

論 文 概 要

○論文題目

Effect of combined treatment with the epirubicin-incorporating micelles (NC-6300) and 1,2-diaminocyclohexane platinum (II)-incorporating micelles (NC-4016) on a human gastric cancer model

(ヒト胃がん移植モデルマウスに対するエピルビシン内包ミセル製剤 (NC-6300) およびダハプラチン内包ミセル製剤 (NC-4016) の併用効果の検討)

○指導教員

兵頭 一之介

人間総合科学研究科 疾患制御医学専攻 消化器病態医学分野 消化器内科教授

(所属) 筑波大学大学院 人間総合科学研究科 疾患制御医学専攻

(氏名) 山本 祥之

【目的】 殺細胞効果を有する抗がん剤の腫瘍縮小効果には限界があり，その主たる原因のひとつに臓器毒性による投与量の制限が挙げられる．薬剤を化学修飾あるいはキャリアに封入することにより対象とする臓器，組織へ効率良く送達させることを目的としたドラッグデリバリーシステム（DDS）の技術を抗がん剤へ応用することは，抗腫瘍効果の増強および副作用軽減の面から有用である．DDS 製剤の一つの剤型である抗がん剤内包ミセル製剤の有効性は今までに多くの動物実験において実証されてきた．しかしそのほとんどが単剤での検討もしくは従来抗がん剤との併用の検討であり，ミセル製剤同士の併用効果に関しての報告は乏しい．一方，実臨床で用いられるがん薬物療法の多くは多剤併用レジメが主流である．多剤併用投与は薬剤相互作用による効果増強や薬剤耐性回避が期待されるが，現実的には有害事象のため投与量の制限や休薬が必要となり十分な治療効果が得られないケースが少なくない．切除不能・再発胃がんの予後は不良であり，欧州における標準治療の1つである EOX レジメ（エピルビン，オキサリプラチン，カペシタビンの併用）においても，全生存期間中央値は 11.2 ヶ月と未だ満足できる数字ではなく，更にエピルビンとオキサリプラチンの蓄積毒性である心毒性および末梢神経毒性に留意する必要がある．このような背景から，多剤併用療法において多種多様の副作用を管理しつつ更なる抗腫瘍効果の増強を図るためには，複数の抗がん剤を DDS 製剤へ置き換えることが効果的であると期待する．今回，ミセル製剤の併用投与の有効性を検証するために，ヒト胃がん移植モデルマウスを用いてエピルビン内包ミセル製剤である NC-6300 と，ダハプラチン（オキサリプラチンの活性体）内包ミセル製剤である NC-4016 との併用投与について，抗腫瘍効果および毒性に関する検討を行った．

【対象と方法】 最初に *in vitro* において，ヒト胃がん細胞株 44As3Luc を用いてエピルビンとオキサリプラチンの組み合わせ，NC-6300 と NC-4016 の組み合わせについて，薬剤相互作用の検討を Combination Index (CI) を算出することで行った．次に *in vivo* における併用効果を検討するために，44As3Luc の皮下移植モデルマウスおよび同所移

植モデルマウスを作製し各治療群に群別化した後、エピルビシン（8 mg/kg）とオキサリプラチン（4 mg/kg）の併用投与および、等用量の NC-6300 と NC-4016 の併用投与を、週 1 回、計 3 回経静脈的に行った。治療効果に関しては、皮下移植モデルでは腫瘍径を測定する事で腫瘍体積を算出し、同所移植モデルではルシフェラーゼ活性を利用した *in vivo* イメージングシステムを用いて photon 値を測定し定量評価することで比較検討した。加えて Kaplan-Meyer 法を用いた生存解析を行った。また、各併用レジメの単回投与後の腫瘍組織・正常臓器における各抗がん剤濃度の推移を経時的に測定し、薬物動態解析を行った。エピルビシン濃度は HPLC (high-performance liquid chromatography) を用いて、プラチナ濃度は ICP-MS (inductively coupled plasma mass spectrometry) を用いて測定した。毒性評価に関しては、各併用レジメの観察期間中の体重推移に加えて、採血検査にて血球細胞数、肝腎機能の推移を比較検討した。さらに、エピルビシンの蓄積毒性である心毒性およびオキサリプラチンの蓄積毒性である末梢神経毒性に関しても、各薬剤の長期投与マウスに対し、心毒性に関しては心エコー検査により EF (ejection fraction) を測定し左室収縮能の推移を比較検討し、末梢神経毒性に関しては Dynamic Plantar Aesthesiometer を用いて Von Frey 式の機械的刺激試験を行い、痛みに対する後足の逃避反応を示す閾値（加重量）の変化を計測し過敏性を比較検討した。

