Osaka University Knowledge Archive

Title	高分子化制癌剤 ADM-OXD の肝毒性発現機構に関する研究
Author(s)	川畑, 好之康
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39258
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【2】

氏　　名	川　畑　好之康（かわばた よしやす）
博士の専攻分野の名称	博　士（薬　学）
学位記番号	第　11529　号
学位授与年月日	平成6年9月8日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	高分子化制癌剤　ADM－OXDの肝毒性発現機構に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授　眞弓　忠範 (副査) 教授　馬場　明道　　教授　三村　務　　教授　田中　慶一

論文内容の要旨

ADM－OXD はアドリアマイシン（ADM）に酸化デキストラン（OXD）を結合させることにより，腫瘍部位への集積性を高め，ADM の優れた制癌効果をさらに改善し得た高分子化制癌剤である。高分子化により正常組織への集積性が低くなり，ひいては ADM に特徴的な心毒性が軽減されると同時に，制癌剤に一般的に認められる細胞増殖抑制に基づく種々の組織障害を軽減することが期待されるが，ラットを用いた反復投与毒性の検討において，心臓，消化管，リンパ・増血器系各組織に対する毒性が，高分子化により軽減されるとともに，全身毒性も明らかに減弱した。このように ADM を高分子化することにより治療係数を改善し得たが，その一方において ADM 投与時に発現することのない肝細胞障害が新たに出現することが明らかとなった。そこで ADM－OXD をラットに大量投与することにより急性肝障害を誘発させ，毒性発現のメカニズムを検討することにした。

まず ADM－OXD および ADM を同一用量投与し誘発される肝細胞障害を比較した。ADM を投与しても肝障害が発現しなかったのに対して，ADM－OXD 投与では比較的 Slow onset ではあるものの，顕著な肝障害が機能的かつ形態的に認められた。本障害は ADM－OXD 投与後の肝臓への分布検討により，第一義的には大量の薬剤（遊離 ADM と遊離していない高分子体の ADM－OXD）が肝臓において長時間滞留したことによるものと判断された。また初代培養肝細胞および初代培養クッパー細胞，さらにこれら細胞の混合培養系における *in vitro* での細胞毒性の検討により，投与した ADM－OXD は肝細胞内に直接移行するのではなく，まずクッパー細胞等の類洞壁細胞内に取り込まれ ADM に遊離した後，初めて肝細胞に移行するものと推定された。

ADM は肝細胞や心筋細胞のミクロゾーム画分で，ADM セミキノンラジカルに酵素的に変換し，このものが分子状酸素と反応し，活性酸素が生成することが *in vitro* の系で確認されている。従って ADM－OXD 大量投与による肝細胞障害の発現因子として，ADM の肝細胞への持続的供給により成立した酸化的ストレスによる膜脂質過酸化が大きく関与しているものと当初考えていた。しかし抗酸化剤処理による毒性軽減効果やグルタチオン枯渇処理による毒性増強作用が，予想していた程顕著に認められず，ADM－OXD 投与により酸化的ストレスは成立しているものの，これが肝細胞障害の主因にはなり得ないと考えるに至った。

そこで視点を変え，ADM－OXD がまずクッパー細胞等の類洞壁細胞に分布することに注目し，クッパー細胞に対する障害性を検討した。その結果顕著な肝細胞障害が発現する前にクッパー細胞が機能的かつ形態的に強く障害を受けていることが判明した。さらに類洞壁を構成する類洞内皮細胞も超微形態的に変性し，類洞壁構造が投与初期より破壊されていた。肝細胞は類洞壁により血流との直接接触を免れており，腸管より吸収された異物等が肝細胞に対して直接的な影響を及ぼさない構造になっている。ADM－OXD によりクッパー細胞が壊死し，このものの異物処理能力が消失するとともに，類洞壁構造が破壊され肝細胞が直接血流と接触していることから，肝細胞は侵襲を受けやすくなっているものと考えられる。さらに肝細胞側の要因として ADM の細胞毒性の他，前述した如く ADM の持続的供給により酸化的ストレスに陥っていることから，細胞がある程度脆弱化しているものと思われる。またこれに加えてクッパー細胞障害により軽度なエンドトキシン血症が発現しており，これにより補体活性化が誘発されていることが明らかとなった。補体活性化産物である膜侵襲複合体は，脆弱化した肝細胞に対して障害性を示すものと推定される。また変性したクッパー細胞から漏出したプロテアーゼ活性も肝細胞に対して，少なからず障害性を示すものと考えられる。

