

令和 2 年 9 月 9 日現在

機関番号：32643

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19501

研究課題名（和文）超音波応答性ナノメディシンを利用した膵臓がんに対する新規治療戦略の開発

研究課題名（英文）Development of novel strategy for pancreatic cancer with ultrasound sensitive nanomedicine

研究代表者

鈴木 亮（SUZUKI, RYO）

帝京大学・薬学部・教授

研究者番号：90384784

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：膵臓がんは、抗がん剤の治療効果が十分に得られない難治性がんの一つである。したがって、抗がん剤を効率よく膵臓がんへデリバリーすることが求められている。そこで本研究では、マイクロバブルに抗がん剤を内封したリポソームを搭載した新しいマイクロバブルの開発を行った。このマイクロバブルと超音波照射を併用することで、膵臓がん細胞に効率よく抗がん剤をデリバリーすることができた。また、このデリバリーにより膵臓がん細胞の増殖抑制効果も得られることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵臓がんに対する画期的な治療法はこれまでになく、新たな治療法の確立が望まれている。したがって、抗がん剤内封リポソームを搭載したマイクロバブルと超音波を応用した本研究は膵臓がんに対する新たな治療戦略を提示するための挑戦的な研究と位置付けられる。本研究で得られた成果は、難治性である膵臓がんの治療に画期的な知見を与えるものと考えている。

研究成果の概要（英文）：Most of anti-cancer drugs have not provided enough therapeutic effects for pancreatic cancer. Thus, it is necessary to develop a novel drug delivery system. In this study, we attempted to develop the doxorubicin encapsulated liposome-loaded on microbubbles (D-lipo-MBs). When D-lipo-MBs were exposed to ultrasound, the collapse of MB would induce the release of the liposomes from MB, and deliver the drug into tumor tissue. Actually, in this delivery system, we observed the effective tumor cell growth suppression because of effective drug delivery by ultrasound exposure. Therefore, this drug delivery system may be a useful drug delivery system for pancreatic cancer.

研究分野：薬物送達学

キーワード：薬物送達学 超音波 マイクロバブル 抗がん剤 膵臓がん リポソーム

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

膵臓がんは診断が遅れ外科的治療を行うことができないケースが多く、抗がん剤の治療効果が十分に得られないため生存率の低い難治性がんの一つである。したがって、膵臓がんの新たな治療戦略の開拓が求められている。

これまでに我々は、難溶性ガスをリン脂質で覆った気泡であるマイクロバブルに超音波照射することで得られるマイクロバブルの振動や圧壊現象を利用し、一時的に血管の透過性を亢進できることを報告している。このマイクロバブルによる機械的な作用を腫瘍組織内の血管に適用することで腫瘍組織内の血管透過性を亢進させ効率的な抗がん剤デリバリーを可能にするものと期待されている。しかし、マイクロバブルと抗がん剤を混合して投与し、がん組織に超音波を照射しても、マイクロバブルと抗がん剤の距離が離れていることもあり効率よくがん細胞に抗がん剤をデリバリーすることが困難であった。そのため、抗がん剤をマイクロバブルに搭載し、超音波照射によるマイクロバブルの機械的作用で抗がん剤をがん細胞にデリバリーする方法の開発が求められている。

## 2. 研究の目的

- (1) 本研究ではマイクロバブルの表面に抗がん剤封入りリポソームを搭載した新たなマイクロバブルの開発を行った。
- (2) 超音波刺激に応じてリポソームが放出されるシステムを構築した。
- (3) 抗がん剤封入りリポソーム搭載マイクロバブルへの超音波照射により放出されたリポソームの膵臓がん細胞への抗がん剤デリバリー効率および細胞増殖抑制効果を評価した。

## 3. 研究の方法

- (1) ビオチン修飾したリポソームおよびマイクロバブルをビオチン-アビジンで架橋し、ドキシソルビシン内封リポソーム搭載マイクロバブル (D-Lipo-MB) を調製した。マイクロバブルへのリポソームの搭載は、リポソームの内封薬物であるドキシソルビシン由来蛍光を蛍光顕微鏡で観察することで確認した。さらに、D-Lipo-MB への超音波照射におけるマイクロバブルからのリポソームの放出をフローサイトメーターの前方散乱と側方散乱の変化で評価した。
- (2) 膵臓がん細胞 (PAN02) に D-Lipo-MB を添加し、超音波照射の有無による細胞傷害性を評価した。さらに、D-Lipo-MB と超音波処理後のドキシソルビシンの細胞内局在を共焦点レーザー顕微鏡により観察した。

