

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17638

研究課題名（和文）膵癌神経浸潤に対する新規局所療法：紫外線感受性レクチン融合薬による糖鎖標的治療

研究課題名（英文）A novel UV-controlled cancer therapy using lectin-doxorubicin prodrug conjugate targeting pancreatic cancer glycans

研究代表者

下村 治（Shimomura, Osamu）

筑波大学・医学医療系・講師

研究者番号：60808070

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：膵癌は外科切除しても約80%は腫瘍が残存するとされており、術後も高い確率で再発する。本課題では膵癌細胞に対して、膵癌細胞表面の糖鎖をターゲットとした新しい光免疫療法の開発を目指したものである。膵癌に反応するrBC2LCNレクチンに光感受性物質に抗がん剤（DOX）を添加したBC2-tamaDOXは、膵癌細胞株に対して添加して紫外線を照射した場合にのみ高い抗腫瘍効果を発揮することを確認した。更に効果を高めるため赤外線で殺細胞効果を発揮するIR700を融合したBC2-IR700は、膵癌細胞株、マウスモデルに対して薬剤投与＋赤外線照射の場合に高い治療効果を発揮することが確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵癌は依然として根治切除が唯一治癒へ導く手段であるが、根治切除後も80%以上で再発が確認され、切除後の高い癌細胞の遺残が考えられている。本研究では、遺残する動脈周囲神経叢に術中に、根治切除に加え追加治療が可能な新しい治療法の開発を目指した。我々が同定した膵癌糖鎖を標的としたがん治療法に光免疫療法の融合により、光を照射した部位に殺細胞効果が発揮される可能性がある新しい手法の可能性が見えてきた。今後、すでに臨床応用されている薬剤とレクチンとの融合により、より安全な治療法開発を継続する。本治療が可能となれば、膵癌の外科切除に加えてより強力な治療を加えることが可能となり、根治性が高まると考えている。

研究成果の概要（英文）：It is estimated that about 80% of pancreatic cancer tumors remain after surgical resection, and there is a high probability of recurrence even after surgery. This project aims to develop a new photoimmunotherapy targeting sugar chains on the surface of pancreatic cancer cells. BC2-tamaDOX, which is an anti-cancer drug (DOX) added to a light-sensitive substance in rBC2LCN lectin that reacts to pancreatic cancer, was confirmed to exhibit high anti-tumor effect only when added to pancreatic cancer cell lines and irradiated with UV light. BC2-IR700, which is fused with IR700, which exerts a cell-killing effect in infrared rays to further enhance the effect, was confirmed to exert a high therapeutic effect on pancreatic cancer cell lines and mouse models when the drug was administered plus infrared irradiation.

