

令和 6 年 9 月 17 日現在

機関番号：82731

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02774

研究課題名（和文）難治癌の腫瘍間質による免疫チェックポイント阻害剤耐性を克服するナノ治療薬の開発

研究課題名（英文）Development of nano-therapeutic agents to overcome immune checkpoint inhibitor resistance due to tumor stroma of intractable cancer

研究代表者

喜納 宏昭（KINOH, HIROAKI）

公益財団法人川崎市産業振興財団（ナノ医療イノベーションセンター）・ナノ医療イノベーションセンター・主幹研究員

研究者番号：70283067

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、臨床治験Phase IIに進んでいるエピルピシンミセルとその他の膵臓癌で承認されている抗癌剤と組み合わせることによって、癌間質細胞、ECMのバリアーを越える可能性をマウス同所モデルによって検証した。その結果、エピルピシンミセルと免疫チェックポイント阻害剤の2剤併用でECMの分解が観察された。さらにゲムシタピンを加えた3剤併用で悪性度の高いK-ras/p53の変異株KPCモデルの完治を確認した。完治したマウスに癌を再投与、もしくは、肝転移モデルを用いると、再発・転移を抑制した。これは、再発した膵臓癌のあたらしい治療法となりうることを示している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵臓がんの治療薬は、1stラインはnab-PTX+GEM、もしくは、FOLFIRINOX、2ndラインはnal-IRI+5FU/LVであり、複数の抗がん剤併用である。しかしながら、5年生存率は5%と効果がないといってよい。本研究は、もっとも膵臓癌で用いられている1stラインと比較して、エピルピシンミセル+aPD1+GEMがマウス膵臓同所モデルにおいて、高い効果を示し、がんの完全寛解と再発の抑制、転移の抑制の結果を得た。使用したaPD1、GEMは膵臓癌で用いられている抗癌剤で、エピルピシンミセルもPhase IIまで行っているナノメディシンであり、患者さんには、朗報になると考えている。

研究成果の概要（英文）：In this study, the possibility of penetrating the cancer stromal cell barrier (ECM) by combining epirubicin micelles, which are in Phase II clinical trials, with other approved anti-cancer drugs for pancreatic cancer was tested in an orthotopic mouse model. The results showed that ECM degradation was observed with the two-drug combination of epirubicin micelles and immune checkpoint inhibitors. In addition, a three-drug combination including gemcitabine was confirmed to cure the KPC model of a highly malignant K-ras/p53 mutant strain. Re-treatment of cured mice or using a liver metastasis model suppressed recurrence and metastasis. This suggests that this could be a new treatment for recurrent pancreatic cancer.

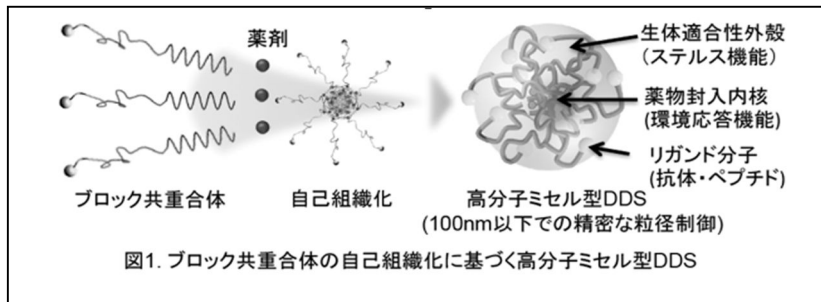
研究分野：ドラッグデリバリーシステム

キーワード：エピルピシンミセル 免疫チェックポイント阻害剤 ゲムシタピン 膵臓がん がん間質再構築 ECM分解

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

我々の研究室では、高分子材料の自己組織化により形成される高分子ミセル型 DDS を世界に先駆けて提唱し、世界トップレベルの研究開発を行ってきた [Chem. Rev. 118:6844(2018)]。本研究では、ICI 耐性の克服を標的にする。現在、さまざまな臨床試験が行われているが、ICI の障壁となる CAFs 細胞を含むがん間質による免疫チェック