## 4. 研究成果

- (1) 蛍光顕微鏡下における D-Lipo-MB の観察結果より、マイクロバブル周囲にドキシソルビシン由来の赤い蛍光が観察された (図 1)。また、D-Lipo-MB は超音波照射によりフローサイトメーターで得られる前方・側方散乱強度に変化が認められた。なお、変化後の前方・側方散乱強度は、マイクロバブル形成前の強度と一致した。このことから、D-Lipo-MB への超音波照射で D-Lipo-MB が圧壊し、リポソームが D-Lipo-MB から放出したものと推察された。

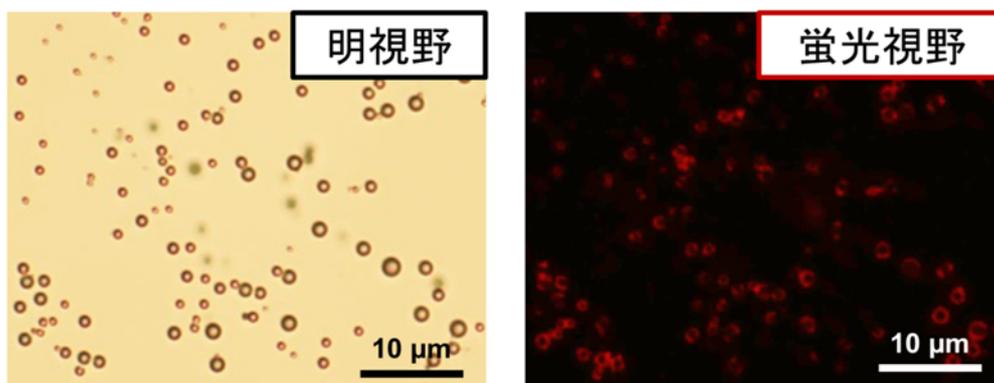


図 1. D-Lipo-MB の観察結果

(2) 抗がん剤を内封していないリポソーム搭載マイクロバブル (Lipo-MB) と比較して、D-Lipo-MB と超音波を併用することで細胞生存率が有意に低下した (図2)。さらに、D-Lipo-MB と超

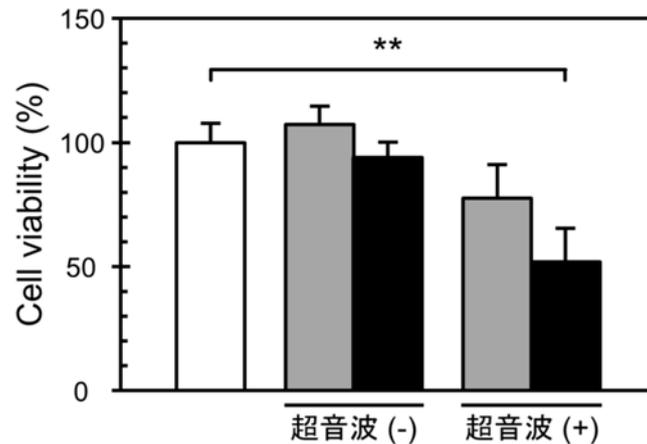


図2. D-Lipo-MB と超音波による細胞生存率への影響  
(白 : 無処理, 灰 : Lipo-MB, 黒 : D-Lipo-MB, \*\* $p < 0.01$ , ANOVA, Dunnett test)

音波の併用では、超音波未照射より、ドキソルビシン由来の蛍光が細胞質に多く観察された (図3)。これらの結果より、D-Lipo-MB は超音波に反応して圧壊し、ドキソルビシン内封リポソームを解離することで細胞へのドキソルビシンのデリバリーを促進したものと推察された。

