癌化学療法における DDS

松 村 保 広*

DDS in cancer chemotherapy

Despite the development of numerous anticancer agents, solid tumors in general respond poorly to chemotherapy. An objective of DDS in cancer chemotherapy is to find methods by which anticancer agents selectively target solid tumors. Two main concepts constitute selective tumor targeting, active targeting and passive targeting. The former involves monoclonal antibodies or ligands to tumor related receptors which can target the tumor by utilizing specific binding ability between the antibody and antigen or between the ligand and its receptor. The latter system can be achieved by the so-called "EPR effect, the enhanced permeability and retention effect".

The EPR effect in solid tumor tissue was named according to the pathophysiological characteristics: (a) hypervascularity; (b) incomplete vascular architecture; (c) several vascular permeability factors stimulating extravasation within the cancer; (d) little drainage of macromolecules and particulates.

Macromolecules have long plasma half-lives because they are too large to pass through the normal vessel walls unless they are trapped by the reticuloendothelial system in various organs. Such macromolecular agents can diffuse out of tumor blood vessels, reach the solid tumor tissue effectively and be retained for a long period due to the EPR effect.

A DDS development technique enabled intravenous administration of water-insoluble drugs without using organic solvents which are usually vital to dissolve such hydrophobic drugs but have toxic effects. I review here recent clinical studies for DDS and introduce our recent work on the micelle system.

Yasuhiro Matsumura*

key words : DDS, EPR effect,
tumor targeting clinical study, KRN5500

幾多の抗癌剤が開発されたにもかかわらず、ほとんどの抗癌剤において、臨床的に薬効量と副作用量とが近接しているため、満足のいく結果が得られていない。固型癌治療における DDS の目標は、その抗癌剤の不合理性を化学修飾あるいはキャリアに封入するという工夫をすることにより、より選択的に抗癌剤を癌局所に到達させ治療効果を高め、同時に副作用の軽減を図ることにある。

さて、この薬剤の選択的腫瘍ターゲティングには active targeting と passive targeting という概念が存在し、前者には生体で分子間の特異的結合能を利用して、targeting を図ろうとするもので、モノクローナル抗体や各種レセプターに対するライガンドなどがあげられる。後者は、腫瘍血管系の特性を利用して、高分子物質の腫瘍集積性を達成しようとするものである。すなわち、今日まで幾多の病理学、生化学、薬理学的研究の結果、一般的に、固型腫瘍では腫瘍新生血管の増生¹⁾、それに見合うリンパ回収系の増生がない²⁾。また、腫瘍局所ではいちじるしい血管透過性の亢進が起きていることが見出され²⁻⁶⁾、このことにより、正常血管では血管外へ漏出しにくい高分子物質も、腫瘍血管からは漏出しやすく、また、いったん局所で漏出した高分子はその場に停滞しやすく、結果として血中安定性に富む高分子制癌剤は、受動的ターゲティングが可能となるというアイデアで、EPR 効果と称されている²⁾(図 1)。また DDS の技術は、ターゲティングの向上を目指して研究開発されてきたが、その技術を用い水難溶性制癌剤を DDS 化により、静脈投与を安全に行えるようにする試みもなされている^{7,8)}。

本稿では、以上の背景をもとに、DDS 系薬剤の臨床研究を中心に述べる。

* Department of Medicine, National Cancer Center Hospital, 5-1-1 Tsukiji, Chuo-ku, Tokyo 104-0045 国立がんセンター中央病院内科
Offprint requests to : Yasuhiro Matsumura, M.D., Ph.D.

正常組織

癌組織

図 1 正常組織と固形腫瘍組織の脈管学的特性

正常組織：高分子物質は、ほとんど血管から漏出しませんが、血管から漏出してもリンパ管から回収され、長時間局所にとどまらない。一方、低分子物質は容易に血管から漏出する。

腫瘍組織：新生血管が增生しており、種々の機構により血管透過性が亢進しているため、正常では漏出しにくい高分子物質さえも容易に血管外へ漏れる。また、リンパ系が未熟なため、リンパ系での回収が不十分で、漏出した高分子は長く局所へとどまる。

