

機関番号：12601

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008 ～ 2010

課題番号：20591563

研究課題名 (和文)

ヒアルロン酸混和パクリタキセルによる新しい胃癌腹膜播種治療戦略

研究課題名 (英文)

Paclitaxel combined with hyarulonic acid as the new drug for peritoneal dissemination of gastric cancer.

研究代表者

北山 文二 (KITAYAMA JOJI)

東京大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：20251308

研究成果の概要 (和文)：

腹膜播種に対する腹腔内化学療法の有用性が指摘されている。そこで、薬剤の腹腔からの吸収を緩徐にさせることを意図した基剤として、生体内で安全であることが証明されている高分子量物質ヒアルロン酸、Non-Animal Stabilized Hyarulonic Acid (NASHA) (Q-med 社、スウェーデン) を選択し、パクリタキセル・シスプラチンを混合することによる腹腔内停留性、抗癌作用の増強効果を検討した。ヌードマウスでの胃癌腹膜播種モデルに対する腹腔内化学療法を行い、播種結節数を計測すると、5%NASHA を混合した群では、パクリタキセル・シスプラチン単独治療群と比較して顕著な結節数の減少が認められた。また、NASHA は、腹腔内に投与された抗癌剤の腹腔内に停留する時間を延長した。NASHA 添加抗癌剤の腹腔内投与は腹膜播種に対する有用な治療法となりうる事が証明された。

研究成果の概要 (英文)：

Intraperitoneal chemotherapy has been shown to be clinically useful for peritoneal metastasis. In this study, we hypothesized that high molecular weight Hyarulonic Acid may retain the intraperitoneally administered anticancer drugs in abdominal cavity and enhance the anti-tumor effects, and examined the effect of Non-Animal Stabilized Hyarulonic Acid (NASHA) (Q-Med Sweden). In fact, the addition of 5% NASHA suppressed the development of peritoneal nodules of MKN45 implanted in nude mice significantly greater than paclitaxel or cisplatin alone. NASHA also increased the volume of fluid recovered from the mice. Intraperitoneal administration paclitaxel or cisplatin combined with NASHA can be a hopeful strategy as the treatment of peritoneal dissemination.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：腫瘍外科学

科研費の分科・細目：一般外科学

キーワード：腹膜播種、腹腔内化学療法、パクリタキセル、シスプラチン、NASHA

1. 研究開始当初の背景

腹膜播種は消化管の悪性腫瘍のうちでも頻度の高い転移様式であり、治療に難渋する重篤な病態である。一般に、播種病巣は腹膜全体に広汎かつ多数存在し、手術的治療や放射線治療が極めて困難なことが多い。したがって、治療は抗癌剤による化学療法が主体となる場合が多いが、一般に、全身投与した薬剤の腹腔内への到達率は悪く、化学療法の奏効率が低いことが報告されている。腹腔内化学療法は、腹腔内に存在する癌細胞に対し高濃度の薬剤を直接接触させることを可能にするという点から、この腹膜播種に対しては最も理にかなった投与方法であることが予想される。しかしながら、古くから施行されてきた胃癌の腹膜転移に対するMMCやCDDPなどの抗癌剤の腹腔内投与は、今日まで顕著な臨床的有効性を示さなかったことが報告されている。この原因としては、腹膜自体が極めて高い水分吸収能を有しており、腹腔内に投与された抗癌剤は、すみやかに腹膜を通して吸収排泄され、腹腔内に十分に留まらず、癌細胞への暴露時間が十分得られないこと、腹腔内に投与した薬剤が腫瘍内部に浸透する率が低いことなどが提唱されている。そこで、腹腔内停留性を高める薬剤修飾が腹腔内化学療法の効果をもつ有効な方法であると考え、その可能性を模索した。

