

加藤 淳二 教授 (腫瘍内科学講座)



略歴

[生年月日]

昭和 33 年 3 月 北海道美幌町に生まれる

[学歴・職歴]

- 昭和 51 年 3 月 岩見沢東高等学校卒業
- 昭和 57 年 3 月 札幌医科大学医学部医学科卒業
- 平成 4 年 6 月 札幌医科大学医学部医学科内科学第四講座 助手
- 平成 7 年 9 月 札幌医科大学医学部附属病院第四内科 医長 (～平成 17 年 9 月 30 日)
- 平成 7 年 11 月 札幌医科大学医学部医学科 講師
- 平成 15 年 1 月 札幌医科大学医学部医学科内科学第四講座 助教授
- 平成 19 年 4 月 札幌医科大学医学部医学科内科学第四講座 准教授
- 平成 19 年 10 月 札幌医科大学医学部附属病院第四内科 医長 (～平成 21 年 9 月 30 日)
- 平成 20 年 9 月 札幌医科大学医学部医学科内科学第四講座 教授
札幌医科大学医学部附属病院第四内科 科長 (～平成 25 年 3 月 31 日)
- 平成 22 年 4 月 札幌医科大学医学部教育研究機器センターラジオアイソトープ研究部門
部門長 (～平成 24 年 3 月 31 日)
- 平成 24 年 4 月 札幌医科大学附属病院医療材料部 部長 (～平成 26 年 3 月 31 日)
- 平成 25 年 4 月 札幌医科大学医学部医学科腫瘍・血液内科学講座 教授
- 平成 26 年 4 月 札幌医科大学附属病院 副院長 (～平成 28 年 3 月 31 日)
札幌医科大学附属病院検査部 部長 (～平成 27 年 7 月 31 日)
- 平成 28 年 4 月 札幌医科大学医学部医学科腫瘍内科学講座 教授
札幌医科大学医学部研究機器センター センター長
札幌医科大学医学部附属教育機器センターシステム管理部門 部門長
- 平成 29 年 4 月 札幌医科大学附属病院腫瘍内科 科長
札幌医科大学附属病院血液内科 科長 (～平成 30 年 3 月 31 日)
- 平成 31 年 4 月 札幌医科大学医学部医学科腫瘍内科学講座 教授
- 令和 5 年 3 月 札幌医科大学医学部医学科臨床医学部門腫瘍内科学講座定年退職 (予定)

[資格・免許]

昭和 57 年 6 月 医師免許
平成 5 年 5 月 医学博士
日本内科学会 認定内科医
日本臨床腫瘍学会 がん薬物療法専門医、指導医
日本血液学会 専門医、指導医
日本肝臓学会 専門医、指導医
日本消化器病学会 専門医、指導医
日本消化器内視鏡学会 専門医、指導医
日本医師会 認定産業医

[主な研究分野]

臨床腫瘍（癌の化学療法）、肝・胆・膵疾患、血液疾患

[所属学会・主な学会活動等]

日本内科学会（認定内科医、評議員）、日本臨床腫瘍学会（がん薬物療法専門医、指導医、協議員）、日本血液学会（専門医、指導医、代議員）、日本肝臓学会（専門医、指導医、評議員）、日本消化器病学会（専門医、指導医、執行評議員）、日本消化器内視鏡学会（専門医、指導医、学術評議員）、日本癌治療学会（代議員、理事、監事）、米国癌学会（AACR）member、米国臨床腫瘍学会（ASCO）member、米国肝臓学会（AASLD）member、米国血液学会（ASH）member、日本医師会認定産業医

[受賞歴]

平成 13 年 浜名湖シンポジウム最優秀賞
平成 17 年 3rd Pfizer Scientific and Research Symposium, Excellence Award
平成 20 年 日本消化器病学会第 21 回奨励賞
平成 22 年 北海道医師会賞
平成 22 年 北海道知事賞

抄録

札幌医科大学で過ごした47年間： 特に細胞標的DDSの開発研究について

加藤 淳二

腫瘍内科学講座

私が医師として札幌医科大学で過ごした41年間は、主に癌に関する臨床、教育、研究に費やしてきた。本最終講義では、特にライフワークの一つとして探求してきた二種類の細胞標的療法の開発について述べたい。

細胞標的療法とは、ある特定の細胞に薬剤や遺伝子を特異的に送達（DDS）することで、より有効性を高める手法であり、全身投与の場合と比べて薬剤投与量を減らすことが可能となり副作用の軽減にもつながる。

