

多血管性腫瘍における EGFR 親和性 新規 Drug delivery system の抗腫瘍効果の検討

名古屋大学医学部附属病院
消化器外科 2 病院助教

林 真路

1. 研究の背景・目的

肝胆道領域の癌は難治である。この大きな要因の 1 つとして、使用できる化学療法
の選択肢の少なさが挙げられる。従来 of 抗癌剤に加えて、分子標的治療薬、免疫療法
が使えるようになった昨今だが、さらなる option として、drug delivery system (DDS)
が検討されるようになってきている。DDS は既存の抗癌剤を内包して使用するという
点でも、その tumor specific delivery は副作用の軽減につながるという点でもより
安価な製剤だと考えられる。

bovine milk から精製して得た milk derived colloid (MDC) は 10000Da を超える大
きな粒子からなり、p-glycoprotein を介した細胞外流出をきたしにくく、また細胞内
で lysosome に取り込まれると、lysosome の自壊を引き起こし物理的に細胞死をきたす。
この作用機序は、遺伝子異常をきたした癌細胞でも有効に働くことが期待されること
から、薬剤耐性を克服する DDS として使用できる可能性がある。

この新規 DDS のもつ細胞傷害性、腫瘍選択性を確認し、最終的に in vivo で抗腫瘍
効果を確認する。

2. 研究の対象ならびに方法

我々が開発した MDC はもともと家畜の乳腺症治療薬として開発されたものである。

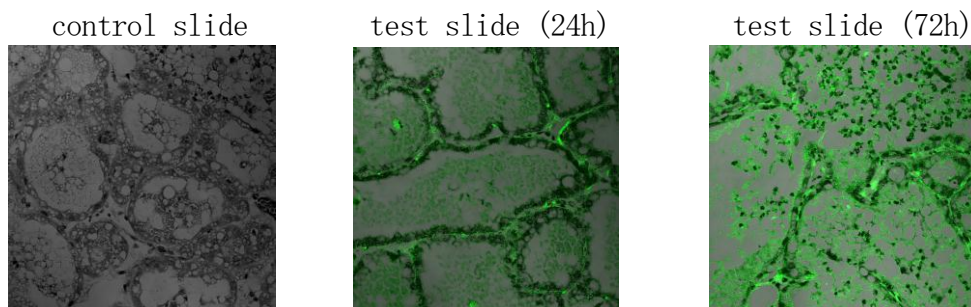
① 乳腺組織への MDC の局注によりおこる組織変化を観察しその細胞傷害性を確認する。

② DDS にはもともとその 100nm 前後の粒子径から、enhanced permeation and retention
effect (EPR 効果) と呼ばれる受動的な腫瘍選択性が働くことが知られている。しかしこ
れに加えて強い能動的な腫瘍選択性を持つことが、より強力な抗腫瘍効果をもたせる
上では必要不可欠とされており、in vitro の結果から何らかの細胞表面マーカー指向
性がないかを検討する。

