

氏 名	渡邊 尚武
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	博士乙第 404号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成26年 3月10日
学位論文題目	Comparison of the Anti-tumor Effects of Two Platinum Agents (Miriplatin and Fine-Powder Cisplatin). (ミリプラチンとシスプラチンの2種類の抗癌剤を用いた抗腫瘍効果の検討)
審査委員	主査 教授 醍醐 弥太郎 副査 教授 寺田 智祐 副査 教授 岡部 英俊

## 論文内容要旨

*整理番号	408	(ふりがな) 氏名	わたなべ しょうぶ 渡邊 尚武
学位論文題目	Comparison of the Anti-tumor Effects of Two Platinum Agents (Miriplatin and Fine-Powder Cisplatin). (ミリプラチンとシスプラチンの2種類の抗癌剤を用いた抗腫瘍効果の検討)		
<p><b>【目的】</b>          原発性肝癌に対する動注化学療法において、長時間腫瘍血管内に薬剤を停滞させることが抗腫瘍効果高めると考えられており、油性造影剤であるリビオドールが腫瘍に選択的に集積されることが報告されて以来、肝癌の動注療法時にはリビオドールを抗癌剤と混和して投与することが一般的に施行されてきた。          これまではリビオドールに安定に懸濁される抗癌剤が見出されてこなかったが1998年にジノスタチン・スチマラマーがリビオドール懸濁用法の適応を持つ薬剤としてはじめて登場したが、ジノスタチン・スチマラマーは高い効果を示す一方で血管障害が強いことから繰り返しの治療には使用しにくいという問題があった。          そのため、リビオドールに容易に懸濁でき、また血管障害性の低い抗癌剤の登場が長らく待たれてきたが、ミリプラチンは新油性プラチナ製剤として開発、2009年に肝細胞癌に対するリビオドリゼーション効果、効能で承認を取得した。今回、われわれは、ミリプラチン・リビオドール懸濁液の抗腫瘍の効果を確認する目的で動注用シスプラチンであるアイエーコール・リビオドール懸濁液との比較実験をウサギ VX2 肝腫瘍モデルを使用して行った。</p> <p><b>【方法】</b>          検討方法として細胞毒性実験、抗腫瘍効果比較、組織・血中総プラチナ濃度測定を行った。          細胞毒性実験は HeLa、VX2 の2種類の細胞を使用。96 ウェルプレートに <math>5 \times 10^3</math> 細胞/ウェル播種の割合で培地を加え、それぞれにミリプラチン活性体である 1,2-ジアミノシクロヘキサニウム白金(DPC)とアイエーコールを <math>10 \mu\text{l}</math> を加え 48 時間後に生細胞数を MTT アッセイを用いて測定した。          抗腫瘍効果比較および組織・血中総プラチナ濃度測定には VX2 腫瘍片を肝臓に移植した日本白色ウサギ 15 羽(体重 2.5-3kg) を使用。無作為に 5 羽ずつ、ミリプラチン・リビオドール懸濁液投与群(以下、ML)、アイエーコール・リビオドール投与群(以下、CL)、生食投与群(以下、S)とした。          鼠径部より 4Fr コブラカテーテルを挿入し腹腔動脈を選択後、マイクロカテーテルを固有肝動脈に進め、各々の薬剤を動注した。注入前と投与7日後に MRI を撮影し腫瘍体積の増加率を計測、腫瘍増加率の有意差検定を Tukey HSD 法を用いて行った。          また動注前、動注後 10 分、30 分、60 分、24 時間、7 日後に採血を施行。血漿プラチナ濃度を測定した。また投与後 7 日後の MRI 撮影後にウサギを犠牲死させた後、肝臓を取り出し腫瘍、周辺正常組織に含まれる総プラチナ濃度を原子吸光分析法にて測定し student の t 検定を用いて有意差検定を行った。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。  
 2. ※印の欄には記入しないこと。

**【結果】**

細胞毒性実験の結果、DPCはHeLaに対しては毒性を示したが、VX2に対し細胞毒性を示さなかった。またアイエーコールはVX2とHeLaの両方に対し毒性を示した。

腫瘍増殖率はML:  $179 \pm 35\%$ 、CL:  $158 \pm 35\%$ 、S:  $381 \pm 101\%$ という結果を得た。

ML、CLはSとの間で有意差を認めたが( $p < 0.05$ )、MLとCLの間では有意差を認めなかった( $p = 0.027$ )。

血漿中プラチナ濃度(10、30、60分、24時間、7日後)はMLでは投与10分の最初から最後まで検出限界値以下であり、CLでは $1.50 \pm 0.30$ 、 $1.01 \pm 0.18$ 、 $0.64 \pm 0.17$ 、 $0.23 \pm 0.06 \mu\text{g/ml}$ 。7日目は検出限界値以下であった。

