

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08762

研究課題名(和文) 肝細胞癌に対するレンパチニブ内包スマートメッシュを用いた新規治療デバイスの開発

研究課題名(英文) Efficacy of Nanofiber Sheets Incorporating Lenvatinib in a Hepatocellular Carcinoma Xenograft Model

研究代表者

松井 康輔 (Matsui, Kosuke)

関西医科大学・医学部・准教授

研究者番号：40460828

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：進行性肝細胞癌(HCC)に高い奏効率を示す分子標的薬のレンパチニブを内包したPCLシート(レンパチニブシート)が、Drug Delivery System (DDS)としてマウスHCCモデルにおいて抗腫瘍効果を発揮するかを検討。レンパチニブシート群では無治療群および経口投与群と比較し有意に腫瘍増殖を抑制( $P<0.05$ )、抗腫瘍効果はシート群で経口投与群より有意であった( $P<0.05$ )。病理学的解析では、レンパチニブシート群は対照群と比べ細胞分裂が有意に抑制、微小血管の面積と密度が少なく、血管内径は狭かった( $P<0.05$ )。腹膜播種モデルでは治療開始後30日での生存率を向上した( $P<0.01$ )。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、レンパチニブ内包PCLシート(レンパチニブシート)が、Drug Delivery System (DDS)としてマウスHCCモデルにおいて抗腫瘍効果を発揮するかを検討した。PCLと分子標的薬のレンパチニブは組み合わせが可能であり、有効なDDSとなることが示唆された。抗癌剤は全身投与が一般的で、癌局所のみならず正常組織にも作用し副作用として現れる為、Lenvatinibのように高い抗腫瘍効果を認めるにもかかわらず、副作用のために化学療法を中止せざるを得ない場合も多い為、抗腫瘍効果を維持しつつ、副作用を軽減し得るDDSの開発応用が可能であることを示すことができた。

研究成果の概要(英文)：Lenvatinib has a high response rate in unresectable advanced hepatocellular carcinoma(HCC). In this study, we investigated whether lenvatinib-incorporating poly( $\epsilon$ -caprolactone) sheets (lenvatinib sheets) as a drug delivery system (DDS) exerted antitumor effects in a murine HCC model. Tumor growth was significantly inhibited in the lenvatinib sheet group compared with that in the no treatment and oral groups. The antitumor effect was significantly higher in the lenvatinib sheet group. Regardless of the insertion site, the serum lenvatinib levels were maintained and showed similar antitumor effects. The mitotic index was significantly inhibited in the lenvatinib sheet group compared with that in the control group. Furthermore, lenvatinib sheets improved the 30-day survival. Lenvatinib sheets showed sufficient antitumor effects.

研究分野：肝臓外科

キーワード：レンパチニブ内包シート 肝細胞癌

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

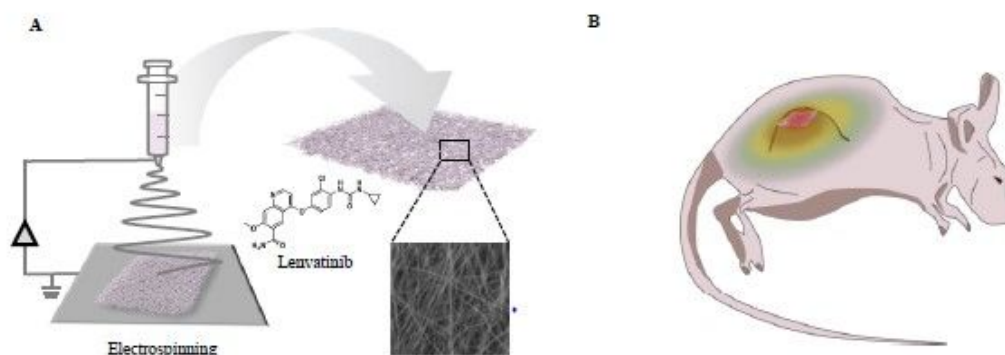
本研究では肝細胞癌治療薬である Lenvatinib を内包させたメッシュを直接癌局所に貼付することで、全身投与と比較して少ない薬剤使用量で抗腫瘍効果を維持した上で副作用を軽減し得る可能性があり、抗腫瘍薬の新規 DDS 樹立の基盤となり得るかを検討したいと考えた。

