

京都大学	博士 (医科 学)	氏 名	中 村 淳 一
論文題目	<i>In vitro and in vivo cancer targeting of water-soluble paclitaxel by folic acid immobilization</i> (葉酸固定化した水溶性パクリタキセルの <i>in vitro</i> と <i>in vivo</i> での癌ターゲッティング)		
(論文内容の要旨) 癌治療には、外科的手術と抗癌剤を使用する薬物療法や放射線療法の併用が一般的であり、治療効果の向上と副作用の軽減の両立が大きな課題である。パクリタキセルは、肺癌や卵巣癌の治療に用いられる抗癌剤で、難水溶性のため可溶化剤としてポリオキシエチレンヒマシ油 (クレモフォール EL) を使用する必要がある。しかしこの可溶化剤を起因とする副作用が患者の 30% で起こるため問題視されている。 DDS (Drug-Delivery-System) 薬剤は薬を病的部位に届けその組織のみに薬理作用を示すことから正常組織のダメージを軽減し、薬の副作用を弱め、薬の有効性を最大限に高める方法として期待されている。本研究では DDS の手法を用いてパクリタキセルの水溶化及び抗癌効果の向上を目的とした DDS 薬剤の開発とその有効性について検討した。 パクリタキセルの水溶性を向上させるため両親媒性のデキストランにアミノ基を導入してアミノ化デキストランを合成し、これにパクリタキセルを固定化して水溶性パクリタキセルを合成した。さらに、癌特異的に攻撃するターゲッティング効果を持たせるため葉酸を共有結合により固定化し、葉酸結合水溶性パクリタキセルを合成した。葉酸は、卵巣癌や大腸癌などの一部の癌細胞において過剰に取り込んでおり、これらの細胞は葉酸レセプターを過剰発現している。また、葉酸のカルボキシル基と水溶性パクリタキセルのアミノ基を利用し、イオン吸着により両者を吸着させた葉酸吸着水溶性パクリタキセルも作成した。アミノ化デキストランのアミノ基にパクリタキセルを導入した水溶性パクリタキセルは従来のパクリタキセルの約 2700 倍の水溶性の獲得に成功した。葉酸レセプターを過剰発現している KB (ヒト咽頭癌由来) 細胞を用いて増殖抑制効果について評価した。 <i>In vitro</i> の細胞毒性試験で葉酸吸着及び結合水溶性パクリタキセルは、パクリタキセルの約 2 倍、水溶性パクリタキセルの約 3 倍の増殖抑制効果を示した。また、動的光散乱法による分子サイズ測定において水溶性パクリタキセルはパクリタキセル単体の約 10 倍の 100nm 前後の大きさになっており、腫瘍組織周辺の血管壁を通過しやすく、腫瘍組織に集積しやすい EPR (Enhanced Permeation and Retention) 効果に最適なサイズであることが判明した。さらに、葉酸の癌ターゲッティング効果により、細胞の取り込み能が向上することを蛍光顕微鏡観察により確認された。 ヌードマウスに KB 細胞を移植して担癌マウスを作成し、各パクリタキセル誘導体の抗癌効果及び延命効果について検討した。移植 1 週間後に 3 回薬剤を投与し、移植 1 ヶ月後に各投与群を比較した。葉酸吸着及び結合水溶性パクリタキセルはパクリタキセル単体よりも約 3 倍腫瘍が小さくなり、高い増殖抑制効果を示した。また、葉酸結合水溶性パクリタキセルが最も高い延命効果を示し、パクリタキセル群が全滅してから約 2 ヶ月間生存した。FITC 標識した葉酸吸着水溶性パクリタ			

キセルを担癌マウスに静脈注射し、*in vivo* の腫瘍組織ターゲッティング能を検討した。腫瘍を凍結切片にし、蛍光顕微鏡で観察した結果、明らかに葉酸吸着水溶性パクリタキセルの方が水溶性パクリタキセルよりも腫瘍組織に多く見られた。これらの結果により、葉酸吸着及び結合水溶性パクリタキセルは従来のパクリタキセルの欠点である難水溶性が改善され、腫瘍組織へのターゲッティング能を獲得することにより、可溶化剤の副作用回避と抗癌剤の有効性向上が達成され、より安全で治療効果の高い DDS 薬剤であると示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

肺癌などの治療に広く使用されているパクリタキセルには、難水溶性という問題があり、これを解決するドラッグデリバリーシステム (DDS) の開発が重要な課題となっている。しかし従来の方法、例えば、ポリオキシエチレンヒマシ油の添加には副作用があり、また、ポリエチレングリコール (PEG) やリポソームを用いた水溶化では、抗癌効果の半減、封入量の調節や滅菌が困難などの問題があった。

本研究で創製した水溶性・癌指向性パクリタキセルは、安全性が確立しているデキストランとビタミンの一種である葉酸を共有結合させて複合化した DDS 薬剤で、葉酸結合水溶性パクリタキセル製剤と名付けた。デキストランとの複合体化で水溶性が向上しただけでなく、分子直径が約 100nm に達したことで癌組織に集積する効果 (Enhanced Permeation and Retention、EPR 効果と呼ばれる) もあることが分かった。また、葉酸結合により癌ターゲッティング効果の向上が動物実験で確認された。葉酸結合水溶性パクリタキセル製剤は濾過滅菌や薬物導入量の制御が可能であり、従来よりも約 3 倍の *in-vitro* 癌細胞増殖抑制効果が、また、約 2 倍の担癌マウス延命効果が示された。

以上の研究は、天然機能性物質の特性を組み合わせることにより、今までの問題を解決するものであり、将来の臨床応用に向けた DDS 薬剤開発の基礎として寄与するところが大きい。

したがって、本論文は博士 (医科学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 23 年 10 月 7 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降