



Title	癌組織血管を標的とした新規癌ミサイル療法の開発に関する基礎的研究
Author(s)	小泉, 桂一
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3169335
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	小泉桂一
博士の専攻分野の名称	博士(薬学)
学位記番号	第15372号
学位授与年月日	平成12年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 薬学研究科応用薬学専攻
学位論文名	癌組織血管を標的とした新規癌ミサイル療法の開発に関する基礎的研究
論文審査委員	(主査) 教授 真弓 忠範
	(副査) 教授 山元 弘 教授 馬場 明道 教授 東 純一

論文内容の要旨

これまで、学際的に多大な研究がなされてきたにもかかわらず、未だに癌は根絶が困難な疾患である。従って、現在までに、多方面からのアプローチによる癌治療が試みられているが、どのアプローチにおいても癌治療方法は確立されたとは言い難く、さらに多くの改善、改良が行われているのが現状である。癌細胞はその種類、病巣部位の違いなどで、実に様々な形質を獲得することが知られている。癌治疗方法の確立を困難にしている最大の原因としては、この様に、癌細胞自身の共通性が見出せないこと、言い換えるならば、癌細胞が実際に多くの姿に変化するために我々が癌細胞の本当の姿を明らかにすることはできず、従って、そこから突破口を開けないことがある。しかしながら、個々の癌細胞ではなく癌という病態そのものを考えたとき、そこに初めて共通性を見出すことが可能となる。つまり、いくら癌が形成されたとしても、最終的には、急激な癌組織血管新生を伴わなければ癌は増殖できないのである。従って、本研究において著者は、この癌という病態そのものの共通点である癌組織血管を標的とすることを主眼において癌治療の新たな突破口を開くために、全く新しい二つのアプローチに関する検討を行った。

一つ目のアプローチとして、著者は、分子レベルのストラテジーに基づいた癌組織血管を標的とした新規癌ミサイル療法の開発に関する基礎的検討を行った。

癌組織の血管内皮細胞は、一般に癌種によらず、正常組織に比べ物質透過性が亢進しているなどといった数多くの共通した特性を有しているため、癌組織血管内皮細胞上にはこれらの特性を制御するような共通の特異分子が発現していることが示唆される。したがって、この癌組織血管内皮細胞上の共通した特異分子に対する抗体をミサイルキャリアーとして用いれば、あらゆる種類の癌組織への薬物送達が可能な標的指向型薬剤が創製できると考えられる。そのうえ、癌組織の血管内皮細胞を標的とした場合、癌組織血管は直接血流にさらされているため、ミサイルキャリアーは直接抗原と結合可能となり癌組織への移行性を考慮する必要もなくなる。従って、初めに、著者らが、単離を行ってきたラットKMT-17線維芽肉腫由来の癌組織血管内皮細胞を免疫原として用いることで、癌組織血管内皮細胞特異モノクローナル抗体、TES-23の作製を行った。ラットKMT-17線維芽肉腫ばかりでなく、著者のストラテジー通り、各種マウス癌組織に対しても、このTES-23は短時間で圧倒的な癌組織集積性を示すことが、担癌ラット、担癌マウスにおける生体内動態の検討から明らかとなった。さらに、様々なヒト癌組織切片の免疫組織化学染色を行った結果、ヒト癌組織血管内皮細胞にもTES-23の認識する抗原の発現が確認できたことから、ヒトへの臨床応用に対する可能性が示唆される結果を得ることができた。次に、TES-23を用いた癌組織血管を標的とした癌ミサイル

療法のヒトへの臨床応用を視野に入れて、タンパク性抗癌剤であるネオカルチノスタチン (NCS) との Immunoconjugate (TES-23-NCS) を作製し、TES-23 が適応可能なミサイルキャリアーとなりうる可能性を示すために、Meth-A 線維芽肉腫担癌マウスに対して TES-23-NCS による抗腫瘍効果を検討したところ、TES-23-NCS conjugate は顕著な抗腫瘍効果を示し、NCS としてわずか $50\text{ }\mu\text{g}/\text{mouse}$ の投与量において、4 例中 3 例が完全治癒するという良好な結果を得ることができた。従って、本稿第一部においては、癌組織血管内皮細胞特異抗体をミサイルキャリアーとして用いた癌組織血管を標的とした新規癌ミサイル療法の有用性を提示することができた。