### 2. 研究の目的

分子標的薬のレンバチニブは切除不能な進行性肝細胞癌(HCC)に対して高い奏効率を示す。ポリ-ε-カプロラクトン (PCL) はエレクトロスピンニング法によって薬剤を内包したナノファイバーとなり、薄くて柔軟な PCL シートを織ることができる。本研究では、レンバチニブ内包 PCL シート(レンバチニブシート)が、Drug Delivery System (DDS)としてマウス HCC モデルにおいて抗腫瘍効果を発揮するかを検討した。

### 3. 研究の方法

レンバチニブシートは経口投与量の約 32.5%である 1mg のレンバチニブを 14 日間で徐放するように設計し開発した。ヒト HCC 細胞株 HuH-7 を皮下へ、HuH-7-Luc を腹腔内に移植したマウスモデルを用いてレンバチニブシートの有効性を検討した。

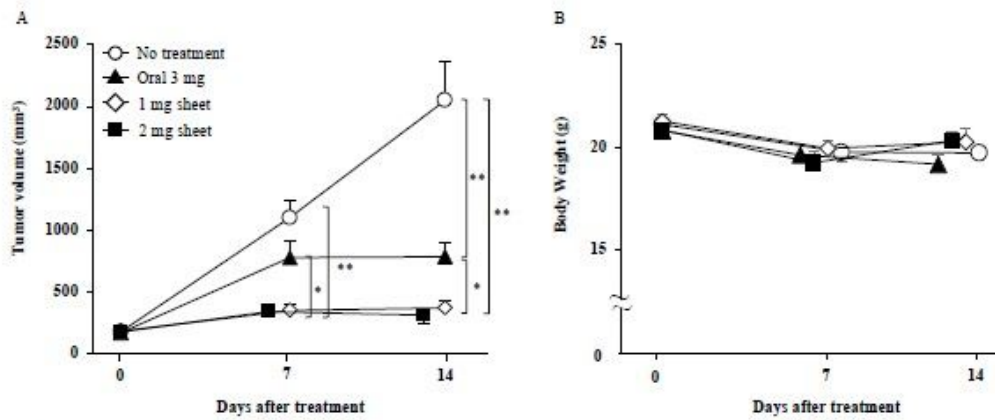


**Figure 1.** (A) Design concept for a smart nanofiber system that incorporated lenvatinib using the electrospinning method. (B) The nanofiber allows for the sustained release of lenvatinib at the local tumor site through diffusion. Localized administration of molecular-targeted drugs can improve the therapeutic efficiency.

皮下腫瘍モデルではレンバチニブシート群とレンバチニブ経口投与群での抗腫瘍効果比較と、シート挿入部位による抗腫瘍効果比較を腫瘍体積、体重、血清レンバチニブ濃度を経時的に測定し検討した。また、腹膜播種モデルを用いてレンバチニブシートの生存期間延長効果を検討した。

### 4. 研究成果

レンバチニブシート群では無治療群および経口投与群と比較し有意に腫瘍増殖を抑制し ( $P < 0.05$ ) 抗腫瘍効果はシート群で経口投与群より有意であった ( $P < 0.05$ )。



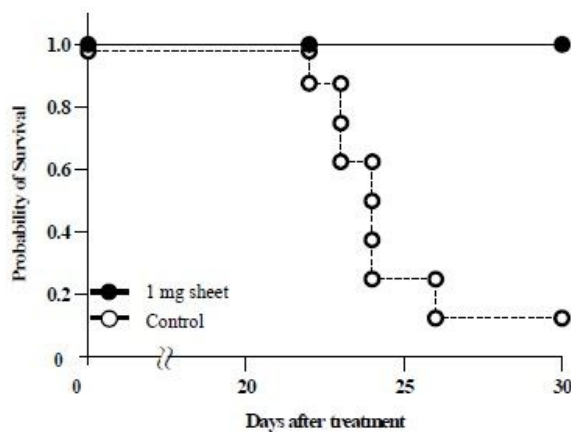
**Figure 3.** Antitumor effect of lenvatinib sheets in a subcutaneous tumor model. In total,  $5 \times 10^6$  HuH-7 cells were subcutaneously transplanted into BALB/c nude mice. The mice were categorized into four groups according to the treatment: the no treatment (open circle; day 0:  $n = 28$ , day 7:  $n = 16$ , and day 14:  $n = 18$ ), oral (filled triangles; day 0:  $n = 20$ , day 7:  $n = 10$ , and day 14:  $n = 10$ ), 1 mg sheet (open diamond shape; day 0:  $n = 30$ , day 7:  $n = 15$ , and day 14:  $n = 20$ ), and 2 mg sheet (filled square; day 0:  $n = 20$ , day 7:  $n = 10$ , and day 14:  $n = 10$ ) groups. (A) Time course of xenograft tumor volume. (B) Body weight in each group. Data are presented as means  $\pm$  standard deviations. The  $p$ -values between the indicated groups are presented as \*  $p < 0.05$  and \*\*  $p < 0.01$ . The results are the sum of three independent experiments.

