

|                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                        |    |        |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|--------|
| 京都大学                                                                                                                                                                                                       | 博士（医学）                                                                                                                                                                                 | 氏名 | 郡司 周太郎 |
| 論文題目                                                                                                                                                                                                       | A novel drug delivery system of intraperitoneal chemotherapy for peritoneal carcinomatosis using gelatin microspheres incorporating cisplatin<br>(ゼラチン微粒子を用いた高用量シスプラチン徐放化製剤による癌性腹膜炎治療) |    |        |
| （論文内容の要旨）                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                        |    |        |
| 1. 緒言                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                        |    |        |
| 進行消化器癌において、癌性腹膜炎は頻度が高い病態で、通過障害、腹水など種々の症状を引き起こし、患者の生活の質を低下させる事で知られている。                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                        |    |        |
| これまでにシスプラチン(CDDP)、アドリアマイシン(ADM)など様々な抗癌剤が腹腔内投与されてきた。しかし、これらの薬剤は水溶性であり、投与後早期に腹膜から吸収され血中へ移行するため、腹腔内濃度が維持出来ないという問題があった。                                                                                        |                                                                                                                                                                                        |    |        |
| 一方、全身投与によって血中濃度を長期間維持する治療法は、腎機能障害などその用量制限の問題がある。                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                        |    |        |
| これまでに、我々は化学架橋したゼラチン微粒子のCDDP徐放化製剤(gelatin microsphere incorporating CDDP: GM-CDDP)を実験動物に投与し、その腎機能障害や体重減少の改善効果を確認し、着目してきた。                                                                                   |                                                                                                                                                                                        |    |        |
| 今回我々は、より高用量のCDDPを用いることで、より高い治療効果(抗腫瘍効果、副作用抑制)を得られると考え本実験を行った。                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                        |    |        |
| 2. 実験                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                        |    |        |
| In vitro                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                        |    |        |
| ＜ゼラチン粒子の作製＞等電点 5.0 のゼラチンから直径 30～75umの微粒子を作製した。架橋度の異なる 4 つGM-CDDPを得た。                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                        |    |        |
| ＜徐放化試験＞PBS中にGM-CDDPを分散させ、37℃にて振盪、経時的に上清中のプラチナ濃度を原子吸光計にて測定した。24 時間後にコラゲナーゼを添加し、ゼラチンの分解によってシスプラチンが放出されるか確認を行った。                                                                                              |                                                                                                                                                                                        |    |        |
| In vivo                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                        |    |        |
| ＜経時的生体内プラチナ濃度の推移＞GM-CDDPとCDDP水溶液をそれぞれBalb/cマウス 7 週齢オスに腹腔内投与し、1.5、4、24、48、168 時間後に心臓採血、腹腔内洗浄、腎臓摘出を行い、血清、洗浄腹水、腎臓、それぞれの検体に含まれるプラチナ濃度を測定した。                                                                    |                                                                                                                                                                                        |    |        |
| ＜腹膜播種モデルマウスの作製＞Balb/cマウス 7 週齢オスの腹腔内にColon26 癌細胞を 1×10 <sup>6</sup> 個腹腔内投与後、解剖し、腹膜播種を確認した。                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                        |    |        |
| この動物モデルを以降の実験に使用した。                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                        |    |        |
| ＜抗癌治療実験＞Day0 にColon26 を播種し、Day1,4 にGM-CDDPを腹腔内投与した(N=6)。CDDPは 10mg/kgを一回投与量とし、Totalで 20mg/kgとした。CDDP水溶液群(Free CDDP群)とPBS群(Non Treatment群)、CDDP非含有粒子群(GM only群)をcontrolとして用い、生存期間、体重変化及び播種後 10 日目の腫瘍量を比較した。 |                                                                                                                                                                                        |    |        |
| ＜毒性比較実験＞Balb/cマウス 7 週齢オスの腹腔内にGM-CDDPとFree CDDPを 5mg/kgのCDDP量において、週に一度の間隔で投与し、その間の体重変化を比較、また 5 回投与後に採血し、血液データを比較した。                                                                                         |                                                                                                                                                                                        |    |        |
| 3. 結果                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                        |    |        |
| 作製されたGM-CDDPはCDDPの徐放性を持つ事がわかった。もっとも徐放性に優れるGel4 を選択し、後の実験に用いた。生体への投与では、初期バーストと呼ばれる急激な血中濃度の上昇は、GM-CDDP群では抑えられており、腹水においては投与後一週間後もプラチナが検出された。                                                                  |                                                                                                                                                                                        |    |        |
| Day10 での腫瘍重量を測定したところ、NT 群、GM only 群と比較し、GM-CDDP 群、F 群は優位に腫瘍量が少なかった。生存期間の比較では、F 群はコントロール群に比べ優位に生存期間の延長を認めたが、GM-CDDP 群は、F 群と比較しても優位に良好な生存期間を示した。                                                             |                                                                                                                                                                                        |    |        |
| また、連続投与の実験では、F 群では優位な体重減少を認めたが、GM-CDDP 群では体重減少を認めず、コントロール群と同様の経過をたどった。また、Free CDDP 群では BUN 値の上昇および、白血球数の減少を認めたが、GM-CDDP 群、コントロール群では変化を認めなかった。                                                              |                                                                                                                                                                                        |    |        |
| 4. 考察                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                        |    |        |
| ゼラチン微粒子は CDDP の治療効果を減弱することなくその副作用(Dose limiting toxicity)を抑制した。GM-CDDP によってより高用量の薬剤をより安全に、効果的に投与できると我々は考えている。                                                                                              |                                                                                                                                                                                        |    |        |

|                                                                                                                                                             |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| （論文審査の結果の要旨）                                                                                                                                                |
| 腹膜播種は消化器癌において頻度の高い病態で、予後不良である。腹膜播種に対する治療法の一つとして、腹腔内化学療法があるが、薬物濃度の維持など、その有効性に課題があり、現状では標準治療となっていない。申請者は、この問題を Drug delivery system (DDS)の技術を用いて解決を試みた。       |
| GM-CDDP（gelatin microsphere incorporating CDDP）は化学架橋したゼラチン粒子にシスプラチンを含浸させた製剤で、その分解によって初めてシスプラチンを放出する性質をもつ。申請者は、マウス腹膜播種モデルを用いて、その徐放性による治療の有効性維持と副作用軽減効果を検討した。 |
| まず、4 種類の分解性の GM-CDDP を作成し、これらの分解性試験やシスプラチンの放出試験にて至適な徐放性を有する GM-CDDP を決定した。次にマウス腹膜播種モデルを用いて、治療有効性と毒性を検討した。                                                   |
| コントロール群（CDDP 非投与）に比較し、Free CDDP 群（シスプラチン水溶液）では優位な体重減少を認めたが、GM-CDDP 群では体重減少を認めなかった。また、Free CDDP 群では BUN 値の上昇および、白血球数の減少を認めたが、GM-CDDP 群では変化を認めなかった。           |
| Day10 での腫瘍重量は、コントロール群と比較し、両治療群では優位に腫瘍量が少なく、生存期間は、GM-CDDP 群で有意に延長した。                                                                                         |
| 以上の研究は、ゼラチン粒子を用いたシスプラチン徐放性剤の有効性と副作用抑制効果を明らかにし、新しい腹膜播種に対する治療法の開発につながる可能性がある。                                                                                 |
| したがって、本論文は博士（医学）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 25 年 11 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                                                                                                |