一つ目は、肝硬変（肝繊維化）に対する細胞標的療法である。肝硬変は、年間5-6万人が罹患する疾患であり、非代償性肝硬変患者では生存期間中央値が2年を下回る予後不良の疾患であり、また肝線維化は肝細胞癌の前癌病変とされる。肝線維化に対する治療法は未だ開発されていない。肝線維化は肝細胞傷害や組織の炎症等に伴って活性化された肝星細胞（Hepatic Stellate Cell: HSC）から分泌される様々なタイプのコラーゲン分子の間質への沈着によって起こる。このHSCの活性化を特異的に抑制する方法や多量存在するコラーゲン分子の合成を効率よく抑制する有効な手段はなかった。HSCでのコラーゲン分子の産生にはHSP47（Heat Shock Protein 47）が密接に関与していることが明らかとなっている。そこでわれわれは、HSCに対する細胞標的療法を開発するため、HSP47に対するsiRNAを用意し、さらに、siRNAを包埋したVitamin A（VA）結合型リポソームを作製した。さらにラット肝硬変モデルを使用し、siRNA包埋VA結合型リポソームによる抗線維化効果を検証した。その結果、HSP47に対するsiRNAは、ラット線維芽細胞においてHSP47ならびにコラーゲンの産生を抑制できた。さらにVA-Lip-HSP47siRNAを経門脈的に投与したところ、HSC特異的な発現が得られラット肝硬変モデルにおいて肝線維化が抑制された。VA-Lip-HSP47siRNAは、HSCにおけるHSP47合成を特異的に阻害しコラーゲン産生を抑制した。したがって、本剤は肝線維化の新たな分子標的治療剤となりうる可能性が考えられた。現在、某企業と共同開発をすすめた「ND-L02-s0201」はHSP47を阻害するsiRNAを用いた治療薬で、米国食品医薬品局（FDA）

からNASH及びC型肝炎に伴う肝線維症に対して優先審査指定を受けており、臨床に導入される可能性が高いと考えている。

二つ目は、大腸癌に対する細胞標的療法である。癌は1980年代から日本人の死因の第1位であり、現在でも死亡数は増加の一途を辿っている。その中でも大腸癌は男性2位、女性1位（2021年）であり、その克服は本邦および世界の課題と言っても過言ではない。早期発見例は、内視鏡治療や外科切除で治癒が望めるが、進行例は有効な化学療法が相次いで導入されているものの、一部の遺伝子異常例を除けば、治癒は期待できず延命が目標の治療となる。また、がん治療による副作用の出現は避けられず、支持療法薬の進歩もあるもののQOLの低下がほとんどの症例で見られるのが現状である。そこで我々は、癌細胞特異的な標的療法を開発することで、がん特異的に抗がん剤を送達し、高い治療効果と有害事象の軽減を狙った。まず、標的となる大腸癌の特性を選択するにあたり、大腸癌がCA19-9をはじめとしたフコシル化物質を分泌することに着目した。臨床検体を用いた検討では、フコース蓄積症例では、大腸癌の悪性度が高いことが示唆され、大腸癌細胞株を用いた検討では、培養液中、細胞質中のフコシル化蛋白の分泌量が非がん細胞株より有意に多く、大腸癌細胞株ではフコース要求度が高いことが判明した。そこで、リポソームに抗がん剤であるSN38を内包化し、リポソーム表面にL-フコースを結合させた薬剤を新規に開発した。同薬剤による治療は、*in vitro*、*in vivo*いずれでも、L-フコース未修飾あるいは抗がん剤単独の治療よりも高い治療効果を示し、SN38を内包したフコース結合リポソームは、フコシル化蛋白産生大腸癌に対して有効な細胞標的治療となると考えられた。

現在も、これらの研究を発展させ、細胞標的療法を他癌腫や他の標的へ応用し、幅広く進めている。われわれの研究が、不治の病と言われた「肝硬変」、「がん」の治療の大きな柱として、日常臨床に導入され、まだ見ぬ多数の患者の命を救うことを願い、次世代に託したいと考えている。

講義内容

札幌医科大学で過ごした47年間： 特に細胞標的DDSの開発研究について



腫瘍内科学講座 加藤 淳二

本日は、「札幌医科大学で過ごした47年間：特に細胞標的DDSの開発研究について」と題しまして、最終講義をさせていただきます。腫瘍内科の加藤です。

47年間というのは、学生の6年間を入れてですが、実に約半世紀の間、この札幌医科大学で学び、勤めてまいりました。私が医師として札幌医科大学で過ごした41年間は、主に癌に関する臨床、教育、研究に費やしてきました。本最終講義では、特にライフワークの一つとして探求してきた2種類の細胞標的療法の開発について述べたいと思います。

本日の発表内容（研究）

- 細胞標的療法 —
- 1 肝硬変
- 2 大腸癌

図1

細胞標的療法とは、ある特定の細胞に薬剤や遺伝子を特異的に送達することで、より有効性を高める手法であり、全身投与の場合と比べて薬剤投与量を減らすことが可能となり副作用の軽減にもつながります。

まず、肝硬変に対する細胞標的療法について説明したいと思います。

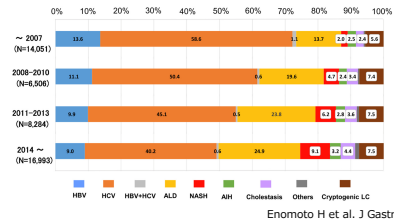
肝硬変の疫学

<発生数>

年間5-6万人で推移

(厚生労働省 患者調査)

Transition of the distribution regarding the etiologies of liver cirrhosis.