リポソーム

1965年、Banghamによって初めて人工脂質膜小胞であるリポソームが見出されたが⁹⁾、リポソームが肝などの網内系でトラップされやすく、血中安定性に乏しかったため、*in vivo*でのターゲティングに関しては、期待されたほどではなかった。ところが、Maruyamaやその他により、リポソーム表面をポリエチレングリコール(PEG)で修飾することにより網内系から回避されることが判明し¹⁰⁻¹³⁾、その条件を整えると網内系によるオプソニン効果を抑制し、血中滞留性が增強されることがわかってきた。このような網内系からの回避をステルス効果と称している。Pegylated-liposome系に内包される抗癌剤としては、アドリマイシ

ン(ADR)がもっともよく研究されていて、米国ではすでにカポジ肉腫、乳癌、卵巣癌などに対し数多くの臨床試験が行われていて、カポジ肉腫に対してはすでに認可されている。表1に、臨床第二相試験の報告の一部を紹介しているが、奏効率は良好で、前治療にfreeのADRが使われた症例でも、Pegylated-liposomal ADRによりかなりの奏効が認められていることは注目に値する。ただ、意外と血液毒性が高いことも認めざるを得ない。また、特徴的有害事象としては、口内炎、皮膚障害が目立つ。ただし、最近のアメリカ癌治療学会(ASCO)における報告のなかに、口内炎や皮膚障害に関しては、デキサメサゾンやビタミンB6などにより予防できるとの発表がなされ、今後の検証が待たれる。

最近、カポジ肉腫に対する無作為比較試験が報告されている。まずStewartらは、エイズ関連カポジ肉腫における標準治療であるプレオマイシンとビンクリスチン(BV)対Pegylated-liposomal ADRの、無作為比較試験の結果を報告した¹⁴⁾。Pegylated-liposomal ADRは20 mg/m²を3週ごとに6サイクル、BVのほうはプレオマイシン15 IU/m²、ビンクリスチン1.4 mg/m²を3週おき6サイクル投与された。それぞれに121人および120人の患者がエントリーされ、奏効率はPegylated-liposomal ADR 58.7%に対しBV 23.3%と、Pegylated-liposomal ADRがすぐれていた($p < 0.001$)。ただ、骨髄抑制はリポソームのほうが強かったが、それでもtolerableであった。

つぎにNorthfeltらは、同じカポジ肉腫に対する臨床第三相試験の結果を報告している。Pegylated-liposomal ADRを20 mg/m²2週おき計6回投与に対し、ADR 20 mg/m²、bleomycin 10 mg/m²およびvincristine 1 mg/body三者併用(ABV)をやはり2週おき6回投与とを比較したものであった¹⁵⁾。奏効率に関しては、Pegylated-liposomal ADRが45.9%で、ABVが24.8%($p < 0.001$)であった。ただし、生存率に関しては両者に差がなかった。有害事象に関しては血液毒性に差がなかったが、嘔気・嘔吐、脱毛、末梢神経炎に関しては有意にABVにおいて強かった。特に、

表 1 Pegylated-liposomal doxorubicin の Phase II study

癌 種	評価可能 患者数	量および間隔	奏効率	主な有害事象	文 献
カポジ肉腫	34	20 mg/m ² /3 wks	73.5% (前治療あり 19/34)	好中球↓ (gr≥3) 34% 嘔気嘔吐 (gr 1) 18%	J. Clin. Oncol. 13 : 914-920, 1995
カポジ肉腫	53	20 mg/m ² /3 wks	38% (すべて前治療ありの場合) 32% (前治療に ADR 含む場合)	白血球↓ 40% 嘔気嘔吐 15%	J. Clin. Oncol. 15 : 653-659, 1996
卵巣癌	35	50 mg/m ² /3 wks	26% (全例 CDDP, Taxol の前 治療あり)	好中球↓ (gr≥3) 20% 皮膚障害 (gr≥3) 28% 口内炎 (gr≥3) 14%	J. Clin. Oncol. 15 : 987-993, 1997
乳癌	64	45~60 mg/m ² /3 wks	31% (前治療あり 28/64)	好中球↓ (gr≥3) 27% 口内炎 (gr≥3) 32%	J. Clin. Oncol. 15 : 3185-3191, 1997