ポイント阻害剤耐性を克服する治療法はまだない。膵臓癌は、間質が豊富で悪性度がより高く、制御が困難である。その原因として(1)膵臓癌に集積した間質細胞

の一種である癌関連線維芽細胞(CAFs)が、細胞外マトリックス (ECM) を分泌し、物理的に薬剤、抗体の侵入を妨げ、ICI の奏効を阻害すること(Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2020 17(8):487). (2) CAFs が産生する細胞外マトリックス(ECM)は免疫の細胞傷害性 T 細胞(CTL)に対して T 細胞疲弊 (T cell exhaustion)を誘起し ICI の活性を阻害する(Nat. Commun .11, 4520 (2020))がある。

2. 研究の目的

本研究では、ミセルおよび膵臓癌の標準薬である免疫チェックポイント阻害剤、ゲムシタピン、アブラキサンを用いた併用療法を試み、その有効濃度を探索した。また、ミセルの全身投与によって、癌関連線維芽細胞(CAFs)を除去もしくは形質転換するナノ治療薬によって ICI 耐性を克服することができるかどうかを検証し、高分子ミセル設計に関する優れた技術を基盤として、この課題に取り組んだ。

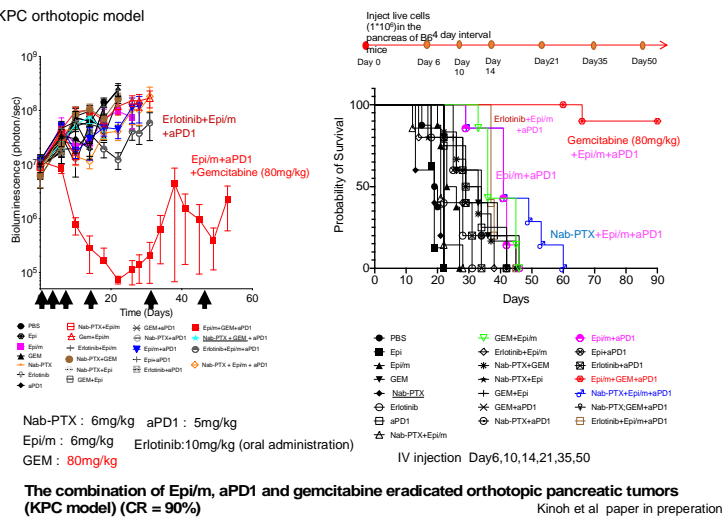
3. 研究の方法

本研究では、臨床試験に進んでいる エピルピシンミセルの全身投与による癌間質細胞、および間質への効果を免疫チェックポイント阻害剤(ICI) 耐性マウス膵臓癌モデル(KPC 細胞モデル)で確認した。さらに、ナノ治療薬と免疫チェックポイント阻害剤と併用することによって、その ICI 耐性を克服できるか、また、前臨床試験として、最も効果的な投与方法、投与量の検討した。

4. 研究成果

マウス膵臓癌同所モデルの確立と抗腫瘍効果：p53/ras 変異トランスジェニックマウスから樹立した KPC 細胞 (Cancer Science. 2019;110:3296 を同所移植ルシフェラーゼ遺伝子を導入し、マウス膵臓へ同所移植して移植する細胞数を最適化し、癌モデルを確立した。マウス膵臓癌 KPC 同所モデルがストローマリッチ、ECM リッチであることを確認し、aPD1、ゲムシタビンに対する耐性も確認できた。