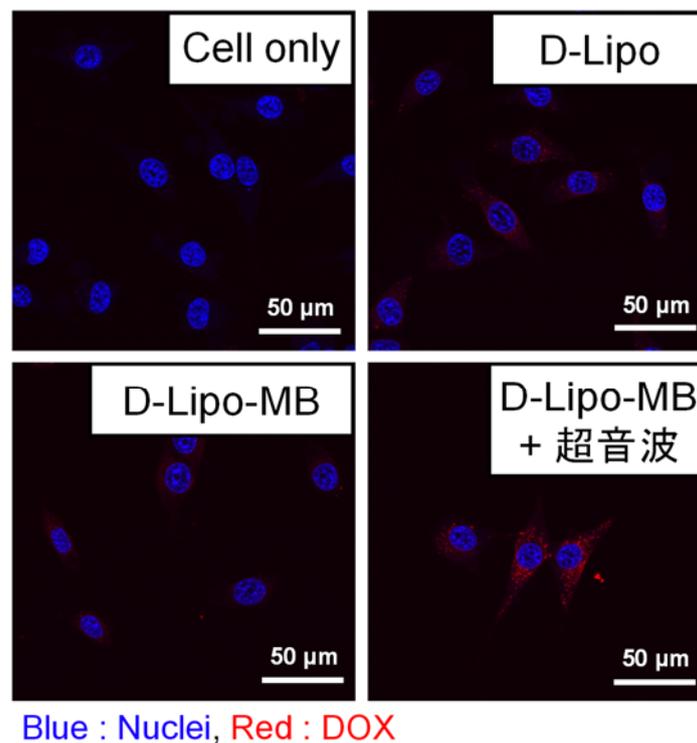


図3. D-Lipo-MB と超音波による細胞への送達効率の向上

次に、異所性膵臓がんモデルマウスにおける D-Lipo-MB と超音波併用による抗腫瘍効果を評価した。しかし、残念ながら、D-Lipo-MB と超音波併用による効果的な抗腫瘍効果は認められなかった。これは、D-Lipo-MB を静脈内投与した際の膵臓がん組織への D-Lipo-MB の移行量に問題があるのではないかと考えられた。膵臓がん組織の血流量は非常に乏しく D-Lipo-MB の到達量が低下していると考えられた。そのため、点滴静注などで持続的に D-Lipo-MB をゆっくり投与しながら時間をかけて超音波照射することで、抗がん剤デリバリー効率を向上させる必要があるのではないかと考えられた。

以上、本研究では抗がん剤内封リポソームを搭載したマイクロバブルを開発し、この粒子への超音波照射下、効果的な抗がん剤デリバリーを可能とすることでがん細胞増殖抑制効果を得ることができた。一方、膵臓がんモデルマウスにおいては、十分な抗腫瘍効果は得られず、治療方法などの最適化が必要であることも明らかとなった。これらの結果から、膵臓がんに対する超音波治療の課題が明らかとなり、膵臓がんに対する新たな戦略を構築するための基礎的知見が得られたものと考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木悠乃, 鈴木 亮, 杉井むつみ, 小俣大樹, Johan Unga, 宗像理紗, 丸山一雄
2. 発表標題 腫瘍新生血管ターゲティング能を有するリピッドバブルの開発
3. 学会等名 第16回 日本超音波治療研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 鈴木悠乃, 鈴木 亮, 小俣大樹, Johan Unga, 宗像理紗, 影山彩織, Mostafa Soleyman, 丸山一雄
2. 発表標題 効率的なリポソームデリバリーをねらった超音波治療システムの構築に関する基礎的検討
3. 学会等名 第62回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木悠乃, 小俣大樹, 宗像理紗, 島 忠光, 影山彩織, 萩原英美子, 丸山一雄, 鈴木 亮
2. 発表標題 新規がん治療システムの構築を目指した抗がん剤デリバリー法の開発
3. 学会等名 第63回 日本薬学会 関東支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuno Suzuki, Daiki Omata, Lisa Munakata, Tadimitsu Shima, Saori Kageyama, Fumiko Hagiwara, Kazuo Maruyama, Ryo Suzuki
2. 発表標題 Development of new anticancer drug delivery system with ultrasound for cancer therapy
3. 学会等名 6th International Symposium on Bioimaging & The 28th Annual Meeting of the Bioimaging Society
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木悠乃, 小俣大樹, 宗像理紗, 島 忠光, 影山彩織, 萩原芙美子, 丸山一雄, 鈴木 亮
2. 発表標題 抗がん剤内封リボソーム搭載マイクロバブルと超音波を併用した能動的抗がん剤デリバリーシステムの開発
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

帝京大学 薬学部 薬物送達学研究室 <a href="https://www.teikyo-dds-lab.com/">https://www.teikyo-dds-lab.com/</a>
--

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
研究協力者	鈴木 悠乃  (SUZUKI Yuno)		
研究協力者	小俣 大樹  (OMATA Daiki)  (80803113)		
研究協力者	宗像 理紗  (MUNAKATA Lisa)		

## 6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	ソレイマン モスタファ  (SOLEYMAN Mostafa)		
研究協力者	ウンガ ヨハン  (UNGA Johan)		