

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目：特定領域研究
 研究期間：2005 年～2009 年
 課題番号：17016087
 研究課題名（和文） 遺伝子およびドラッグデリバリーシステムのがん臨床応用をめざす研究

研究課題名（英文） Development of drug or gene delivery system for clinical application.

研究代表者

松村 保広（まつむら やすひろ）

国立がんセンター（研究所及び東病院臨床開発センター）・がん治療開発部・部長

研究者番号：90206919

研究成果の概要（和文）：ミセル製剤は EPR 効果により、腫瘍集積性に富み、種々の抗がん剤を安定的にミセル内包化できる。ミセルのサイズは 20 から 100nm の範囲に制御できる。よってミセルは正常血管からは漏れず、副作用を減少できる。種々のミセル製剤につき、前臨床試験を行い、その結果をもとに、臨床治験が行われている。次に、我々は腫瘍間質に対する抗体を作成し、その抗体に抗がん剤を付加した複合体を作成した。この複合体は投与後、血管透過性に富む腫瘍血管から選択的に漏出し、腫瘍間質に集積後、そこを足場として、徐放的に時間依存性の抗がん剤を放出し、効率的にがん細胞および腫瘍血管に到達して、高い抗腫瘍効果を発揮するという CAST (Cancer Stromal Targeting)療法を提唱した。

研究成果の概要（英文）： Polymeric micelles are expected to increase the accumulation of drugs in tumor tissues utilizing the EPR effect and to incorporate various kinds of drugs into the inner core with relatively high stability. The size of the micelles can be controlled within the diameter range of 20 to 100nm, to ensure that the micelles do not pass through normal vessel walls; therefore, a reduced incidence of the adverse effects of the drugs may be expected. There are several anticancer agent-incorporated micelle carrier systems under clinical evaluation after our preclinical evaluation of them.

Secondly, we developed a new cytotoxic immunoconjugates using a specially raised monoclonal antibody (mAb) to the tumor stroma. These newly developed immunoconjugates selectively extravasated from leaky tumor vessels, bound to the tumor stromal component ensleaving tumor vessels and created a scaffold, from which effective sustained release of a time-dependent anti-cancer agent occurred. This released anti-cancer agent subsequently diffused throughout the tumor tissue causing marked arrest of tumor growth. Cancer stromal targeting (CAST) therapy, utilizing a cytotoxic agent conjugated to a mAb directed at a specific inert constituent of the tumor stroma is thus validated as a highly effective new modality of oncological therapy.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2005 年度	9,000,000	0	9,000,000
2006 年度	9,000,000	0	9,000,000
2007 年度	9,000,000	0	9,000,000
2008 年度	9,000,000	0	9,000,000
2009 年度	9,600,000	0	9,000,000
総計	45,000,000	0	45,000,000

研究分野：特定領域

科研費の分科・細目：がん治療

キーワード：ナノ材料 分子認識 医療・福祉 癌 薬理学

1. 研究開始当初の背景

化学療法は確実に進歩してきているが、特殊ながんを除き消化器系や呼吸器系など一般のがんにおいては有効性が低く、かつ毒性が顕著で有効な治療法として一般に認知されていない。がん治療における DDS の役割は抗がん剤や抗腫瘍核酸や放射性物質の投与において化学修飾またはミセルやリポソームなどのナノ粒子に封入するなどの工夫をすることにより、抗がん剤などの正常組織への集積を抑えつつ、がん組織に選択的に集積させることにある。流行りの分子標的薬といえども重篤な副作用を保持するので例外ではない。したがって、臨床の DDS 製剤のデータをもとに、第 2 世代ともいふべき、より有用な DDS 製剤の開発を行うことはがん化学療法に breakthrough をもたらすものと考えられる。

2. 研究の目的

(1) ミセル製剤の非臨床試験として、各種がんでの同所移植腫瘍モデルでの薬効薬理、他薬剤との併用研究を行うものである。
(2) 腫瘍間質に特異的に集積するモノクローナル抗体の開発と時間依存性の抗がん剤 SN-38 との複合体の作成および、その薬効薬理、毒性の検討を行う。