シート挿入部位によらず、血清中レンパチニブ濃度は維持され、同様の抗腫瘍効果を示した。病理学的解析では、レンパチニブシート群では対照群と比べて細胞分裂が有意に抑制され、微小血管の面積と密度が少なく、血管の内径は狭かった ( $P < 0.05$ )

Table 3. Immunohistochemical data analysis.

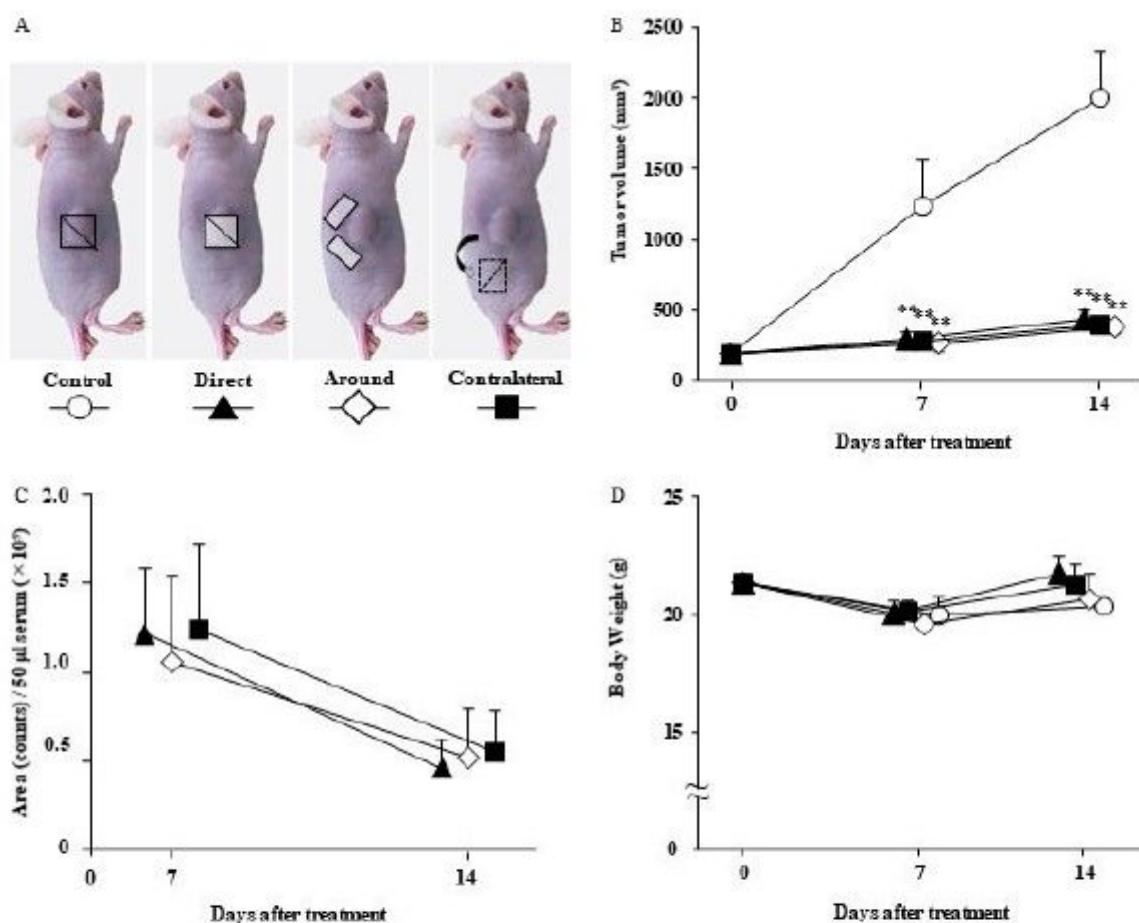
	Mitotic Index	Vascular Area Ratio	Microvessel Density (mm <sup>2</sup> )	Internal Diameter of Vessels (μm)
No treatment	4.14 $\pm$ 0.63%	4.10 $\pm$ 1.34%	362 $\pm$ 48	7.29 $\pm$ 1.64
Oral 3 mg	2.88 $\pm$ 0.36%	1.92 $\pm$ 0.26%	336 $\pm$ 68	3.53 $\pm$ 0.47
1 mg sheet	1.96 $\pm$ 0.36%	0.97 $\pm$ 0.43%	243 $\pm$ 52	3.52 $\pm$ 0.60

