

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 4 月 30 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670578

研究課題名(和文) グルコース内包超微細ナノ粒子による消化器癌の全身治療法の開発

研究課題名(英文) Development of systemic therapy using nanoparticles incorporating glucose against gastrointestinal cancer.

研究代表者

井上 彬 (Inoue, Akira)

大阪大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：90645053

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、超微細ナノ粒子であるスーパーアパタイトを用いて、高濃度グルコースを内包した超微細ナノ粒子(sApa-Glc)を作成し、難治性消化器癌に対する新規治療法を開発することである。

研究成果として、sApa-Glcの粒子径が22.27nmであり、pH感受性かつ酸性環境下で内包グルコースを速やかに放出することが分かった。大腸癌細胞株および担癌マウスモデルでは、sApa-Glc投与によりROS活性の上昇に伴う顕著な抗腫瘍効果を認めた。カニクイザルを用いた毒性試験では、明らかな副作用を認めなかった。以上より、癌に対する新規治療法として、sApa-Glcの有用性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Tumor targeting nanotechnology has recently made therapeutic progress. We previously reported a pH sensitive in vivo delivery system of doxorubicin, or microRNA, using carbonate apatite (CA) nanoparticles. In this research project, to further explore utility of CA in cancer therapy, we attempted to transport excess glucose into tumor cells by conjugating glucose (Glc) to the nanoparticle. The complex (CA-Glc) was 22.27nm in size and was pH sensitive and degradable at an acidic pH, resulting in the release of incorporated glucose. CA-Glc significantly reduced the growth of colon cancer cell lines. Intravenous injections successfully suppressed solid tumor growth. This effect could be at least in part due to up regulation of ROS activity. In mice and monkeys, intravenously injected CA-Glc complex resulted in no serious abnormalities in body weight or blood chemistry. These results suggested that this nanoparticle complex may be a novel anti-cancer reagent.

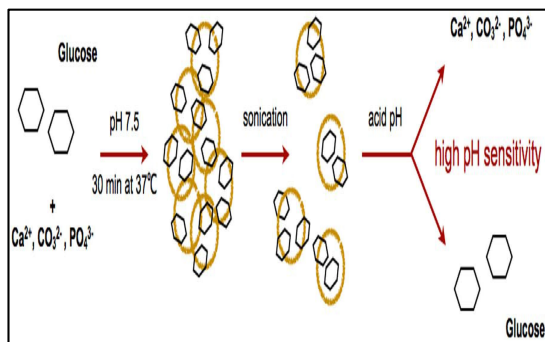
研究分野：消化器外科

キーワード：超微細ナノ粒子 スーパーアパタイト 高濃度グルコースを内包した超微細ナノ粒子 ドラッグデリバリーシステム 難治性消化器癌 新規治療法 抗腫瘍効果 ROS活性

1. 研究開始当初の背景

抗癌剤や核酸等を標的臓器へ送達させるためのドラッグデリバリーシステムの開発が世界中で行われているが、顕著な成果が出ていないのが現状である。従来法のリポソーム製剤、ミセル製剤やアテロコラーゲンを用いたドラッグデリバリーシステムは、核酸の正常臓器への蓄積の問題と、ステルス効果を得るために粒子の表面にPEG処理などを行うと100nm近くのサイズとなり、血管から離れた腫瘍細胞への浸透性が不十分となることが問題となっている。これを克服する手段として、私たちは200nmオーダーのサイズである炭酸アパタイト粒子から10nmサイズの超微細粒子を作成し、正常臓器への蓄積なしに血管から離れた腫瘍細胞にまで浸透できるスーパーアパタイト(sApa)法を開発した(図1)。この超微細粒子はヒトの血清中(pH7.4、37℃)で安定であり、細胞内で酸性環境にさらされると内包する核酸を速やかに放出する特徴を有する。

図1 スーパーアパタイト超微細ナノ粒子



2. 研究の目的

本研究の目的は、新規ドラッグデリバリーシステムであるスーパーアパタイト(sApa)超微細ナノ粒子法を用いて、高濃度グルコース(Glc)を内包したsApa(sApa-Glc)を作成し、消化器癌に対する新規治療法を開発することである。

3. 研究の方法

sApa超微細ナノ粒子は、in vitro と in vivo 両方において、優れたデリバリー能力を有している。腫瘍はグルコーストランスポーター(GLUT)によりブドウ糖を細胞内に汲み入れているが、sApa超微細ナノ粒子を用いて、GLUTに依らず全細胞膜表面よりエンドサイトシスによって、高濃度のグルコースを大量に送り込むことで、癌細胞に対するin vitro と in vivo での抗腫瘍効果とそのメカニズムを評価した。同時に、マ