Enomoto H et al. J Gastroenterol 2020

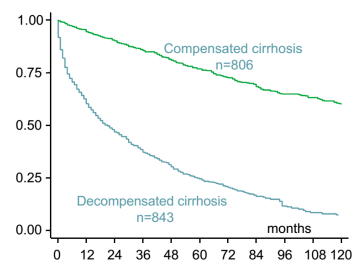
図2

簡単に肝硬変の疫学について述べますが、発生数は年間5-6万人で推移しています。

肝硬変の原因は近年大きく様変わりしております。かつては、C型肝炎からの肝硬変が60%程度を占めておりましたが、ここに記載している通り、2014年以降の発生数で見ますと、40%程度まで減少しています。これは、近年のDirect Acting Antiviralという効果の高いインターフェロンフリーの治療の広がりによりC型肝炎ウイルスが排除され、肝硬変に至る患者が減少していることが背景にあります。その代わりに、非ウイルス性の肝硬変が増えており、特に赤で示す非アルコール性脂肪肝炎（NASH）からの肝硬変が増加しています。欧米型の生活習慣の流入により、脂肪肝が増えていることが背景にあります。この傾向は今後も続くと思われま

肝硬変の予後

Survival according to decompensation at diagnosis



D'Amico G et al. J Hepatol 2006

図3

肝硬変の予後ですが、代償性の肝硬変に対して非代償性の肝硬変は不良であり、生存期間中央値は2年を切っています。一旦肝硬変が進行してしまうと、根本である肝臓の線維化は元に戻すことができないため、非代償性肝硬変に至る前に原因を除去し、線維化を止めることが重要であるという説明がなされています。

非代償性肝硬変の治療

非代償期の治療は対症療法が基本である。

- (A) 日常生活指導：非代償期肝硬変の食事摂取量は標準体重あたり30-35kcal/日、蛋白質は1.2-1.3g/kg/日を標準とするが、蛋白不耐症がある場合は、0.6-1.0g/kg/日とする。塩分は5-7g/dayまでとする。
- (B) 栄養療法
1. 低アルブミン血症：BTR4以下のBCAAが低下している症例には早期からBCAAを投与し、アミノ酸インバランスの改善をはかる。
 2. 低垂鉛血症：亜鉛製剤
- (C) 合併症に対する治療
1. 浮腫・腹水：利尿薬、アルブミン製剤
 2. 肝性脳症：BCAA高含有輸液の点滴静注と合成2糖類（ラクツロース）の注腸または経口投与を開始する。
 3. 筋けいれん：芍薬甘草湯、エルカルチン
 4. 皮膚癢痒感：抗ヒスタミン薬、ナルフラフィン

図 4

教科書的には、こちらに記載している通り、非代償性肝硬変の治療は対症療法となります。食事指導や合併症に対する治療を行うこととなります。つまり、非代償性肝硬変は不治の病であると現在でも認識されているのです。

背景

肝線維化は肝細胞傷害や組織の炎症等に伴って活性化された肝星細胞（Hepatic Stellate Cell:HSC）から分泌される様々なタイプのコラーゲン分子の間質への沈着によって起こる。

従来、HSCの活性化を特異的に抑制する方法や多種類存在するコラーゲン分子の合成を効率よく抑制する有効な手段は存在しなかった。

図 6

この研究の背景です。肝線維化は肝細胞傷害や組織の炎症等に伴って活性化された肝星細胞（Hepatic Stellate Cell:HSC）から分泌される様々なタイプのコラーゲン分子の間質への沈着によって起こります。従来、HSCの活性化を特異的に抑制する方法や多種類存在するコラーゲン分子の合成を効率よく抑制する有効な手段はありませんでした。

肝硬変の細胞標的療法

図 5

さて、この、まさに不治の病とされている肝硬変に対して、根本的な「肝臓の線維化」を治すことができないうか、という研究を行いました。簡単にいうと、硬くなった肝臓を柔らかくする。対症療法ではなく、根本的な治療が、線維化に関わる細胞を標的にすることで、可能となるかもしれない、そういった研究です。

背景

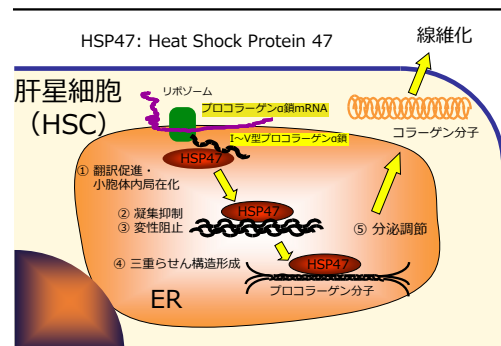


図 7

肝線維化の原因となるコラーゲン分子はHSCで産生されますが、コラーゲン分子の産生には、Heat Shock Protein 47 (HSP47) というタンパク質がこの図に記載されているように密接に関与していることがわかります。つまり、この、HSCの中にあるHSP47を特異的に抑制することができれば、肝臓の線維化のみを抑制することが可能と考えました。

方法

- HSCに対する細胞標的療法を開発するため、HSP47に対するsiRNAを用意した。
- 更に、siRNAを包埋したVitamin A結合型リポソームを作製した。
- ラット肝硬変モデルを使用し、siRNA包埋Vitamin A結合型リポソームによる抗線維化効果を検証した。

図 8

方法ですが、まず、HSC に対する細胞標的療法を開発するため、HSP47 に対する siRNA を用意しました。更に、HSC はビタミン A を貯蔵する細胞であるので、この性質に着目し、siRNA を包埋した Vitamin A 結合型リポソームを作製しました。治療効果を検討するため、ラット肝硬変モデルを使用し、siRNA 包埋 Vitamin A 結合型リポソームによる抗線維化効果を検証しました。