3. 研究の方法

(1) タキソール内包ミセル NK105 の薬効および薬理パラメーター、毒性につき親化合物タキソールとの比較検討。
(2) シスプラチン内包ミセル NC-6004 の薬理、神経組織への分布、神経毒性につきシスプラチンと比較検討。
(3) ヒト大腸がんに対する標準化学療法の一つである 5-FU/CPT-11 の併用に対する 5-FU/NK012(SN-38 内包ミセル) の比較検討。
(4) NK012 の間質に富むがん、胃がん、膵がんの同所移植もでるにおける CPT-11 との薬効比較、薬理学的検討。
(5) 腫瘍間質エレメントとしてのコラーゲン 4 に対する抗体の作成、SN-38 をポリエチレングリコール鎖を介して同抗体への付加。および SUII-2 膵がん腫瘍に対する抗腫瘍効果、薬理の検討。

4. 研究成果

1) NK105 は外殻をポリエチレングリコールが覆うため、血中安定性が増し、肝臓などに

存在する網内系に捕獲されることがないため、血漿 AUC が等量のタキソール静注に比べ 90 倍も増加した。一方、正常組織への分布のしやすさを表す Vdss は 10 分の 1 以下であり、NK105 の正常組織への分布がタキソールに比べ著しく低いことを明らかにした。腫瘍組織への分布に関しては、AUC がタキソールに比べ 25 倍高いことが示され、NK105 は我々が提唱している EPR 効果を十分満足させることがわかった。抗腫瘍効果においてはヒト大腸がん細胞移植腫瘍に対し、NK105 はタキソールに比べ著しく高い抗腫瘍効果を示した。毒性に関しては、ミセル化はタキソールの最大の問題である末梢神経障害を著しく軽減することを神経病理、神経生理学的に証明した。ところで、一般的に、DDS 製剤は *in vitro* では殺細胞効果は抗がん剤だけよりも低くなるが、この NK105 に限っては *in vitro* での IC50 はタキソールとほぼ同じである。このことは *in vitro* で使用されるナノグラム/ml 濃度ではミセルが崩壊し、中味の抗がん剤を効率よく放出することが予想され、このことは *in vivo* において、血中では安定なため、腫瘍組織まで十分に到達し、腫瘍組織へ集積するが、その後、腫瘍組織内でのタキソール放出も効率よくおき、腫瘍血管から離れたがん細胞にもタキソールが拡散で十分に到達することを示唆した。

2) シスプラチン内包ミセル (NC-6004) はタキソールミセルと異なり、シスプラチンの放出効率が低いことがわかった。したがって、NC-6004 の *in vitro* での殺細胞効果はシスプラチンよりおおむね 5-10 倍低い。しかしながら *in vivo* 抗腫瘍効果においては AUC が 5 倍ほど高いために、両者同等であった。両者の最も大きな違いは腎毒性と神経毒性である。ラットに急性腎不全をおこすシスプラチン量と当量の NC-6004 を投与しても病理学的にも生化学的にも腎に異常は来さなかった。また神経毒性においてはシスプラチンの複数回投与で座骨神経に変性をおこすことを病理解剖、電顕において確認したが、当量 NC-6004 においては異常を認めなかった。また神経生理学的にもシスプラチン投与群において尾神経の感覚神経伝導速度が低下したのに対し、NC-6004 投与群においてはコントロールと比べ、有意な低下は認められなかった。この理由として、NC-6004 の AUC はシスプラチンの 65 倍高いにも関わらず、Vdss が低いために正常組織、この場合には末梢神

経へのプラチナの分布が抑えられたためと考へた。事実 ICP-MS で同部のプラチナ濃度を測った結果、NC-6004 投与群ではシスプラチン投与群の半分程度しかないことがわかった。

3) 最大耐量 (MTD) は 5-FU/NK については 5-FU 50mg/kg、NK10mg/kg であった。5-FU/CPT については 5-FU 50mg/kg、CPT 50mg/kg であった。それぞれの MTD 量で治療実験を行った結果、5-FU/NK 群において、すべての腫瘍の消失を認めた。一方、5-FU/CPT 群は、抗腫瘍効果は認められたものの、再増殖した。In vitro においては両者とも相乗効果を示した。In vivo 細胞周期解析では NK 投与群において、より高い、より長い S 期集積を認めた。以上、5-FU/NK の全腫瘍を消失させる力は、一部 NK による有意に高い S 期集積性にもよると考へるが、それだけでは説明がつかず、圧倒的な抗腫瘍効果の差違は NK の腫瘍への高い集積とその後の SN-38 の効率よい徐放がおき、腫瘍組織内全体への SN-38 の高濃度の分布によるものと考えた。結論として、著しい抗腫瘍効果をもたらす DDS 製剤の条件として、がん組織への高濃度の集積のみでなくその後の中味の抗がん剤のリリースをいかに効率よくするかということが重要であると考えた。

