研究では、イメージング用・治療用放射性核種などを効率良く腎臓へ送達可能な薬物キャリアを開発することに成功した。これらの知見は腎細胞癌診断・治療法の開発に対して有用な情報を提供するものであると考える。

研究成果の概要(英文)：In this study, we developed a kidney-targeted drug delivery system (DDS) using a serine-modified polymer (amino acid cluster) as a new kidney-targeting drug carrier to diagnose and treat renal cell carcinoma. ¹¹¹In-labeled amino acid cluster predominantly accumulated in the kidney after intravenous injection in mice. In addition, ¹¹¹In-labeled amino acid cluster hardly distributed to organs other than the kidney, indicating excellent pharmacokinetics with renal selectivity. Tissue distribution imaging using SPECT / CT also showed renal-selective distribution of ¹¹¹In-labeled amino acid cluster after intravenous injection. Therapeutic radionuclides and drugs-loaded amino acid clusters effectively suppressed tumor growth in the kidney in renal cell carcinoma model mice.

研究分野：ドラッグデリバリーシステム

キーワード：薬学 ドラッグデリバリーシステム ターゲティング 腎臓 アミノ酸

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

手術が難しい進行性や転移性の腎細胞癌は、既存の薬物では治療が難しく、アンメット・メディカル・ニーズの高い疾患である。

腎細胞癌の治療効率が低い要因として、腎臓へ薬物が分布しにくいこと、あるいは薬物の腎臓選択性が低いことなどが挙げられることから、腎臓へ効率良く薬物を送達する腎臓指向型ドラッグデリバリーシステム (DDS) の開発が強く望まれる。DDS は近年、医薬品開発において注目を集めているが、有効かつ安全な腎臓選択的 DDS に成功した例はほとんど見られない。すなわち、有効かつ安全な腎臓標的化 DDS の開発には、腎臓選択的に高親和性を示し、かつ生体適合性の高い標的化素子の探索と薬物キャリアの腎臓以外の臓器へのクリアランスを抑制する化学修飾及び物性制御技術が必要とされるが、未だそれらを統合する技術・理論は確立されていない。こうした中、研究代表者は最近、アミノ酸の一種であるセリン (Ser) の分岐修飾高分子がマウス静脈内投与後、腎臓へ急速かつ選択的に集積することを見出した (腎臓ターゲティング効率 82%) (文献)。

2. 研究の目的

本研究では、アミノ酸ポリマーをコアとする Ser 修飾高分子 (アミノ酸クラスター) を合成し、その独自の腎臓標的化分子 (アミノ酸クラスター) に基づき新しい腎臓標的化 DDS を開発するとともに、治療が困難とされる腎細胞癌の新規診断・治療法を構築することを目的とする。

3. 研究の方法

アミノ酸クラスターの合成：

アミノ酸ポリマーのアミノ基に対して Boc-Ser(tBu)-OH を HBTU-HOBt 法で反応させた。精製後に TFA カクテルを加えて室温で反応させることで、Boc 基および tBu 基の脱保護を行った。その後、各種精製法により必要な高分子分画を回収し、凍結乾燥することでアミノ酸クラスターを得た。

体内動態の評価：

マウスにおけるアミノ酸クラスター及びその誘導体の体内動態評価には ^{111}In 標識体を用いた。 ^{111}In 標識アミノ酸クラスターまたはアミノ酸クラスター誘導体を投与後、経時的に血漿中及び各臓器中の放射活性をガンマーカウンターで測定した。また、 ^{111}In 標識アミノ酸クラスターを投与後 3 時間目の臓器分布を SPECT/CT により観察した。

腎細胞癌モデルマウスにおける癌増殖抑制効果：

イソフルラン麻酔下、Balb/c マウスの片腎の皮質部に colon26/Luc 細胞を接種することで腎細胞癌モデルマウスを作製した。癌細胞接種後に [^{90}Y]アミノ酸クラスター (0.3 MBq/mouse)、 ^{90}Y 単独 (0.3 MBq/mouse)、抗癌剤搭載アミノ酸クラスターまたは PBS を尾静脈投与した。投与後 2 週間目に麻酔下にて、Luciferin 溶液を腹腔内投与し in vivo IVIS イメージングシステムで癌増殖を観察した。IVIS 撮像後マウスを安楽死させ、片腎を摘出した。その後腎臓を lysis buffer 中でホモジネートし遠心分離した後、その上清と Luciferin 溶液を混合し、癌細胞由来の luciferase 発光を指標に癌細胞数を算出した。

