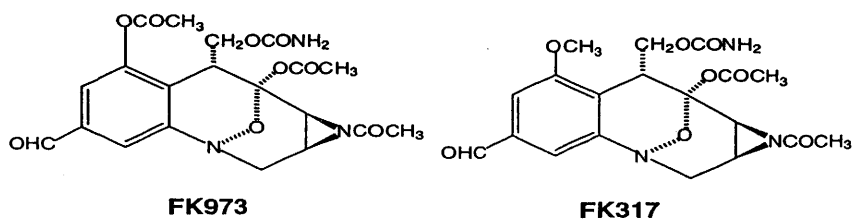


氏 名	直 江 吉 則
学位(専攻分野)	博 士 (薬 学)
学位記番号	論 薬 博 第 619 号
学位授与の日付	平成 11 年 9 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	新規抗癌剤 FK 317 の動態特性と抗腫瘍効果の関連に関する研究

論文調査委員 (主 査) 教授 橋 田 充 教授 富 岡 清 教授 川 寄 敏 祐

論 文 内 容 の 要 旨

近年、新規抗癌剤の開発によりある種の癌では治療効果の著しい改善がみられているが、大腸癌、肺癌および非小細胞肺癌などの難治性固形癌に対しては十分な効果が得られておらず、これらの克服が癌化学療法最大の目標となっている。新規抗癌抗生物質 FK 973 [11-acetyl-8-carbamoyloxymethyl-4-formyl-14-oxa-1, 11-diazatetra-cyclo (7.4.1.0^{2,7}.0^{10,12}) tetradeca-2,4,6-trien-6,9-diylldiacetate] は臨床試験において難治性癌に効果を示したが、心膜液貯留などの副作用が発現し開発が中止された。そこで、著者は効果を維持しつつ副作用の少ない誘導体の開発を目的として系統的な検討を行い、腫瘍選択的に優れた作用を発現する FK 317 [11-acetyl-8-carbamoyloxymethyl-4-formyl-6-methoxy-14-oxa-1, 11-diazatetra-cyclo (7.4.1.0^{2,7}.0^{10,12}) tetradeca-2,4,6-trien-9-yl-acetate] を見い出すと共に、その作用選択性および多剤耐性腫瘍に対する効果発現の機構を薬物動態の視点より解析し、臨床適用における優位性を明らかにした。



I. 胸腔液貯留作用および抗腫瘍効果のスクリーニングに基づく FK 317 の選択

FK 973 の心膜液貯留作用を実験的に評価できる系を確立し、FK 973 の各種誘導体を対象にスクリーニングを行った結果、胸腔液の貯留を全く認めない FK 317 を見出した。また、培養腫瘍細胞を用いた in vitro スクリーニングおよび担癌マウスを用いた in vivo スクリーニングにおいて、FK 317 が FK 973 を上回る抗腫瘍効果を持つことが明らかになった。さらに、¹⁴C 標識体を用いて、両化合物をラットおよびマウスにおける体内動態の面より比較した結果、FK 317 の方が心臓を始めとする各種臓器からより早く消失することが明らかになり、動態特性における優位性も示唆された。

II. FK 317 の殺細胞効果発現機構

FK 317 の存在下腫瘍細胞を培養することによって DNA の 2 本鎖間に架橋が形成された。これに対し、無細胞系では FK 317 は架橋を形成しなかったが、FK 317 の脱アセチル体は還元条件下 DNA 2 本鎖間に架橋を形成した。次に、FK 317 に対する耐性細胞株 Lu 99/317 を樹立し、その特性を解析した結果、マイトマイシン C およびカルボコンに対して交叉耐性が示され、併せて両薬剤を活性化する DT-diaphorase の活性がこの耐性細胞株では低下していることが明らかになった。さらに、DT-diaphorase の阻害剤ジクマロールが FK 317 の親株に対する殺細胞作用を減弱させることが明らかとなり、以上の結果より、FK 317 はプロドラッグとして機能し、脱アセチル化された後 DT-diaphorase により活性化され DNA 2 本鎖間