2. 研究の目的

薬剤の吸収を緩徐にさせることを意図した基剤の追加として、生体内で安全であることが証明されている高分子量物質であるものを探求した結果、非動物由来で、分子同士を架橋構造によって安定化させたヒアルロン酸、Non-Animal Stabilized Hyaluronic Acid (NASHA) (Q-med社、スウェーデン)を(下図)選択し、これと腹腔内化学療法に適しているとされているタキサン系抗癌剤であるパクリタキセルと水溶性抗癌剤シスプラチンを混合することによる腹腔内停留性、抗癌作用の増強効果を検討した。

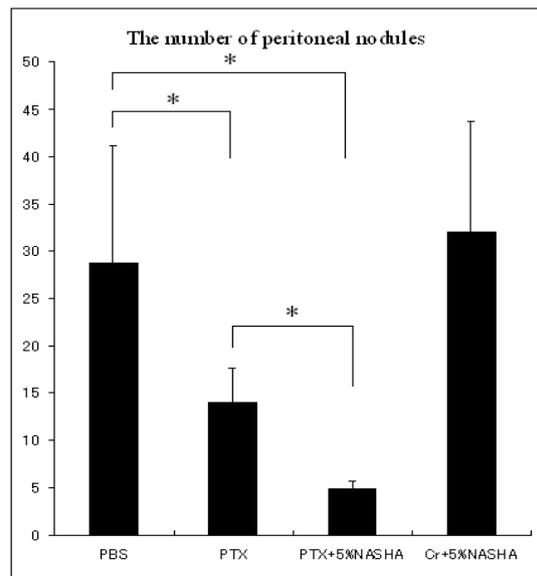


3. 研究の方法

ヌードマウスでの胃癌腹膜播種モデルに対する腹腔内化学療法を行い、播種結節数を計測し、その生存期間も検討した。腹腔投与後に回収された液体残量の経時的变化を測定した。また、播種結節を切除、すりつぶした後、抽出液中の薬剤濃度の経時的变化をHPLCにて測定した。

4. 研究成果

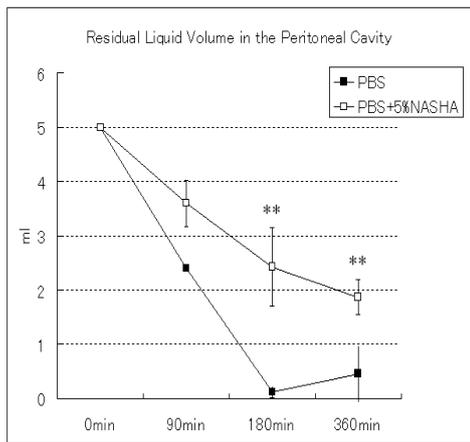
ヌードマウスでの胃癌腹膜播種モデルに対する腹腔内化学療法を行い、播種結節数を計測すると、対照群であるPBS群と、クレモフォール+5%NASHA群では形成された腹膜播種結節数に有意差はなかったが、パクリタキセル単独治療群でも対照群に比較し有意な結節数の減少を認めた。しかし、パクリタキセルに5%NASHAを混合した群では、パクリタキセル単独治療群と比較してさらに顕著な結節数の減少が認められた(下図)。



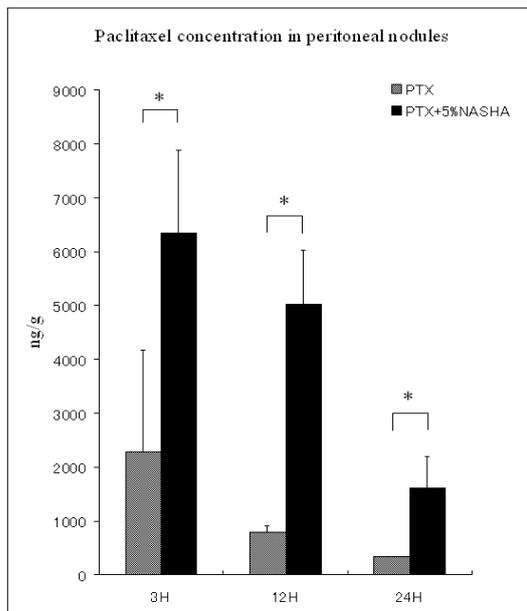
また、シスプラチンの腹腔内投与においては、単独群では播種抑制効果は認められなかったが、5%NASHA添加群で著明な播種抑制効果を示し、生存率の改善も認めた。

