

論文審査の結果の要旨

論文題名

物理的エネルギーによる腫瘍細胞選択的殺傷を指向したリポソーム薬剤の開発

論文審査の要旨

少子高齢化を迎えた我が国では、高齢者の健康促進ならびに人材利用が重要課題の1つとなっている。その一方で、三大疾病の1つに挙げられる「がん」は、2人に1人が罹り、3人に1人が死亡している病気である。通常、診断によってがんが見つかった場合、ほとんどの患者に対し外科的手術が行われるが、開腹手術といった侵襲の大きな手術である場合が多く、患者は長期間の入院を余儀なくされ、体力的（かつ場合によっては経済的な）負担、QOL (Quality of Life) の低下が問題となっている。したがって、低侵襲な治療法の開発は、患者に対する体力的負担を軽減するだけでなく、QOL を維持することで、社会あるいは日常生活への速やかな復帰を促進することに繋がる。

申請者は、外部からのエネルギーによって、がん組織といった生体内局所環境で増感可能なナノデバイスの開発を行うことにより、QOL の高い低侵襲がん治療法に着目した。リポソームのようなナノ粒子は、血管構築が未熟な腫瘍血管から漏洩し、さらに腫瘍組織ではリンパ管回収機構が不完全なため蓄積することが知られている。そこで、リポソーム二分子膜を構成する生体リン脂質の構造を模倣することで、リポソーム膜への増感剤の導入を考案し、中性子捕捉療法 (BNCT) ならびに光線力学的療法 (PDT) のための、生体内局所増感型リポソームについて研究を行った。その結果、高集積化ホウ素リポソームならびにポルフィリン脂質の開発に成功し、高い抗腫瘍効果を明らかにした。

本論文は、第1章「Introduction」、第2章「Boron-Encapsulating Liposomes and Their Promising BNCT Effects in Mice」、第3章「Synthesis of Protoporphyrin-Lipids (PL): Methods and Mechanism of Effective PDT with PL-Micelle & PL-Liposomes」、「Conclusion」より構成されている。第2章では、BNCT のための高集積化ホウ素リポソームの開発研究について述べられている。BNCT とは、人体に無害である熱中性子線とホウ素(10B)の核反応によって生じるアルファ線とリチウム核を利用して、がん細胞を破壊する治療法である。申請者は、腫瘍組織は血管から微粒子が流出しやすく、さらに腫瘍組織に到達した微粒子はリンパ管回収機構が不完全なため蓄積するという特性(EPR 効果)を利用して、脂質二分子膜から構成されるリポソームを用いた薬物送達に関する研究を行った。ホウ素イオンクラスターである BSH を内封したリポソームは、リポソーム

ムからの BSH の漏出が多く、調整可能なホウ素濃度が最大で 3,000 ppm 程度であり、腫瘍内ホウ素濃度 30 ppm 以上を達成するには、大量のリポソーム製剤の投与が必要となる。この問題を克服するために、腫瘍へのホウ素高集積化を目指し、ホウ素薬剤内封リポソームの高濃度化と安定化を目的に研究を進めた。その結果、生体内に存在し且つ臨床薬剤のカウンターカチオンとして用いられるスペルミジンの塩酸塩をホウ素イオンクラスターのカウンターに用いることで、これまでに BSH 内封リポソームでは調整可能な限界ホウ素濃度が約 3,000 ppm 程度だったのに対し、スペルミジン塩酸塩ホウ素インクラスター内封リポソームでは最大ホウ素濃度が約 10,000 ppm という極めて高いホウ素濃度調整に成功した。マウスを用いた動物実験では、これまでの約 3 倍量にあたる 100 mg/kg 投与群においても急性毒性はなく、BNCT 効果向上を目的とする目標の腫瘍内ホウ素濃度 30 ppm 以上を遥かに凌ぐ、200 ppm 以上のホウ素集積が確認された。また、これまでの半分の投与量である 15 mg/kg 投与群においても、血中内安定性に優れ、血中内ホウ素濃度が高いため、36 時間後に最大で腫瘍内ホウ素濃度が約 35 ppm 集積し、且つ腫瘍/血中ならびに腫瘍/正常組織のホウ素濃度比が約 2 であった。このホウ素生体内分布から、同条件において投与 36 時間後に中性子照射実験を行ったところ、100 mg/kg 投与群は照射 15 日後に腫瘍が完全に消失し、完治することに成功した。また、これまでの半分の投与量である 15 mg/kg 投与群においても効果的に腫瘍萎縮がみられ、照射 20 日後には腫瘍が消失した。また、薬剤投与せずに中性子照射のみを行ったマウス群がすべて死亡したのに対し、このホウ素リポソームを 30 mg/kg 投与した群では、中性子照射 100 日後において、100%の生存を達成した。さらにこのスペルミジン塩酸塩ホウ素インクラスター内封リポソームは治療効果だけではなく、リポソームを構成するリン脂質 DSPC の量も 1/3 にすることが可能となり、リポソーム投与量を減らすことができた。このことは、本研究で開発したスペルミジン塩酸塩ホウ素インクラスター内封リポソームが BNCT のための臨床薬剤に向けた有用性の高いリポソーム薬剤であるという点で大きな意義がある。

第 3 章では、光線力学的治療法 (PDT) のためのポルフィリン脂質の開発とリポソーム化に関して、述べられている。PDT とは、ポルフィリン化合物のような光感受性物質に低エネルギーのレーザーを照射した際に発生する活性酸素(ROS)によって、がん細胞を殺傷する治療法である。申請者は、ヒト生体膜に近似し、薬剤送達キャリアとして用いられているリポソームを用いて、EPR 効果により、ポルフィリン化合物をがん組織へ送達することを目的に研究を行った。本研究では、ポルフィリン脂質を新たに開発し、リポソーム膜に導入したポルフィリン脂質リポソームを調製し、さらにがん細胞に対して、高い PDT 効果を得るための最適条件を、取り込み時間に対するポルフィリン脂質と ROS の局在観察から検討した。その結果、PDT 効果は、ポルフィリン脂質が膜上に局在している方が、細胞質に局在するよりも高いことが明らかとなった。このことは、細胞殺傷効果を促す ROS の細胞内での産生量よりも、その局在に

細胞死が依存していることを示している。この結果を踏まえ、効果的な PDT 効果は ROS による細胞膜の傷害を主とするものとの仮説を立て、細胞膜モデルとしてポルフィリン脂質を導入したカルセイン内封 DOPC リポソームを用いた。その結果、ROS は細胞膜構成成分に含まれる脂質の二重結合部への酸化を引き起こし、それによって細胞膜に構造変化が起き、細胞内部物質の漏出が起きることで、高い PDT 効果が得られることを化学的に初めて証明した。このことは、PDT における新しい治療戦略を示した点で大きな意義がある。

以上を総合し、本研究は博士（理学）の学位を受けるに十分な価値のあるものと認める。

論文審査委員：主査 花岡文雄 教授
菱田卓 教授
西山伸宏 特別非常勤講師
(東京工業大学教授)
中村浩之 特別非常勤講師
(東京工業大学教授)