【結果】 CI を用いた薬剤相互作用の検討において、ミセル製剤の併用投与および従来の抗がん剤の併用投与はいずれも薬剤作用濃度域において相乗効果を示し、その程度はほぼ同等であった。*In vivo* での検討では、皮下および同所移植モデルマウスにおいて、ミセル製剤の併用群は従来の抗がん剤の併用群と比較し著明に優れた抗腫瘍効果を示し、有意に生存期間を延長した。薬物動態解析ではミセル併用群において優れた抗がん剤の腫瘍集積性が示された。毒性に関してはミセル併用群において骨髄毒性の軽減が示され、長期投与に伴う蓄積毒性に関しても NC-6300 のエピルビシンに対する心毒性軽

減および NC-4016 のオキサリプラチンに対する末梢神経毒性の軽減が示された。

【考察】 今回の検討で、ヒト胃癌移植モデルマウスに対し NC-6300 と NC-4016 の併用投与は、従来の抗がん剤の併用投与と比較し毒性を軽減しつつ強い抗腫瘍効果を示すことを明らかにした。アントラサイクリン系抗がん剤とプラチナ製剤の相乗効果のメカニズムは、アントラサイクリン系抗がん剤がトポイソメラーゼ II を阻害することで、プラチナ製剤によって傷害を受けた DNA が修復される過程を遅延させ、結果的に DNA 傷害が増強されるためと考えられているが、今回の *in vitro* の実験においても、NC-6300 と NC-4016 の併用投与は従来の抗がん剤の併用投与と比較して同等の相乗効果が得られた。この結果から、各薬剤をミセル化することによっても細胞内での薬剤間の相互作用は保たれることが示唆された。また、*in vivo* の実験において、ミセル併用群は従来の抗がん剤の併用群と比較して有意に強い抗腫瘍効果を示した。また薬物動態解析では、ミセル併用投与群において腫瘍組織の各薬剤（エピルビシンおよびプラチナ）の AUC（Area under the time-concentration curve）が従来の抗がん剤併用群のそれと比較して著明に高いことが示された。DDS 製剤の腫瘍集積性は、抗がん剤を内包化した高分子物質が正常血管と比較して透過性の亢進した腫瘍血管で選択的に漏出しやすく、またリンパ回収系の乏しい腫瘍組織で長く停滞する特性、すなわち EPR（enhanced permeability and retention）効果を利用した受動的標的化により実現されている。今回の抗腫瘍効果の増強及びそれを裏付ける薬物動態の結果より、複数のミセルを同時に静脈内投与した場合においてもお互いの EPR 効果に影響を及ぼさないことが示唆された。加えてミセル製剤は従来の抗がん剤と比較して毒性面においても優れた結果を示しており、高い dose intensity を保ちつつ安全に長期にわたる治療が可能となることが期待された。

現在、複数の抗がん剤内包ミセル製剤が臨床試験段階にあるが、いずれも単剤での承認を目標とした試験である。その中で、今回の実験はミセル製剤の併用療法の臨床開発

を目指す上で重要な結果であると言えた.

【結論】 ヒト胃癌移植モデルマウスに対し NC-6300 と NC-4016 の併用投与は, エピルビシンとオキサリプラチンの併用投与と比較し優れた抗腫瘍効果および毒性軽減を示した.