審 査 の 結 果 の 要 旨

氏　名　　呉 海量

転移とは腫瘍が原発巣より他の臓器に不連続に広がることであり、がんによる死亡のおよそ 90%にはこの転移が関与している。それ故、がんの根治には転移に対する治療が鍵となる。しかしながら、これまで臨床で行われている標準治療では転移巣を選択的に治療することが極めて困難であり、新たな治療法の確立が喫緊の課題となっている。一方、高分子ミセルなどのナノキャリアを利用することで抗がん剤をがん組織へ集積させる薬物送達システム（DDS）が注目を集めている。これらは EPR 効果（Enhanced Permeability and Retention 効果；がん組織においては血管新生の促進と血管壁の著しい透過性が亢進し、リンパ系が未発達であるため、高分子物質が集積・滞留する）を駆動力とすることで少ない副作用と固形がんに対する優れた治療効果を達成しているが、転移巣、特に初期の転移巣に対する効果・作用機序の解明は未踏の領域となっていた。本論文では、白金錯体制がん剤オキサリプラチンの活性体ダッハプラチン（DACHPt）を内包した高分子型ミセルによって、微小な初期の転移がんへも適用可能な DDS の開発を行っている。以下、各章毎に本論文の審査結果の概要を述べる。

第一章では、転移がんに関連した基本的な知識と治療方法の現状について、また、高分子ミセルをドラッグキャリアとして用いた DDS の有用性と転移がん治療における可能性についてまとめている。転移がんについては、転移の原発巣からの腫瘍細胞の移動経路や転移箇所、治療について臨床的な見解を含むように要約している。さらに、本論文で用いるドラッグキャリアの特性、キャリアを構成するブロック共重合体、高分子の自己組織化、白金抗がん剤であるオキサリプラチン、ダッハプラチン（DACHPt）について説明している。

第二章では、生体適合性を有するブロックコポリマー：poly（ethylene glycol)-*block*-poly(glutamic acid) [PEG-*b*-P(Glu)]と DACHPt から構成される高分子ミセル（DACHPt/m）の調製方法、マウス大腸がん（C26）の同所移植モデルマウスの樹立方法、さらには DACHPt/m による腫瘍増殖抑制効果について述べている。DACHPt/m は動的光散乱測定、透過型電子顕微鏡観察、誘導結

合プラズマ質量分析によって同定し、粒径約 30nm で外殻に PEG、内殻に DACHPt を有すことを確認している。このミセルを結腸壁から C26 細胞を移植することによって作製した大腸がん同所移植モデルマウスに対して投与したところ、腫瘍への選択的な集積と高い治療効果を示すことを認めている。

第三章では、マウス大腸がんの肝転移モデルマウスの作製ならびに DACHPt/m による転移性腫瘍の増殖抑制効果について検討している。肝転移モデルマウスの作製については、門脈から C26 細胞を移植する手法と脾臓から移植する手法の 2 つを比較し、組織学的解析と生理学的検査から、脾臓から移植する方法を最終的には採用している。続いて本肝転移モデルマウスに対する治療効果について検討し、DACHPt/m によって転移巣にあるがん細胞の増殖を高度に抑制することが可能であることを明らかにしている。

第四章では、前章で得られた知見より初期の肝転移モデルマウスを作製、*in vivo* 共焦点レーザー顕微鏡（IVCLSM）と組織学的検討によって DACHPt/m の転移巣への集積について詳細に検討している。IVCLSM と組織学的検討によって初期の転移巣すなわち転移ニッチを観察した結果、マクロファージ、活性化されたクッパー細胞などの増加が確認されている。また、同部位にて DACHPt/m と CD68 や COX-2 との共局在も観察されている。すなわち、初期の転移巣へのミセルの集積ががん細胞の転移によって生じる炎症と深く関与していることを見出すことに成功している。

第五章では、DACHPt/m による初期肝転移に対する治療効果について検討している。初期の肝転移モデルマウスを用いた動物実験では、DACHPt/m の投与によって転移巣の縮小が確認されている。一方、COX-2 阻害剤と DACHPt/m を併用した場合は、ミセルによる治療効果が抑制されること、ならびにミセルの転移巣への集積が低くなることが確認されている。これより、第四章で見出されたミセルの集積と炎症の関連が初期転移巣の治療へも影響を及ぼしていることを本動物実験によって明らかにしている。

第六章では、前章までの DDS の効果について、ドラッグキャリアの粒径の観点から検討している。すなわち、EPR 効果を駆動力とした DDS ではキャリアの粒径ががんへの集積に影響を及ぼすことが知られているが、炎症を介在した場合のミセルの集積性についてはこれまで知見が得られていない。本章では新たに 30nm と 70nm の DACHPt/m を調製して実験に用いている。初期肝転移に対する治療効果、集積性について上記ミセルを用いて比較した結果、30-70nm の範囲では転移巣への集積と治療効果に有意な差が生じないことを確認している。

第七章では、前章までに得られた知見をヒト膵臓がん（BxPC-3）の初期肝転移へと適用している。BxPC-3 初期肝転移モデルマウスは門脈からの細胞移植

によって作製し、それらに対する DACHPt/m の治療効果を検討している。生体イメージングシステムによって腫瘍の増殖を追跡した結果、DACHPt/m が高い治療効果を示すことを明らかにしている。本実験によって、本論文で確立された DDS 戦略がマウス由来の初期転移がんのみならず、ヒト由来の転移がんの治療へも適用可能であることが示された事になる。

第八章では、総括として本論文で開発した DDS 戦略の有効性についてまとめるとともに、それらの将来展望について述べている。

以上、本論文では、PEG-*b*-P(Glu)と DACHPt から構成される高分子ミセルによって、腫瘍の原発巣、転移巣ならびに初期の転移巣の治療が可能であることを見出し、さらに、ミセルの集積が転移ニッチでの炎症と密接に関係していることを明らかにしている。この様な本学位論文の内容は、DDS などの関連する研究領域ならびに医療の現場へ極めて有益な知見を与えるとともに、広くバイオエンジニアリング分野での研究開発へ貢献するものと結論出来る。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。