

Title	A Hydrogen Peroxide Activatable Gemcitabine Prodrug for the Selective Treatment of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma
Author(s)	松下, 克則
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/76246
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)		松下 克則	
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	工 坂 祐 一 郎
	副 査	大阪大学教授	奥 山 宏 臣
	副 査	大阪大学教授	竹 原 徹 郎
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>膀胱癌の化学療法において中心的な薬剤となるゲムシタピン(GEM)による副作用を軽減することを目的として本研究を進めた。化学療法の副作用を軽減するためには、正常細胞より癌細胞で特異的に作用することが望ましいことから、正常細胞より癌細胞でより発現が多いとされている物質として過酸化水素に着目し、過酸化水素に応答し脱保護可能なボロン酸エステル搭載型カルバマート基をGEMの4位窒素原子に導入したプロドラッグ (A-GEM) を設計・合成した。</p> <p>A-GEMは、in vitroで癌細胞内の過酸化水素に反応してアポトーシス誘導を介した細胞増殖抑制効果を持つこと、in vivoで等モル濃度のGEMと同等の抗腫瘍効果を持ち、その一方で骨髄への蓄積が減少することで骨髄抑制を軽減させることを示したことで、癌選択的な治療へ応用できる可能性を示したものとして評価される。よって、審査の結果、本論文の筆者は、博士（医学）の学位授与に値する。</p>			

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	松下 克則
論文題名 Title	<p style="text-align: center;">A Hydrogen Peroxide Activatable Gemcitabine Prodrug for the Selective Treatment of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma</p> <p style="text-align: center;">(膵癌選択的な治療のための過酸化水素に反応して活性型となるゲムシタピンのプロドラッグの開発)</p>
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>膵癌は極めて予後不良な難治性腫瘍であるが、その理由の一つとして、自覚症状に乏しく、発見時には局所進行あるいは他臓器転移を認める状態が多いことが挙げられる。そのため、外科的切除の対象となる症例は少なく、化学療法を中心とした集学的治療が必要である。使用される中心的な薬剤はゲムシタピン(Gemcitabine、以下GEM)であり、他剤と併用することで予後の改善が報告されている。一方で、骨髄抑制や下痢といった副作用による、薬剤の減量や治療の中止が問題となっている。化学療法の副作用を軽減するためには、正常細胞より癌細胞で特異的に作用することが必要であることから、本研究では、正常細胞より癌細胞でより発現が多いとされている物質として過酸化水素に着目した。過酸化水素は活性酸素種の中でも膜透過性が高く、比較的安定しているとされており、過酸化水素に反応して活性型となるGEMのプロドラッグ(改良型GEM: 以下A-GEM)を作成し、従来型GEMと比較して、より癌細胞に特異的に作用し副作用が減少するかどうかを検討した。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>過酸化水素に反応し脱保護可能なボロン酸エステル搭載型カルバマート基をGEMの4位窒素原子に導入したプロドラッグA-GEMを設計・合成した。また、A-GEMのコントロールとして、ボロン酸エステルを持たず過酸化水素に反応しない類似体(以下C-GEM)をあわせて合成した。GEM、A-GEM、C-GEMそれぞれの分子量は263、523、397であり、以下の実験ではGEMの等モル濃度で投与した。</p> <p>まず、ヒト膵癌細胞株PSN1、BxPC3および不死化ヒト膵管上皮正常細胞株NPECにおいて、それぞれの細胞株における過酸化水素量を検討したところ、膵癌細胞PSN1、BxPC3では不死化膵管正常細胞NPECよりもそれぞれ1.36倍、1.21倍の上昇を認めた。次に、GEM、A-GEM、C-GEMの細胞増殖抑制効果をMTTアッセイで比較したところ、膵癌細胞のPSN1、BxPC3においては、C-GEMと比較してA-GEMでは細胞増殖抑制効果の増強を認めた。一方、非癌細胞のNPECにおいては、A-GEMによる細胞増殖抑制効果の増強は認められなかった。続いて、PSN1、BxPC3を用いて、A-GEM、C-GEM使用下におけるアポトーシス誘導をAnnexin V、Caspase3/7アッセイを用いて評価したところ、A-GEMにおいてはC-GEMよりもアポトーシス誘導が増強した。</p> <p>次に、細胞内の過酸化水素濃度を上昇させた場合の反応性を検討した。細胞内の過酸化水素誘導剤として、グルコース拮抗阻害剤2-deoxy-D-glucose (以下2-DG)を用い、投与により細胞内過酸化水素濃度が1.5-2倍に上昇することを確認した。2-DG併用下で、GEMおよびA-GEM、C-GEMの効果を検討したところ、A-GEM投与群において、A-GEM単独ではIC₅₀がPSN1で17.1nM、BxPC3で62.5nMだったのに対し、2-DG併用下にはPSN1で13.7nM、BxPC3で44.3nMと細胞増殖抑制効果が増強した。またAnnexin V、Caspase3/7アッセイにおいて、2-DG併用下ではアポトーシス誘導が増強した。これらの2-DG併用下の増強効果はGEM投与群およびC-GEM投与群では認められなかった。</p> <p>最後に、Balb/c nu/nuマウスを用いて膵癌細胞株PSN1皮下腫瘍モデルを作成し、GEM投与群、A-GEM投与群、溶媒投与群の3群に分け、それぞれの薬剤を3日に1回、合計4回腹腔内に投与し、腫瘍体積、骨髄抑制、GEMの蓄積量を評価した。骨髄抑制は治療前後の末梢白血球数で評価し、腫瘍及び骨髄におけるGEMの蓄積量は、超高速液体クロマトグラフ質量分析を用いて評価した。皮下腫瘍体積において、GEM投与群及びA-GEM投与群における差は認められなかった。一方で副作用については、骨髄抑制においてはA-GEM投与群の方が軽減していた。GEMの蓄積量は、腫瘍においては群間に差はなく、骨髄においてはA-GEM群の方が少なかった。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>新たに合成した過酸化水素に反応して活性型となるプロドラッグA-GEMにおいて、<i>in vitro</i>で癌細胞内の過酸化水素に反応してアポトーシス誘導を介した細胞増殖抑制効果を持つこと、<i>in vivo</i>で等モル濃度のGEMと同等の抗腫瘍効果を持ち、その一方で骨髄への蓄積が減少することで骨髄抑制を軽減させることを示したことで、癌選択的な治療へ応用できる可能性を示した。</p>	