4. 研究成果

(1) 腎臓標的化分子として、アミノ酸クラスター (Ser をクラスター状に修飾した高分子ポリマー) を合成し、マウスにおける体内動態を系統的に評価した。すなわち、高分子ポリマーのアミノ基に対して、Boc-Ser(tBu)-OH を HBTU-HOBt 法でカップリング反応、脱保護させることでアミノ酸クラスターを合成した。アミノ酸クラスターに二官能性リンカーを介して、体内動態評価ならびに SPECT /CT による分布イメージング用の放射性核種 [^{111}In] を標識した。マウス静脈内投与後の [^{111}In]アミノ酸クラスターは、急速に腎臓中へ移行した。また、腎臓以外の臓器への分布はほとんど見られず、腎臓選択性に優れた体内動態を示した。SPECT/CT による分布イメージングにおいても、腎臓選択的な体内動態が確認された。

蛍光標識アミノ酸クラスターをマウスに静脈内投与した後の腎臓切片を顕微鏡で観察したところ、腎臓の皮質部分、特に近位尿細管から蛍光が観察された。このことから、アミノ酸クラスターは、近位尿細管へ選択的に分布する薬物キャリアであることが示された。近位尿細管は腎細胞癌の発症部位とされることから、アミノ酸クラスターは腎細胞癌治療に有利な腎臓内分布を

示したと考えられる。

(2) 腎臓標的化分子として合成したアミノ酸クラスターの末端基の一部に二官能性リンカーを介して治療用放射性核種 ^{90}Y をアミノ酸クラスターに担持し、腎臓ターゲティング能と腎細胞癌治療効果の関連を明らかにした。すなわち、癌細胞をマウスの腎臓皮質に接種することで腎細胞癌モデルを作製し、 ^{90}Y アミノ酸クラスターを静脈内投与したところ、腎臓における癌増殖が顕著に抑制された。また、その癌増殖抑制効果は、 ^{90}Y 単独投与と比較して顕著であった(図1)。さらに、治療用放射性核種の副作用として骨髄抑制が懸念されることから、血中の白血球数について評価したところ、 ^{90}Y アミノ酸クラスターは血中白血球数にほとんど影響しないことが示された。以上のことから、 ^{90}Y アミノ酸クラスターは、治療用放射性核種による骨髄抑制を回避しつつ腎臓における癌増殖を効率良く抑制することが示された。