に架橋を形成して殺細胞効果を示すことが示された。

III. FK 317 のヒト腫瘍細胞に対する効果と腫瘍選択的作用発現の機構

臨床効果の予測を目的に各種ヒト腫瘍株を移植したヌードマウスを用いて抗腫瘍効果を評価した結果、FK 317 が既存の抗癌剤を大きく上回る活性を有することが明らかとなった。一方、骨髄毒性や体重減少など抗癌剤に一般的な副作用は弱いことが確かめられた。FK 317 の腫瘍選択的な作用発現の機構を明らかにするため、 ^{14}C 標識体を用いて臓器移行および代謝動態を検討した結果、FK 317 の細胞内における代謝様式は腫瘍細胞と正常細胞で大きく異なり、後者では主として活性を示さないカルボン酸体に代謝されるのに対し、腫瘍細胞中では強い殺細胞効果を有するアルコール体に代謝されることが確かめられ、この代謝パターンの違いが腫瘍選択的な作用の発現に寄与していることが示唆された。

IV. FK 317 の多剤耐性腫瘍細胞に対する作用

多剤耐性の発現は、現在、癌化学療法の効果を限定する大きな原因となっている。そこで、多剤耐性 KB-V 1 腫瘍細胞に対する FK 317 の効果を親株の KB-3-1 細胞に対する効果と比較した。KB-V 1 細胞は *in vitro* においては FK 317 に対して強い交叉耐性を示したが、*in vivo* では両細胞株に対して FK 317 は同様に強い抗腫瘍効果を示した。また、*in vitro* 取り込み実験において FK 317 の KB-V 1 細胞への取り込みは KB-3-1 細胞より著しく低く、p-糖タンパク質により細胞外へくみ出しを受けることが示された。一方、血液との接触によって代謝物として得られる FK 317 の脱アセチル体は p-糖タンパク質と結合せず、多剤耐性細胞に対しても殺細胞効果を示した。以上の結果より、プロドラッグ FK 317 は p-糖タンパク質の基質となり細胞外への排泄を受けるのに対し、活性代謝物は多剤耐性腫瘍細胞にも効果を発揮することが明らかとなった。

V. FK 317 の抗癌悪液質作用

癌治療においては、腫瘍増殖の抑制だけでなく癌悪液質の改善も緩和療法の中心課題となっている。そこで、癌悪液質の実験モデルとされるマウス結腸癌 colon 26 およびヒト肺癌 LX-1 担癌マウスを用いて、FK 317 の癌悪液質に対する抑制効果を評価した結果、FK 317 は体重減少あるいは副睾丸脂肪、腓腹筋およびカルカス重量の減少を抑制し、さらに癌悪液質を回復する投与量では、血液のグルコース、トリグリセリドおよび総コレステロール値などを正常マウス値にまで回復させた。以上の結果より、FK 317 が血液の生化学的パラメーターの改善を通じて癌悪液質を抑制する作用を有する可能性が示唆された。

以上の結果より、FK 973 の副作用改善を目指して開発された新規抗癌剤 FK 317 が、1) 脱アセチル反応された後細胞内で還元酵素により活性化を受けて殺細胞効果を発揮するプロドラッグタイプの bioreductive agent として作用する、2) 腫瘍細胞において活性をもつ還元体に代謝されるのに対し、正常組織では酸化されて不活化されることにより腫瘍細胞に選択的に殺細胞効果を発現する、3) プロドラッグとしては p-糖タンパク質の基質となるが、血中で脱アセチル代謝物に代謝され多剤耐性細胞に対しても効果を示す、4) ヒト腫瘍に対し強い抗腫瘍効果を示し、かつ投与量の有効域が広い、5) 癌悪液質に対する抑制効果を併せ持つ、など体内動態上あるいは効果の観点よりユニークな特性を有することが明らかとなった。これらの知見は、臨床における FK 317 の優れた作用を示唆するだけでなく、今後、より選択性の高い抗癌剤あるいはそのプロドラッグの開発に対し、有用な設計指針を与えるものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

