

# CEP 751 を封入した放射線感受性マイクロカプセルを用いた 癌転移抑制の研究

原田 聡、江原 茂、世良耕一郎<sup>1</sup>、石井慶造<sup>2</sup>、斉藤義弘<sup>3</sup>

岩手医科大学医学部放射線医学講座、  
020-8505 岩手県盛岡市内丸 19-1

<sup>1</sup> 岩手医科大学サイクロトロンセンター  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

<sup>2</sup> 東北大学大学院工学研究科量子エネルギー工学専攻  
980-8579 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 01

<sup>3</sup>(社)日本アイソトープ協会滝沢研究所  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-1

## 1. はじめに

癌の転移は、腫瘍細胞が腫瘍組織からの遊離後、生きてまま、血流、あるいはリンパ流に乗って他臓器に到着、その後、腫瘍細胞が再増殖することで起こる<sup>1,2)</sup>。正常組織では、細胞が組織から遊離すると、細胞が自殺の過程を歩み (Anoikis)、細胞が死んでしまうために、正常組織では転移は起こらない<sup>2,3)</sup>。もし、癌細胞でも、腫瘍細胞が癌組織から遊離した時点で、細胞が自殺の過程を歩むようにしてやれば、癌細胞は腫瘍組織から遊離した時点で死んでしまうため、転移をしなくなる可能性がある<sup>2,3)</sup>。

CEP 751 は腫瘍組織に高濃度に集積した時、癌細胞が腫瘍組織から遊離した時、細胞の自殺を促進する薬剤である<sup>4,5)</sup>。

今回、我々は、放射線照射により CEP 751 を放出するマイクロカプセルを作成し<sup>6)</sup>、CEP 751 を腫瘍組織に高濃度に集積させることで、放射線照射後の、腫瘍組織からの癌細胞遊離に伴う、癌転移を抑制する試みを行ったので、報告する。