③ 既存の抗癌剤内包型 MDC を作成し、in vivo でその抗腫瘍効果を検討する。

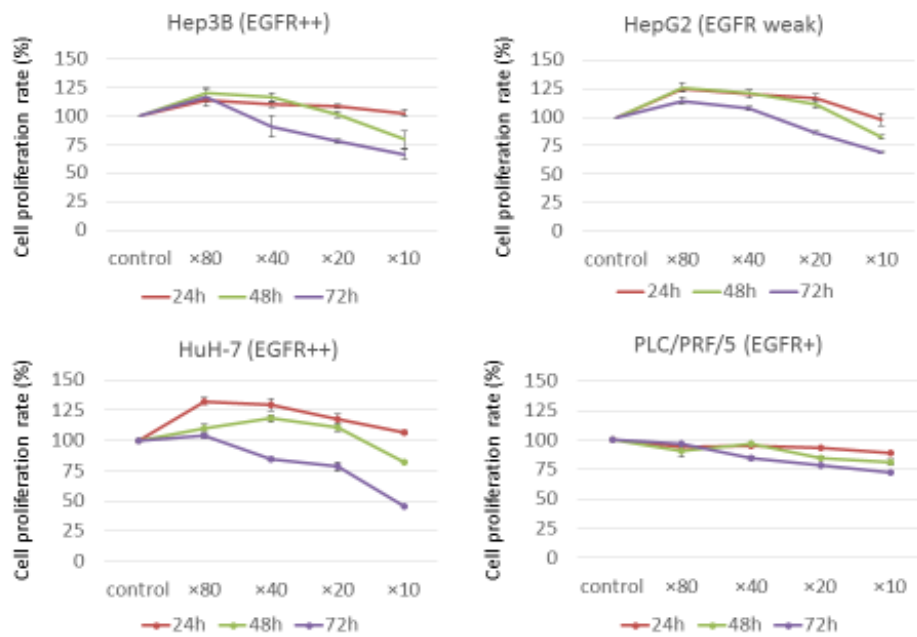
3. 研究結果

① マウスの乳腺組織に MDC を局注し、その細胞傷害性を確認した。

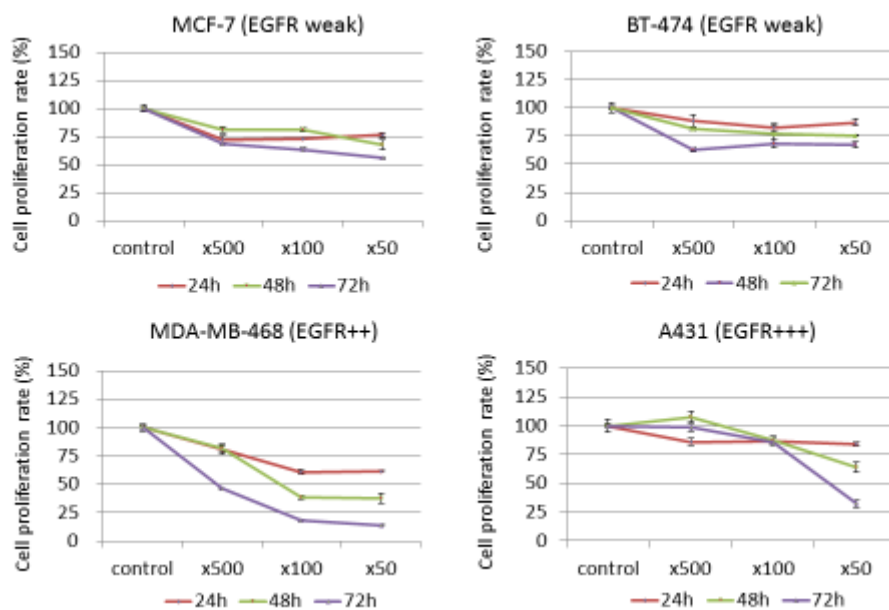


腺管内への脂肪滴（ミルク）の分泌が止まり、やがて乳腺組織が壊されていく様子が観察された。

② 種々の濃度の MDC を肝癌細胞株に投与し、細胞増殖能の変化を観察した。



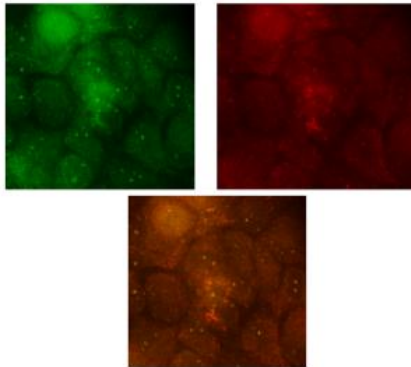
EGFR 強陽性の細胞（Hep3B、HuH-7）では、弱陽性の細胞（HepG2、PLC/PRF/5）と比較して特にその高濃度領域で大きな抗腫瘍効果の変化を認めた。



