Antimetastatic effect of hepatotropic liposomal adriamycin on human metastatic liver tumor

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-31 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 松田, 巌 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1637

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第　３６０号	学位授与年月日	平成１４年　３月　７日
氏　　名	松　田　　厳		
論文題目	Antimetastatic effect of hepatotropic liposomal adriamycin on human metastatic liver tumors (転移性肝癌に対する肝指向性アドリアマイシン封入リポソームの抗腫瘍効果に関する実験的検討)		

博士(医学)　松田　厳

論文題目

Antimetastatic effect of hepatotropic liposomal adriamycin on human metastatic liver tumors

(転移性肝癌に対する肝指向性アドリアマイシン封入リポソームの抗腫瘍効果に関する実験的検討)

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

大腸・直腸癌による死亡者数は年々増加傾向にあるが、その主たる死因は転移性肝癌である。従って、生存率の向上には、この肝転移に対する、効果的な治療法の確立が不可欠であると考えられる。この問題を解決する一つの試みとして、薬剤担体を用いた化学療法が挙げられる。リポソームは最も有用な薬剤担体の一つとされ、これを用いた化学療法に関する報告は数多い。しかし、種々の理由で薬剤が目的とする臓器に十分到達せず、その集積性が問題とされている。

我々は、肝細胞膜表面にガラクトースレセプターが存在することに着目し、肝集積性の高い、肝指向性アドリアマイシン封入リポソームを作製した。この薬剤を当科で樹立したヒト大腸癌自然肝転移モデルに投与し、その抗腫瘍効果を検討した。

〔材料ならびに方法〕

1. 薬剤

アドリアマイシン封入リポソーム(Lip-ADM)として

controlLip-ADM(cLip-ADM)と肝指向性Lip-ADM(hLip-ADM)を用いた。リポソームへのアドリアマイシン(ADM)の封入はMayer等の方法を参考にしてpH gradient法で行った。脂質として、dipamiltoylphosphatidylcholine(DPPC)、cholesterol(Chol)の2種類を用い、hLip-ADMにはGal-t-psaを混合した。Gal-t-psaはガラクトース誘導体で、cLip-ADMの膜表面に結合させることによって肝集積性を示した。本法で作製したLip-ADMのADMの封入率は80～90%であった。またリポソームの粒子径は120～130nmであった。

2. 実験動物の作製

a)動物腫瘍として、ラット肝癌株AH-130細胞を上腸間膜静脈内投与することにより、ラット肝転移モデルを作製した。

b)ヒト腫瘍として、当科にて樹立したヌードマウス可移植ヒト大腸癌株(TK-4)の、盲腸縫着法により作製したヒト大腸癌自然肝転移モデルを作製した。

3. 薬剤投与スケジュール

治療群としてFree-ADM、cLip-ADM、hLip-ADM(いづれもADM濃度として5mg/kg)を、対照群として生食水を、4日毎に3回静脈内投与し、ラットは移植2週間後、ヌードマウスは5週後に犠牲死せしめ評価した。

〔結果〕

1. AH-130に対しては、cLip-ADM群及びhLip-ADM群で対照群に比し、有意な肝転移抑制効果を示し(0／10、0／10、6／10)、体重減少を認めなかった。一方Free-ADM群では肝転移抑制効果を認める(0／6)

が、40%が死亡し、高度の体重減少を認めた。

2. TK-4に対しては、毒性の強いFree-ADM群を除く、cLip-ADM群及びhLip-ADM群、対照群の3群で実験を行った。両治療群で共に肝転移抑制効果を認め(5／12、0／11、10／11)、特にhLip-ADM群は、対照群、cLip-ADM群に比し、有意な肝転移抑制効果を示した。

〔考察及び結論〕

リポソームはもともと生体膜モデルとして使用されていたが、近年は非常に有用な薬剤担体として注目されている。その特徴は、封入した薬剤を不活化から防ぐ、材料としてリン脂質を用いるため、毒性がなく抗原性を持たない、細胞と融合し、薬剤を細胞内で放出する、膜表面に抗体を結合させることができる等利点が多い。しかし、網内系組織にリポソームが取り込まれ、目的とする部位に十分量の薬剤を到達させることができない、という障害が存在する。これを克服するために、我々は肝実質細胞にガラクトースレセプターが存在することに着目し、従来のリポソームの膜表面にガラクトース誘導体を結合させて、肝集積性リポソームを作製した。実験結果から強い毒性なく、従来のリポソームよりも有意に高い抗腫瘍効果を示すことが確認された。しかし本実験では技術的な問題があり、実際の腫瘍内のアドリアマイシン濃度は測定していない。また、腫瘍細胞自体のガラクトースレセプターの有無についても確認していない。したがって、抗腫瘍効果を示す理論的根拠については、明確に説明できるまでには至っていない。現在までのところ、投与した肝集積性リポソームにより、肝全体のアドリアマイシン濃度が上昇し、結果として強い抗腫瘍効果を発揮したものと考えている。