## 2. 材料と方法

### 2.1 マイクロカプセル作成

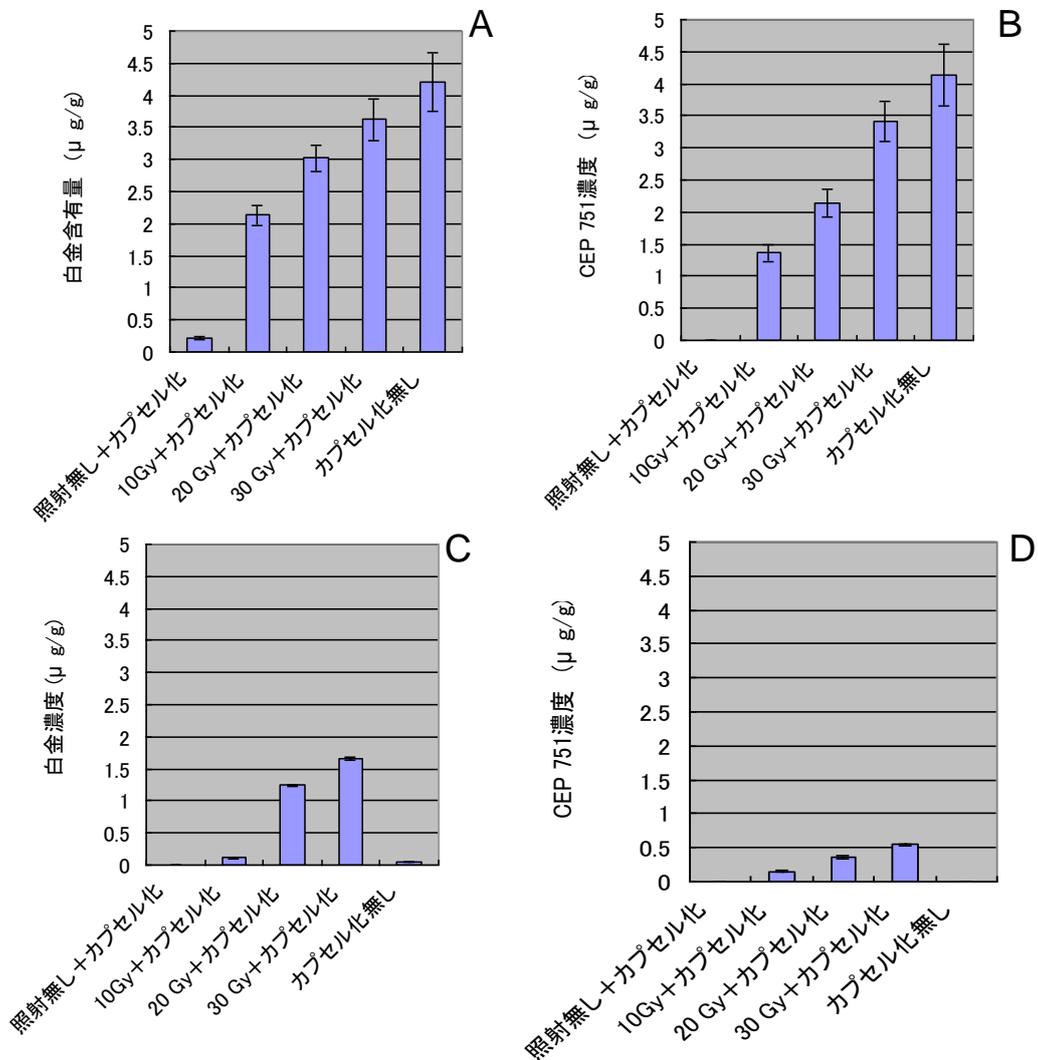
ヒアルロン酸 0.1g、アルギン酸 0.2g を蒸留水 4cc、3%過酸化水素水 4cc に溶解し、CEP 751(3mmol) 白金系抗癌剤カルボプラチン 5 mg を添加後、CaCl<sub>2</sub> 0.1 mol+FeCl<sub>2</sub> 0.1mol 中に噴霧した。重合液に含まれる Ca と Fe を Nalgene disposable filter kit (8-0301-84 DP591) を使用して

THAM buffer により 3 回洗浄することにより、マイクロカプセル浮遊液を作成した。

### 2.1 動物モデル作成、照射、カルボプラチン、CEP-751 動態、抗腫瘍効果と転移評価

高転移性人乳癌由来腫瘍細胞 MM48をマウス左下腿に移植後、径 8mm 大になった時点で実験に使用した。上記、2.1 にて作成したマイクロカプセルを腫瘍周囲の皮下に注射後、放射線を 10、20、30Gy 照射した。照射 1 時間後と 2 週間後、腫瘍と肺組織を剖出した。腫瘍中の Pt 量は PIXE を、CEP 751 は HPLC を用いて計測した。抗腫瘍効果は、照射後毎日、腫瘍径を 3 方向(縦、横、高さ)をノギスで計測し、その 3 つの腫瘍径の平均値の変化で表した。転移に関しては、剖出した肺に転移結節が認められたマウスの匹数で表した。

### 3. 結果



図ー1 カルボプラチンと CEP 751 との濃度推移。A: カルボプラチン照射 1 時間後時間後。B: CEP 751 照射 1 時間後。C カルボプラチン照射 2 週間後 D: CEP 751 照射 2 週間後

3.1 腫瘍内薬剤濃度：

放射線照射 1 時間後の腫瘍内カルボプラチンと CEP 751 濃度を、それぞれ、図-1-A と B に示す。また、放射線照射2週間後の腫瘍内カルボプラチンと CEP 751 濃度を、それぞれ、図-1-C と D に示した。マイクロカプセルは放射線照射によって、内容であるカルボプラチン(図-1 A)と CEP 751 (図-1-B)を放出した。照射 1 時間後においては、放出量は照射線量に高くなるにつれ増加したが、放出量は、カプセル化しなかった薬剤濃度よりも低くなった。ところが、照射 2 週間後では、カプセル化しなかった薬剤はカルボプラチン、CEP 751 とともに、殆ど検出されなかったが (図-1-C、D)、カプセル化した薬剤では、良薬剤ともに検出された。