腫瘍組織のプラチナ濃度がML:  $0.67 \pm 0.39$ 、CL:  $0.69 \pm 0.16 \mu\text{g/ml}$ 。正常組織がML:  $1.59 \pm 0.25$ 、CL:  $1.24 \pm 0.25 \mu\text{g/ml}$ 。MLとCLとの間に有意差は認めなかったが正常組織ではMLの方が有意に低いという結果がでた。

**【考察】**

VX2、HeLaの細胞株を用いた細胞毒性試験ではアイエーコールが両細胞株に対して抗腫瘍効果を示したのに対してDPCではVX2に対してしか抗腫瘍効果を示さなかった。

これはアイエーコールの構造に対し、ミリプラチン活性対であるDPCがプラチナに炭素数14の脂肪酸であるミスチン酸が配位した、より複雑な構造をもつことによる影響と考えた。

動注後の血中総プラチナ濃度を経時的に測定した結果、CLが動注後10分をピークにプラチナ濃度が減少していったのに対して、MLでは動注直後より検出限界値以下を示した。

また肝組織内の総プラチナ濃度の比較では、腫瘍組織内のプラチナ濃度では明らかな有意差が出なかったのに対し、正常組織内のプラチナ濃度はMLの方が有意に低いという結果が出た。

これはMLがCLと比較して粒子径が非常に小さく、親油性が高いということから腫瘍への停滞性が高いことが薬剤の腫瘍選択性を高める原因と考えられた。

血漿中の総プラチナ濃度が検出限界値以下であった原因としては、その作用機序に原因があると考えた。

ミリプラチンは生体内においてDPCに変換される。これが癌細胞内のDNA鎖と共有結合した白金-DNA架橋(アダクト)を形成しアポトーシスを誘導することで抗腫瘍効果を発揮する。

この過程で肝臓から血漿中へ移行した白金成分は大部分が不可逆な蛋白結合型として存在し消失することが報告されている。

血漿中にはたんぱく質やアミノ酸などDPCと反応する成分が多量に存在することから血漿中の白金濃度が検出限界値以下の低濃度を示す要因となっていると推測される。

**【結論】**

ミリプラチンは、アイエーコールに匹敵する抗腫瘍効果をしめし、親油性という特徴からリポドールに安定して懸濁され、また全身への影響も少ない薬剤と考える。

## 学位論文審査の結果の要旨

整理番号	408	氏名	渡邊 尚武
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨) (明朝体11ポイント、600字以内で作成のこと。)</p> <p>本論文は、ミリプラチン-リポドール懸濁液 (ML) の抗腫瘍効果を確認することを目的として研究を行った。ML と動注用シスプラチンであるアイエーコール-リポドール懸濁液 (CL) との比較実験を細胞毒性、抗腫瘍効果、組織・血中総プラチナ濃度の観点からウサギ VX2 肝腫瘍モデルを使用して行い、以下の点を明らかにした。</p> <p>1) VX2、HeLa の細胞株を用いた細胞毒性試験ではアイエーコールが両細胞株に対して抗腫瘍効果を示すのに対して、ミリプラチン活性体である 1,2-ジアミノシクロヘキサン白金 (DPC) は VX2 に対してのみ抗腫瘍効果を示す。</p> <p>2) CL 動注後の血中総プラチナ濃度は、投与後 10 分をピークに減少するのに対して、ML 動注後では動注直後より検出限界値以下を示す。</p> <p>3) 動注後の肝組織内の総プラチナ濃度については、腫瘍組織内のプラチナ濃度に明らかな有意差を認めないが、正常組織内のプラチナ濃度は CL の方が低い。</p> <p>本論文は、親油性でリポドールに安定して懸濁されるミリプラチンを用いた治療戦略の可能性について新しい知見を与えたものであり、最終試験として論文内容に関連した試問を受け合格したので、博士 (医学) の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数 513 字)</p> <p style="text-align: right;">(平成 26 年 1 月 27 日)</p>			