このように ADM－OXD 大量投与による急性肝細胞障害の成立には，肝細胞側の代謝障害等による要因に加えて，類洞壁構造の破壊による肝臓の高次構造の破綻およびクッパー細胞障害による肝細胞障害性因子即ち補体活性化，プロテアーゼの漏出等の生化学的因子の関与が必要であるものと考えられた。

実験的肝不全モデルとして，肝細胞に直接障害を与えるモデルと類洞壁細胞が肝細胞障害に深く関与するモデルが報告されている。このうち後者については，その多くはクッパー細胞の活性化により産生される TNT－α 等のサイトカインや生化学的因子が，直接的あるいは間接的に肝細胞に障害を及ぼしている。クッパー細胞の活性化が関与せず，逆にクッパー細胞，類洞内皮細胞等の障害による類洞壁構造の破綻を経て，肝細胞障害が成立するモデルとしては，唯一 Frog virus 3による肝障害モデルが報告されているにすぎない。しかしこれも薬剤誘発性の肝障害モデルの範疇に入るものではなく，今回の検討において明らかとなった ADM－OXD による急性肝細胞障害は，肝細胞外要因として類洞壁細胞障害に基づく類洞壁構造の破綻（肝臓における高次構造の破綻），補体活性化，プロテアーゼ等の細胞障害因子の関与，さらには肝細胞内の要因として細胞内における代謝障害や細胞増殖抑制等が関与する，複雑な急性肝不全モデルに属するものと言える。以上，ADM－OXD の肝毒性発現メカニズムの追求を通じて，新たな急性肝不全モデルを提示し得たものと判断された。

論文審査の結果の要旨

アントラサイクリン系の制癌剤であるアドリアマイシン（ADM）は，種々の固形癌に対して優れた抗腫瘍活性を示すが，副作用として心毒性を引き起こすことから，その臨床使用量が厳密に制限されている。そのため，心毒性の軽減をめざした誘導体の研究が精力的に行われてきている。その中で，ADM と酸化デキストラン（OXD）との複合体である ADM－OXD は，腫瘍部位への集積性を高め，かつ心臓への分布を抑えることにより ADM の治療係数を著明に改善し得た高分子化 ADM 誘導体として有名である。

本研究は，この ADM－OXD の毒性について詳細な検討を行ったところからスタートする。まず，ADM－OXD の反復投与毒性をラットを用いて検討し，ADM の高分子化により全身毒性が軽減されるとともに，心臓，消化管など多くの器官に対する毒性が著明に軽減化されることが判明した。しかしながら，新たに ADM－OXD による肝臓障害が形態的かつ機能的に出現することを発見した。そこで、ADM－OXD の肝細胞（肝臓実質細胞）およびクッパー細胞，類洞内皮細胞などの類洞壁細胞（肝臓非実質細胞）に対する毒性を，in vivo および in vitro の系で種々検討した。その結果，肝臓内における ADM－OXD または遊離 ADM の長時間にわたる滞留が，肝毒性発現に深く関与していることを明らかにした。ついで，肝毒性発現機序の解明を行い，肝細胞障害発現には，肝細胞内における代謝障害，細胞増殖抑制や酸化的ストレスなどによる細胞の脆弱化，さらに肝細胞外の要因として，類洞壁細胞障害にもとずく類洞壁構造の破綻（肝臓における高次構造の破綻），補体の活性化，プロテアーゼなどの細胞障害因子，などが密接に連関し

ていることを明らかにし，薬剤誘発による新たな急性肝不全モデルを提示した。

以上の成果は，ADM－OXD による肝毒性発現を初めて見いだすとともに，その発現機序の解明を通じて，薬剤誘発による新たな急性肝不全モデルを提示しており，博士（薬学）の学位を授与するにふさわしいものと考える。