4) ルシフェラーゼ強制発現のヒト胃がんおよび膵がんの同所移植モデルを作製した。病理組織学的に血管に乏しく、間質に富む、それぞれのヒトがん類似した形態であった。これらの実験モデルにおいて、臨床応用されている SN-38 のプロドラッグである CPT-11 と薬効試験の比較をした。両方のモデルにおいて、NK012 が有意にすぐれた抗腫瘍効果をしめした。また、毒性的にも、同じ実験スケジュールで投与された、マウス小腸において、CPT-11 は著明な粘膜病変がみとめられたのに対し、NK012 においてはまったく認めなかった。

薬理的には CPT-11 が投与後 2 - 3 時間のうちに腫瘍内から消失してしまうのに対し、NK012 は数日間腫瘍内にて高濃度をしめしていた。SN-38 はその抗腫瘍活性が時間依存性であるので、NK012 の長時間および高濃度の腫瘍内集積と集積後の SN-38 の効率よい徐放は理にかなっていると考へた。

5) invitro の解析で、SN-38 は非酵素的に徐放的に抗体からリリースされることを確認した。ヌードマウス皮下移植ヒト膵がん Suit2 においてコラーゲン 4 抗体は選択的に長時間集積することを確認した。Suit2 は EpCAM 陽性であるが、抗 EpCAM 抗体の集積と上記コラーゲン 4 抗体の集積は同程度であった。抗腫瘍効果においては抗 EpCAM 抗体・SN-38 と抗コラーゲン 4 抗体・SN-38 とを比較した結果、有意に抗コラーゲン 4 抗体・SN-38 が勝った。間質デリバリーの有用性を

しめすことができた。

5. 主な発表論文等

(雑誌論文)(計 22 件)

1. Y Bae, Y Matsumura, et al. Preparation and biological characterization of polymeric micelle drug carriers with intracellular pH-Triggered Drug Release property: tumor permeability, controlled subcellular drug distribution, and enhanced in vivo antitumor efficacy. *Bioconjugate Chem.*2005,16:122-130.
2. T Hamaguchi, Y Matsumura, et al. NK105, a paclitaxel-incorporating micellar nanoparticle formulation, can extend in vivo antitumor activity and reduce the neurotoxicity of paclitaxel. *Brit J Cancer.* 92:1240-1246, 2005.
3. H Uchino, Y Matsumura, et al. Cisplatin-Incorporating Polymeric Micelles (NC-6004) Can Reduce Nephrotoxicity and Neurotoxicity of Cisplatin in Rats. *Brit J Cancer.* 93: 678-687, 2005.
4. T Negishi, Y Matsumura, et al. NK105, a paclitaxel-incorporating micellar nanoparticle, is a more potent radiosensitizing agent compared to free paclitaxel. *Brit J Cancer.* 95:601-606 2006.
5. F Koizumi, Y Matsumura, et al. Novel SN-38-incorporated polymeric micelles, NK012, eradicate vascular endothelial growth factor-secreting bulky tumors. *Cancer Res* 66:10048-10056.2006.
6. T Hamaguchi, Y Matsumura, et al. A Phase I and Pharmacokinetic Study of NK105, a Paclitaxel-incorporating Micellar Nanoparticle Formulation. *Brit J Cancer.* 97:170-176, 2007 .
7. Y Matsumura. Preclinical and clinical studies of anticancer drug-incorporated polymeric micelles. *J Drug Targeting* 15(7-8) : 507-517, 2007 .
8. T Nakajima, Y Matsumura, et al. Synergistic antitumor activity of the novel SN-38 incorporating polymeric micelles, NK012, combined with 5-fluorouracil in a mouse model of colorectal cancer, as compared with that of irinotecan plus 5-fluorouracil. *Int J Cancer.* 122 : 2148-2153 ,2008.
9. Y Saito, Y Matsumura, et al.

