



Title	Novel Chondroitin Sulfate-binding Cationic Liposomes Loaded with Cisplatin Efficiently Suppress the Local Growth and Liver Metastasis of Tumor Cells in Vivo
Author(s)	李, 千萬
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43941
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について 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

氏名	李 芊 萬
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 17309 号
学位授与年月日	平成 14 年 9 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科外科系専攻
学位論文名	Novel Chondroitin Sulfate-binding Cationic Liposomes Loaded with Cisplatin Efficiently Suppress the Local Growth and Liver Metastasis of Tumor Cells <i>in Vivo</i> (シスプラチン封入新規コンドロイチン硫酸結合性リポソームは腫瘍細胞の局所での増殖と肝転移を強く抑制する)
論文審査委員	(主査) 教授 松田 暉 (副査) 教授 宮坂 昌之 教授 門田 守人

論文内容の要旨

[目的]

酸性ムコ多糖類であるコンドロイチン硫酸 (CS) は、腫瘍細胞の接着能や運動能を介した転移のメカニズムに関与することが知られている。また、膀胱癌、悪性黒色腫、前立腺癌などの腫瘍細胞表面上でその発現が増強していることも報告されている。

そこで、CS を腫瘍特異的な標的分子とすることが可能ではないかと考え、CS と特異的結合性の高い TRX-20 リポソーム (TRX20-L) にシスプラチン (Cis) を封入し、CS を標的とした新しい Drug Delivery System (DDS) の確立とその癌化学療法への応用の可能性を検討した。

[方法]

1. TRX20-L と腫瘍細胞との結合性

cell ELISA 法にてマウス骨肉腫細胞株 LM8G5、ヒト腎癌細胞株 ACHN、ヒト大腸癌細胞株 HT-29 の細胞表面上の CS の発現量を検討した。また、ローダミン標識した TRX20-L と腫瘍細胞の結合性を検討した。

2. Cis 封入 TRX20-L (Cis-TRX20-L) の腫瘍細胞株に対する増殖抑制効果

LM8G5、ACHN、HT-29 を free Cis、Cis-TRX20-L、ならびに Cis 封入コントロールリポソーム (Cis-Plain-L) とともに 24 時間培養した後に洗浄し、さらに 60 時間培養後、腫瘍細胞の増殖能を検討した。

3. 担癌マウスにおける TRX20-L の生体内分布

LM8G5 ならびに HT-29 を皮下投与して作製した担癌マウスにローダミン標識したリポソーム製剤 (0.5 mol lipid/kg) を投与し、24 時間後の皮下腫瘍および種々の各臓器への集積性をローダミンの蛍光強度より算出した。

4. Cis-TRX20-L の皮下腫瘍ならびに肝転移巣に対する抗腫瘍効果

LM8G5 ならびに HT-29 細胞をマウス皮下に接種後 7 日目および 14 日目に 3.5 mg/kg 計 7 mg/kg の Cis 製剤を経静脈的に (皮下腫瘍) 担癌マウスに投与し、皮下腫瘍の大きさを経時的に観察した。

また、LM8G5 肝転移モデルにおいて腫瘍細胞を心注後 3 日目に 5 mg/kg の Cis 製剤を投与し、14 日目に肝転移数

の検索ならびに生存率を検討した。

[成績]

1. TRX20-L は CS 高発現腫瘍細胞株 LM8G5 ならびに ACHN に対して CS 依存的に結合し、一方 CS 低発現細胞株 HT-29 に対しては特異的結合性を示さなかった。
2. Cis-TRX20-L は CS 高発現腫瘍細胞株に対して free Cis と同等の増殖抑制効果を示した。一方 CS 低発現細胞株 HT-29 に対しては増殖抑制効果を示さなかった。また、Cis-Plain-L は、何れの腫瘍細胞株に対しても増殖抑制を示さなかった。
3. LM8G5 皮下腫瘍では TRX20-L は Plain-L に比し有意に高い集積性を示したが、HT-29 皮下腫瘍では両者間で差を認めなかった。

また、TRX20-L は腎臓への集積性は低く、肝臓へは高い集積性を示した。

4. Cis-TRX20-L は対照群 (Cis-Plain-L, free Cis) に比べ、LM8G5 皮下腫瘍の増殖を有意に抑制したが、HT-29 皮下腫瘍の増殖は対照群と差を認めなかった。また、Cis-TRX20-L は LM8G5 の肝転移巣に対して、対照群に比べ有意にその増殖を抑制し、マウス平均生存日数も有意に延長させた。

[総括]

1. CS に特異的結合性の高い TRX20-L を用い、CS を標的とした悪性腫瘍に対する新たな DDS の確立とその癌化学療法への応用の可能性を検討した。
2. *in vitro* において、TRX20-L は CS 高発現腫瘍細胞株に対して CS 依存的に結合した。Cis-TRX20-L は CS 高発現株に対して free Cis と同等の増殖抑制効果を示した。
3. さらに *in vivo* において、Cis-TRX20-L は CS 高発現株の皮下腫瘍ならびに肝転移巣に対して free Cis に比し、有意に高い抗腫瘍効果を示した。
4. 以上より、癌化学療法において、局所ならびに肝転移巣に対し、TRX-20 リポソームを新規の Drug Delivery System として用いることが可能であると考えられる。

論文審査の結果の要旨

コンドロイチン硫酸 (CS) は、腫瘍細胞の接着能や運動能を介した転移のメカニズムに関与するとともに、膀胱などの腫瘍細胞表面上でその発現が増強していることが報告されている。本研究では、CS に対して特異的な結合活性を持つ TRX-20 リポソーム (TRX20L) を用いて、腫瘍細胞表面の CS を標的とする drug delivery system (DDS) の確立と DDS を利用した癌化学療法の可能性について検討した。まず予備的解析において TRX20L は CS を高発現する癌細胞株に対して CS 依存的な高結合性を示したが、CS 低発現株に対しては低結合性を示した。さらに TRX20L は CS 高発現癌細胞株の細胞内に取り込まれることが確認された。そこで TRX20L にシスプラチンを封入した Cis-TRX20-L を作成し、その抗腫瘍効果を検討した。その結果、*in vitro* において Cis-TRX20-L は CS 高発現細胞株に対して free Cis と同等の増殖抑制効果を示した。さらに、マウス骨肉腫細胞株 LM8G5 を用いた皮下腫瘍および実験肝転移モデルにおいて、Cis-TRX20-L は free Cis に比べて、高い抗腫瘍効果を示し、特に、肝転移結節形成に対しては顕著な抑制効果を示した。以上より、本研究は、TRX-20 リポソームを癌化学療法のための新しい Drug Delivery System として用いることが可能であり、特に肝転移に対してきわめて有効な治療法である可能性が示唆された。本研究は新しい抗転移療法の可能性を示したものであり、学位に値すると考える。