これは他癌腫の EGFR 強陽性/陰性細胞を用いた実験でも同様の傾向を認めた。MDC に EGFR 指向性がある可能性が示唆された。

その後 MDC が細胞内に取り込まれた際、MDC は lysosome に取り込まれることが想定され、その局在について lysosome 染色を行って検討した。

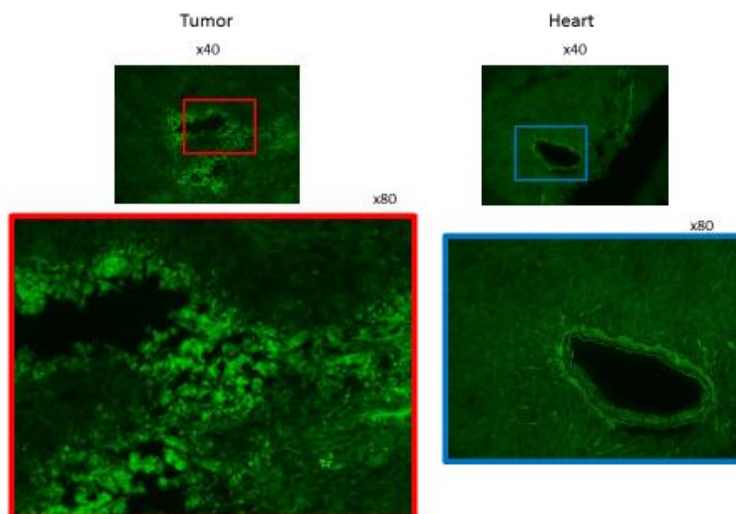
Lysosome (赤) 投与10時間後 MDC (緑) 投与6時間後



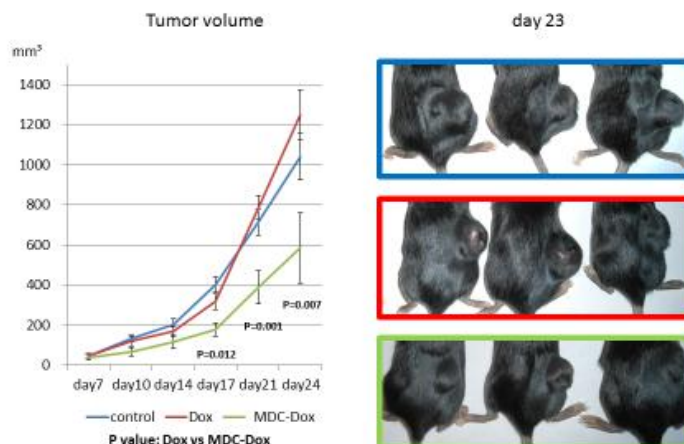
lysosome のうちの数か所に FITC 標識した MDC が取り込まれている様子が観察された。

③ 既存の抗癌剤内包型 MDC を作成し、in vivo でその抗腫瘍効果を検討する。
まずのマウス尾静脈投与により、MDC が EPR 効果を経て本当に腫瘍選択的に集積するかを確認した。

マウスメラノーマ細胞株の皮下腫瘍モデルにおいて、FITC 標識した doxorubicine 内包型 MDC を経尾静脈的に投与したところ、心臓への集積は殆どなかった一方で、腫瘍部への良好な集積を認め、MDC の腫瘍選択性が確認できた。



現在種々の抗癌剤 (doxorubicin、erlotinib、nedaplatin、paclitaxel) を内包した MDC を作成中であるが、想定よりも時間を要しており、この部分についてはさらなる時間を要する。doxorubicin 内包 MDC 製剤 (MDC-dox) を乳癌細胞株皮下腫瘍モデルに投与した過去のデータを以下に示す。



doxorubicine 単剤投与群と比較してMDC-dox 群では有意な腫瘍増殖抑制効果が観察できた。

4. 考察

MDC の抗腫瘍効果、腫瘍選択性について肝細胞癌で観察できた。しかし nano-sized drug の開発上の課題として、最終的には癌細胞への permeability が問題となる。この点で、EGFR 指向性・親和性の mechanistic な確認と、多血管性腫瘍である肝癌細胞を用いた in vivo での評価が必要だと考えている。

5. 文献

1: Rapoport N, Gao Z, Kennedy A. Multifunctional nanoparticles for combining ultrasonic tumor imaging and targeted chemotherapy. J Natl Cancer Inst. 2007 Jul 18;99(14):1095–106. Epub 2007 Jul 10. PubMed PMID: 17623798.

2: Bourzac K. Nanotechnology: Carrying drugs. Nature. 2012 Nov 22;491(7425):S58–60. PubMed PMID: 23320289.

3: Cabral H, Matsumoto Y, Mizuno K, Chen Q, Murakami M, Kimura M, Terada Y, Kano MR, Miyazono K, Uesaka M, Nishiyama N, Kataoka K. Accumulation of sub-100 nm polymeric micelles in poorly permeable tumours depends on size. Nat Nanotechnol. 2011 Oct 23;6(12):815–23. doi: 10.1038/nnano.2011.166. PubMed PMID: 22020122.

研究実績報告書

研究実績報告書