The suppressive effect of siRNA by RT-PCR and western blot

Three different designs of siRNA for gp46 (human HSP47 homolog in rat model)

| siRNA A | siRNA B | siRNA C |
|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| GUUCCACCAUAAGA UGGUAGACAACAG | CCACAAGUUUUUAUA UCCAUCUAGCAG | CUAGAGCCAUUACA UUAUCAUUGACAAG |

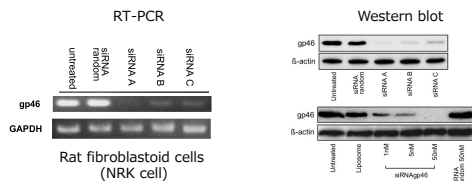


図 9

HSP47 のラットモデルでのホモログである gp46 に対する siRNA を作成しました。RT-PCR、ウエスタンブロットで siRNA でのノックダウンを確認しました。

Inhibition of the collagen secretion from NRK cells by siRNA gp46

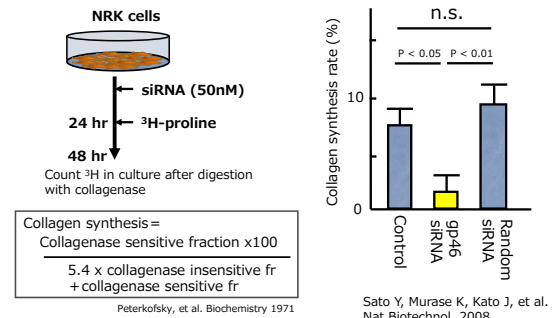


図 10

gp46 siRNA を加えて培養することで、コントロールやランダム of siRNA より有意に NRK 細胞によるコラーゲン合成率が低下することを示しました。

Retinoid-mediated transfer of the VA-lip-siRNA into HSCs

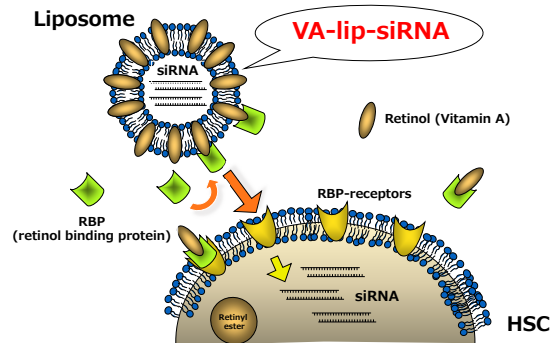


図 11

この siRNA をリポソームに内包化し、HSC はビタミン A であるレチノールを貯蔵する性質があるので、これを利用して、リポソームにレチノールを結合することにより HSC に siRNA が特異的に取り込まれる薬剤、VA-lip-siRNA を作製しました。なお、レチノールが HSC に取り込まれる際には、RBP という蛋白と結合して RBP レセプターから取り込まれる必要があります。

Evidence for retinoid-mediated transfer of the VA-lip-siRNA

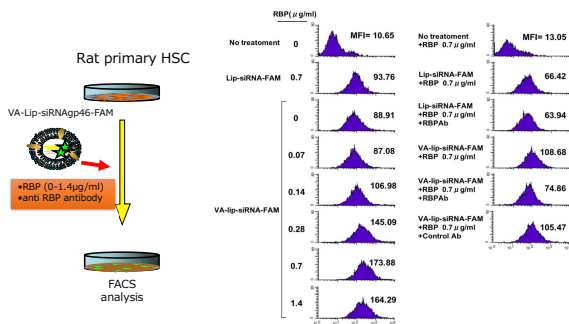


図 12

蛍光試薬であるFAMも内包化したVA-lip-siRNAgp46-FAMを作製し、ラットのHSCの培養液に加え、FACSで取り込みを評価しました。

左の列の3段目からはRBPの濃度とFAMの取り込みを比較したものです。RBPの濃度が高いとFAMが効率的に取り込まれており、レチノール依存性に試薬が細胞内に取り込まれていることがわかります。右の列の2段目はレチノールを結合しないリポソームですが、4段目のレチノールを結合したリポソームの方が、FAMの取り込みが多い結果でした。そのすぐ下の5段目はRBP抗体を入れたもので取り込みが低下しており、レチノールがRBPと結合し、レセプターにより取り込まれることが示されました。

Cirrhotic liver specimens injected with VA-lip-siRNAgp46-FAM

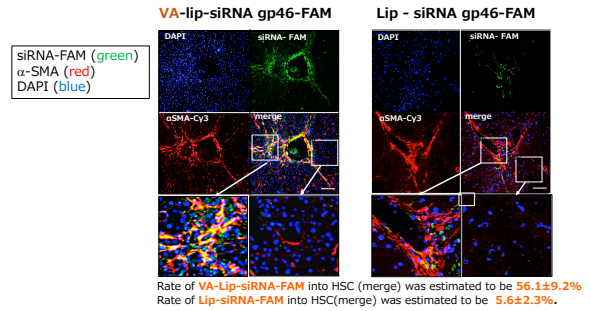


図 14

このラットモデルにVA-lip-siRNA-FAMとLip-siRNA-FAMを注入し、肝臓組織を比較しますと、HSCへのFAMの導入率がレチノール未結合で5.6%に対して、レチノール結合で56.1%であり、FAMが効率的に導入されていることが示されました。

