

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：「DDS 技術」（治療抵抗性がんの標的治療を実現する先進的 DDS 技術開発）
2. 研究開発代表者：片岡 一則（国立大学法人東京大学 大学院工学系研究科/医学系研究科）
3. 研究開発の成果

## 1) 治療抵抗性がんを標的化する高分子ミセルの機能評価

ヒト肺がん由来H460細胞およびマウス腎がん由来Renca細胞の同所移植モデルに対して、スタウロスポリン (STS) とエピルビシン (EPI) を同時に内包した pH 応答性高分子ミセルを投与し、その治療効果を評価した。その結果、STS/EPI 内包ミセルによる治療は両モデルに対して顕著な腫瘍増殖抑制効果を示し、マウスの生存期間を大幅に延長させることが明らかになった。また、高分子ミセルにより、STS と EPI のがん集積性の向上が確認された。

## 2) 環状 RGD ペプチド導入高分子ミセルの機能および安全性の検証

がん幹細胞マーカーCD44<sup>v</sup>陽性のヒト扁平上皮がん由来OSC-19細胞の皮下移植モデルに対して、環状 RGD ペプチドを導入したDACHPt内包高分子ミセルを投与し、その治療効果を検討した。その結果、環状 RGD ペプチド導入DACHPt内包高分子ミセルは、 $\alpha_v\beta_3$ および $\alpha_v\beta_5$ インテグリンを介して効率的に細胞内に取り込まれ、顕著な腫瘍増殖抑制効果を示し、その結果としてマウスの生存期間の大幅延長をもたらすことが明らかになった。

## 3) 治療抵抗性がんを標的化する高分子ミセルの機能評価

抗組織因子(TF)抗体フラグメントの高分子ミセルへのClick反応による導入方法の最適化を行った。固形がんに対して承認薬レザフィリンを用いた光線力学治療(PDT)を行ったところ、腫瘍内部におけるTF発現量の増大が確認されたため、抗TF抗体導入高分子ミセルを静脈内投与した結果、PDTによる固形がんへのミセルの短時間での集積が確認された。この結果は、放射線治療やPDT等の物理エネルギー治療と抗TF抗体フラグメント導入ミセルの併用治療の可能性を示唆するものであり、臨床応用において極めて有益な知見である。

## 4) キメラ抗TF抗体導入ミセルの構築と薬効評価

抗組織因子(TF)抗体について、ヒトキメラ化を行った。次いで、IgG型からF(ab')<sub>2</sub>とFab'の2種類のフラグメント化の最適条件を確立した。抗体側のSH基とミセル側のマレイミド基を反応させることで、3種類の抗TF抗体(IgG/F(ab')<sub>2</sub>/Fab')導入ミセルを作製した。in vitroの殺細胞効果とin vivo膵臓がんモデルでの治療実験の両方において、3種類の抗体導入ミセルはいずれも抗体導入無しの通常型ミセルよりも、より強い殺細胞効果と抗腫瘍効果を示した。IgG導入型、F(ab')<sub>2</sub>導入型、Fab'導入型の順に、強い抗腫瘍効果を認めた。抗原結合部のAvidityによるActive targeting能の差によるものと思われる。以上のように、抗TFキメラ抗体を産生・精製条件の最適化と、TF高発現の膵臓がんモデルに対して、キメラ抗TF抗体導入ミセルのin vivoにおける有効性を明らかにすることができた。

## 5) ナノDDSを用いた音響化学療法(SDT)の最適化

集束超音波(HIFU)を照射可能な担がんマウスモデルの作製方法を検討し、ヌードマウスの太腿部皮下にヒト膵癌細胞(Mia-PaCa2)を移植し35日間生育して作製する方法(条件)を開発した。同時にSDT治療パラメータ(薬剤投薬量とHIFU照射強度)の最適化を行い、ヒト膵がん細胞の固形がんモデルに対するSDTを実施した。その結果、EPI内包ミセルとHIFU(2760W/cm<sup>2</sup>および360W/cm<sup>2</sup>)の組み合わせにおいて顕著な抗腫瘍効果が確認された。ここで、15日間の観察期間中、マウス死亡例はなかった。以上のように、膵がんモデルに対してDDSとHIFUを組み合わせたSDTの有効性を明らかにすることができた。