3.2 抗腫瘍効果：

放射線治療後の抗腫瘍効果を、腫瘍径の変化で表す(図-2)。10 Gy(図 2-A)、20 Gy (図 2-B), 30 Gy(図 2-C)いずれの照射線量においても、放射線照射とカルボプラチンとの間に相乗効果が認められ、カルボプラチン-放射線照射併用群では、カルボプラチン単独群、放射線単独群よりも腫瘍増殖は抑制された。放射線照射-カルボプラチン併用群では、カプセル化されたカルボプラチン-放射線併用群と、カプセル化されなかったカルボプラチン-放射線照射併用群との2群間では、照射 5 日目以前では抗腫瘍効果に有意な差はなかったが、6 日目以降、カプセル化されたカルボプラチン-放射線併用群の抗腫瘍効果は、カプセル化されなかったカルボプラチン-放射線照射併用群の抗腫瘍効果よりも大きく、カプセル化による抗腫瘍効果の長期化が観察された。尚、CEP 751 投与により、抗腫瘍効果の影響は認められなかった。

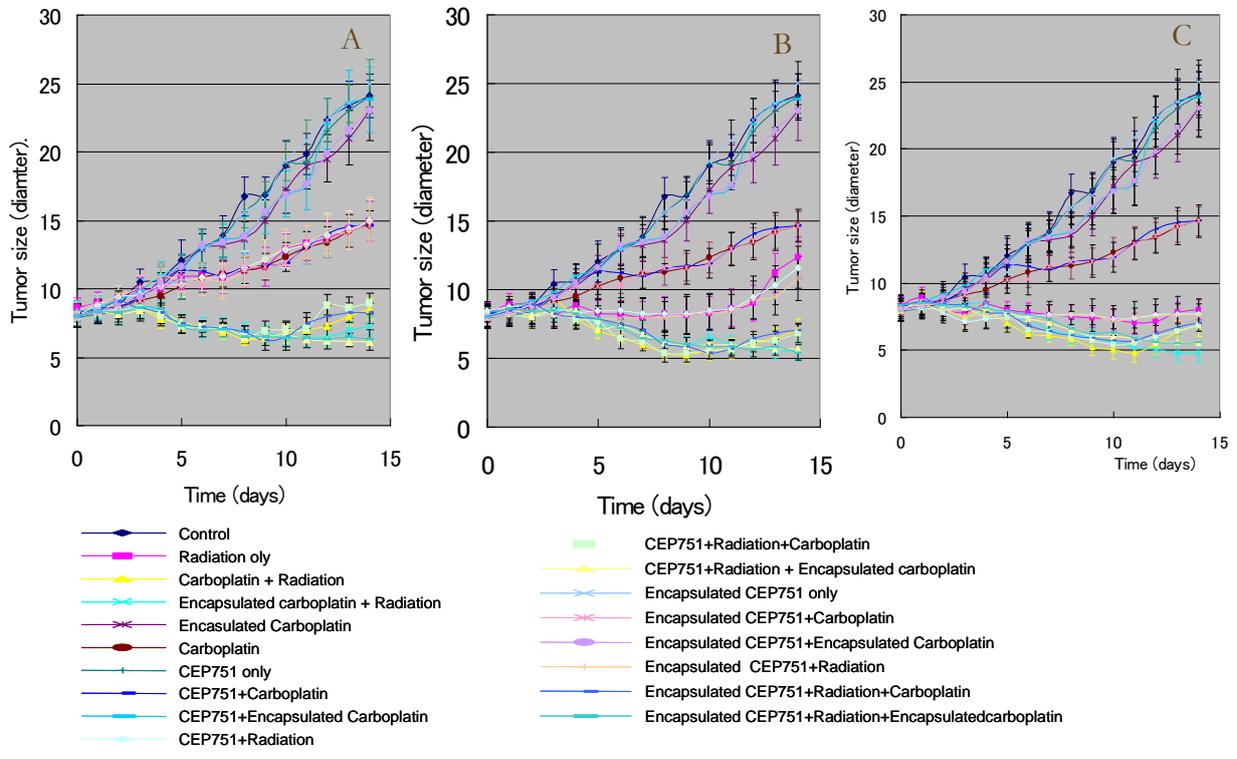


図-2：抗腫瘍効果  
照射後の抗腫瘍効果を腫瘍径の変化で表す。A: 10 Gy、B: 20 Gy、C: 30 Gy

### 3.3 CEP 751 による転移抑制能

各処置群に対する、カプセル化した CEP 751、カプセル化しない CEP 751 の転移抑制能を図-3 に示す。CEP751 投与しなかった群、カプセル化しない CEP 751 投与群、カプセル化した CEP 751 の各投与群の各グループ内では、処置の違いによる、転移発生の有意な違いは見られなかった。各処置において、CEP 751 による転移抑制作用が認められた。カプセル化しなかった CEP 751 の転移抑制作用では、CEP 751 を投与しなかった群との有意差は認められなかったが、カプセル化した CEP 751 では、CEP 751 を投与しなかった群と比較して、有意な転移抑制作用が認められた。