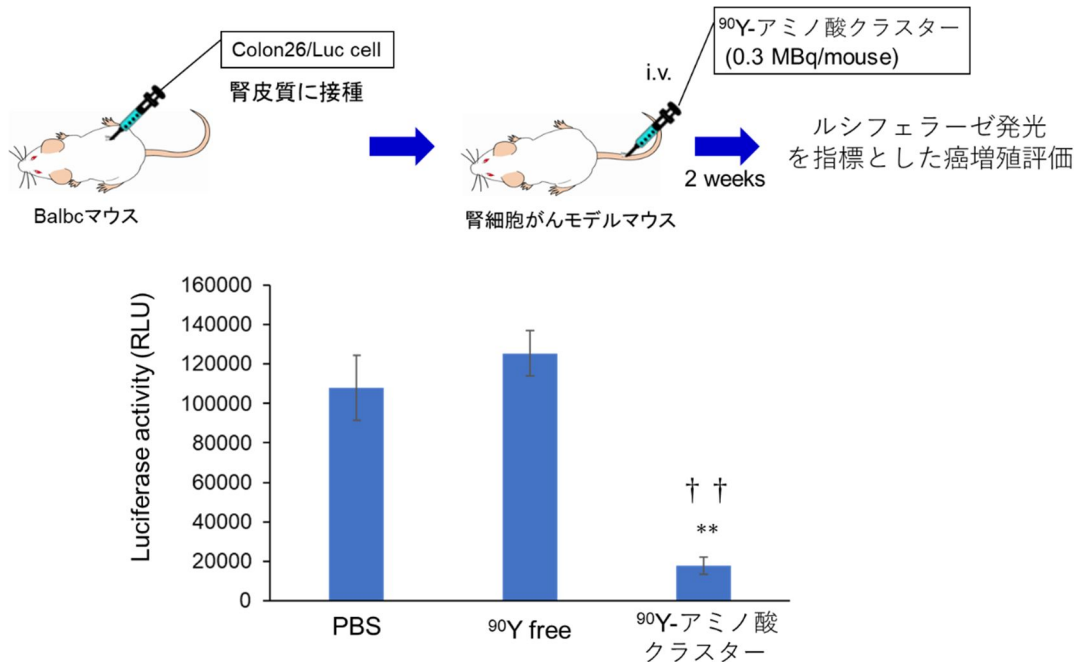


図1 ^{90}Y アミノ酸クラスター投与後の腎臓中癌細胞由来のルシフェラーゼ発光

(3) 腎臓標的化分子として合成したアミノ酸クラスターの末端基の一部に二官能性リンカーを介して抗癌剤をアミノ酸クラスターに担持した。 ^{111}In 標識を施しマウス静脈内投与後の体内動態について評価したところ、抗癌剤搭載アミノ酸クラスターは急速に腎臓中に移行した。腎臓皮質に癌細胞を接種して作製した腎細胞癌モデルマウスにおいて、腎臓における癌増殖は、抗癌剤搭載アミノ酸クラスターの投与により顕著に抑制されることが示された。また、抗癌剤搭載アミノ酸クラスターを投与した際には、血漿中クレアチニン濃度の上昇や腎臓組織における顕著な変化は認められなかったことから、アミノ酸クラスターを用いた抗癌剤の腎臓ターゲティング型 DDS は有効かつ安全な腎細胞癌治療法として期待される。

<引用文献>

【参考文献】

Satoru Matsuura, Hidemasa Katsumi, Hiroe Suzuki, Natsuko Hirai, Hidetaka Hayashi, Kazuhiro Koshino, Takahiro Higuchi, Yusuke Yagi, Hiroyuki Kimura, Toshiyasu Sakane and Akira Yamamoto. L-serine-modified polyamidoamine dendrimer as a highly potent renal targeting drug carrier. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 2018, 115, 10511-10516.

Satoru Matsuura, Hidemasa Katsumi, Hiroe Suzuki, Natsuko Hirai, Rie Takashima, Masaki Morishita, Toshiyasu Sakane, Akira Yamamoto. L-Cysteine and L-serine modified dendrimer with multiple reduced thiols as a kidney-targeting reactive oxygen species scavenger to prevent renal ischemia/reperfusion injury. Pharmaceutics, 2018, E251.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 6件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 勝見英正, 森下将輝, 山本 昌
2. 発表標題 セリン修飾を利用した腎臓ターゲティング型ドラッグデリバリーシステム (DDS) の開発と腎臓疾患治療への応用
3. 学会等名 第63回日本腎臓学会学術総会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 勝見英正, 森下将輝, 山本 昌
2. 発表標題 アミノ酸クラスターを利用したターゲティング型DDSの開発とがんのセラノスティクスへの展開
3. 学会等名 第36回日本DDS学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 勝見英正, 森下将輝, 山本 昌
2. 発表標題 アミノ酸修飾を利用した骨または腎臓へのターゲティング型DDSの開発
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 北田 翔, 勝見英正, 高島梨恵, 安岡慎太郎, 松浦 悟, 木村寛之, 森下将輝, 山本 昌
2. 発表標題 セリン修飾を利用した生分解性に優れた腎臓標的型薬物ナノキャリアの開発
3. 学会等名 第70回日本薬学会関西支部総会・大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hidemasa Katsumi, Satoru Matsuura, Hiroe Suzuki, Natsuko Hirai, Hidetaka Hayashi, Masaki Morishita, Toshiyasu Sakane, Akira Yamamoto
2. 発表標題 L-serine-modified polyamidoamine dendrimer as a highly potent renal targeting drug carrier
3. 学会等名 7th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress 2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 北田 翔, 勝見英正, 高島梨恵, 安岡慎太郎, 木村寛之, 松浦 悟, 森下将輝, 山本 昌
2. 発表標題 セリン修飾による高分子キャリアの腎臓特異的ターゲティング
3. 学会等名 第69回日本薬学会関西支部総会・大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 勝見英正, 松浦 悟, 高島梨恵, 北田 翔, 安岡慎太郎, 森下将輝, 山本 昌
2. 発表標題 セリン修飾による高分子キャリアの腎臓特異的ターゲティング～セリン修飾高分子の腎臓集積機構及び安全性評価～
3. 学会等名 第35回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 勝見英正, 森下将輝, 山本 昌
2. 発表標題 アミノ酸クラスターを利用したターゲティング型DDSの開発とがんのセラノスティクスへの展開
3. 学会等名 日本薬学会第140年会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hidemasa Katsumi, Masaki Morishita, Akira Yamamoto.
2. 発表標題 L-Serine-modified polymers as highly potent of kidney-targeting drug carriers for the treatment of kidney diseases
3. 学会等名 2021The 50th Anniversary Meeting and International Conference of the Korean Society of Pharmaceutical Sciences and Technology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 勝見英正、森下将輝、山本 昌
2. 発表標題 セリン修飾を用いた腎臓ターゲティング型ドラッグデリバリーシステムの開発～体内動態制御による腎臓疾患治療効果の向上と副作用軽減～
3. 学会等名 日本薬学会第142年会 (招待講演)
4. 発表年 2022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
研究分担者	山本 昌 (Yamamoto Akira) (00166779)	京都薬科大学・薬学部・教授 (34306)	

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