

神戸薬科大学

事業実施期間：開始 平成31年4月1日～終了 令和3年3月31日

申請者役職・氏名 薬品物理化学研究室・講師 佐野 紘平

研究・事業名

がんのセラノスティクスに資する薬剤開発

交付申請内容

研究・事業の目的及び意義

ポリエチレングリコール(PEG)をはじめとする生体適合水溶性ポリマーは、医薬品の可溶化剤や安定化剤等として臨床利用される一方で、水溶性ポリマー自体ががん組織に集積性を示すか否かについては殆ど明らかにされておらず、未開拓の研究領域である。本研究では、水溶性ポリマーが、がんへの薬物送達キャリアとして幅広く展開できる可能性に着目し、様々な分子構造的特徴を有する水溶性ポリマーを合成し、それらのがん集積性を含む生体内分布について詳細に検討する。さらに、水溶性ポリマーの特徴のひとつである熱応答凝集作用に着目し、熱をトリガーとしたがん組織へのポリマー送達量の増強、ならびに抗がん剤結合体を用いるがん治療の可能性を検証する。以上の検討により、水溶性ポリマーを基盤とするがんのセラノスティクス(治療 Therapeutics+診断 Diagnostics)薬剤を開発し、がん診断・治療分野の発展に寄与することを目的とする。

研究・事業の方法及び手段

本研究では、がんのセラノスティクス薬剤の開発を以下のよう

- (i) 臨床応用を見据えて、生体適合性の良好なポリオリゴエチレングリコールメタクリレート(POEGMA)誘導体等を母核とする放射性標識体を合成し、その物性を評価する。
- (ii) がん細胞への取り込み機構および体内動態を詳細に評価し、がんを標的とするインビボ診断薬としての可能性を検証する。(Diagnostics)
- (iii) 水溶性ポリマーの特長のひとつである熱応答凝集作用を利用した、がん治療用薬剤としての有効性について評価する。(Therapeutics)

申請者は最近、PEG、ポリオキサゾリン(POZ)、ポリサルコシン(PSar)が、がん組織への薬物送達キャリアとして有用であることを報告してきた。興味深いことに、PSarは投与後早期から高いがん集積性を示す等、ポリマーの分子構造学的特徴ががん集積性に影響を及ぼす可能性を認めた。本研究では、様々なポリマーの放射性標識体を開発し、それらのがん細胞への取込み機構および生体内放射能分布を解析することで、がんへの能動的な集積性を示すポリマーを見出すとともに、得られた知見を基に、その分子構造学的な特徴について詳細に検証する。

一方、水溶性ポリマーの熱応答凝集作用に着目し、図1に示すように、抗がん剤修飾ポリマーを(A)腫瘍内投与して体温条件で凝集・滞留させる、また、(B)温熱療法等の手法と組み合わせて、静脈内投与したポリマーをがん部位に集積させる手段を考え、がん組織特異的に抗がん剤を高く集積させる新たながん治療法の構築を目指す。本研究で得られる成果はこの分野を先導し、生体適合水溶性ポリマーを母核とするがんのセラノスティクス薬剤開発の基盤構築に貢献できるものと考ええる。

研究・事業の特徴(新規性、独自性等)

先述の通り、臨床利用される水溶性ポリマーは多数存在するが、それ自体を疾患(がん)標的薬物送達キャリアとして利用した例は殆ど報告されていない。また、本研究で提案するような、熱によるポリマーの凝集特性を利用する薬剤設計、さらにはそれに基づくがん治療法は報告されておらず、非常に独創的な着眼に基づくものであり、高分子化学、創薬化学、生命科学、放射線科学、薬物動態学の領域に渡る新しいがん治療法の構築を目指したものである。申請者はこれまでに、抗体、ナノ粒子、ポリマー等の高分子を用いたイメージングおよび治療研究に従事した経験を有しており(ACS Nano, 7:717 (2013)、Mol Cancer Ther, 13:426 (2014)、J Nucl Med, 58:1380 (2017) 他)、本研究ではこれらの技術を活かして“がんのセラノスティクスに資する薬剤開発”に取り組む。

特に申請者は、POZの側鎖を化学的に構造修飾し、複数の蛍光色素および放射性同位元素を導入することで、蛍光/光音響/核医学マルチモダリティイメージング剤としての有用性を報告してきた(Sci Rep. 6:33798 (2016)、ACS Appl Polym Mater. 1: 953 (2019))。これらと同様に、今回開発するポリマーにがん標的薬剤等の機能性分子を導入することで、がんへの薬剤集積性の更なる向上が期待される。