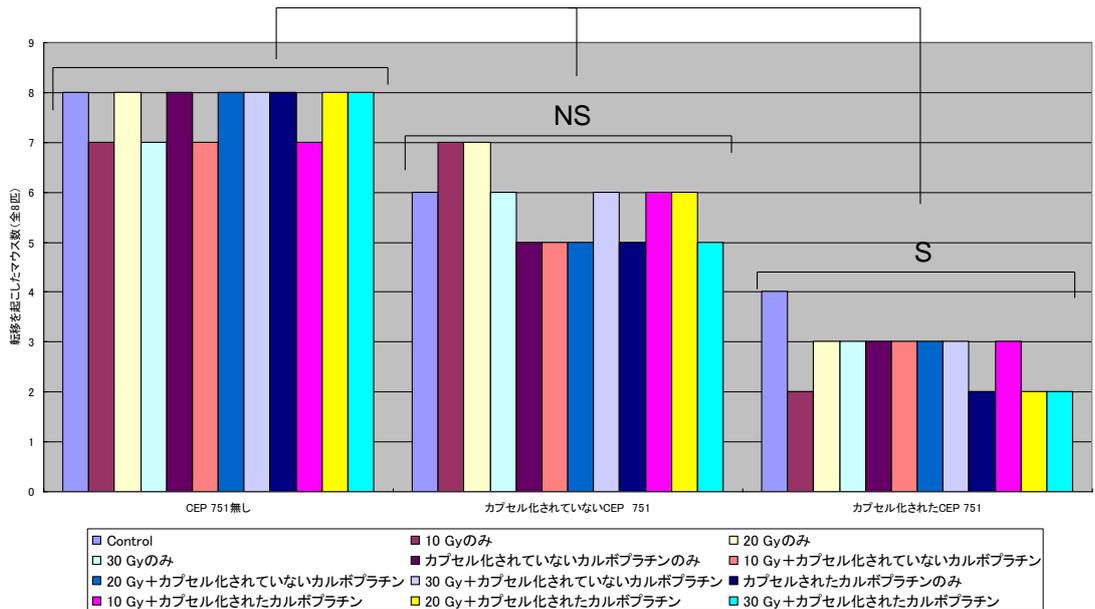


図-3

## 4. 考察

癌の特性として、多臓器に転移することが挙げられ、癌患者の生存率は主に転移の有無により大きく左右される<sup>1)</sup>。したがって、癌治療において、癌転移の抑制は、患者の生存率向上に大きく貢献する。癌転移は腫瘍組織から癌細胞が遊離し、細胞が生存した状態で、遠隔臓器に到達、その後増殖することによって生じる<sup>1)</sup>。本実験では、癌細胞が腫瘍組織から剥がれた時点で、細胞を自殺させる(Anoikis)ことで<sup>2,3)</sup>、癌転移抑制を試みた。腫瘍組織から遊離した癌細胞を自殺させる薬剤として CEP 751 が挙げられる<sup>4,5)</sup>。CEP 751 が癌転移を抑制させるためには、腫瘍組織に持続的に高濃度に作用させる必要がある<sup>4)</sup>。本実験では、CEP 751 を高濃度に、さらに持続的に作用させるため、現在まで開発してきた放射線感受性マイクロカプセル<sup>6)</sup>に封入して、その効果を検討した。また、実際の癌治療では、抗癌剤との併用で治療されることががんがえられたため、白金系抗癌剤との併用で、その効果を検討した。

抗癌剤カルボプラチンの腫瘍内濃度は、カプセル化しなかったカルボプラチンでは 2 週間後、薬剤が検出されなかったが、カプセル化したカルボプラチンでは薬剤が残存した。このため、抗腫瘍効果は持続し、各照射線量で、6 日以降、抗腫瘍効果の増強が認められたと考えられた。

CEP 751 でも、カプセル化しなかった CEP751 では、2 週間では検出されなかったが、カプセル化した

CEP751 では、2 週間後でも薬剤濃度が見られ、このため、転移抑制能は増強し、有意な転移抑制能力が認められたと考えられた。

参考文献：

- 1) Thomas Bogenrieder<sup>1</sup> and Meenhard Herlyn. Axis of evil: molecular mechanisms of cancer metastasis. *Oncogene* (2003) 22, 6524–6536.
- 2) Lance A. Liotta and Elise Kohn. Cancer and the homeless cell. *Nature* (2004) 430, 973-974.
- 3) Peter J. Reddig and Rudy L. Juliano. Clinging to life: cell to matrix adhesion and cell survival. *Cancer and Metastasis Reviews* 24 (2005), 425–439.
- 4) Audrey E. Evans, Kristin D. Kisselbach, *et al.* Antitumor Activity of CEP-751 (KT-6587) on Human Neuroblastoma and Medulloblastoma Xenografts. *Clinical Cancer Research* 5 (1999), 3594–3602.
- 5) Sheila J. Miknyoczki, Hong Chang, Andres Klein-Szanto, *et al.* The Trk Tyrosine Kinase Inhibitor CEP-701 (KT-5555) Exhibits Significant Antitumor Efficacy in Preclinical Xenograft Modelsof Human Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Clinical Cancer Research* 5 (1999), 2205–2212.
