The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	新規アンスラサイクリン系制癌剤アムルビシンの抗腫瘍作用に関する研究
Author(s)	山岡, 隆
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43182
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【6】

氏　　名	山岡　隆（やまおか　たかし）
博士の専攻分野の名称	博　士（薬　学）
学　位　記　番　号	第　16492　号
学位授与年月日	平成13年9月17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	**新規アンスラサイクリン系制癌剤アムルビシンの抗腫瘍作用に関する研究**
論文審査委員	（主査） 教　授　真弓　忠範 （副査） 教　授　八木　清仁　　教　授　山元　　弘　　教　授　本田　武司

論文内容の要旨

癌は我国の死因の第1位を占める疾病であり、罹患数は、年々増加している。癌の治療法には、手術療法、放射線療法および薬物療法があるが、特に、進行癌の治療のために、有効性の高い薬物療法が望まれている。アンスラサイクリン系制癌剤であるドキソルビシンは、血液腫瘍だけでなく固形腫瘍にも有効性を示し、癌の化学療法において重要な役割を果たしているが、血液毒性、悪心および嘔吐などのほか、慢性毒性として心筋障害が問題となっている。これまで、アンスラサイクリン系制癌剤として、エピルビシン、ダウノルビシン、アクラルビシンおよびイダルビシンなどが開発されたが、固形癌に対してドキソルビシンを上回る効果を示すには至っていない。従って、ドキソルビシンより効果が強く、副作用が軽度な新しいアンスラサイクリン系制癌剤の開発が望まれている。

アムルビシンは、9位にアミノ基を持つことを分子構造上の特徴とする新規アンスラサイクリン系制癌剤である。本剤は、in vivo スクリーニングにおいて、ヌードマウスに移植したヒト腫瘍株に対して、ドキソルビシンと同等以上の抗腫瘍効果を示した。そして、臨床試験においても小細胞肺癌、非小細胞肺癌および膀胱癌などに有効性を示すことが明らかになりつつある。本研究は、アムルビシンが、ヒト腫瘍株に対してドキソルビシンを上回る効果を示す機序を明らかにすることを目的に、in vitro における細胞増殖抑制作用と細胞内薬物動態、in vivo における抗腫瘍作用と薬物の体内動態を検討し、アムルビシンの代謝物であるアムルビシノールが、アムルビシンの抗腫瘍効果に重要な役割を果たすことを見出した。

ヒト腫瘍細胞株17株およびマウス P388白血病細胞を用いて、薬剤の細胞増殖抑制作用を検討した。アムルビシンは、ドキソルビシンの 1/10程度の細胞増殖抑制活性しか示さなかったが、アムルビシンの主要代謝物であるアムルビシノール（C13-OH 体）は、親化合物より強く、ドキソルビシンと同等以上の活性を有することが示された。一般に、アンスラサイクリン系制癌剤において、C13-OH 体は親化合物より活性が低く、イダルビシノールのみ、親化合物と同等の活性を示すことが知られている。アムルビシンは C13-OH 体が親化合物より強い活性を示すことから、ユニークなアンスラサイクリン系制癌剤ということができる。細胞を薬剤で処理して細胞内薬剤濃度を定量したところ、薬剤 1-2 時間処理の時点の細胞内アムルビシノール濃度は、アムルビシン濃度の 5-10倍であり、アムルビシノールは親化合物と比較して細胞に取り込まれやすいことが示された。さらに、1時間薬剤処理後の細胞内濃度と細胞増殖抑制活性の検討から、アムルビシノールはアムルビシンと同じ細胞内濃度でより強い活性を示すことが明らかになった。アムルビシノールが親化合物より強い活性を示すのは、親化合物と比較して、細胞への取り込み量が多いこと、

および細胞内でもより強い活性を示すことによると考えられる。アムルビシンを添加した細胞には、アムルビシノールが検出されたが、細胞内濃度は細胞株によって異なっていた。そして、細胞株のアムルビシンに対する感受性は、アムルビシンの細胞への取り込み量に依存すること、アムルビシンの取り込み量が同等の場合は、アムルビシノールの生成量に依存することが示された。従って、アムルビシノールへの代謝活性の高い細胞株においては、アムルビシンの細胞増殖抑制活性に、細胞内で生成するアムルビシノールの寄与があるものと考えられる。マウス白血病 P388 細胞を用いた検討から、アムルビシンおよびアムルビシノールは、核より細胞質に多く分布し、核に多く分布するドキソルビシンとは細胞内分布が異なることが示された。このことは、アムルビシンおよびアムルビシノールが、ドキソルビシンと比較して DNA 結合性が低いことによると考えられるが、アムルビシノールはドキソルビシンより低い DNA 結合量で同等以上の活性を示すこと、即ち両剤の作用機序が異なることが示唆された。