また、イメージング剤をポリマーに導入することで、加温時のシグナル上昇を指標とした治療効果予測が可能となり、診断から治療への効率的なワークフローを構築できると考えられる。さらに、近年高い注目を集める α 線放出核種あるいは他の抗がん剤等を導入することで、治療の適用範囲が広がるもの

研究・事業により期待される効果

がんは死因の第一位で、全体の約3割を占めており、がんに対する施策として平成24年に発表されている「がん対策推進基本計画」において、その早期発見、治療法の更なる充実、ケア等の重要性が求められている。さらに、平成26年3月には「がん研究10カ年戦略」が策定されたが、その戦略のひとつとして“患者に優しい新規医療技術開発に関する研究”が推進され、その中に次世代ドラッグデリバリーシステム製剤の開発が挙げられている。本研究の目的でもあるように、がんの化学療法において、抗がん剤の生体内分布を量的かつ時空間的に制御し、がん特異的な治療効果を達成することは、がんの根治に繋がるのみならず、正常組織における副作用を低減し、患者の苦痛の軽減と療養生活の質の維持向上に貢献するものと期待される。

また、これまでに様々な研究領域で開発されてきた数多くのポリマーの中には、疾患(がん)への標的性や熱応答凝集性を含む特徴的な物理化学的特性を持つ可能性のあるもの(スマートポリマー)が存在すると考えている。本研究では、スマートポリマーを母核とするがんのセラノスティクス薬剤の創薬基盤を形成するという新たな研究領域を拓き、高分子材料を医療分野に幅広く適用する道筋を築くことが出来るものと考えられる。本研究課題の達成により、がん部位特異的な高い診断・治療効果が期待できると同時に、効率的かつ適切な治療実施推進により、治療効果の向上、より効果的で安全性の高い個別改良の促進への寄与が期待される。

(図1)

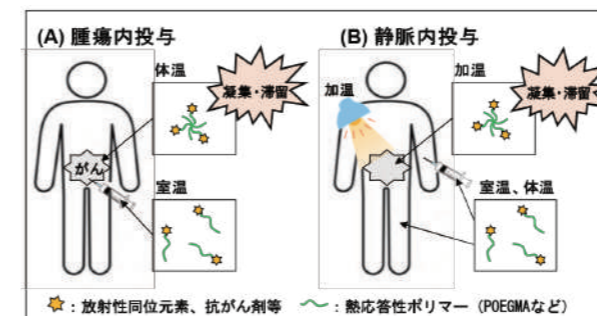


図. 水溶性ポリマーの熱応答凝集性を利用する新規がん治療戦略

実績報告内容

研究・事業の方法及び手段

本研究では、がんの高精度な診断および治療(セラノスティクス)に資するポリマー型薬剤の開発を目的とし、以下の方法に従い研究を進めた。

- ①臨床応用を見据えて、生体適合性の良好なポリオリゴエチレングリコールメタクリレート(POEGMA)誘導体等を母核とする放射性標識体および蛍光標識体を合成し、その物性を評価した。
- ②がん細胞への取り込みおよび体内動態を評価し、がんを標的とする診断薬としての可能性を検証した。
- ③水溶性ポリマーの特長のひとつである熱応答凝集作用を利用した、がん治療用薬剤としての有効性について評価した。

研究・事業の内容及び目標達成状況

本研究では、「水溶性ポリマーを母体とするがんの診断薬および治療薬(セラノスティクス薬剤)の開発」を目的とし、臨床応用を見据えて、生体適合性が良好な、POEGMA誘導体およびPOZ誘導体を基盤とする薬剤開発を進めた。

POEGMA、POZ誘導体を基盤とするがん診断用薬剤の開発
ポリマー側鎖にエチレングリコール(EG)鎖をブラシ状に配列した構造を有するPOEGMA誘導体(図1)とその放射性標識体および蛍光標識体を合成した。いずれも高い収率で得ることに成功した。

まず、POEGMA誘導体について、マウス結腸がん細胞(Colon26)への取り込みを蛍光顕微鏡により評価した結果、比較対照であるPEG誘導体と比べて顕著に高い細胞内取り込みを認めた。これにより、POEGMA誘導体のがん細胞への取り込みにおける能動的な輸送経路の関与が示唆された。続いて、Colon26細胞を移植した担がんマウスに放射性標識POEGMA誘導体を投与し、生体内放射能分布を評価した(図2A)。その結果、POEGMA誘導体の分子量が増加するにつれて、血中滞留性が延長する傾向を認めるとともに腎臓への集積が低減し、肝臓や脾臓への集積が増加した。また、20kDa以上の分子量域において、POEGMA誘導体はがんへ高く集積し、主にEnhanced Permeability and Retention(EPR)効果を介したがん集積が示唆された。特に20kDaのPOEGMA誘

