

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 9 日現在

機関番号：14202

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861067

研究課題名(和文) 肝細胞癌に対する抗癌剤および造影剤内包高分子ナノミセルを用いた新しい治療法の開発

研究課題名(英文) Development of new treatment with MRI-detectable polymeric micelles incorporating platinum anticancer drugs against hepatocellular carcinoma

研究代表者

貝田 佐知子(Kaida, Sachiko)

滋賀医科大学・医学部・特任助教

研究者番号：70710234

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,800,000円

研究成果の概要(和文)：プラチナ系抗癌剤であるDACHPtとT1強調MRI造影剤であるGd-DTPAの両方を内包したDACHPt/Gd-DTPA内包高分子ミセルを作成した。ミセルは直径約33nmで腫瘍内に選択的に送達でき、長い血中滞留性を有し、内包する薬剤の徐放性を併せ持つことを確認した。さらにMRI造影力の指標である緩和能はGd-DTPAに比べ20倍以上を示した。このミセルを肝癌移植ラットモデルに投与したところ、抗癌剤投与群、生理食塩水投与群に比べて生存期間が有意に延長した。MRI造影効果も同濃度のGd-DTPA投与群に比べ、腫瘍造影効果は有意に高く、かつ3時間以上持続した。

研究成果の概要(英文)：We used polymeric micelles containing the T1-weighted magnetic resonance imaging contrast agent gadolinium-diethylenetriaminopentaacetic acid (Gd-DTPA) and the parent complex of the anticancer drug oxaliplatin [(1,2-diaminocyclohexane)platinum(II) (DACHPt)] for simultaneous imaging and therapy in an orthotopic rat model of HCC. The Gd-DTPA/DACHPt-loaded micelles were injected into the hepatic artery, and magnetic resonance imaging performance and antitumor activity against HCC, as well as adverse drug reactions were assessed. After a single administration, the micelles achieved strong and specific tumor contrast enhancement, induced high levels of tumor apoptosis, and significantly suppressed tumor size and growth. Moreover, the micelles did not induce severe adverse reactions and significantly improved survival outcomes in comparison to oxaliplatin or saline controls.

研究分野：消化器外科

キーワード：高分子ミセル ドラッグデリバリーシステム 抗癌剤 MRI造影剤 肝細胞癌

1. 研究開始当初の背景

肝細胞癌は約80%がウイルス性肝炎を背景とし、肝機能の低下により外科的切除が出来ない場合もある。また、多発症例や脈管侵襲を有する進行肝細胞癌に対する治療成績は満足できるものではなく、低侵襲かつ効果的な治療法の開発が望まれている。わが国では、カテーテルを用い肝動脈経路で肝細胞癌に直接抗癌剤を注入し、さらに肝動脈を塞栓する TACE (肝動脈化学塞栓療法) を開発し治療効果を世界に発信してきた。しかし、場合により肝細胞癌への抗癌剤の集積を認めなかったり、薬剤が留まらずすぐに流れ出てしまうといったことにより、十分な効果が得られない場合があり、手術による肝切除には到底及ばない治療成績であった。また、肝機能が低下している場合には抗癌剤や肝動脈の塞栓が肝不全の引き金となることもあった。しかし、肝切除や局所凝固といった治療が困難な場合には唯一効果的な治療法であることに異論は無い。

そこで、我々は癌組織に特異的に集積する高分子ナノミセルによる DDS (Drug Delivery System) に加え、肝細胞癌の描出と薬剤の集積を放射線被曝を伴わずリアルタイムに把握することが出来る MRI (磁気共鳴画像) に着目した。

高分子ナノミセルは血管透過性が亢進した腫瘍組織に特異的に集積する EPR 効果 (Enhanced permeation and retention effect) を有しており、癌治療に対する DDS として期待されている。滋賀医科大学外科学講座と東京大学工学部片岡研究室は MR 陽性造影剤である Gd-DTPA (ガドリニウム - ジエチレントリアミン五酢酸) と白金系抗癌剤のオキザリプラチンの誘導体であるダハプラチン (DACHPt) を同時に内包させた高分子ナノミセル (Gd-DTPA/DACHPt ナノミセル) を開発し、マウス膵癌 (MiaPaca) モデルにおいて MRI 画像により高分子ミセルの腫瘍への集積とその治療効果を確認した。