Treatment by intravenous administration of VA-Lip-siRNAgp46

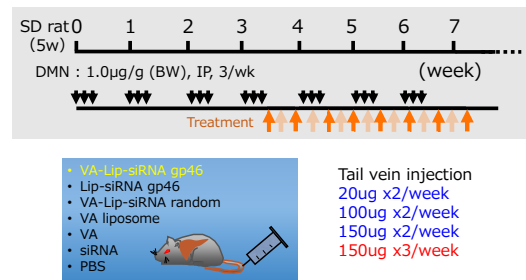


図 15

肝硬変モデルラットにレチノール結合リポソーム内包gp46 siRNAをはじめとして左に示す試薬を尾静脈注射で治療を行いました。

Experimental liver cirrhosis model induced by administration of DMN

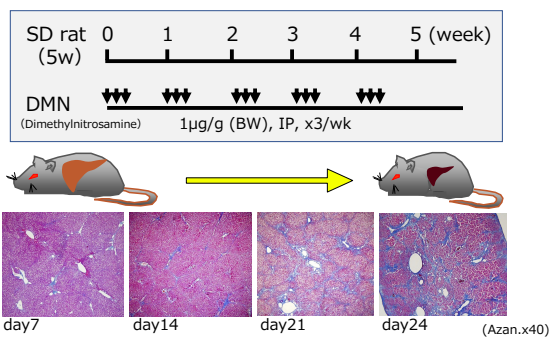


図 13

ラットの門脈にジメチルニトロソアミン (DMN) を注入することで肝硬変ラットモデルを作製しました。

Dose dependent prolongation of survival

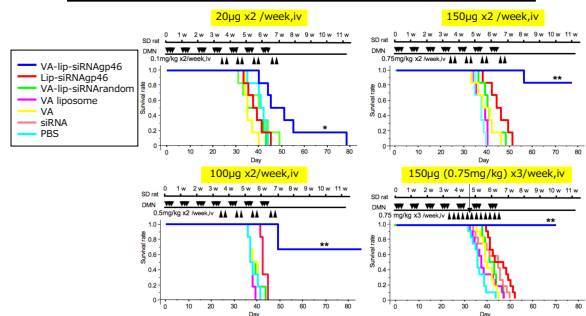


図 16

いくつかのパターンで治療を行いました、いずれも VA-lip-siRNA gp46 で治療成績が良好な結果でした。特に週 3 回、150 μg を注射したラットでは全て生存しました。

Administration of VA-lip-siRNA gp46 dissolved fibrosis of the liver

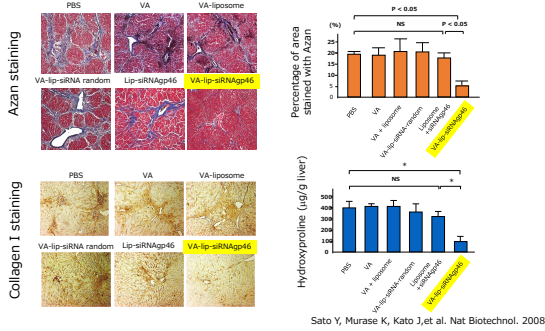


図 17

ラットから組織を採取して検討したところ、VA-lip-siRNA gp46 で治療したマウスはいずれも線維化が改善していることが示されました。

小括

HSP47に対するsiRNAを複製し、ラット線維芽細胞においてHSP47ならびにコラーゲンの産生を抑制できた。

VA-lip-HSP47siRNAを経門脈的に投与したところ、HSC特異的な発現が得られラット肝硬変モデルにおいて肝線維化が抑制された。

VA-lip-HSP47siRNAは、HSCにおけるHSP47合成を特異的に阻害しコラーゲン産生を抑制する。したがって、本剤は肝線維化の新たな分子標的治療剤となりうる可能性が考えられた。

某企業と共同開発をすすめた「ND-L02-s0201」はHSP47 (Heat Shock Protein 47) を阻害するsiRNAを用いた治療薬で、米国食品医薬品局(FDA) からNASH及びC型肝炎に伴う肝線維症と肝硬変の2つの疾患において優先審査指定を受けている。

図 18

HSP47 に対する siRNA は、ラット線維芽細胞において HSP47 ならびにコラーゲンの産生を抑制できました。さらに VA-lip-HSP47siRNA を経門脈的に投与したところ、HSC 特異的な発現が得られラット肝硬変モデルにおいて肝線維化が抑制されました。VA-lip-HSP47siRNA は、HSC における HSP47 合成を特異的に阻害しコラーゲン産生を抑制しました。したがって、本剤は肝線維化の新たな分子標的治療剤となりうる可能性が考えられました。現在、某企業と共同開発をすすめた「ND-L02-s0201」は HSP47 を阻害する siRNA を用いた治療薬で、米国食品医薬品局 (FDA) から NASH 及び C 型肝炎に伴う肝線維症に対して優先審査指定を受けており、臨床に導入される可能性が高いと考えています。

本日の発表内容 (研究)