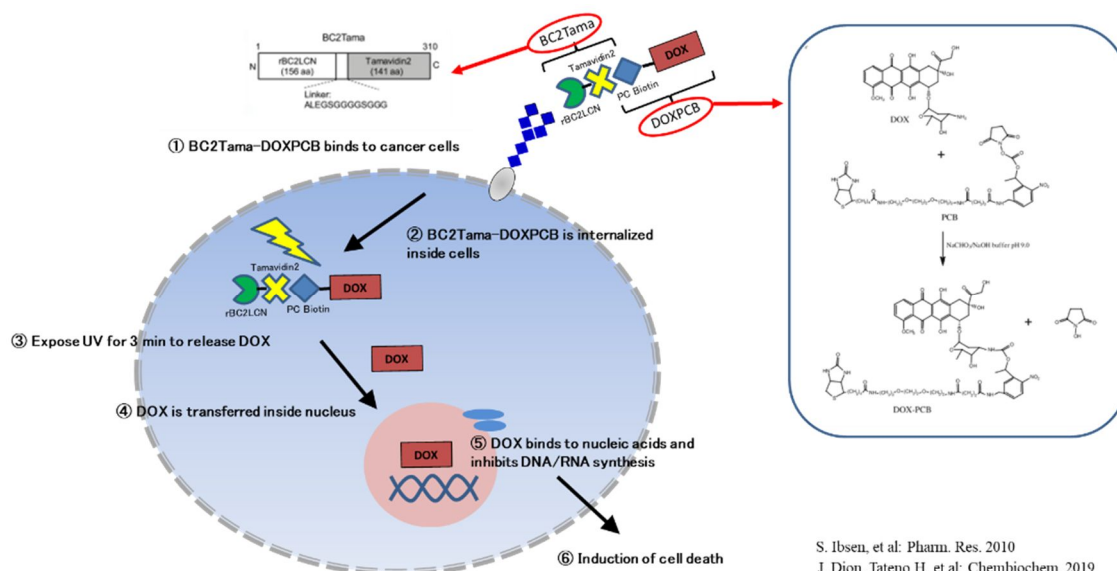
研究分野：膵がん

キーワード：膵臓がん 光免疫療法 糖鎖 レクチン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我々はこれまで膀胱癌細胞に表出する糖鎖修飾とその糖鎖に結合する rBC2LCN レクチンの組み合わせを同定してきた。この rBC2LCN レクチンに薬剤を添加した新しい治療薬の開発を行ってきた。レクチンは血液凝集素として発見されてきたため、生体への投与は、特有の血液凝集反応が問題となるが、この rBC2LCN レクチンはこれまでの実験でレクチン単体の投与においては、マウス、サルなどに対して有害事象を認めないことを認識していた。本研究では、この rBC2LCN レクチンに既存の抗がん剤であるドキソルビシン(DOX)の prodrug (DOX-Photocleavable Biotin; DOXPCB)を融合させた。これは、ドラッグキャリアーとしてのレクチンに光(紫外線光; UV)照射による on target 効果を付加した、糖鎖を標的とした新しい治療法であり、本治療薬により膀胱癌に特徴的な神経叢浸潤に対する新しい治療法の開発を目指した。



2. 研究の目的

目的 1 : 膀胱癌細胞株を用いた in vitro における殺細胞効果の検証

目的 2 : マウス皮下腫瘍を用いた om vivo における抗腫瘍効果の検証

3. 研究の方法

細胞株 : 過去の研究において確認した rBC2LCN レクチンが反応する標的糖鎖を有する膀胱癌細胞株(Capan-1)とそれを有さない細胞株(SUIT-2)を用いた。

方法 1 : 紫外線光(UV)照射による細胞傷害を検討する。膀胱癌細胞株に対して、波長 365 nm の UV 照射を行い、MTT assay による細胞生存率の評価を行う。

方法 2 : 膀胱癌細胞株に対するドキソルビシン(DOX)の prodrug (DOXPCB)が UV 照射により DOX を遊離して殺細胞効果をもつことを検証する。膀胱癌細胞株に対して、DOX 投与、DOXPCB 投与、DOXPCB 投与 + UV 照射の条件設定を行い、殺細胞効果を評価する。

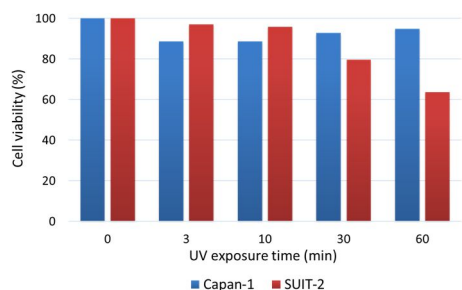
方法 3 : ビオチン結合タンパク (tamavidin) を結合した rBC2LCN レクチン(BC2Tama)の細胞特異性を検証する。これまでの糖鎖解析結果から rBC2LCN レクチンが反応する細胞株(Capan-1)と反応しない細胞株(SUIT-2)を確認してきた。Cy3 を標識した BC2Tama をそれぞれの細胞株に添加した後、蛍光顕微鏡で観察し、細胞への結合性を評価する。

方法 4 : BC2Tama と DOXPCB を融合させた BC2Tama-DOXPCB が細胞特異的に結合し、UV 照射による on target 効果をもつことを検証する。方法 2 で用いたそれぞれの細胞株に対して、BC2Tama-DOXPCB を投与し、UV 照射の有無による殺細胞効果の評価を行う。