- Enhanced distribution of NK012 and prolonged sustained-release of SN-38 within tumors are the key strategic point for a hypovascular tumor. *Cancer Sci*, 99; 6, 1258-1264, 2008.
10. M Sumitomo, Y Matsumura, et al. Novel SN-38-incorporated polymeric micelles, NK012, strongly suppress renal cancer progression. *Cancer Res.* 68(6):1631-1635, 2008.
 11. Y Matsumura. Poly (amino acid) micelle nanocarriers in preclinical and clinical studies. In *Advanced Drug Delivery Reviews* (eds. VHL Lee, MK Forrest, and GS Kwon) Elsevier B.V. V.60/8 pp. 899-914, 2008
 12. Nakajima-Eguchi T, Y Matsumura, et al. Antitumor effect of SN-38-releasing polymeric micelles, NK012, on spontaneous peritoneal metastases from orthotopic gastric cancer in mice compared with irinotecan. *Cancer Res.* 68(22):9318-9322, 2008.
 13. R Suzuki, Y Matsumura, et al. Tumor specific ultrasound enhanced gene transfer in vivo with novel liposomal bubbles. *Journal of controlled release.* 125: 137-144, 2008.
 14. Y Matsumura. Polymeric micellar delivery systems in Oncology. *Jpn J Clin Oncol.* 38(12):793-802, 2008.
 15. J Kuroda, Y Matsumura, et al. Potent antitumor effect of SN-38-incorporating polymeric micelle, NK012, against malignant glioma. *Int J Cancer.* 124;2505-2511, 2009.
 16. Y Matsumura, K Kataoka. Preclinical and clinical studies of anticancer agent-incorporating polymer micelles. *Cancer Sci.* 100; 572-579, 2009.
 17. T Nagano, Y Matsumura, et al. Antitumor activity of NK012 combined with cisplatin against small-cell lung cancer and intestinal mucosal changes in tumor-bearing mouse after treatment. *Clin Cancer Res.* 15(13): 4348-4355, 2009.
 18. Y Matsumura. NK012. *Drugs of the Future.* (Thomson Reuters) 34(4):276-281, 2009.
 19. J Kuroda, Y Matsumura, et al. Antitumor Effect of NK012, SN-38 Incorporating Polymeric Micelle on U87MG Orthotopic Glioblastoma in Mice Compared with Irinotecan in Combination with Bevacizumab. *Clin Cancer Res.* 2010 Jan 15;16(2):521-9
 20. Y Saito, Y Matsumura, et al. Antitumor activity of NK012, SN-38-Incorporating Polymeric Micelles, in Hypovascular Orthotopic Pancreatic Tumor. *Eur J Cancer.* 46;650-658, 2009.
 21. T Nagano, Y Matsumura, et al. Synergistic Antitumor Activity of the SN-38-Incorporating Polymeric Micelles NK012 with S-1 in a Mouse Model of Non-Small Cell Lung Cancer. *Int J Cancer.* 2010, in press.
 22. H Kenmotsu, Y Matsumura, et al. The antitumor activity of NK012, a SN-38 incorporating micelle, in combination with bevacizumab against lung cancer xenografts. *Cancer.* 2010, in press.
- [学会発表](計 19 件)
1. K Shimada, T Kasamatsu, T Hasegawa, Y Kanai, H Niki, T Tagawa, Y Matsumura. The cytotoxicity and intracellular distributions of MCC-465, pegylated liposomal doxorubicin tagged with newly developed monoclonal antibody GAH, in ovarian cancer cell lines. 96th AACR, April 16-20, 2005. Anaheim, California.
 2. Y. Matsumura, Preclinical and clinical study of NK105, a paclitaxel-incorporating micellar nanoparticle formation. The 32th Controlled Release Society. Jun 18-21, 2005. Miami.
 3. F. Koizumi, Y. Matsumura, Novel SN-38-incorporated polymeric micelles, NK012 eradicate vascular endothelial growth factor-secreting bulky tumors. 97th AACR, March 31-April 5, 2006. Washington.
 4. K Kato, T Hamaguchi, H Yasui, T Okusaka, H Ueno, M Ikeda, K Shirao, Y Shimada, H Nakahama, K Muro, Y Matsumura. Phase I study of NK105, a paclitaxel-incorporating micellar nanoparticle, in patients with advanced cancer. 2006 ASCO. June 2-6, 2006. Atlanta
 5. Y. Matsumura, Experimental Local Gene Delivery System: Looking Ahead to a Future Clinical Trial. The 1st FIP-APSTJ joint Workshop on Gene Delivery Committee. July 9-14. 2006. Sapporo
 6. F. Koizumi, Y. Matsumura,