脱毛に関しては Pegylated-liposomal ADR のほうが 133 名中 1 名, ABV のほうが 125 人中 24 名であった。ただし、口内炎に関しては Pegylated-liposomal ADR のほうが 133 人中 6 名, ABV が 125 人中 2 名とやや頻度が高かった。

この報告の結論として、エイズ関連カポジ肉腫に対しては、いままでの標準治療の ABV より Pegylated-liposomal ADR がすぐれていたということであった。一連の報告のなかで、Pegylated-liposomal ADR には心筋障害の報告はなく、1998 年の ASCO (米国癌治療学会) においても、心毒性に関しては free ADR よりリポソーム ADR が有意に少ないとの報告や、Pegylated-liposomal ADR の乳癌に対する第二相試験で ADR 換算 600~1,260 mg/m² 投与でも心毒性は認められなかったという報告もある。

ADR のかわりに、ダウノルビシンがリポソームに封入された DaunoXome 40 mg/m²/2 wks と ABV (ADR 10 mg/m², プレオマイシン 15 U, ビンクリスチン 1 mg) とのカポジ肉腫に対する第三相比較試験が Gill らによって報告され、奏効率、生存に有意差なく、有害事象としては、神経障害では ABV が grade 4 の血液毒性では DaunoXome が強いという結果であった。なお、DaunoXome 群に口内炎、hand-foot disease は認められず、また心毒性も認められなかった。よって DaunoXome は、単剤で ABV に匹敵するとの結論であった¹⁶⁾。また、本年の ASCO において、DaunoXome の Daunorubicin 換算 2,000 mg/m² 累積投与でも心毒性が起きなかったという報告も

あり、総合的に、アントラサイクリンのリポソーム内包化は確実に心毒性を防御することがいえる。

ポリマー/ドラッグ結合体

この分野ではすでに、PEG を L-アスパラギナーゼにつけたものが急性リンパ性白血病に¹⁷⁾、またネオカルチノスタチンにスチレンマレイン酸をつけた smamcs が油性動注剤として肝癌に¹⁸⁾ 認可されているが、最近では Kopecek, Duncan らが、ポリマーである N-(2-hydroxy propyl) methacrylamide (HPMA) に ADR を、ライソゾーム酵素で切断され得るスパーサーでつないだ剤型を開発した。この DDS 製剤は血中で安定で、細胞内へは endocytosis で取り込まれ、細胞質内のライソゾーム酵素でスパーサーが切断され、ADR が release される仕組みになっている¹⁹⁾。ヨーロッパですでに臨床第一相試験が行われ、MTD が ADR 換算値で 320 mg/m² と驚くべく高い価であった。DLT は血液毒であり、非血液毒はマイルドであった。心毒性は認められなかった。ほとんどの症例で前治療があったが、120 mg/m² と 180 mg/m² の 2 人の患者で PR が得られた²⁰⁾。また Li らは、Paclitaxel にポリ-L-グルタミン酸を付加した製剤を開発し、*in vivo* でいちじるしい選択的腫瘍集積性と抗腫瘍効果を認めたと報告し²¹⁾、今後の研究が待たれる。

モノクローナル抗体

癌特異抗原を標的とする、いわゆるミサイル療

法が提唱された当時は、究極の癌治療法として強い期待を抱かせたが、第一に腫瘍マーカーの例でわかるとおり、いまだ真の意味での癌特異抗原が存在しないこと、第二にモノクローナル抗体の生体親和性の欠如、特に抗体そのものの抗原性の問題などにより、スムーズな発展をみなかった。後者に関しては、網内系による非特異的なトラップあるいは血中に大量の抗原そのものが存在し、抗原が血中で中和されてしまうなど、腫瘍へのターゲティングに問題は残っているが、最近の分子生物学および protein engineering の発展により、キメラ抗体、ヒト化抗体、ポリマー付加抗体、リポソーム抗体などが開発され、臨床応用が現実のものとなってきており、すでに幾多の臨床試験の報告がなされている。そのなかで臨床的に特に注目すべきは、抗体単独で ADCC あるいは補体依存性に抗腫瘍効果を狙ったもので、プロトンポンジン産物 C-erbB-2 に対するヒト化抗体 HERCEPTIN®²²⁾ と B 細胞表面抗原 CD20 に対する IDEC-C2B8²³⁾ であろう。前者は治療抵抗性乳癌に対し、後者は B 細胞リンパ腫に対し有効性が確認され、すでに米国において認可されており、おそらくわが国においても認可されるであろう。