腹腔投与後に回収された液体残量の経時的变化を次図に示した。180分後にはPBS単独で投与された群では、投与された液体はほとんど回収ができないのに対し、5%NASHA混和群では投与量の約半量が回収できた。さらに360分後においても、腹腔内での液体貯留がみられ、計測上も有意差をもって高値であった。5%NASHA混和群において回収された液体を3000rpmで5分間遠心を行うと、NASHAが沈殿するのが見られたが、この沈殿量は

180分後までほとんど変化が無かった。



最後に播種結節内のパクリタキセル蓄積量の変化を検討すると、5%NASHA 混和群において腹腔内投与後3~24時間後でいずれも有意に高値を示した(下図)。



以上の結果から、NASHA は、腹腔内に投与されたパクリタキセルの腹腔内に停留する時間を延長し腹膜播種に対する有用性を高める事が推測された。

ヒアルロン酸は、N-アセチルグルコサミンとグルクロン酸の結合を1つのユニットとし、これが数珠状に連結した分子量数百万の高分子物質である。ヒアルロン酸は皮膚、関節内や眼球内、さらには腹腔内にも生理的に存在し、生体にて生合成され、体内ではおもにヒアルロニダーゼによって分解・代謝される。今回使用した NASHA は非動物由来で (Non-Animal)、架橋構造により構造的に安

定させた (Stabilized)、ヒアルロン酸 (Hyaluronic Acid) で、工業的に製造されている製剤である。その安定性により半減期は生合成されるヒアルロン酸 (約2日) と比べ飛躍的に延長され、約6ヶ月以上の期間を持続するように設計され、現在、主に美容形成領域で使用されておる。本物質は、アメリカ合衆国食品薬剤局 (FDA) で美容形成目的に認可を受けている唯一のヒアルロン酸製剤であり、ヨーロッパでも同領域で広く使用されており、高い安全性が報告されている。

今回我々はこの NASHA を、タキサン系薬剤であるパクリタキセルに混合させ、腹腔内投与を施行、腹膜播種に対する抗癌作用の増強について検討を加えた。結果として、マウスによる胃癌腹膜播種モデルに対し、パクリタキセルによる腹腔内化学療法の有効性が再現されたのみならず、NASHA を混合することにより、明らかなパクリタキセルの抗癌作用の増強が示された。このメカニズムとしては、NASHA を混和することで投与された薬液の腹腔内滞在時間の延長やパクリタキセルの濃度上昇を認めたことから、NASHA の薬剤保持能に起因すると考えられた。これらの作用により、最終的には腹膜播種結節内でのパクリタキセルの濃度上昇に反映し、NASHA によるパクリタキセルの効果増強という結果につながったと考えられた。

腹膜播種を伴う進行胃癌の治療として、タキサン系抗癌剤を腹腔内投与することの有効性は最近多く報告されている。しかし播種結節表面からの抗癌剤の到達距離もせいぜい1-2mm と小さいと報告されている[14]。しかし、NASHA の混和による腹腔内のパクリタキセルの保持作用は、播種結節への曝露時間を延長すると考えると、表面から到達距離も伸ばしている可能性もあり、結果として播種結節内のパクリタキセル濃度の上昇をもたらした可能性もあると考えられる。