In vivo における検討は、ヌードマウスにヒト腫瘍株を移植し、薬剤の最大耐量を静脈内に単回投与することにより行なった。アムルビシンの最大耐量はドキソルビシンの 2 倍であったが、ヒト腫瘍株 9 株に対して、アムルビシンはドキソルビシンを上回る抗腫瘍効果を示した。アムルビシンを投与したマウスの正常組織および腫瘍組織には、アムルビシノールおよびアグリコン体が検出され、アムルビシノールは、親化合物と同等以上の AUC 値を示した。アムルビシンまたはドキソルビシンを投与して、アムルビシノールとドキソルビシンの組織分布を比較した。正常組織において、アムルビシノールはドキソルビシンより低い組織内濃度を示した。アムルビシンはドキソルビシンと比較して、正常組織に対する毒性が低いことが示唆された。一方、腫瘍組織において、アムルビシノールはドキソルビシンと同等以上の組織内濃度を示した。アムルビシンが、ドキソルビシンの 1/10程度の in vitro 活性しか示さないにもかかわらず、ドキソルビシンの 2 倍の投与量でより強い抗腫瘍効果を示すのは、アムルビシンより強い活性を有するアムルビシノールが、ドキソルビシンより多く腫瘍に分布することによると考えられる。次に、腫瘍株のアムルビシンに対する感受性は、アムルビシノールの腫瘍内濃度と良く相関し、腫瘍組織のアムルビシン還元酵素活性に依存した。一方、アムルビシノールを投与すると、アムルビシン投与と比較して、毒性が増強され効果が減弱した。アムルビシノール投与では、アムルビシン投与と比較して、アムルビシノールが正常組織では多く、腫瘍組織では少ないことによると考えられた。アムルビシンは、活性代謝物であるアムルビシノールが腫瘍選択的に分布することにより、ドキソルビシンを上回る抗腫瘍効果を示すものと考えられる。

臨床試験において、アムルビシンは、固形癌に有効性を示すこと、ドキソルビシンと比較して副作用が軽度であることが明らかになりつつある。今後、①アムルビシノールが親化合物より強い活性を示す機序を明らかにする②アムルビシン変換酵素を同定しアムルビシンに対する感受性が高い腫瘍を予測する③アムルビシン変換酵素活性を増強することによりアムルビシンの治療効果を高めるなどを目指して研究が行なわれることが必要である。

論文審査の結果の要旨

現在、癌に対する化学療法として、多くのアンスラサイクリン系制癌剤が用いられているが、ドキソルビシンはその代表格として臨床の場で重要な役割を果たしている。その一方で、ドキソルビシンは血液毒性、悪心、嘔吐および口内炎の他、慢性毒性として心筋障害などが問題となっている。従って、ドキソルビシンより効果が強く、副作用が軽度な、新しいアンスラサイクリン系制癌剤の開発が望まれている。アムルビシンは、著者らのグループによって開発されようとしている新規アンスラサイクリン系制癌剤である。一般に、制癌剤の in vivo 抗腫瘍効果は、in vitro における活性に加えて、代謝物の活性とその生成量、親化合物と代謝物の体内動態などによって決定される。そこで著者は、これらの点に着目しつつ、アムルビシンの作用機序に関する研究を行った。その結果、以下の成果が得られた。

1）アムルビシンの in vitro 細胞増殖抑制活性は、ドキソルビシンより弱かったが、アムルビシノール（アムルビシンの代謝物；C13-OH 体）の活性はアムルビシンより強く、ドキソルビシンと同等以上であった。

2）アムルビシノールはアムルビシンと比較して、細胞への取り込み量が多く、細胞からの消失が遅かった。また、同じ細胞内濃度で、より強い細胞増殖抑制活性を示した。

3）ドキソルビシンは細胞内で核により多く分布したが、アムルビシンおよびアムルビシノールは細胞質により多く分布し、作用機序が異なることが示唆された。

4）アムルビシンは細胞内でアムルビシノールに代謝された。細胞内アムルビシノール量および細胞抽出液のアムルビシノール変換活性は、細胞株によって異なっていた。

5）アムルビシンは、ヒト腫瘍担癌ヌードマウスにおいてドキソルビシンより強い in vivo 抗腫瘍効果を示し、腫瘍組織中にアムルビシノールが存在することを確認した。

6）アムルビシンがドキソルビシンより強い効果を示す腫瘍株を用いた場合、腫瘍組織におけるアムルビシノールの濃度はドキソルビシンよりも高値を示した。

7）正常組織においては、アムルビシノールの組織内濃度はドキソルビシンよりも低値を示し、アムルビシノールが、より腫瘍選択的に生成・分布することが示され、正常組織における副作用の軽減が示唆された。

8）アムルビシンの抗腫瘍効果とアムルビシノールの腫瘍内濃度との間に、正の相関が認められた。アムルビシノール腫瘍内濃度の高い腫瘍株では、腫瘍組織内のアムルビシノール変換活性が高いことが判明した。

以上の成果は、有効性と安全性において、ドキソルビシンに比較してアムルビシンが更に優れた制癌剤であることを示している。そのうえ、アムルビシノールはアムルビシンの抗腫瘍効果に活性代謝物として重要な役割を果たしていることを明らかにし、薬物の体内動態に深く関わるユニークな作用メカニズムを提示したものであり、博士（薬学）の学位を授与するにふさわしいものと考える。