そのほか、抗体に抗癌剤²⁴⁾、放射性同位元素²⁵⁾、毒素²⁶⁾を付加したものなどの臨床試験が、米国において盛んに行われるようになってきている。また、抗体にある酵素をつけ投与し、非特異的に正常組織に分布した抗体-酵素結合体が減少したのち、抗体-酵素が腫瘍局所にいまだ高濃度で存在する時点で、その酵素によってのみ活性型に変換されるプロドラッグを投与するといった工夫をもなされている²⁷⁾。

ミセル体

高分子ミセルに薬剤を結合させ、その薬剤の徐放に応用しようという案は Ringsdorf らにより報告されたが、ミセルを生体内でのドラッグデリバリーに応用するまでには至らなかった²⁸⁾。その後、Yokoyama らは、ADR をミセル内核に封入した ADR 内包高分子ミセル (ADR/m) を作成することに成功した²⁹⁻³¹⁾。

表 2 DDS としてのミセル体の特長

I. 粒子径が数十 nm で腎糸球体から濾過されない
II. 外殻を PEG が覆うため、網内系によるトラップが少ない
III. したがって、長い血中半減期を有す
IV. 長期での非蓄積性
V. 高い水溶性
VI. 高い薬物安定性
VII. 凍結乾燥後も再び容易に水溶液に戻ることができる
VIII. 外殻の高分子鎖の先端に、目的に応じパイロット分子を連結できる
IX. 通常の薬剤だけでなく、ペプチドや遺伝子も内包できる

ところで、高分子ミセル型ドラッグキャリアシステムとは、疎水性ポリマーと親水性ポリマーよりなる AB 型ブロックコポリマーの疎水部分に薬物を導入した、薬物-ブロックコポリマー複合体である。表 2 に示すように、薬物の生体内におけるキャリアとして非常にすぐれた特徴をもっている。ADR/m は、親水性の PEG 鎖と疎水性のポリアスパラギン酸鎖 (P-ASP) のブロック共重合体が基本となり、P-ASP に化学的、物理的に ADR が結合・封入された形となっている。ADR/m は、*in vitro* における抗腫瘍スペクトラムに関し、free の ADR と類似していた。*in vivo* での評価において、ADR/m をマウスに ADR 当量 33 mg/kg まで投与してもマウスの死亡は認められなかった (ちなみに ADR のマウス LD50 は 15 mg/kg 程度)。マウス実験において、骨髄毒性、一般生化学のデータを参考にする限り、ADR/m の ADR 当量 17 mg/kg 3 回投与と、free ADR 7 mg/kg 3 回投与とがほぼ同程度の毒性を示した³¹⁾。また、ADR/m と ADR を担癌マウスに静注 24 時間後において腫瘍/心筋比がそれぞれ 12 および 0.9 と、ADR/m においていちじるしい選択的腫瘍集積性が認められた。ADR/m は、生体内において徐放性に物理吸着している ADR を放出することが知られており、ADR/m は癌局所に集積後、free の ADR を放出し、癌細胞を攻撃すると考えられる。マウス固形腫瘍に対する抗腫瘍効果については、10 mg/kg ADR 投与群においては ADR にくらべいちじるしい腫瘍縮小効果を示しただけでな

図 2

く、一部に腫瘍の完全消失を認めた³¹⁾。

DDSの技術は、薬剤の血中安定性を増やし、選択的腫瘍集積性を高めることに主眼がおかれてきたが、最近筆者らは、水に難溶性の薬剤が、静注投与するために無理やり有機系溶媒に溶解され、投与後その有機系溶媒による不都合が起きていることに着目し、水難溶性薬剤をミセル内包させ、より安全に生体投与することに成功している。

具体例として、半合成抗生物質性制癌剤KRN 5500(図2A)のミセル内包化について説明する。まず、KRN 5500の主な制癌活性機序は蛋白合成阻害作用であるが、その活性は無細胞系において、KRN 5500から脂肪酸鎖が切断されたSAN-Glyにのみ認められる。しかしながら、癌細胞に対する制癌効果はKRN 5500がSAN-Glyより1,000倍程強い。この理由として、KRN 5500は脂肪酸を側鎖にもつため、細胞とのinteractionが強力で細胞質へのinternalizationが容易に起