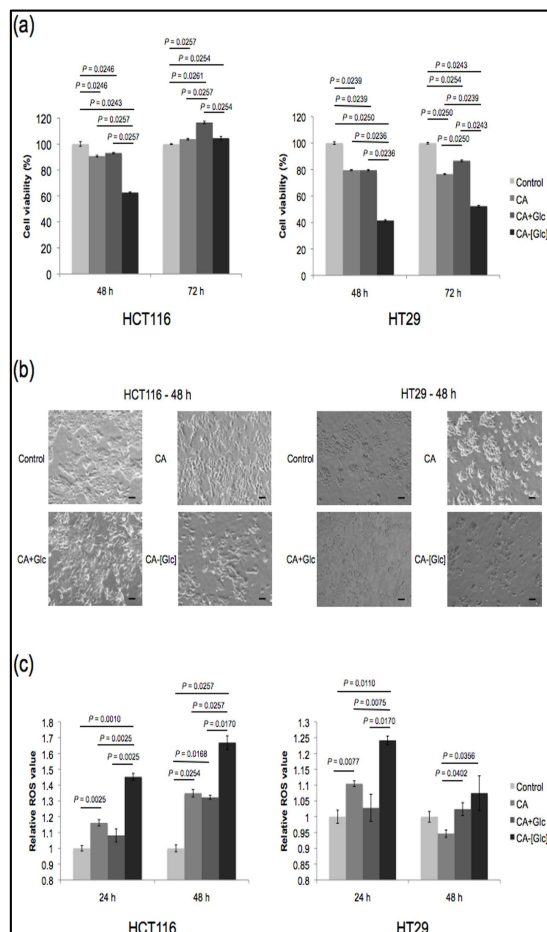
ウスおよびカニクイザルを用いた毒性試験も行った。

4. 研究成果

(1)物性の検討では、sApa-Glcの粒子サイズは 22.27 ± 5.10 nmであり、pH感受性で、酸性環境下で内包Glcを速やかに放出する特徴を有し、その結合率は約0.2%であった。また粒子のゼータ電位が陰性であるため、電荷相反により正常組織への蓄積が軽減されると考えられた。

(2)sApa-Glcの抗腫瘍効果のメカニズム解析では、活性酸素種(ROS)との関連に着目した。ヒト大腸癌細胞株を用いたin vitro 検討では、sApa-Glc群がsApa+Glc混合群に比べ、細胞内ROS活性の有意な上昇を認めた。つまり、sApa-Glcは粒子径が非常に小さく、endocytosisにて効率的に細胞内に取り込まれ、pH変化にて瞬時に高濃度Glcを細胞質へ放出し、ROS活性の上昇による抗腫瘍効果を示した(図2(c))。

図2 ヒト大腸癌細胞株におけるsApa-Glcの抗腫瘍効果とROS活



(3) ヒト大腸癌細胞株を用いた *in vitro* 検討では、sApa-Glc 群がコントロール群、sApa 単独群、及び sApa+Glc 混合群に比して有意な細胞増殖抑制効果を認めた(図2(a,b))。 *in vivo* 検討では、ヒト大腸癌細胞株を用いて皮下腫瘍モデルマウスを作製し、各試験薬を2週間で計6回、尾静脈投与した。その結果、生理食塩水群、Glc 単独群、及び sApa 単独群に比べ、sApa-Glc 群で有意な腫瘍増殖抑制効果と腫瘍内 Glc 濃度の有意な上昇を認めた(図3)。薬物毒性に関しては、カニクイザルを用いた非ヒト霊長類毒性試験を行い、状態観察や血液生化学検査も含めて明らかな副作用を認めなかった。

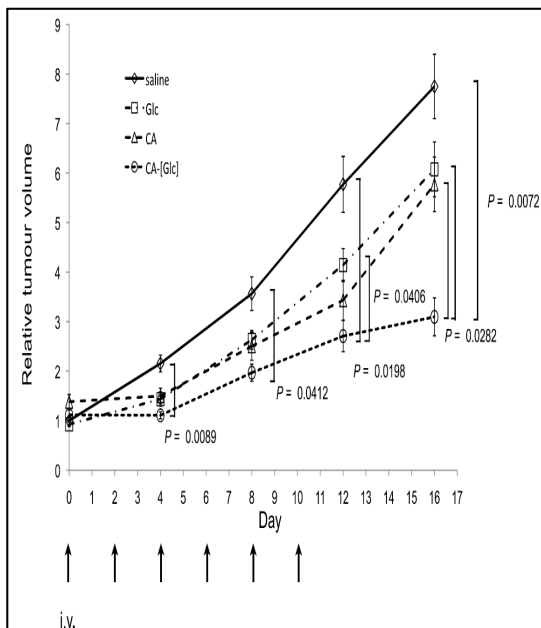


図3 担癌マウスモデルにおける sApa-Glc の抗腫瘍効果

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 1 件)

Hirofumi Yamamoto, Xin Wu, Hiroyuki Nakanishi, Yuki Yamamoto, Mamoru Uemura, Taishi Hata, Junichi Nishimura, Ichiro Takemasa, Tsunekazu Mizushima, Jun-Ichi Sasaki, Satoshi Imazato, Nariaki Matsuura, Yuichiro Doki & Masaki Mori. A Glucose carbonate apatite complex

exhibits *in vitro* and *in vivo* anti-tumour effects.

SCIENTIFIC REPORTS. 2015

DOI: 10.1038/srep07742

査読有り

[学会発表](計 0 件)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 1 件)

名称: グルコースと炭酸アパタイトを使用した抗癌剤

発明者: 山本浩文 他

権利者: 国立大学法人大阪大学、山本浩文 他

種類: 特願

番号: 2014-31056

出願年月日: 26.2.20

国内外の別: 国内

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:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者 井上 彬 (Inoue Akira)

研究者番号: 90645053

大阪大学・医学部附属病院・医員

(2) 研究分担者 山本 浩文 (Yamamoto Hirofumi)

研究者番号: 30322184

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

(3) 連携研究者

()

研究者番号：