論　文　要　旨

区分	甲	氏　名　　山　﨑　周　一

論文題名

疾患細胞指向性リポソームによる治療薬の開発に関する研究

論文の要旨

がんは死を誘導する遺伝子変異による疾病であり、日本において がん死亡者数および がん罹患者数は増加の傾向にある。2011 年では がん死亡者数約 35.7 万人、がん罹患者数約 85.1 万人となっている。一方、関節リウマチ(RA)の罹患者数は人口の約 1%におよび、発症年齢は若年から高齢者まで幅広く中でも 30～50 歳代の働き盛りに多く、女性は男性に比べ約 2～3 倍発症し易いことが知られている。これらの疾病に対する臨床薬である「抗がん薬・抗リウマチ薬」は確実に進化しており、手術療法等と連携した薬物治療法の進展も見られるが、副作用が大きな課題となっている。

ハイブリッドリポソーム(HL)は がん細胞に対してアポトーシスを誘導し、担がんモデル動物に対する治療効果および正常動物に対する安全性が確認されている。更に HL は生命倫理委員会承認後の臨床試験において、再発悪性リンパ腫患者様に対する延命効果および固形リンパ腫の顕著な縮小効果が報告されている。

本研究は、副作用が少なく患者様の QOL(Quality of Life)を維持しながら薬物療法を行う「抗がん薬」・「抗リウマチ薬」の臨床薬開発を目指している。リン脂質(DMPC)およびミセル分子(C_{12}(EO)n：n=23,25)を素材として HL-23 および HL-25 を調製し、HL-25 のヒト乳がん細胞皮下移植モデルマウスに対する治療効果および *in vitro* での血管新生抑制メカニズムについて検討した。更に、HL-23 の関節リウマチモデルマウスに対する治療効果について検討した。

第 2 章では、HL-23 および HL-25 の膜物性について検討した。HL-23・HL-25 は調製後室温において膜直径 100nm 以下で 1 ヵ月以上安定であった。HL-23・HL-25 は、細網内皮系(RES)捕獲回避可能な膜直径であり、室温において長期間安定であることが明らかとなった。

第 3 章では、HL-25 のヒト乳がん(MDA-MB-453)細胞皮下移植モデルマウスに対する治療効果を検討した。投与期間中、Control 未治療群および DMPC 投与群は腫瘍体積が継続的に増大したのに比較して、HL-25 治療群では腫瘍はほぼ一定の大きさで推移し、腫瘍抑制率は約 65%となった。投与終了後の腫瘍表面観察においては、Control 未治療群・DMPC 投与群の腫瘍表面に新生血管が多数見られたが、HL-25 治療群の腫瘍表面には新生血管はほとんど見られなかった。また腫瘍重量においても、

Control 未治療群・DMPC 投与群と比較して、HL-25 治療群では顕著な縮小が得られた。更に CD34 免疫染色による腫瘍組織切片観察においては、Control 未治療群・DMPC 投与群と比較して、HL-25 治療群では CD34 陽性領域の顕著な減少が見られた。従って HL-25 は、ヒト乳がん(MDA-MB-453)細胞皮下移植モデルマウスに対して、腫瘍の表面および内部で血管新生抑制効果を伴う抗腫瘍効果を有することが示唆された。

第 4 章では、HL-25 の血管新生抑制メカニズムについて検討した。血管内皮細胞(HUVEC)に対する HL-25 の細胞毒性試験、HUVEC の管腔形成抑制試験および血管内皮細胞増殖因子(VEGF)産生抑制試験を行った。HL-25 は HUVEC の増殖に影響を与えない 160～200μM の低濃度域において、管腔形成を顕著に抑制することおよび VEGF の産生を HL-25 濃度依存的に抑制することが明らかとなった。従って HL-25 の血管新生抑制効果は、VEGF 産生抑制によることが示唆された。

第 5 章では、HL-23 のコラーゲン誘発関節リウマチモデルマウス(CIA モデルマウス)に対する治療効果、炎症性サイトカイン(IL-1ß、TNF-α、IL-6)の産生抑制効果を検討した。関節リウマチモデルマウス作製において、比較的短期間で CIA モデルマウスを作製することが可能となった。HL-23 は CIA モデルマウスに対して、関節部位における腫脹等の顕著な治療効果、関節の骨・軟骨の顕著な治療効果および炎症性サイトカインの顕著な産生抑制効果が得られた。従って HL-23 は、CIA モデルマウスに対して炎症性サイトカイン産生抑制を有し、関節部位における腫脹等の顕著な治療効果および関節の骨・軟骨破壊抑制による顕著な治療効果が明らかとなった。

以上のように、95mol%DMPC/5mol%C_{12}(EO)n ハイブリッドリポソーム(HL-25)のヒト乳がん(MDA-MB-453)細胞に対する制がん効果および制がんメカニズムが明らかになった。*in vivo* においてアポトーシス誘導および血管新生抑制効果を伴う治療効果が明らかになった。更に、HL-23 の関節リウマチ滑膜(HFLS-RA)細胞に対する増殖抑制効果および関節リウマチ(CIA)モデルマウスに対する炎症性サイトカイン産生抑制による治療効果が明らかになった。今後さらに多くの知見を蓄積し、がん および関節リウマチなどの疾患に対する副作用の少ない治療薬として期待できる。