細胞標的療法

- 1 肝硬変
- 2 大腸癌

図 19

続いては、大腸癌に対する細胞標的療法について説明します。

主な死因別に見た死亡率の年次推移

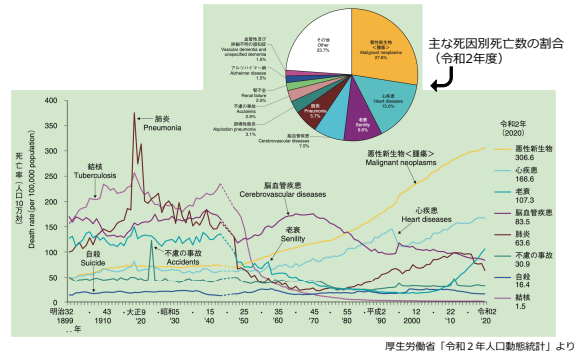


図 20

まず、がんの疫学をご説明します。こちらは主な死因別に見た死亡率の年次推移です。戦後一貫して悪性腫瘍の死亡率は上昇しており、1980 年頃からは死因の第 1 位となっています。その死亡率は現在も上昇を続けていますが、これは高齢化による影響があります。令和 2 年では 3 割弱が悪性腫瘍により死亡しています。

悪性腫瘍の主な部位別に見た死亡率の年次推移

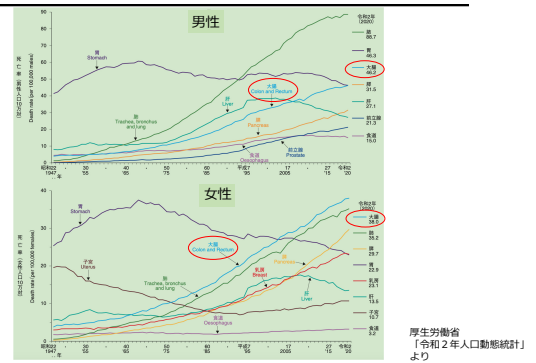


図 21

男女別の悪性腫瘍の部位別の死亡率の推移を示します。胃癌や肝癌などで減少傾向となっていますが、増加傾向のものが多いです。大腸癌も増加傾向の癌であり、女性は死亡率第 1 位の癌腫です。2021 年は、男性は胃癌を抜いて第 2 位になったとのこと。

増加が報告されており、腫瘍マーカーとしての有用性も指摘されています。腫瘍マーカーの CA19-9 という物質は、フコースが結合した糖鎖で、大腸癌が CA19-9 を多量に産生することから大腸癌はフコース要求度が高まっていると仮説を立てました。

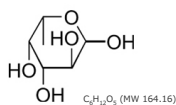
大腸癌の細胞標的療法

～大腸癌に対するフコース結合リポソーム内包
抗がん剤の開発

図 22

この死亡数の多い癌腫である大腸癌ですが、早期発見例は、内視鏡治療や外科切除で治癒が望めます。しかし、進行例は、有効な化学療法が相次いで導入されてはいますが、一部の遺伝子異常例を除けば、治癒は期待できず延命が目標の治療となります。また、がん治療による副作用の出現は避けられず、QOL の低下がほとんどの症例で見られるのが現状です。そこで我々は、癌細胞特異的な標的療法を開発することで、がん特異的に抗がん剤を送達し、高い治療効果と有害事象の軽減を狙いました。

L-フコース



- ✓ ヒバマタ (Fucus) という海藻の細胞壁多糖類を構成するフコイダン (Fucoidan) から発見されたためフコースと命名された。
- ✓ 単糖類の一つで、主に食物 (海藻など) から由来している。
- ✓ 癌患者の血清と尿でフコース値の増加が報告されており、腫瘍マーカーとしての有用性も指摘されている。

Sakai T et al. Clin Chemistry 1990

図 23

我々は、L-フコースという糖に着目しました。フコースは、ヒバマタという海藻の細胞壁多糖類を構成するフコイダンから発見されたためフコースと命名されました。単糖類の一つで、主に食物 (海藻など) から由来しています。癌患者の血清と尿でフコース値の

検討① 大腸癌組織におけるL-フコースの蓄積

目的

大腸癌において、L-フコースの蓄積と悪性度の関係を明らかにする。

方法

2011年 4月 1日から 2014年 3月 31日まで、札幌医科大学附属病院で大腸癌に対する根治切除を施行され、手術検体提供の同意が得られた 50人に対し、大腸癌手術検体の AAL 染色所見と臨床データを用いて、大腸癌細胞フコシル化蛋白の発現と組織学的スコアとの関係を検討した。

図 24

まず、大腸癌組織における L フコースの蓄積について検討しました。大腸癌において、L-フコースの蓄積と悪性度の関係を明らかにすることを目的とし、同意が得られた 50 人に対し、大腸癌手術検体のフコースを標識する AAL 染色の所見と臨床データを用いて、大腸癌細胞におけるフコシル化蛋白の発現と組織学的スコアとの関係を検討しました。