この Gd-DTPA/DACHPt ナノミセルを肝動脈より MRI により観察しながら直接肝臓内に投与すれば、必要最小限の抗癌剤を腫瘍に到達させることができ、EPR 効果により腫瘍内に留まるために動脈塞栓が不要となり、肝障害の軽減が期待できると考えられた。また、腫瘍の vascularity に左右されない治療が可能になると考えた。

2. 研究の目的

高分子ナノミセルは血管透過性が亢進した腫瘍組織に特異的に集積する EPR 効果を有しており、MR 陽性造影剤である Gd-DTPA と白金系抗癌剤のダハプラチン

(DACHPt) を同時に内包させることにより、リアルタイム MR 画像により高分子ナノミセルの腫瘍への集積・滞留を観察し、同時に抗腫瘍効果も得ることが可能である (見える抗癌剤)。本研究では、ラット肝細胞癌モデル (N1S1) に対し、高分子ナノミセル (Gd-DTPA/DACHPt ナノミセル) を作成し、MRI で確認しながら肝動脈に留置したカテーテルより動脈注射を行い、腫瘍の縮小率、肝機能等の血液検査およびラットの生存率により治療効果を評価する。以上より、抗癌剤と MRI 造影剤の両方を同時に内包した高分子ミセルによる可視化ドラッグデリバリーシステム (visible-DDS) による、MR 画像誘導下の新しい肝細胞癌治療法を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

使用動物: rat/SD/male/50 匹/7-9 週齢

ラット肝癌細胞株 (N1-S1)

肝腫瘍モデルの作製: ラット肝癌細胞 (N1-S1) 0.25ml (5×10⁸ 個/1ml) をラット肝臓に直接移植する。移植後 9 日前後経過し、腫瘍が肝内にて 1cm 前後に発育させたものを使用する。

ラット肝動脈にカテーテルを留置する。

ナノミセルの投与と MRI 撮影

1.5 テスラ MRI 装置を用い T1WI にて以下の如く撮像する。

1) 肝動脈からのナノミセル投与群

1. Gd-DTPA/DACHPt ナノミセル注射前
2. Gd-DTPA/DACHPt ナノミセル注射後
Dynamic: 30 秒後、120 秒後、5 分後、10 分後、30 分後、1 時間後、2 時間後、3 時間後、24 時間後、3 日後、7 日後、14 日後

2) コントロール群 (肝動脈から同量の生食投与)

1. Gd-DTPA/DACHPt ナノミセル注射前
2. Gd-DTPA/DACHPt ナノミセル注射後
Dynamic: 30 秒後、120 秒後、5 分後、10 分後、30 分後、1 時間後、2 時間後、3 時間後、24 時間後、3 日後、7 日後、14 日後

3) Oxaliplatin 投与群 (肝動脈から 8mg/kg 濃度の Oxaliplatin 投与)

1. Gd-DTPA/DACHPt ナノミセル注射前
2. Gd-DTPA/DACHPt ナノミセル注射後
Dynamic: 30 秒後、120 秒後、5 分後、10 分後、30 分後、1 時間後、2 時間後、3 時間後、24 時間後、3 日後、7 日後、14 日後

MRI 画像による治療効果の評価と組織学的評価: 上記のうち 1 時間後、24 時間後において 2 匹のラットにおいて MRI

撮影後直ちに肝臓を摘出し 10%ホルマリン液で固定する。MRI 画像と同一面にて固定組織標本を作製、Hematoxylin-Eosin stain を行いMRI による画像と比較し治療効果を評価する。また、血液検査により肝機能障害や腎機能傷害について評価を行う。ラットが死亡した場合は同様の評価を行う。

