

腫瘍内細菌を標的とした抗菌薬-ゲムシタビン複合体による 新規ナノ粒子抗がん薬の開発

[1] 組織

代表者：小関 良卓

(東北大学多元物質科学研究所有機・バイオナノ材料研究分野)

対応者：西條 憲

(東北大学加齢医学研究所臨床腫瘍学分野)

分担者：笠井 均、柴田 暁貴

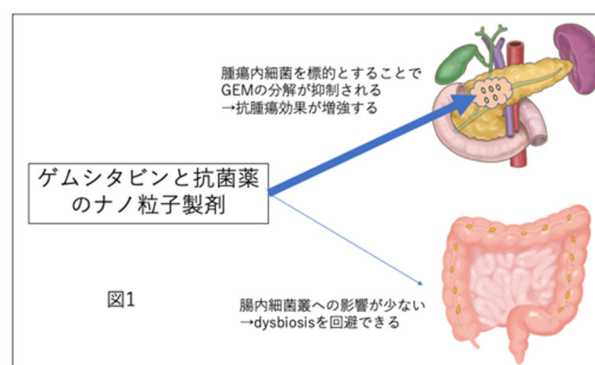
(東北大学多元物質科学研究所有機・バイオナノ材料研究分野)

研究費：物件費 20 万円

[2] 研究経過

近年マイクロビオームの解析が進み、腸内細菌叢ががんを含む様々な疾患と関連していることが明らかになってきた。さらに多くの腫瘍組織内からも細菌が検出され、発がん、診断、治療効果および予後の関連が報告されている(Science 371:eabc4552,2021)。そのうち、膵がんにおいては、腸内細菌が腫瘍内に移行しており、腫瘍組織内に細菌が検出された群は、検出されなかった群と比較し複数のコホートで予後が不良であったことが報告されている(Cancer Cell 40:1240-53, 2022)。その機序について考察の拠所となる次の報告がなされている。Geller らは担がんマウスモデルにおいて、腫瘍内細菌の持つ cytidine deaminase long form がゲムシタビンを分解していることを見出し、それに対して抗菌薬の投与がゲムシタビンの効果を増強させることを示した(Science 357: 1156-60, 2017)。また、受け入れ教員である西條らは、ゲムシタビンによるがん薬物療法を受けた膵がんを主としたがん患者を対象として、抗菌薬が投与された既往の有無により、ゲムシタビンの効果の差異を後方視的に検証した。その結果、抗菌薬が投与された群で有意にゲムシタビン治療による無増悪生存期間、全生存期間、奏効率が良好であった(Cancer Management and Res11: 7953-65, 2019)。即ち、腫瘍内細菌はゲムシタビンを分解してしまうが、抗菌薬を併用することでより有効なゲムシタビンの抗がん活性が発揮され得る。一方で、抗菌薬の全身投与は腸内細菌叢のバランスの

失調、即ち dysbiosis を引き起こし、下痢や偽膜性腸炎の原因となる(Ther Adv Gastroenterol 15:1-18,2022)。また dysbiosis は腫瘍制御の観点から好ましくない抑制された腫瘍免疫環境を作ることもある(Science 359:91-97,2018)。そこで、腫瘍内細菌だけを標的とできる抗菌薬があれば dysbiosis を生じず、効率的にゲムシタビンの効果を増強できるのではないかと考えた。これには、ドラッグデリバリーシステム(DDS)技術をもちいて、抗菌薬を腫瘍組織のみへ効率的に到達する工夫が必要である(図1)。



代表者である小関は、抗がん性分子に疎水性置換基を導入したプロドラッグ分子を合成した後、独自技術である再沈法を駆使することにより、従来のナノキャリアを使用せずに、プロドラッグ分子のみで構成されるナノ薬剤「ナノ・プロドラッグ」が作製可能であることを世界に先駆けて報告した(Angew Chem Int Ed 51:10315, 2012)。さらに抗がん薬 SN38 のナノ粒子化に成功し、SN38 に比べて約 10 倍の抗腫瘍性を示しつつ、副作用を抑制できることを in vivo 実験にて実証した(Bull Chem Soc Jpn 92:1305,2019)。

本研究では、媒体を用いずに薬剤をナノ粒子化する再沈法の技術を応用し、腫瘍内細菌を効率的に抑制し、ゲムシタビンの効果を増強する、ゲムシタビン-抗菌薬複合体から成るナノ粒子製剤の開発を目的とした。

研究打合せは対面およびメールで 1~2 か月に 1 回程度実施し、代表者らが作製したナノ粒子サンプルの提供や進捗報告を行った。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

I. ナノ・プロドラッグの設計と最適化

①ゲムシタビン+抗菌薬のナノ・プロドラッグの設計と作成

抗がん剤ゲムシタビンと抗生剤抗菌薬に対して、共通の疎水性置換基としてコレステロールを結合させたプロドラッグ分子を合成した。ゲムシタビンはコハク酸をリンカーとしてゲムシタビンのアミノ基と反応させてアミド結合によりコレステロールを導入した (GEM-Chol)。また、抗菌薬はコレステロールとのエステルを形成させることでプロドラッグ化した (ABS-Chol)。続いて、これらの GEM-Chol および ABS-Chol のプロドラッグ分子から再沈法によりナノ粒子の作製を試みた。すなわち、両化合物をテトラヒドロフランに溶解させ混合溶液とした後に、攪拌した水中へ一気に注入したところ、粒径 100 nm 程度のナノ・プロドラッグの水系分散が得られた。

②安定性の検討

GEM-Chol および ABS-Chol から作製したナノ・プロドラッグの安定性を評価したところ、室温保存にて少なくとも 1 週間以上に渡り、粒径を維持することが明らかとなった。今後は安定性プロファイルの取得のため加速試験を実施し、凝集・分解の情報を経時的に収集する予定である。

II. 抗腫瘍効果の検証

既報の実験条件 (Science 357: 1156-60, 2017) に基づき、下記の実験系を確立し、in vitro 膵がん細胞に対する細胞増殖抑制効果の評価により本シーズの効果を検証した。

Citrobacter freundii の培養液を膵がん細胞株 BxPC-3 と共培養した。ゲムシタビン、ゲムシタビンと抗菌薬のナノ・プロドラッグを投与し、膵がん細胞株であるヒト膵がん細胞株 BxPC3 を用いて細胞増殖を MTT アッセイで評価した。また、cytidine deaminase long form を有する細菌 *Citrobacter freundii* を用意し、*Citrobacter freundii* と共培養を経たのちに、膵がん細胞に対する細胞増殖抑制効果を検証する実験系を確立した。この実験系において、共培養を経たゲムシタビンの膵がん細胞に対する細胞増殖抑制効果が減弱すること、また抗菌薬を併用することで、その効果減弱が回復することを確認した。さらにその変化を顕著に観察し得る至適実験条件を見出した。

(3-2) 波及効果と発展性など

膵がんは難治療性がんとして位置付けられ、その治療方法を確立することは社会的意義が大きい。膵癌と腫瘍

内細菌の関係性はつい近年提唱されたばかりであり、本コンセプトを元に開発された治療薬は皆無である。本共同研究により、構造活性相関の解析がスムーズに実施され、より抗がん活性の高い構造への最適化に向けての考察が深まり、新たな化合物デザインの考案につながっている。また、AMED 橋渡しシーズ A への採択へもつながっており、真に効果のある膵がん治療薬開発に向けて、今後さらに研究を加速させる。

[4] 成果資料

本共同研究の成果を直接発表した学会発表、論文等はまだない。本研究をもとに、引き続き共同で研究を遂行し、成果発表につなげる。