腹膜播種モデルではレンパチニブシートは治療開始後 30 日での生存率を向上させた ( $P < 0.01$ )



**Figure 7.** Effect of lenvatinib sheets on survival in a mouse peritoneal seeding model. In total,  $5 \times 10^7$  HuH-7-Luc cells were intraperitoneally transplanted into BALB/c nude mice, and simultaneously, the sheets were inserted subcutaneously. The Kaplan-Meier survival curves represent the cumulative survival of the following treatment groups in one experiment: control ( $n = 8$ ; open circles) and 1 mg sheet ( $n = 10$ ; filled circles) groups.  $p < 0.001$  compared with the control group (by the log-rank test).

本研究では、経口投与量の 32.5% に相当する 1mg のレンバチニブを含有するシートが挿入位置に関わらず、レンバチニブの血清濃度を維持し、十分な抗腫瘍効果を示すことが確認された。



**Figure 6.** Antitumor effect of lenvatinib sheets in the different insertion positions. The mice were categorized into four groups according to the treatment method: the control (open circle; day 0:  $n = 11$ , day 7:  $n = 6$ , and day 14:  $n = 11$ ), direct (filled triangle; day 0:  $n = 10$ , day 7:  $n = 5$ , and day 14:  $n = 10$ ), peripheral (open diamond shape; day 0:  $n = 10$ , day 7:  $n = 5$ , and day 14:  $n = 10$ ), and contralateral (filled square; day 0:  $n = 10$ , day 7:  $n = 5$ , and day 14:  $n = 10$ ) groups. (A) Schematic diagram of the mice. (B) Time course of xenograft tumor volume. (C) Trends of serum lenvatinib level. (D) Body weight in each group. Data are presented as means  $\pm$  standard deviations.  $** p < 0.01$  compared with the control group. The results are the sum of two independent experiments.

PCL と分子標的薬のレンバチニブは組み合わせが可能であり、有効な DDS となることが示唆された。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Yoshida Terufumi, Kaibori Masaki, Fujisawa Nanami, Ishizuka Mariko, Sumiyama Fusao, Hatta Masahiko, Kosaka Hisashi, Matsui Kosuke, Suzuki Kensuke, Akama Tomoya O., Katano Tayo, Yoshii Kengo, Ebara Mitsuhiro, Sekimoto Mitsugu	4. 巻 12
2. 論文標題 Efficacy of Nanofiber Sheets Incorporating Lenvatinib in a Hepatocellular Carcinoma Xenograft Model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nanomaterials	6. 最初と最後の頁 1364 ~ 1364
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nano12081364	査読の有無 無
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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 吉田 明史、海堀 昌樹、藤澤 七海、石塚 まりこ、住山 房央、八田 雅彦、小坂 久、松井 康輔、荏原 充宏、関本 貢嗣
2. 発表標題 肝細胞癌異種移植モデルにおけるレンパチニブ内包ナノファイバーシートの有効性
3. 学会等名 第123回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2023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	小坂 久  (Kosaka Hisashi)  (00532251)	関西医科大学・医学部・講師   (34417)	
研究分担者	海堀 昌樹  (Kaibori Masaki)  (30333199)	関西医科大学・医学部・教授   (34417)	

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