現在、大腸癌や非小細胞肺癌などの難治性固形癌の治療が癌化学療法の最大の目標となっている。抗癌抗生物質 FK 973 [11-acetyl-8-carbamoyloxy methyl-4-formyl-14-oxa-1, 11-diazatetra-cyclo (7.4.1.0^{2,7}.0^{10,12}) tetradeca-2, 4, 6-trien-6, 9-diyl diacetate] は、臨床試験において難治性癌に効果を示したが、心膜液貯留などの副作用が発現し開発が中止された。そこで、著者は効果を保持しつつ副作用の少ない誘導体の開発を目的として系統的な検討を行い、腫瘍選択的に優れた抗癌作用を発現する FK 317 [11-acetyl-8-carbamoyloxymethyl-4-formyl-6-methoxy-14-oxa-1, 11-diazatetra-cyclo (7.4.1.0^{2,7}.0^{10,12}) tetradeca-2, 4, 6-trien-9-yl-acetate] を見いだすと共に、その作用選択性および多剤耐性腫瘍に対する効果発現の機構を薬物動態学的視点より解析し、治療上の有用性を明らかにした。最初に心膜液貯留作用の評価系を確立しスクリーニングを行い、胸腔液の貯留を全く認めない FK 317 を見いだすと共に、本化合物が FK 973 を上回る抗腫瘍効果を示すことを確認した。次に、殺細胞効果の発現機構を機材し、FK 317 の存在下腫瘍細胞を培養すること

によって DNA の 2 本鎖間に架橋が形成されること、また無細胞系では FK 317 は DNA の 2 本鎖間に架橋を形成しないが、FK 317 の脱アセチル体は還元条件下架橋を形成することを明らかにした。さらに、FK 317 に対する耐性細胞株 Lu 99/317 を樹立しその特性を解析した結果、耐性株において DT-diaphorase 活性が低下していること、また FK 317 の親株に対する殺細胞効果も DT-diaphorase の阻害剤ジクマロールの添加により減弱することを明らかにした。以上の結果より、FK 317 がプロドラッグとして機能し、生体内で脱アセチル化された後 DT-diaphorase により活性化され、DNA 2 本鎖間に架橋を形成して殺細胞効果を示すと結論された。次に、臨床効果の予測を目的に各種ヒト腫瘍株を移植したヌードマウスを用いて評価を行った結果、FK 317 が既存の抗癌剤を大きく上回る抗癌活性を有し、一方、骨髄毒性や体重減少など抗癌剤に一般的な副作用は弱いことが確かめられた。以上で認められた、腫瘍選択的な作用発現の機構を明らかにするため、¹⁴C 標識体を用いて臓器移行および代謝動態を検討した結果、FK 317 の細胞内における代謝様式が腫瘍細胞と正常細胞で異なり、後者では主として活性を持たないカルボン酸体に代謝されるのに対し腫瘍細胞中では強い活性を有するアルコール体に代謝され、これが選択的作用発現に寄与していることが示された。さらに、多剤耐性 KB-V 1 腫瘍細胞に対する効果を親株細胞と比較した結果、FK 317 は in vitro においては多剤耐性株に効果を示さないものの、in vivo では耐性株に対しても強い効果を示し、これが p-糖タンパク質の基質とならない脱アセチル体の効果によることが示された。さらに、FK 317 が血液の生化学的パラメーターの改善を通じて癌悪疫質を抑制する可能性も示唆された。

以上、著者は、新規抗癌剤 FK 317 の優れた作用選択性発現の機構を動態学的視点より解明した。本知見は、本化合物の臨床的有用性を証明するだけでなく、今後の作用選択性の高い抗癌剤あるいはそのプロドラッグの開発に有用な設計指針を与えるものと考えらる。

よって、本論文は博士（薬学）の論文として価値あるものと認める。更に、平成 11 年 8 月 30 日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。