導体が比較的がんへ高く集積し、良好ながん対正常組織比を示したことから、これを用いてポリマー側鎖のEG鎖長の影響について評価した。EG鎖長が長いPOEGMA誘導体[2,8]は肝臓へ高く集積した。一方、EG鎖長に依らず、POEGMA誘導体はがんへ高く集積したが、特にEG鎖長が比較的短いPOEGMA誘導体が良好ながん対正常組織比を示した。これらの検討を踏まえ、分子量が20kDaかつEG鎖長が[2,3]もしくは[2,4]のPOEGMA誘導体が、がん診断用薬剤のキャリアとして有効である可能性を示した。そこで、最適化されたPOEGMA[2,3]の蛍光標識体を担がんマウスに投与し、プローブのがんへの集積をインビボ蛍光イメージングにて評価した結果、投与後早期にがんが明瞭に描出された(図2B)。

なお、上記の研究成果は、2020年3月の日本薬学会第140年会、2020年8月の第36回日本DDS学会学術集会、2021年3月の日本薬学会第141年会において発表した。また、ACS Appl Polym Mater誌(4, 4734-4740(2022))に論文報告した。

POZ誘導体については、これまでに、その蛍光標識体がEPR効果を介してがん組織へ高く集積することを報告している(Sci Rep, 2016, ACS Appl Polym Mater, 2019)。本研究においては、POZ誘導体のがん集積性のさらなる改善を目指し、側鎖にがん標的認識部位(葉酸)を導入した薬剤を開発した。まず、POZ骨格に葉酸誘導体および蛍光色素を順次反応させることにより目的の薬剤を合成した。本薬剤は、インビトロにおいてFA受容体を高発現する卵巣がん細胞に高く取り込まれ、また、その取込みは過剰量のFAの同時添加により抑制されたことから、FA受容体特異的な結合が示唆された。さらに、インビボ蛍光イメージング実験において、本プローブが腹膜播種した卵巣がんを検出できる可能性を認めた(図3)ことより、葉酸受容体を標的とするがん蛍光イメージング用薬剤として有用である可能性が示された。なお、これらの研究成果は、2019年10月の第69回日本薬学会関西支部総会・大会、2020年3月の日本薬学会第140年会、2020年10月の第79回日本癌学会学術総会において発表した。また、ACS Appl Polym Mater誌(3, 4889-4895(2021))に論文報告した。

POZ誘導体を基盤とするがん治療用薬剤の開発

POZについては、がん組織を加温処置した場合、熱に応答した凝集効果を介して、がんへのポリマー送達量が2倍程度増加することを報告している(Mol Pharm, 2018)。本研究では、治療用放射性同位元素であるイットリウム-90(⁹⁰Y)で標識し

たPOZ誘導体を新たに合成し、それを用いたがん治療実験を実施した。Colon26細胞を腰背部に移植したマウスを用い、事前にかん部位を加温した後、⁹⁰Y標識POZ誘導体を投与し、さらにかん部位を42°Cで1時間加温した。その後、がんのサイズを経時的に測定することで抗腫瘍効果を調べるとともに、副作用評価として体重測定および血球数測定を実施した。非処置群、加温群(⁹⁰Y標識POZの投与なし)あるいは⁹⁰Y標識POZ投与群(加温処置なし)と比較して、加温処置と⁹⁰Y標識POZの投与を組み合わせた群で腫瘍の成長がより効果的に抑制された。また、そのがん成長抑制効果は投与放射線量依存性であった。⁹⁰Y標識POZ投与群を含むすべての群において、体重の減少は見られず、また、白血球数にも大きな減少は認められなかった。以上の結果より、温熱療法と⁹⁰Y標識POZの投与を組み合わせることで、重篤な副作用を伴うことなく、高いがん治療効果を達成できる可能性が示された。なお、これらの研究成果は、2019年10月の第69回日本薬学会関西支部総会・大会、2019年11月の第59回日本核医学会学術総会、2020年3月の日本薬学会第140年会において発表した。

以上、本研究は、POEGMA、POZ誘導体を用いたがんのセラノスティクス薬剤の開発を行った。POEGMA誘導体については、その放射性標識体および蛍光標識体を新たに合成し、がん診断薬のキャリアとして最適なポリマー構造を見出したことから、一定の目標を達成できたと考えている。また、熱に応答し凝集するPOZ誘導体を用いて、がんの温熱療法と組み合わせることで高いがん増殖抑制効果を示す、新たながん治療法の開発に成功した。さらに、POZ誘導体についてはFA受容体に対する分子標的性を持たせた薬剤を開発し、卵巣がんの検出に成功するなど、目標以上の成果を得ることができた。一方で、事業化に向けての企業との話し合いは進んでおらず、今後の課題である。

