

論文要旨

区分	甲	氏 名 木 村 虎 太 郎
論文題名 脱溶媒和法によるヒト血清アルブミンナノ粒子の調製と抗がん剤キャリアとしての有用性評価		
論文の要旨 <p>脱溶媒和法により調製されるヒト血清アルブミンナノ粒子 (HSA NP) は, Enhanced Permeability and Retention (EPR) 効果による腫瘍集積性を期待できるサイズを示すことから抗がん剤のキャリアとして期待できる. これまでに, 脱溶媒和法による HSA NP の調製条件の検討は行われてきているが, 薬物が存在する条件下で, 粒子物性あるいは調製特性が調製条件によりどのような影響を受けるかは検討されていない. また, 抗がん剤を封入した粒子が <i>in vitro</i> や <i>in vivo</i> において効果的に機能するかについても不明である. そこで本研究では, まず抗がん剤として DXR を用い, 薬物の添加が粒子の特性や調製過程に与える影響について検討した. さらに, DXR における調製条件が他のアントラサイクリン系抗がん剤に (DNR, THP および ACR) に適用できるかについても検討した. また, 得られた粒子の機能を <i>in vitro</i> (がん細胞における細胞障害性) および <i>in vivo</i> (担癌マウスへの投与) で評価した. 以下に得られた知見を要約する.</p> <p>1) HSA NP を脱溶媒和法により調製した結果, HSA 濃度, pH および溶媒種は, HSA NP の粒子サイズや製剤回収効率に大きく影響し, DXR の添加は, 用量依存的なサイズの増大と製剤回収効率の向上を示した. さらに, これらの結果に基づき, EPR 効果による腫瘍集積性を期待できるサイズの粒子が得られる条件を検討したところ, HSA 濃度: 20 mg/mL, pH: 8.5, 溶媒種: エタノール, DXR 濃度: 0.5 mg/mL の条件によりサイズ 108 nm, 多分散指数 0.08 の粒子を, 薬物封入効率 95.7%, 薬物含有率 3.9%, 製剤回収効率 57.6%で調製可能であった.</p> <p>2) DXR 調製条件が他のアントラサイクリン系抗がん剤 (DNR, THP および ACR) へ適用可能かを検討した. いずれの薬物においても, 薬物の添加により製剤回収効率の増大が観察され, 得られた粒子は, EPR 効果を期待できるサイズ (約 100-120 nm) を示した. 薬物回収効率は DXR・HSA NP = DNR・HSA NP > THP・HSA NP >> ACR・HSA NP の順に低下し, 各粒子からの薬物の初期溶出速度は, ACR・HSA NP > THP・HSA NP >> DNR・HSA NP = DXR・HSA NP となった. さらに各薬物の粒子における存在状態を推察したところ, DXR および DNR は HSA NP とグルタルアルデヒドを介して共有結合した状態で存在し, ACR は粒子の表面/表面付近に吸着・包埋した状態であり, THP は一部が共有結合し, 他は吸着・包埋している状態であると考えられた.</p>		

また、各粒子の MCF-7 および HepG2 細胞への細胞傷害性について検討したところ、いずれの粒子も細胞傷害作用を示すことが確認された。しかしながら、THP および ACR は腫瘍組織に送達される前に循環血中における薬物の溶出が考えられることから、DXR および DNR-HSA NP は効率的に薬物を腫瘍へ送達し、がん細胞種に対して効果を示す理想的な DDS 製剤となる可能性が示された。

3) DXR-HSA-NP の各種がん細胞種における動態を検討した。DXR-HSA NP は MCF-7 および HepG2 細胞にエンドサイトーシスにより取り込まれ、酵素による粒子の分解により薬物を放出し、細胞傷害性を示していると考えられた。さらに、C26 細胞スフェロイドを用いた検討では、DXR-HSA NP はフリーの DXR に比べ、若干の効果の減弱は認められるものの、ほぼ同等の細胞傷害性を示すことが明らかとなった。従って、DXR-HSA NP が EPR 効果により効率的に腫瘍組織に取り込まれた場合、*in vivo*においても十分に効果が期待できると考えられた。

4) DXR-HSA NP を C26 担癌マウスに単回静脈内投与し *in vivo* 評価を行った。DXR-HSA NP は用量依存的な抗腫瘍効果を示し、10 mg/kg (DXR 当量) の DXR-HSA NP は 10 mg/kg DXR より有意な効果を示した。これは、ナノ粒子が肝臓の Kupffer 細胞に捕捉され、そこをリザーバーとした徐放化システムのように働き、粒子または HSA に結合した DXR が長期にわたり放出されたことによるものと考えられた。安全性の評価では担癌マウスへの DXR-HSA NP 投与において体重減少は観察されなかったが、肺障害、肝障害または心毒性が疑われ、いずれも粒子化することによる臓器への蓄積が一因である可能性が示唆された。

以上、薬物存在下で脱溶媒和法により HSA NP を調製する際の、影響因子を明確にすることができ、調製法の最適化を行うための基礎的な情報を得ることができた。さらに、得られた DXR-HSA NP は細胞および動物実験において効果を示し、その効果の機序について詳細を検討することができた。一方で、DXR HSA NP による抗腫瘍効果が、投与された粒子そのものの EPR 効果による腫瘍への集積というよりは、蓄積臓器からの持続的な粒子あるいは薬物-HSA 結合体の放出が一因である可能性が示唆された。また、DXR HSA NP は臓器への蓄積の結果、臓器障害を増強する可能性も併せて示唆された。これまでに、脱溶媒和法により調製されたナノ粒子の *in vitro* と *in vivo* での特性を比較検討した例は極めて少なく、特に *in vivo* の薬物動態ならびに薬効・副作用を比較検討した例はない。本研究の知見は、体内動態特性、有効性及び安全性に優れた HSA NP に処方改良し、さらにはその調製条件を最適化する際に有用な基礎資料になると考えられる。

[作成要領]

1. 用紙は A 4 判上質紙を使用すること。
2. 文字の大きさは 10 ポイント程度とすること。
3. 要旨は、2,000 字程度にまとめること。
4. 本様式によりワープロ浄書すること。