

平成 28 年 2 月 15 日

崇城大学大学院
薬学研究科委員会




研究科長 小田切 優樹 殿

論文審査委員

主査 小田切 優樹



論文審査結果の報告（甲）

論文提出者	月 川 健 士 (1231D03)
論文題名	高い腫瘍選択性を有する高分子化抗がん剤の開発に関する基礎的研究
審査委員	主 査 教 授 小田切 優樹 
	副 査 教 授 平山 文俊 
	副 査 教 授 國安 明彦 

学位論文の要旨

多くの低分子抗がん剤は腫瘍選択性に乏しく、腫瘍組織だけでなく正常組織にも分布してしまい、重篤な副作用を招く場合がある。そこで enhanced permeability and retention (EPR) 効果に着目した。EPR 効果は、多くの固形腫瘍において普遍的に見られる現象で、生体親和性を有する高分子（分子量 4 万以上、サイズ約 10 ~ 200 nm）が腫瘍組織に選択的に集積する現象である。本研究では種々の高分子化抗がん剤を作製し、その腫瘍選択性や抗腫瘍効果に関する検討を行った。以下に得られた知見を要約する。

まず、高分子化抗がん剤からの抗がん剤放出性と細胞取り込みおよび抗腫瘍効果に関する検討を行った。ポリエチレングリコール（PEG）を結合させた PEG 化亜鉛プロトポルフィリン（PEG-ZnPP）は、EPR 効果によって腫瘍に集積するが、細胞内取り込みは阻害されてしまう（PEG ジレンマ）。そこで、PEG 鎖結合部にエステル結合（es）あるいはエーテル結合（et）を持つ PEG-ZnPP（esPEG-ZnPP と etPEG-ZnPP）を用いて、PEG 鎖切断性、細胞内取り込み、抗腫瘍効果について検討した。マウス腫瘍組織やヒト腫瘍組織のホモジネート上清を用いて、PEG 鎖切断性を調べたところ、esPEG-ZnPP の PEG 鎖は腫瘍内プロテアーゼによって切断され、PEG 鎖切断物が生成されることが示唆された。一方、etPEG-ZnPP では PEG 鎖の脱離は起こらなかった。細胞内取り込みや細胞毒性を検討したところ、PEG

鎖切断性を有する esPEG-ZnPP が etPEG-ZnPP より優れた結果を示すことが判明した。また、担がんマウスに静脈投与すると、esPEG-ZnPP では腫瘍組織で PEG 鎖切断物が生成され、etPEG-ZnPP より高い抗腫瘍効果を示した。加えて、ほとんどの正常組織では PEG-ZnPP の分布や PEG 鎖切断物の生成が少なかった。本検討の結果から、エステル結合を利用することにより、PEG ジレンマの解決や腫瘍選択性につながることを示唆された。

次に、アントラサイクリン系抗がん剤ピラルビシン (THP) を用いて、高分子化抗がん剤と元の低分子抗がん剤の体内動態、抗腫瘍効果の比較検討を行った。我々の研究グループではこれまでに、アルブミン結合能を有する両親媒性ポリマーであるスチレンマレイン酸コポリマー (SMA) を用いて、SMA と THP 間の非共有結合のみで高分子ミセルを作製している。しかし、非共有結合のみで形成された高分子化抗がん剤は、血中で不安定な場合があり、血中で短時間のうちに低分子抗がん剤を放出してしまう問題が報告されている。よって本研究では、THP を SMA に共有結合させた SMA-THP conjugate を合成し、体内動態や抗腫瘍効果などの検討を行った。SMA-THP conjugate は会合体やアルブミン結合体を形成し、高分子として挙動できることが示唆され、元の THP より血中滞留性が向上し (AUC : 24.5 倍)、EPR 効果による高い腫瘍集積性 (8.4 倍) が得られることが分かった。また腫瘍組織内には長時間滞留したが、正常組織からは消失が速かった。この SMA-THP conjugate をマウス大腸がん (colon 26) 担がんマウスに静脈投与すると、体重減少などの副作用を示さず、抗腫瘍効果を発揮し、さらに肺転移巣の減少も見られた。以上の結果より、SMA-THP conjugate は高い腫瘍選択性を有し、副作用の少ない高分子化抗がん剤になりうると期待できる。