腹腔内化学療法の有効性を高める目的で、薬剤力学的観点から何らかの方法によって血清内・腹腔内 AUC 比を高める方法、すなわち吸収速度を緩徐にさせるという試みは、既に報告されており、微粒子活性炭にマイトマイシン C を吸着させた研究[8]、5-FU やゲムシタビンに4%イコデキストリン、6% Hetastarch という高分子物質を混じ、その治療効果を検討した研究など散見されるが、これまでコンセンサスを得られた治療戦略となるまでは至っていない。今回用いた NASHA は、腹腔内投与されたパクリタキセルの治療効果を強く増強した。パクリタキセル以外の薬剤でも同様の事象が見られるか? NASHA 以外でも、同様の、あるいはより強い増強効果をもつ物質があるのか? などの疑問点については、現在、解析中である。いずれにせよ、NASHA の添加により、腹腔内化学療法の投与

期間を延長することや、全身移行による血液毒性を回避するために投与するパクリタキセルを減量することなども可能となると考えられ、新たなレジメを検討することが必要になるかも知れない。腹膜病変に対する腹腔内化学療法に適した drug design を考えることは、腹膜播種を伴うスキルス胃癌に対する治療の新たなアプローチとして有用であると考えられる。今後の臨床応用・実用に向けていくことを検討し、がん治療の一助となることを切に望む。

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. Kamei T, Kitayama J, Yamaguchi H, Soma D, Emoto S, Konno T, Ishihara K, Ishigami H, Kaisaki S, Nagawa H. Spatial Distribution of Intraperitoneally Administrated Paclitaxel Nanoparticles Solubilized with Poly (2-methacryloxyethyl phosphorylcholine-co *n*-butyl methacrylate) in Peritoneal Metastatic Nodules. *Cancer Sci* (査読有) 2011 :102(1):200-205
2. Kitayama J, Ishigami H, Kaisaki S, Hidemura A, Kato M, Otani K, Kamei T, Soma D, Miyato H, Yamashita H, Nagawa H. Weekly intravenous and intraperitoneal paclitaxel combined with S-1 for malignant ascites due to advanced gastric cancer. *Oncology*. (査読有) 2010;78(1):40-6.
3. 石神浩徳, 北山丈二, 名川弘一 「胃癌腹膜播種の治療戦略」 外科 (査読無) 2010; 72 巻 7 号 703-708
4. Ishigami H, Kitayama J, Otani K, Kamei T, Soma D, Miyato H, Yamashita H, Hidemura A, Kaisaki S, Nagawa H. Phase I pharmacokinetic study of weekly intravenous and intraperitoneal paclitaxel combined with S-1 for advanced gastric cancer. *Oncology*. (査読有) 2009;76(5):311-4.
5. 北山丈二, 山田純, 名川弘一 「スキルス胃癌に対するPaclitaxel+ヒアルロン酸 (NASHA) 腹腔内投与の有用性について」 癌の臨床(査読無) 2009 55 巻 1 号 65-71
6. Yamada J, Kitayama J, Tsuno NH, Yamashita H, Miyato H, Soma D, Otani K, Kamei T, Ishigami H, Hidemura A, Kaisaki S, Takahashi K, Nagawa H. Intra-peritoneal administration of paclitaxel with non-animal stabilized hyaluronic acid as a vehicle--a new strategy against peritoneal dissemination of gastric cancer.

Cancer Lett. (査読有) 2008 Dec 18;272(2):307-15.

[学会発表] (計 2 件)

1. 北山丈二ほか Spatial Distribution of Intraperitoneally Administrated Paclitaxel Nanoparticles Solubilized with Poly (2-methacryloxyethyl phosphorylcholine-co *n*-butyl methacrylate) in Peritoneal Metastatic Nodules 第 69 回日本癌学会学術総会、2010 年 9 月 24 日、大阪
2. 北山丈二 「腹膜播種に対するナノミセル化抗癌剤腹腔内投与の有用性」第 26 回日本 DDS 学会、2010 年 6 月 18 日、大阪

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北山 丈二 (KITAYAMA JOJI)
東京大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：20251308

(2) 研究分担者

石神 浩徳 (ISHIGAMI HIRONORI)
東京大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：80372382

(3) 連携研究者 (H20)

秀村 晃生 (HIDEMURA AKIO)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：70401099