これまで、動物腫瘍の担癌マウスにLip-ADMを投与して抗腫瘍効果を認めたという報告はあるが、ヒトの腫瘍を用いて、しかも実際のヒトで見られる大腸癌肝転移過程に極めて類似した、ヒト大腸癌自然肝転移モデルを用いて実験を行ったという報告はない。今回の実験結果からhLip-ADMは極めて高い抗腫瘍効果を有し、ヒト大腸癌肝転移に対して有用な薬剤となりうる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

リポソームは薬物担体として注目され、特に抗癌剤封入リポソームの開発が進められている。しかし、抗癌剤封入リポソームは網内系組織に取り込まれやすく目的とした臓器への集積性が問題となっている。申請者は肝実質細胞膜表面にガラクトース受容体が存在することに着目し、ガラクトース誘導体をリガンドとしてリポソーム膜表面に結合させることにより、肝集積性の高い、肝指向性リポソームを作成した。この肝指向性リポソームにアドリアマイシン(ADM)を封入し、ラット、マウスにおける肝転移モデルを用い抗腫瘍効果を検討した。

リポソームへのADMの封入はpH gradient法で行い、脂質として、dipamiltoylphosphatidylcholine(DPPC)とcholesterol(Chol)の2種類を用いて、単層のリポソームを作成した。これをcontrol Lip-ADM(cLip-ADM)とし、このcLip-ADMにガラクトース誘導体のGal-t-psaを混入し、膜表面に結合させた肝指向性Lip-ADM(hLip-ADM)を作成した。いずれのリポソームの粒子径は120～130nmであった。

肝転移モデルとしては、ラット肝癌株AH-130細胞を上腸間膜静脈内に投与したラット肝転移モデル及び、ヌードマウス可移植ヒト大腸癌株(TK-4)を盲腸に縫着して作成したヒト大腸癌自然肝転移モデルを用いた。これらの動物にADM単独、cLIP-ADM、hLip-ADMをいずれもADMとして5 mg/kgを静注した。AH-130肝転移ラットへの肝転移抑制効果をADM単独、cLIP-ADM、hLip-ADM群いずれもが認めた。

ADM単独投与群では40%が死亡し、高度の体重減少を認めたが、cLIP-ADM、hLip-ADM群では体重減少を認めなかった。TK-4肝転移マウスにおいてはcLIP-ADM、hLip-ADM群いずれも肝転移抑制効果を認めたが、hLip-ADM群の方がより著明であった。

申請者はADM単独、cLIP-ADM、hLip-ADM投与後の肝臓中ADM濃度を測定し、cLIP-ADMよりもhLip-ADMの肝集積性を認めている。この肝臓中ADM濃度の上昇がhLip-ADMの著明な肝転移抑制効果を示したものと考えている。しかしながら、本研究では腫瘍内のADM濃度は技術上の問題から測定しておらず、hLip-ADMの肝転移腫瘍への集積性は不明であり、今後の課題である。

申請者は肝集積性アドリアマイシン封入リポソームがヒト大腸癌転移モデルで明らかな肝転移抑制効果を認め、今後大腸癌患者における肝転移に対しては有用なDrug Delivery System(DDS)の開発につながる研究であると審査委員会一同は高く評価した。

以上の申請者の研究内容について審査委員会では以下のような質問および議論がなされた。

1)腫瘍内アドリアマイシン濃度が測定できない理由は
2)ガラクトースレセプターの種差について
3)ガラクトースリガンドの選択理由について
4)リポソームの種類について
5)リポソームの安定性、体内動態について
6)アドリアマイシンを選択した理由について
7)アドリアマイシンの投与量の選択理由について
8)リポソームの肝細胞内到達の機構
9)腫瘍細胞にガラクトースレセプターが存在するのか
10)肝転移の診断方法は
11)ラット肝転移モデルでは肝集積性リポソームに差が認められない理由は

これらの質問に対し申請者の解答はおおむね適切であり、問題点も十分に理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者　主査　大橋京一
副査　梅村和夫　副査　西村哲夫