研究・事業により期待される効果/ 神戸医療産業都市の発展に与える効果

がんに対する施策として発表されている「がん対策推進基本計画」や「がん研究10カ年戦略」において、がんの早期発見、治療法の拡充、さらには、患者に優しい新規医療技術開発の推進が重要だとされている。次世代ドラッグデリバリーシステム製剤の開発に対する期待は高く、がんの化学療法において、抗がん剤の生体内分布を量的かつ時間的に制御し、がん特異的な治療効果を達成することは、がんの根治に繋がるのみならず、正常組織における副作用を低減し、患者の苦痛の軽減と療養生活の質の維持向上に貢献するものと考えられる。実際、本研究課題において、ポリマーを基盤とする放射性薬剤開発を推進し、既存治療法である温熱療法との組み合わせにより、重篤な副作用を伴うことなく、高い抗がん作用を示す可能性を明らかとした。ポリマーに対する化学修飾の容易性の観点から、今後様々な抗がん剤(近年注目を集めている α 線放出核種等)を導入し、より高いがん治療効果を示す薬剤開発へと繋げていけるものと期待できる。

また、これまでに様々な研究領域で開発されている多くのポリマーの中には、疾患への標的性や特徴的な物理化学的特性を持つものが存在すると考えており、これらのポリマーを母核とすれば、高分子材料を医療分野に幅広く適用する道筋を築くことができると期待できる。本研究では、今回新たにPOEGMA誘導体のがん細胞に対して能動的に取り込まれる可能性を見出し、診断薬のキャリアとしての有効性を示すことに成功したが、治療薬への展開も大いに期待できる。今後、ポリマー材料を所有される神戸市の企業との連携を深め、より革新的なポリマー型薬剤の開発を推進することで、神戸発「ポリマーを基盤とする医薬品開発産業」の発展に貢献できるものと考えている。

今後の展開

がんへの集積を確認したPOEGMA誘導体およびPOZ誘導体については、種々のがん細胞を用いて取り込みメカニズムやがん組織への集積性の違いについて詳細な評価を進めていきたい。POZ誘導体については良好ながん治療効果を示すことが出来たが、POEGMA誘導体についても同様の検討を行っていきたいと考えている。

今現在、本研究で開発したポリマー型プローブの事業化検討に向けて開発企業の選定には至っていない。早急に企業との話し合いを進め、ポリマー型セラノスティクス薬剤開発の方向性を協議し、より最適な薬剤開発へと繋げていきたい。

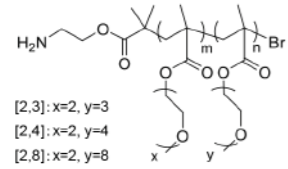


図 1. POEMGA 誘導体の構造式

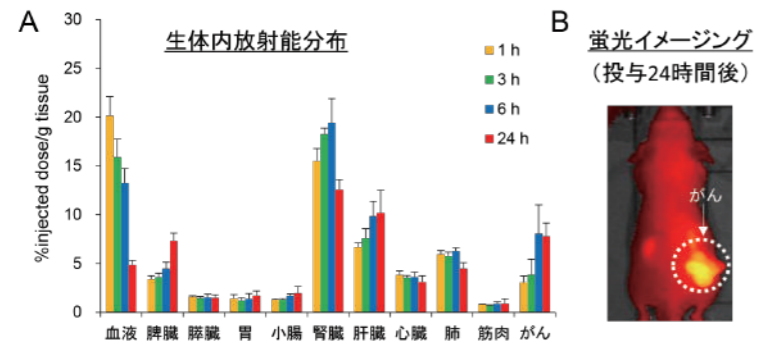


図 2. POEMGA 誘導体[2,3]の生体内放射能分布 (A) およびインビボ蛍光イメージング (投与24時間後) (B)

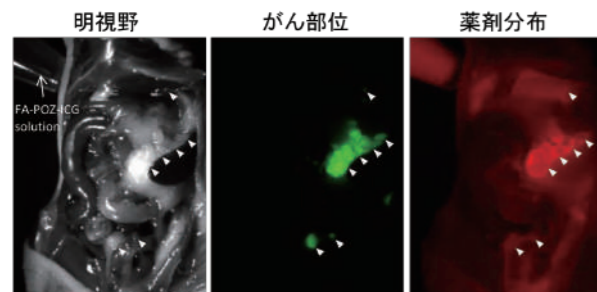


図 3. 葉酸結合 POZ プローブを用いた腹膜播種卵巣がんの蛍光イメージング