図 3 生食(コントロール), KRN 5500 および KRN 5500/m 単回投与後の抗腫瘍効果
 a) コントロール vs KRN 5500 ($p < 0.05$)

図 4 生食(コントロール), KRN 5500 および KRN 5500/m 単回投与後の体重変化
 a) KRN 5500 vs コントロール ($p < 0.05$)
 b) KRN 5500 vs KRN 5500/m ($p < 0.05$)

こるが、SAN-Glyはそれが非常に弱い。一方、細胞質へ入ったKRN 5500は、細胞内酵素(未同定)により脂肪酸が切断され、活性型のSAN-Glyへ変換され殺細胞効果が発揮されるからである³²⁾。すなわち、固形腫瘍に対して抗腫瘍効果を発揮するためには、KRN 5500の形で腫瘍局所までターゲットされなければならないので、必然的に種々の有機系溶媒に無理やり溶かして静注されているのである。図2Bに示されているように、PEGとP-ASPのブロックコポリマーとKRN 5500を水系で反応させると、親水性のPEGが樹枝状に外殻を形成し、内殻であるP-ASPにKRN 5500が封入される。

このようにして得られたKRN 5500内包ミセル体(KRN 5500/m)は、*in vitro*における抗腫瘍効果に関してほとんど同等であった。また*in vivo*

図 5 KRN 5500 および KRN 5500/m 投与後の血管の変化

(A) KRN 5500 が静注された場合、局所の血管は fibrin 塊を伴う血管壊死(太矢印)が、また皮膚の空胞変性が観察された。

(B) 一方、KRN 5500/m では病理学的な変化はまったく観察されなかった。

では単回投与において、KRN 5500 は control と比較し抗腫瘍効果は認められなかったが、KRN 5500/m は control に比し有意に抗腫瘍効果を認めた(図 3)。体重の変化においては、KRN 5500 投与群において一時的に有意な体重減少を認めた(図 4)。図 5 に示すように、5.6 mg/kg KRN 5500 と KRN 5500 同当量の KRN 5500/m をマウス尾静脈より投与した場合、有機溶媒に溶かされた KRN 5500 のほうは、マウス尾部に fibrin 形成を伴う血管壊死が観察されたのに対し、KRN 5500/m のほうはまったく異常を認めなかった。

こういった事例は今後必ず生じてくるであろうし、現時点においてすでに起こっている。たとえば Taxol は、静注するため有機溶媒 Cremophore EL に溶解されているが、Cremophore EL 自身に

よるアレルギー反応などはその一例といえる。

おわりに

Jain らは、固形腫瘍局所では圧亢進のため、局所において対流で目的地へ達する高分子制癌剤より、拡散で目的地へ達することができる低分子制癌剤のほうが、制癌効果が高いとしていたが、低分子を全身投与した場合、すぐに正常の血管外へ漏れ全身と平衡化してしまい、腫瘍組織まで十分量到達しないので、やはり腫瘍まで運ぶための高分子化が必要であるとした³³⁾。

今後、DDS の概念および技術が臨床に応用されてくる機会がますます増えるであろう。癌治療においても、化学療法の分野だけでなく、免疫あるいは遺伝子治療にまで登場してくるであろう。その場合、科学的、倫理的に整備された臨床試験においてきっちり評価することが重要と考える。

文 献

- 1) Folkman J, Cotran R: Relation of vascular proliferation to growth. *Int. Rev. Pathol.* 16: 207-248, 1976.
- 2) Matsumura Y, Maeda H: A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: Mechanism of tumoritropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs. *Cancer Res.* 46: 6387-6392, 1986.
- 3) Maeda H, Matsumura Y: Tumoritropic and lymphotropic principles of macromolecular drugs. Critical reviews in therapeutic drug cancer systems 6: 193-210, 1989.
- 4) Dvorak HF, Nagy JA, Dvorak JT et al.: Identification and characterization of the blood vessels of solid tumors that are leaky to circulating macromolecules. *Am. J. Pathol.* 133: 95-109, 1988.
- 5) Dvorak HF: Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing 315: 1650-1659, 1986.
- 6) Matsumura Y, Maruo K, Kimura M et al.: Kinin-generating cascade in advanced cancer patients and *in vitro* study. *Jpn. J. Cancer Res.* 82: 732-741, 1991.
- 7) Yokoyama M, Sathoh A, Sakurai Y et al.: Incorporation of water-insoluble anticancer drug into polymeric micelles and control of their particle size. *J. Controlled Release* 55: 219-229, 1998.
- 8) Matsumura Y, Yokoyama M, Kataoka K et al.: Reduction of the side effects of an antitumor agent, KRN5500 by incorporation of the drug into polymeric micelles. *Jpn. J. Cancer Res.* 90: 122-128, 1999.
- 9) Bangham AD, Standish MM, Watkins JC: Diffu-