- Novel SN-38-incorporating polymeric micelles, NK012, eradicate vascular endothelial growth factor-secreting bulky tumors. The Joint Meeting of The 3rd ISC International Conference on Cancer Therapeutics The 11th International Symposium on Cancer Chemotherapy. 2006. Dec.6-8. Tokyo.
7. F. Koizumi, Y. Matsumura. "Novel SN-38-incorporating polymeric micelles, NK012, eradicate vascular endothelial growth factor-secreting bulky tumors" : 98th AACR Annual meeting . 2007.4.14-18.
 8. J. Kuroda, J. Kuratsu, Y. Matsumura., Arterial infusion of nucleic acids through rat carotid artery as an experimental local gene delivery system: Looking ahead to future clinical trials. Los Angeles Convention Center. Los Angeles Convention Center. AACR Annual Meeting 2007. April 14-18, 2007
 9. Y. Koga, H. Matsushita, M. Yasunaga, H. Baba, Y. Matsumura Improved isolation of exfoliated cells from feces for noninvasive diagnosis of colorectal cancer: A comparative study of new immuno-magnetic beads. 2007 AACR Annual Meeting, Los Angeles, 2007.4.15
 10. Y. Matsumura. Polymeric micellar delivery systems in preclinical and clinical and trials. 38th International symposium of the princess Takamatsu cancer research fund. Tokyo. Nov. 29. 2007
 11. Y. Matsumura. Micelle carrier system in cancer chemotherapy. 9th US-Japan DDS symposium. Maui. Dec.16-20. 2007.
 12. J. Kuroda, M. Yasunaga, J. Kuratsu, Y. Matsumura. NK012, a polymeric micelle formation containing SN-38, markedly enhanced the antitumor activity of SN-38 against orthotopic glioblastoma multiforme tumors in a mouse model. AACR Annual Meeting 2008. April 12-16, 2008.
 13. Y. Koga, M. Yasunaga, H. Baba, and Y. Matsumura. Comparative study of new immuno-magnetic beads for isolation of exfoliated cells from feces as a non-invasive method for diagnosing colorectal cancer, 2008 AACR Annual Meeting, San Diego, 2008.4.13
 14. Yohei Saito, Masahiro Yasunaga, Junichiro Kuroda, Yoshikatsu Koga, Yasuhiro Matsumura. AACR Annual Meeting 2008. Importance of enhanced distribution of NK012 and long-term, sustained-release of SN-38 for the treatment of hypovascular tumors. 2008 AACR Annual Meeting, San Diego, 2008.4.13
 15. Suguru Fujisawa, Yasuhiro Matsumura Local gene delivery combined with ultrasound and bubble-liposome against superficial bladder cancer. 2008 AACR Annual Meeting, San Diego, 2008.4.13
 16. Y. Matsumura., Clinical Development of Polymer Therapeutics in Japan. 7th International Symposium on Polymer Therapeutics from Laboratory to Clinical Practice 27th. May 2008 Valencia, Spain
 17. Y. Matsumura, A preclinical, clinical, and translational study on micelle carrier system in oncology. 6th International Nanomedicine and Drug Delivery Symposium. October 2008 Toronto, Canada.
 18. Y. Matsumura, Drug Delivery System. The 18th HCS International Symposium Recent Progress in Pathogenesis and Management of Colorectal Cancer International Conference Center. November 2008 Hiroshima, Japan.
 19. Y. Matsumura, Anticancer agents-incorporated micelle carrier systems under clinical evaluation. The 14th International Symposium on Recent Advances in Drug Delivery Systems. February 15-18, 2009. Salt Lake City, Utah, USA.

〔産業財産権〕
出願状況（計 2 件）

名称：癌間質の構成因子に対して特異的結合能を有する物質と抗腫瘍性化合物との複合体による新規の癌ターゲティング治療
発明者：松村保広ら
権利者：(財)ヒューマンサイエンス振興財団 独立行政法人 理化学研究所
種類：特願
番号：2008-293930
出願年月日：20.11.17
国内外の別：国内

名称：新規な抗フィブリン抗体
発明者：松村保広ら
権利者：(財)ヒューマンサイエンス振興財
団 独立行政法人 理化学研究所
種類：特願
番号：2010-139572

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松村 保広(まつむらやすひろ)
研究者番号：90206919

(2) 研究分担者

眞鍋 史乃(まなべしの)
研究者番号：60300901