さらに二つ目のアプローチとして、著者は、細胞レベルのストラテジーに基づいた、癌組織血管を標的とした新規癌ミサイル療法の開発に関する基礎的検討を行った。このストラテジーの骨格は、癌組織血管新生部位に血管内皮細胞を送達させることで、送達された血管内皮細胞は急激に新生する癌組織血管に組み込まれ、生存・増殖する可能性があるのではないか、という著者の仮説に基づくものである。この細胞に対して、予め、遺伝子導入などを行い、新たな機能を付与しておけば疾病治療を目的とした粒子（細胞）レベルの薬物キャリアー（著者らは、これを Cytocarrier と呼んでいる。）となり得ると考えられる。

そこで、著者は癌組織血管新生部位に血管内皮細胞を送達させる基礎的検討を行った。その際に、細胞接着作用と細胞遊走作用の両方の性質を有する新規膜結合型ケモカイン、Fractalkine のレセプターである CX 3 CR 1 を発現した細胞は癌組織血管に対する指向性を有していることが明らかとなった。従って、今後は、CX 3 CR 1 発現血管内皮細胞を作製し、CX 3 CR 1 発現血管内皮細胞は癌組織血管に対する指向性を有しているのかを検討することが急務である。しかしながら、Cytocarrier として用いる血管内皮細胞を癌組織血管に送達できたとしても、投与された血管内皮細胞が癌組織血管に組み込まれて癌組織内で生存しなくては、血管内皮細胞を薬物キャリアーとして用いた癌組織血管を標的とした新規癌ミサイル療法は全く成立しない。従って、著者の仮説を証明するために、マウス Meth-A 線維芽肉腫担癌 SCID mouse の癌組織内に Human CD34 陽性細胞である、ヒト大動脈血管内皮細胞を局所投与し、その癌組織切片を Human CD34 抗体により免疫組織化学染色を行った。その結果、マウス癌組織内で投与されたヒト血管内皮細胞が癌組織血管に組み込まれていることを確認できた。またさらに、投与されたヒト血管内皮細胞由來の血管とマウス血管が接続し、その血管内をマウスの赤血球が循環しており機能的に働いているキメラ型とでも呼ぶべき、癌組織血管が構築されている事実を発見した。

従って、本稿第二部においては、血管内皮細胞をミサイルキャリアーとして用いた癌組織血管を標的とした新規癌ミサイル療法の開発に向けた第一歩を踏み出すことができたものと考えられる。

以上、本稿において、著者は、全く新たな二つのストラテジーに基づいた癌組織血管を標的とした新規癌ミサイル療法の開発の有用性と方向性を提示することができた。

論文審査の結果の要旨

DDS の中で最も魅力的なアプローチとして脚光を浴びてきたのは、癌組織に対するモノクローナル抗体に制癌剤を結合させた、いわゆるミサイル療法である。しかしながら、現在までの数多くの研究にも関わらず、期待されたほどの成果は得られていない。その理由の 1 つは、血中に投与された抗体-抗癌剤複合体が高分子であるために、血管内皮細胞層が移行の障壁となり、癌組織への到達量が投与量のわずか $0.001\sim 0.01\%$ でしかないことによっている。理由の第 2 は、癌細胞に対するモノクローナル抗体を用いた場合、癌細胞の多様性のために特定癌種にしか適用できず、広く一般的なミサイルキャリアーとなり得ないことがある。著者は以上の問題を解決すべく、癌組織血管内皮細胞が、癌種によらず数多くの共通した特性を有していることから、癌組織血管内皮細胞に対する抗体をミサイルキャリアーとして用いることを考えた。さらに、癌組織に対する標的指向素子として、細胞自身を用いた新規癌ミサイル療法の開発にむけた基礎的検討を行った。その結果、以下の成果が得られた。

- 1) 癌組織血管内皮細胞特異的モノクローナル抗体 (TES-23) が、顕著な癌組織特異的集積性を示すことを明らかにした。
- 2) この TES-23 が有する癌組織血管内皮細胞特異的結合は、動物種を変え癌腫をえても見出された。

- 3) 蛋白性抗癌剤（ネオカルチノスタチン：NCS）とのImmunoconjugate (TES-23-NCS) は、Meth A 線維芽肉腫担癌マウスに対して、腫瘍の完全退縮を含む著しい抗腫瘍効果を示した。
 - 4) マウス癌組織内に投与されたヒト血管内皮細胞は、癌組織血管新生部位に組み込まれ、マウス血管内皮細胞と共にキメラ型とも言うべき血管を構築していることを明らかにし、細胞レベルによる癌組織標的指向の可能性を提示した。
- 以上のように、本論文は癌組織血管を標的とする癌ミサイル研究に対して、極めて有効な新しい方向性を提供しており、博士（薬学）の学位を授与するにふさわしいものと考える。