4. 研究成果

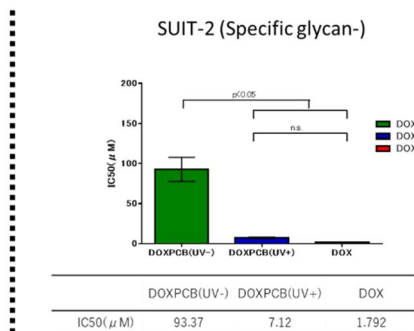
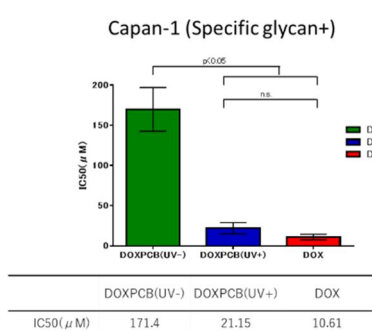
結果 1 : UV 照射に伴う細胞傷害の検討

UV 照射単独では膀胱癌細胞株に対して有意な細胞傷害は認めなかった。



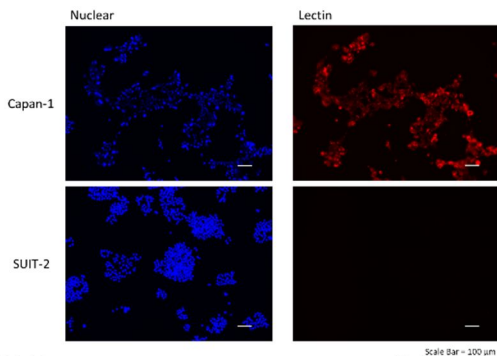
結果 2 : DOXPCB の殺細胞効果の検討

膀胱癌細胞株に対しては、標的糖鎖の発現に関係なく DOXPCB が UV 照射に伴って DOX 単独と同等の殺細胞効果を発現した。



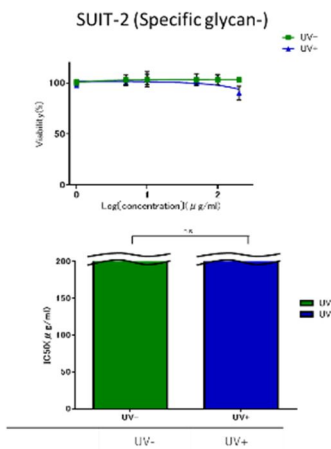
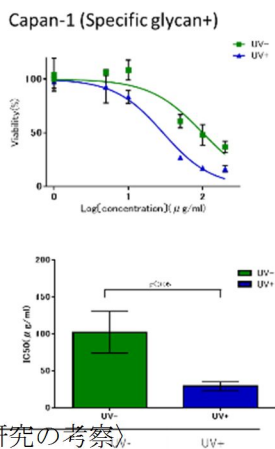
結果 3 : BC2Tama の標的糖鎖に対する特異性評価

標的糖鎖を有する Capan-1 細胞にのみ特異的に BC2Tama が結合した。標的糖鎖を表出しない SUI2 株に対しては薬剤の集積性は認めなかった。



結果 4 : BC2Tama-DOXPCB の殺細胞効果の検討

標的糖鎖を有する Capan-1 に対してのみ、UV 照射による有意差をもって殺細胞効果を認めた。



研究の考察

In vitro の実験において、われわれが合成した BC2Tama-DOXPCB の BC2 レクチンによる標

的細胞に対する特異的結合性、さらには UV 照射による on target 効果の付加を証明することができた。概ね期待した結果といえる。ただし、*in vivo* での抗腫瘍効果を検証する実験に進むにあたり、下記が示唆された。

- 1) *In vitro* における殺細胞効果が弱く、*in vivo* で十分な抗腫瘍効果を期待できない。
- 2) 低波長である UV は組織透過性が低く、固形腫瘍に対して DOX 遊離に十分な照射が行えない可能性。

そのため、BC2 レクチンに融合させる低分子として、より強力な殺細胞効果を持ち、さらには、組織透過性の高いより高波長な光照射による on target 効果をもつ分子を探索する必要があると考えた。現在、DOXPBC に代わる新しい薬剤を添加したレクチン試薬を合成し、同様の実験系 (*In vitro*, *In vivo*) を検討している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Yukihito Kuroda, Osamu Shimomura, Fumi Minoshima, Hiroaki Tateno, Tatsuya Oda
2. 発表標題 A novel UV-controlled cancer therapy using lectin-doxorubicin prodrug conjugate targeting pancreatic cancer glycans
3. 学会等名 The 79th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------