MRI による腫瘍縮小効果の評価、および各群の生存時間を評価する。

4. 研究成果

当研究では、プラチナ系抗がん剤である DACHPt と、T1 強調 MRI 造影剤である Gd-DTPA の両方を内包した DACHPt/GdDTPA 内包高分子ミセルを作成し、N1-H1 hepatoma cell をラットの肝臓に移植して作成した肝癌モデルにおいて、肝動脈より当該ミセルを注入し、MRI 造影効果と抗腫瘍効果の両方を確認することができた。当該ミセルは高分子ミセルとして約 33nm のサイズであり、EPR 効果により血管透過性の亢進した腫瘍組織内部の血管から腫瘍内に選択的に送達でき、長い血中滞留性を有し、またミセル崩壊が徐々に進むことから、内包する薬剤の徐放性をあわせもつことを確認した。さらに、MRI 造影効果の指標である緩和能は Gd-DTPA(3.4mM·1S⁻¹)に比べ 20 倍以上(80.7 mM·1S⁻¹)を示した。これは、ミセル内部で Gd-DTPA がポリマーの疎水基と結合することで固定化されるためにこのような効果が現れると考えた。このミセルを HCC 移植ラットモデルに投与したところ、oxaliplatin 投与群に比べ有意に腫瘍の成長を抑制し(Fig.1)、生存日数もミセル投与群が oxaliplatin 投与群、生理食塩水投与群に比べて有意に延長した。MRI 造影効果も、同濃度の Gd-DTPA 投与群に比べ、腫瘍の造影効果は有意に高く、かつ3時間以上持続した(Fig.2)。

このように抗腫瘍効果と MRI 造影効果を同時に併せ持つ高分子ナノミセルの効果をラット肝癌モデルにおいて確認できた報告は他に例をみない結果となった。

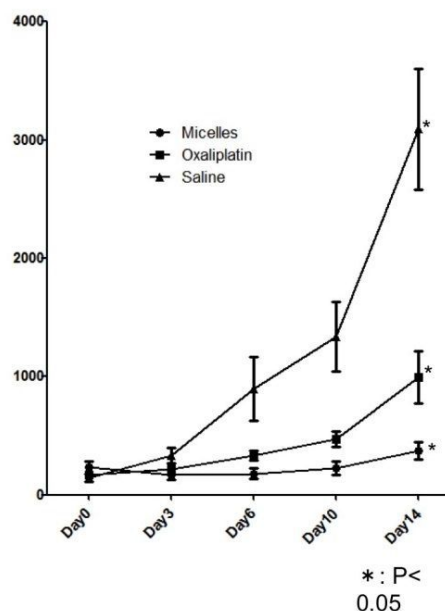


Fig.1 Gd-DTPA/DACHPt ナノミセルによる肝癌腫瘍の増殖抑制効果

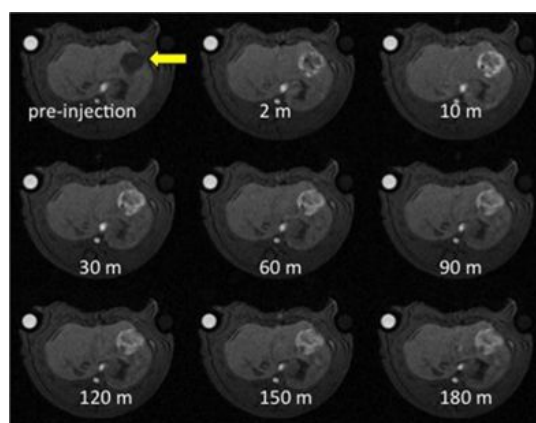


Fig.2 ラット肝細胞癌への Gd-DTPA/DACHPt ナノミセルの集積 (T1W1, 1.5T MRI)

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)

Nguyen Quoc Vinh, S Naka, H Cabral, H Murayama, S Kaida, K Kataoka, S Morikawa and T Tani MRI-detectable polymeric micelles incorporating platinum anticancer drugs enhance survival in an advanced hepatocellular carcinoma model. International Journal of Nanomedicine 2015;10 4137-47 (査読あり)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

貝田 佐知子 (KAIDA Sachiko)
滋賀医科大学 医学部 特任助教
研究者番号：70710234