| Characteristics | No. | Univariate analysis | | | Multivariable analysis | |
|------------------------|-----|---------------------|-----|------|------------------------|-----|
| | | Average | SD | P | t | P |
| Total | | | | | | |
| Male | 27 | 5.3 | 2.1 | .08 | - | |
| Female | 23 | 4.2 | 2.1 | | | |
| Age, y | | | | | | |
| ≤60 | 15 | 4.9 | 2.2 | .73 | - | |
| >60 | 35 | 4.7 | 2.2 | | | |
| Location | | | | | | |
| Other | 21 | 4.1 | 2.1 | .06 | - | |
| R/S | 29 | 5.3 | 2.1 | | | |
| Histology | | | | | | |
| Well | 27 | 4.6 | 2.2 | .57 | - | |
| Moderate-poor | 23 | 5.0 | 2.2 | | | |
| Vascular invasion, v | | | | | | |
| No | 24 | 4.0 | 2.1 | .02 | 1.6 | .12 |
| Yes | 26 | 5.5 | 2.1 | | | |
| Lymphatic invasion, ly | | | | | | |
| No | 36 | 4.8 | 2.2 | .93 | - | |
| Yes | 14 | 4.7 | 2.2 | | | |
| T factor | | | | | | |
| I-III | 18 | 3.8 | 2.1 | .02 | 0.48 | .63 |
| IV | 32 | 5.3 | 2.1 | | | |
| N factor | | | | | | |
| No | 33 | 4.5 | 2.2 | .22 | - | |
| Yes | 17 | 5.3 | 2.2 | | | |
| M factor | | | | | | |
| No | 37 | 4.2 | 2.0 | .002 | 1.45 | .15 |
| Yes | 13 | 6.3 | 2.0 | | | |
| Clinical stage | | | | | | |
| I-III | 37 | 4.2 | 2.0 | .002 | - | |
| IV | 13 | 6.3 | 2.0 | | | |

静脈侵襲陽性例、T 4例、転移例、Stage IV 症例で AAL 染色スコアが高値であった。



L-フコース蓄積症例では、腫瘍の悪性度が高いことが示唆された。

Osuga T, Kato J et al. J Natl Cancer Inst 2016

図 25

結果ですが、大腸癌の中でも静脈侵襲陽性例、T 4 例、転移例、Stage IV 症例で AAL 染色スコアが高値でした。従って、L-フコース蓄積症例では、腫瘍の悪性度が高いことが示唆されました。より進行した、より悪性度の高い大腸癌ほどフコースを取り込むことがわかったのです。

検討② 大腸癌細胞株におけるフコシル化蛋白の細胞質中および培養液への分泌量

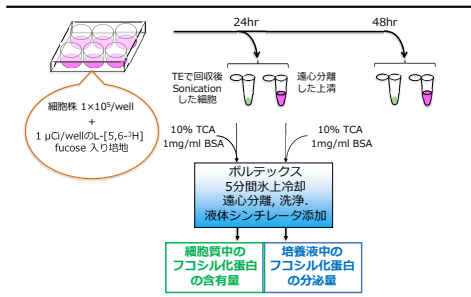


図 26

次に大腸癌細胞株におけるフコシル化蛋白の細胞質中および培養液への分泌量を測定しました。図に示す通り、24時間、48時間時点で、放射線同位体で標識したフコースが細胞質中の含有量と培養液中への分泌量を測定しました。

検討② 大腸癌細胞株におけるフコシル化蛋白の細胞質中および培養液への分泌量

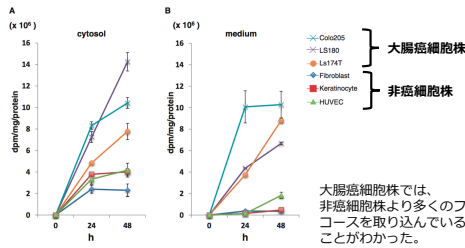


図 27

その結果、大腸癌細胞株では、非癌細胞株より多くのフコースを細胞質中に取り込み、分泌液中に放出していることがわかりました。大腸癌細胞株ではフコースの取り込みが亢進していることがわかりました。

検討③ フコースを用いた大腸癌細胞標的療法の開発

目的

大腸癌では、L-フコース要求度が亢進していることから、この性質を利用した細胞標的治療の可能性を検討すること。

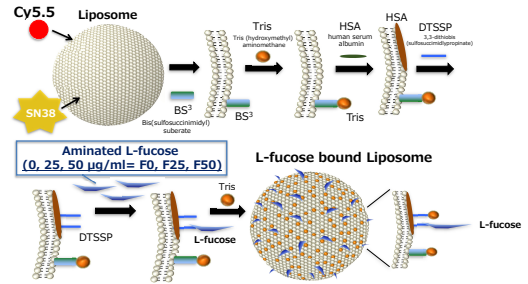
方法

- ① 蛍光 (Cy5.5) 内包フコース結合リポソームを作製し、大腸癌細胞特異的に送達できるか検討した。
- ② 抗癌剤 (SN38) を内包し、大腸癌細胞株や担癌マウスを用いて抗腫瘍効果を検討した。

図 28

それでは、この大腸癌がフコースを取り込むという性質を用いて、細胞標的療法ができないか、検討しました。蛍光試薬である Cy5.5 を内包したりポソーム、抗癌剤のイリノテカンの活性代謝物である SN38 を内包したりポソームをそれぞれ作製し、検討を行いました。

L-fucose-bound Liposomes (Fuc-Lip) の作製

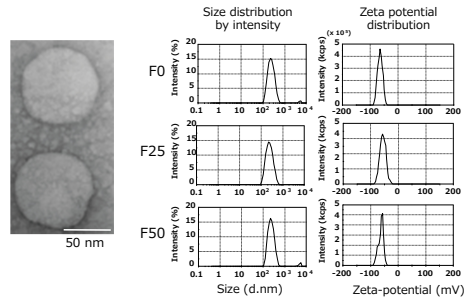


✓ 蛍光 (Cy5.5) を内包したフコース結合リポソーム, 抗癌剤 (SN38) を内包したフコース結合リポソームを作製した。

図 29

リポソームの表面に L-フコースを結合したのもも作製しました。

フコース結合リポソームの特性



Yoshida M, Kato J, et al. PLOS ONE 2012

図 30

リポソームのサイズは約 50nm に設計し、腫瘍組織に到達しやすくしました。また、ゼータ電位を -50mV と負に荷電したことにより、網内系に取り込みにくいように工夫しました。