- 6) S. Harada, S. Ehara, K. Ishii, *et al.* Improved Radiosensitive Microcapsules Using H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Internationa journal of PIXE 20 (2010) 29-36.

## **Inhibition of metastasis using encapsulated CEP 751**

Satoshi Harada, Shigeru Ehara, Kohichiro Sera<sup>1</sup>, Keizo Ishi<sup>2</sup> and Yoshihiro Saitoh<sup>3</sup>

Iwate Medical University, School of Medicine, Department of Radiology  
19-1 Uchimaru, Morioka, Iwate, 020-8505 Japan

<sup>1</sup>Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

<sup>2</sup>Department of Quantum Science and Energy Engineering, Tohoku University  
Sendai, Miyagi, Japan

<sup>3</sup>Takizawa Institute, Japan Radioisotope Association  
348-1 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

### **Abstract**

The liquid-core microcapsules that releases CEP 751 and Carboplatin was developed, and their ability to inhibit tumor growth and metastasis was tested *in VIVO* in C3H3/N mice.

The capsules were generated by spraying mixture of alginate and hyaluronic acid containing 3mmol-CEP 751 and 5mg-Carboplatin into 0.1mol solution of CaCl<sub>2</sub> and FeCl<sub>2</sub>. One million of microcapsules were injected subcutaneously around the MM47 tumor that was inoculated in the left hind legs of C3He/N mice. Then the 10, 20, or 30 Gy of irradiation (softex 100MV) was given.

After radiation, capsules continuously released carboplatin and CEP 751, which significantly inhibited tumor growth and metastasis.