続いて、分子量の異なる高分子化抗がん剤の体内動態や抗腫瘍効果などの比較検討を行った。我々の研究グループでは以前に、ポリヒドロキシプロピルメタクリルアミド (PHPMA) に、ヒドラゾン結合を介して THP を結合させて平均分子量約 4 万 (40 kDa) の 40P-THP を作製した。そして、高い抗腫瘍効果を発揮し、副作用が少ないことを報告した。本研究ではさらなる向上を目指し、平均分子量を約 9 万 (90 kDa) にした 90P-THP の体内動態や抗腫瘍効果などを検討した。90P-THP の free THP 放出性や細胞毒性は 40P-THP と同様の結果であったが、担がんマウスに静脈投与すると血中滞留性が向上していること (AUC : 1.7 倍) が分かり、腫瘍集積性の向上も見られた。投与から 24 時間後以降では、40P-THP の 2.5 倍以上の濃度で腫瘍組織に集積していた。抗腫瘍効果も 90P-THP の方が優れており、投与群の 80% のマウスで腫瘍が消失し、150 日以上再発は見られなかった。本検討で用いた 5 mg/kg (THP 当量) は 90P-THP の LD50 の 1/7.5 量に相当し、体重減少などの明らかな副作用は見られなかった。以上の結果より、90P-THP はより優れた腫瘍選択性と抗腫瘍活性を有する高分子化抗がん剤になりうると期待できる。

以上のように、種々の高分子化抗がん剤において、EPR 効果や腫瘍環境を生かした高い腫瘍選択性、副作用の低減や抗腫瘍効果などの向上が確認された。まずは、高い腫瘍選択性を有する高分子化抗がん剤の開発が必要不可欠であり、そのうえで頻回投与や複数の高分子化抗がん剤の併用、あるいは EPR 効果増強法との併用なども検討していくことで、有効かつ安全ながん治療法につながることを期待される。本研究において高分子化抗がん剤の腫瘍選択性および抗腫瘍活性などについて得られた基礎的知見は、高い腫瘍選択性を有する高分子化抗がん剤の開発への一助になるものと考えられる。

論文審査結果の要旨

がんの化学療法において多くの抗がん剤は腫瘍選択性が低く、腫瘍組織のみならず正常組織に分布してしまう。そこで本研究では、生体親和性を有する高分子が腫瘍組織に選択的に集積する、enhanced permeability and retention (EPR) 効果に着目して、優れた腫瘍選択性と抗腫瘍効果を有する高分子化抗がん剤の開発を目的とし、以下の知見を得ている。

1) PEG 化亜鉛プロトポルフィリン(PEG-ZnPP)の PEG 鎖切断性、細胞内取込み、抗腫瘍効果について検討した。その結果、PEG 鎖結合部にエステル結合をもつ PEG-ZnPP の PEG 鎖は腫瘍内プロテアーゼによって切断され、優れた抗腫瘍効果を示し、エステル結合化が高い腫瘍選択性につながることを明らかにした。

2) アントラサイクリン系抗がん薬ピラノルビシン(THP)とスチレンマレイン酸子コポリマー(SMA)との conjugate を作製して、体内動態や抗腫瘍効果を調べた。その結果、SMA-THPconjugate は THP より顕著に血中滞留性が向上するとともに、EPR 効果による高い腫瘍集積性も認められた。さらに、体重減少などの副作用も示さず、肺転移巣の減少が認められ、SMA-THPconjugate は高い腫瘍選択性を有する副作用の少ない高分子化抗がん剤として機能することが明らかとなった。

3) THP と平均分子量 9 万(90 kDa)のポリヒドロキシプロキルメタクリルアミド量 4 万の PHPMA 結合体(40P-THP)と比較検討した。その結果、90P-THP の方が腫瘍効果および血中滞留性も優れていることが判明した。

以上、本研究では、高分子化抗がん剤の設計により、EPR 効果や腫瘍環境を生かした高い腫瘍選択性に基づく副作用の低減や抗腫瘍効果等の向上が確認された。これらの知見は、有効かつ安全ながん化学療法につながるものであり、博士の学位論文に値する内容を有していると考えられる。加えて、申請者は口頭試問においても的確に対応し、十分な学力を有し、博士の学位論文に値すると判断された。

最終試験結果の要旨

本論文は、研究の目的・背景が明確に記述されており、また、得られた結果も独創性があり、博士の学位論文としての内容を満たし、加えて審査委員会および公聴会における質問に対して的確に答え、実りある討論がなされた。以上の結果に基づき、本論文提出者は、博士(薬学)の学位を得る資格を有していると判定した。