Fuc-Lip-Cy5.5 の培養細胞株への取り込み

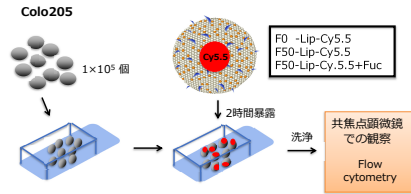
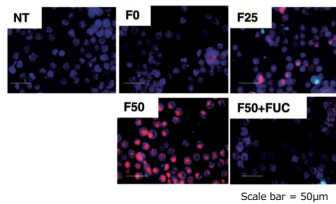


図 31

このフコース結合Cy5.5内包リポソーム (Fuc-Lip-Cy5.5) が大腸癌細胞株に取り込まれるか検討しました。

Fuc-Lip-Cy5.5 の培養細胞株への取り込み



Osuga T, Kato J, et al. J Natl Cancer Inst 2016

図 32

その結果、フコースが結合していない F0 よりもフコースが結合している F50 のリポソームで Cy5.5 の取り込みが見られました。なお、多量のフコースを添加することにより Cy5.5 の取り込みが抑えられ、Cy5.5 の取り込みがフコース依存性であることが示唆されました。

Fuc-Lip-SN38 の大腸癌細胞株への抗腫瘍効果

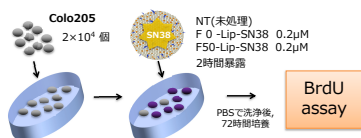
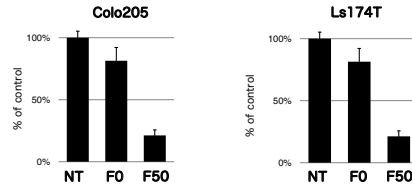


図 33

次に、フコース結合 SN38 内包リポソーム (Fuc-Lip-SN38) が大腸癌細胞株に対して抗腫瘍効果があるかについて検討しました。

Fuc-Lip-SN38 の大腸癌細胞株への抗腫瘍効果



Osuga T, Kato J, et al. J Natl Cancer Inst 2016

図 34

その結果、フコースが結合していない F0 よりもフコースが結合している F50 のリポソームでより高い抗腫瘍効果が見られました。

Fuc-Lip-SN38 の腹膜播種モデルへの抗腫瘍効果

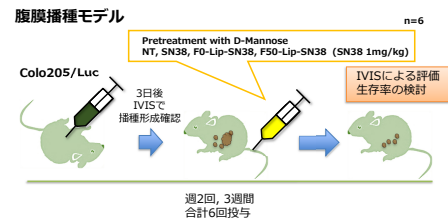
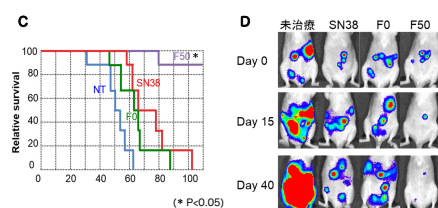


図 35

In vivo でも検討しました。大腸癌の腹膜播種モデルを作製し、先ほど説明した F50-Lip-SN38 など治療を行いました。

Fuc-Lip-SN38 の腹膜播種モデルへの抗腫瘍効果



✓ F50-Lip-SN38は他の治療群と比較し、腹膜播種病変に奏効し、生存を有意に延長した。

図 36

その結果、F50-Lip-SN38 は他の治療群と比較し、腹膜播種病変に奏効し、生存を有意に延長しました。

小括

大腸癌細胞ではフコース要求度が亢進しており、フコース結合抗がん剤は大腸癌細胞特異的に取り込まれることが示された。

SN38 を内包したフコース結合リポソームは、フコシル化蛋白産生大腸癌に対して有効な細胞標的治療となると考えられた。

図 37

大腸癌細胞ではフコース要求度が亢進しており、フコース結合抗がん剤は大腸癌細胞特異的に取り込まれることが示されました。SN38 を内包したフコース結合リポソームは、フコシル化蛋白産生大腸癌に対して有効な細胞標的治療となると考えられました。

私からのメッセージ

私のライフワークの一つとして探求してきた2種類の細胞標的療法の開発について述べた。

現在も、これらの研究を進展させ、細胞標的療法を他癌腫や他の標的へ応用し、幅広く進めている。

われわれの研究が、不治の病と言われた「肝硬変」、「がん」の治療の大きな柱として、日常臨床に導入され、まだ見ぬ多数の患者の命を救うことを願い、次世代に託したい。

図 38

私のライフワークの一つとして探求してきた2種類の細胞標的療法の開発について述べました。現在も、これらの研究を進展させ、細胞標的療法を他癌腫や他の標的へ応用し、幅広く進めております。われわれの研究が、不治の病と言われた「肝硬変」、「がん」の治療の大きな柱として、日常臨床に導入され、まだ見ぬ多数の患者の命を救うことを願い、次世代に託したいと思います。

共同研究者



ご静聴ありがとうございました

図 39

これまで苦楽を共にした共同研究者たちです。大変感謝しております。これからの後輩たちのがんの診療と研究に期待したいと思います。

本日はご静聴いただきありがとうございました。