

氏名(本籍)	おお はら ゆう すけ 大原 佑介 (福岡県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博甲第6612号
学位授与年月日	平成25年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	人間総合科学研究科
学位論文題目	Effective Delivery of Chemotherapeutic Nanoparticles by Depleting Host Kupffer Cells (クッパー細胞除去による効率的なナノ粒子化抗癌剤の送達)
主査	筑波大学教授 薬学博士 幸田 幸直
副査	筑波大学准教授 博士(医学) 鶴嶋 英夫
副査	筑波大学講師 博士(医学) 金子 剛
副査	筑波大学教授 工学博士 長崎 幸夫

論文の内容の要旨

(目的)

ナノ粒子化抗癌剤は従来の低分子化合物と比較して高い血中安定性を示すなど多くの利点があるが、肝クッパー細胞をはじめとした細網内皮系に容易に貪食されやすいという欠点を持つ。ポリエチレングリコール(PEG)によるステルス化はこの弱点を克服する有用な方法であるが、ステルスリポソームであっても細網内皮系の貪食から完全には逃れることができない。

そこで、クッパー細胞を除去することで、ナノ粒子化抗癌剤の腫瘍送達が増大するのではないかという仮説を立て、これを立証する。

(対象と方法)

ヒト膀胱癌細胞SUIT-2を皮下移植したBalb/cヌードマウスを用い、クッパー細胞を除去する方法としてクロドロネートリポソーム(clodrolip)を全身投与する方法をとった。このクッパー細胞を除去したマウスに、ナノ粒子化抗癌剤であるドキシル(1.25、2.5、5.0mg/kg)を投与し、血中、組織中(肝、脾、肺、心、腎、腫瘍)のドキソルビシン濃度を測定した。またクッパー細胞を除去した後、ドキシルおよびドキソルビシンを投与し、腫瘍体積を経時的に計測した。さらにclodrolipを3回投与し、クッパー細胞を長期間除去した状態でドキシルを投与し、抗腫瘍効果に変化が生じるか否かを検討した。

(結果)

クッパー細胞はclodrolip投与2日後と3日後にはほぼ完全に除去されたため、ドキシルはclodrolip投与後2日後に投与することとした。クッパー細胞を除去すると、ドキシル投与1日後の3つの投与量におけるドキソルビシン血中濃度は、11から33 μ g/mL(投与量1.25mg/kg)、22から40 μ g/mL(投与量2.5mg/kg)、49から68 μ g/mL(投与量5.0mg/kg)にそれぞれ上昇した。ドキシル投与1日後の肝臓中濃度は、クッパー細胞を除去すると、6.4から4.7 μ g/g-tissueに減少した。腫瘍においては、ドキシル投与1日後に3.6から4.7 μ g/g-tissueに、3日後に0.78から3.0 μ g/g-tissueに、5日後に0.44から1.6 μ g/g-tissueにそれぞれ上昇した。抗腫瘍実験では、ドキシル1.25mg/kg投与では、腫瘍細胞移植24日後の腫瘍体積は751mm³(非除去群)と

482mm³ (除去群) であり、クッパー細胞除去によりドキシルの抗腫瘍効果が高まった。ドキシル 5.0mg/kg 投与では、腫瘍細胞移植 28 日後の腫瘍体積は 403mm³ (非除去群) と 356mm³ (除去群) であり、クッパー細胞除去によりドキシルの抗腫瘍効果は高まったが、1.25mg/kg 投与と比較するとその変化はわずかであった。また、同様にドキソルビシン 5.0mg/kg 投与した系では、非除去群と除去群で腫瘍増殖に差は認められなかった。さらに clodrolip 単独投与、即ちクッパー細胞を除去しただけのマウスでは、抗腫瘍効果に影響を認めなかった。クッパー細胞を長期間除去したモデルにおいては、ドキシル 1.25mg/kg 投与では、腫瘍細胞移植 23 日後の腫瘍体積は 375mm³ (非除去群) と 236mm³ (除去群) であり、クッパー細胞除去によりドキシルの抗腫瘍効果が高まった。ドキシル 5.0mg/kg 投与では、非除去群と除去群において明らかな腫瘍増殖の差は認められなかった。

(考察)

クッパー細胞除去によりドキシルの血中濃度は増大することが明らかとなった。クッパー細胞除去群と非除去群の血中濃度の差に着目してみると、ドキシル投与 1 日後においては 3 つの投与量でいずれも約 20µg/mL とほぼ等しかった。この差は、クッパー細胞に貪食されるドキシルの量に相当すると考えられた。血中濃度の上昇率は、各々、3 倍 (投与量 1.25mg/kg)、1.8 倍 (投与量 2.5mg/kg)、1.4 倍 (投与量 5.0mg/kg) であり、低投与量の方が、クッパー細胞除去による上昇効果が際立つことがわかった。組織中のドキソルビシン濃度を見てみると、肝臓での取り込みはクッパー細胞除去により 36 から 26% ID に減少している一方で、脾臓、肺、心臓、腎臓、腫瘍での集積が上昇していた。すなわち、血中濃度が 3 倍に上昇した原因は、肝臓でのドキシルの取り込みが減少したことによると考えられた。クッパー細胞存在下での肝臓での取り込みは 36% ID であり、脾臓、肺、心臓、腎臓での集積より圧倒的に高く、肝クッパー細胞に着目し、これらを除去する戦略が合理的であることを示していた。ドキシルの抗腫瘍効果の増強は、低用量 (1.25mg/kg) の方が、高用量 (5.0mg/kg) よりも際立っていた。このことは、血中濃度の比較において、低用量では 3 倍に上昇し、高用量では 1.4 倍に留まったことと良く対応していた。長期間クッパー細胞を除去したモデルでは、2 回目以降の clodrolip 投与の時点で、ドキシルは血中からほぼ消失していたため、長期間除去の優位性は示されなかったと考えられた。

審査の結果の要旨

クッパー細胞を除去すると、ドキシルの肝臓での取り込みが減少し、血中濃度、腫瘍集積量が増大し、ドキシルの抗腫瘍効果が高まることが示された。ナノ粒子自体の修飾ではなく、生体環境を変化させてナノ粒子の腫瘍送達性を向上させる戦略は、様々なナノ粒子に応用できる可能性が示唆される。本研究は、抗癌剤の腫瘍送達性向上において重要な知見を提供したものであり、今後の臨床研究の発展に寄与するものと評価できる。

平成 25 年 1 月 11 日、学位論文審査専門委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。