KPC orthotopic model



入し、マウス膵臓へ同所移植して移植する細胞数を最適化し、癌モデルを確立した。マウス膵臓癌 KPC 同所モデルがストローマリッチ、ECM リッチであることを確認し、aPD1、ゲムシタビンに対する耐性も確認できた。

in vivoでの抗腫瘍効果

左図にしめすように、単剤、2剤併用では、効果が低いのに対して、エピルピシンミセル、

aPD1、ゲムシタビンの3剤で飛躍的にその効果が上昇し、90%のマウスの寛解を見いだした。

ナノ治療薬投与による癌間質への効果のメカニズムおよび免疫チェックポイント阻害剤(ICI)との併用のICI耐性克服のメカニズムの解明

Epi/m と抗 PD-1 抗体の併用が、腫瘍間質のコラーゲンとヒアルロン酸を分解する MMP とヒアルロニダーゼを誘導し、全身投与後に抗体薬と CTL が膵臓癌の深部まで到達できることを見出した。この組み合わせはまた、樹状細胞と M1 様マクロファージの腫瘍への浸潤を促進したが、MDSCs は抑制した。Epi/m を腫瘍に投与すると、IL6、TNF、IL1 が誘導されました。さらに、Epi/m は、活性酸素を介した分解によってシチジンデアミナーゼタンパク質のレベルを低下させ、その結果、ゲムシタビンの安定化が増加しました。このように、Epi/m、aPD1 およびゲムシタビンの併用は、同所性膵臓腫瘍 (KPC モデル) を根絶し (CR = 90%)、長期記憶効果で肝転移を抑制した。我々は、Epi/m と抗 PD-1 抗体の併用が、腫瘍間質の ECM を分解する MMP およびヒアルロニダーゼを誘導し、抗体薬剤および CTL が膵臓がんの深部まで到達できることを見出した。さらに、Epi/m は、活性酸素を介した分解により、シチジンデアミナーゼと ATF4 タンパク質のレベルを低下させ、その結果、ゲムシタビンの安定化を増加させた。このように、Epi/m、aPD1 およびゲムシタビンの併用は、同所性膵臓腫瘍 (KPC モデル) を根絶し (CR = 90%)、長期記憶効果で肝転移を抑制した。

今回の知見は、ゲムシタビンの腫瘍内濃度が PDA における治療抵抗性の重要なメカニズムであるという概念を支持するものである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 1.F. Mpekris , M. Panagi , C. Michael, C. Voutouri, M. Tsuchiya, C. Wagatsuma, H. Kinoh, A. Osada, S. Akinaga, S Yoshida, J D Martin, T. Stylianopoulos	4. 巻 353
2. 論文標題 Translational nanomedicine potentiates immunotherapy in sarcoma by normalizing the microenvironment	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Control Release.	6. 最初と最後の頁 956-964
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/ j.jconrel.2022.12.016	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 T. Yang X. Liu, H. Zhou, J. Xie, Y. Mochida, H. Kinoh, H. Cabral, K Kataoka	4. 巻 5
2. 論文標題 Conjugation of glucosylated polymer chains to checkpoint blockade antibodies augments their efficacy and specificity for glioblastoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Biomedical Engineering	6. 最初と最後の頁 1274-1287
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41551-021-00803-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 P. Chen , W. Yang , Y. Mochida, S. Li, T. Hong, H. Kinoh, K. Kataoka, H. Cabral.	4. 巻 63
2. 論文標題 elective Intracellular Delivery of Antibodies in Cancer Cells with Nanocarriers Sensing Endo/Lysosomal Enzymatic Activity.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Angew. Chem. Int. Ed. 2024	6. 最初と最後の頁 22-66
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/anie.202317817.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shibasaki H, Kinoh H, Cabral H, Quader S, Mochida Y, Liu X, Toh K, Miyano K, Matsumoto Y, Yamasoba T, Kataoka K.	4. 巻 15
2. 論文標題 Efficacy of pH-Sensitive Nanomedicines in Tumors with Different c-MYC Expression Depends on the Intratumoral Activation Profile	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ACS Nano	6. 最初と最後の頁 5545-5559
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsnano.1c00364	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 J. Li, Z. Ge, K. Toh, X. Liu, A. Dirisala, W. Ke, P. Wen, Hang Zhou, Zheng Wang, Shiyao Xiao, Joachim F. R. Van Guyse, Theofilus A. Tockary, Jinbing Xie, Daniel Gonzalez Carter, H. Kinoh, Satoshi Uchida, Yasutaka Anraku, Kazunori Kataoka	4. 巻 33
2. 論文標題 Enzymatically Transformable Polymersome-Based Nanotherapeutics to Eliminate Minimal Relapsable Cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Adv Mater .	6. 最初と最後の頁 956-964
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/adma.202105254	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 S. Quader, X. Liu, K. Toh, Y.-L. Su, A. R. Maity, A. Tao, W. K. D. Paraiso, Y. Mochida, H. Kinoh, H. Cabral, K. Kataoka	4. 巻 267
2. 論文標題 Supramolecularly enabled pH- triggered drug action at tumor microenvironment potentiates nanomedicine efficacy against glioblastoma.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomaterials .	6. 最初と最後の頁 956-964
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biomaterials.2020.120463.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 W. Paraiso, J. G.-Chica, X. Ariza, S. Zagmutt, S. Fukushima, J. G. Gomez, Y. Mochida, D. Serra, L. Herrero, H. Kinoh, N. Casals, K. Kataoka, R. R.-Rodriguez, S. Quader	4. 巻 9
2. 論文標題 Poly-ion complex micelle effectively delivers CoA-conjugated CPT1A inhibitors to modulate lipid metabolism in brain cells.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomater Sci .	6. 最初と最後の頁 7069-7091
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d1bm00689d.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 喜納宏昭、カブラルオラシオ、クワドラサビーナ、劉学螢、片岡一則
2. 発表標題 Chemo-Immunotherapy of Nanomedicine and anti-PD-1 antibody for Reprogramming Tumor Microenvironment to Overcome anti-PD-1 antibody-Resistance .
3. 学会等名 7th JCA-AACR Special Joint Conference (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 H. Kinoh, S. Nagao, Y. Honda, H. Nishiyama, K Kataoka
2. 発表標題 Pre-treatment of High Intensity Focused Ultrasound enhance targeted Brain delivery across the blood brain barrier and Smart nanosystem of coating rAAV9 reduce Hepatotoxicity/Nephrotoxicity.
3. 学会等名 第29回日本遺伝子細胞治療学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 H. Kinoh, H. Cabral, S. Quader, K. Kataoka
2. 発表標題 Stromal disruption of Nanomedicine overcome Immunocheck point inhibitor&Drug resistance in Stroma-rich pancreatic cancer
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 H. Kinoh, H. Cabral, S. Quader, K. Kataoka
2. 発表標題 悪性脳腫瘍（グリオブラストーマ）に対する免疫チェックポイント阻害剤の効果を飛躍的に高めるナノDDSを用いた化学免疫療法
3. 学会等名 第80回日本癌学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 喜納宏昭、カブラルオラシオ、クワドラサビーナ、劉学螢、片岡一則
2. 発表標題 Chemo-Immunotherapy of Nanomedicine and ICI for Reprogramming Tumor Microenvironment to Overcome ICI-Resistance
3. 学会等名 第82回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 喜納宏昭、カブラルオラシオ、クワドラサビーナ、劉学瑩、片岡一則
2. 発表標題 Chemo-Immunotherapy of Nanomedicine and anti-PD-1 antibody for Reprogramming Tumor Microenvironment to Overcome anti-PD-1 antibody-Resistance
3. 学会等名 World Cancer Congress (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 ストロームリッチな腫瘍を治療又は予防するための医薬組成物	発明者 喜納 宏昭、カダール サビーナ、劉学瑩、片岡 一則	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、63/317,007	出願年 2022年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔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	C a b r a l H o r a c i o (Kaburaru Orashio) (10533911)	東京大学・大学院工学系研究科(工学部)・准教授 (12601)	
研究分担者	劉 学瑩 (Ryu Gakukei) (30777470)	公益財団法人川崎市産業振興財団(ナノ医療イノベーションセンター)・ナノ医療イノベーションセンター・主任研究員 (82731)	
研究分担者	Q u a d e r S a b i n a (Quader Sabina) (90749699)	公益財団法人川崎市産業振興財団(ナノ医療イノベーションセンター)・ナノ医療イノベーションセンター・副主任研究員 (82731)	

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