- sion on univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids. *J. Mol. Biol.* 13 : 238-252, 1965.
- 10) Klivanov AL, Maruyama K, Torchilin VP et al. : Amphipathic polyethyleneglycols effectively prolong the circulation time of liposomes. *FEBS Lett.* 268 : 235-237, 1990.
 - 11) Blume G, Cevc G : Liposomes for the sustained drug release *in vivo*. *Biochim. Biophys. Acta* 1029 : 91-97, 1990.
 - 12) Allen TM, Hansen C, Martin F et al. : Liposomes containing synthetic lipid derivatives of poly(ethyleneglycol) show prolonged circulation half-lives *in vivo*. *Biochim. Biophys. Acta* 1066 : 29-36, 1991.
 - 13) Maruyama K, Yuda T, Okamoto A et al. : Prolonged circulation time *in vivo* of large unilamellar liposomes composed of distearoyl phosphatidylcholine and cholesterol containing amphipathic poly(ethylene glycol). *Biochim. Biophys. Acta* 1128 : 44-49, 1992.
 - 14) Stewart S, Javilionowski H, Goebel FD et al. : Randomized comparative trial of pegylated liposomal doxorubicin versus bleomycin and vincristine in the treatment of AIDS-related Kaposi's sarcoma. *J. Clin. Oncol.* 16 : 683-691, 1998.
 - 15) Northfelt DW, Dezube BJ, Thommes JA et al. : Pegylated-liposomal doxorubicin versus doxorubicin, bleomycin, and vincristine in the treatment of AIDS-related Kaposi's sarcoma : Results of a randomized phase III clinical trial. *J. Clin. Oncol.* 16 : 2445-2451, 1998.
 - 16) Gill PS, Wernz J, Scadden DT et al. : Randomized phase III trial of liposomal daunorubicin versus doxorubicin, bleomycin, and vincristine in AIDS-related Kaposi's sarcoma. *J. Clin. Oncol.* 14 : 2353-2364, 1996.
 - 17) Yoshimoto T, Nishimura H, Saito Y et al. : Characterization of polyethylene glycolmodified L-asparaginase from *Escherichia coli* and its application to therapy of leukemia. *Jpn. J. Cancer Res.* 77 : 1264-1270, 1986.
 - 18) Konno T, Maeda H, Iwaki K et al. : Selective targeting of anticancer drug and simultaneous image enhancement in solid tumors by arterially administered lipid contrast medium. *Cancer* 54 : 2367-2374, 1984.
 - 19) Duncan M, Hume IC, Kopeckova P et al. : Anticancer agents coupled to N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide copolymers 3. Evaluation of adriamycin conjugates against mouse leukemia L1210 *in vivo*. *J. Controlled Release* 10 : 51-63, 1989.
 - 20) Cassidy J, Vasey P, Kaye SB et al. : A Phase I clinical trial of PK1 : a novel drug targeting system in human cancers. *Proceedings of the 2nd International Symposium on Polymeric Therapeutics* 8 (April) : 18-20, 1997.
 - 21) Li C, Yu DF, Robert A et al. : Complete regression of well-established tumors using a novel water-soluble poly(L-glutamic acid)-paclitaxel conjugate. *Cancer Res.* 58 : 2404-2409, 1998.
 - 22) Baselga J, Tripathy D, Mendelsohn J et al. : Phase II study of weekly intravenous recombinant humanized anti-p185HER2 monoclonal antibody in patient with HER2/neu-overexpressing metastatic breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 14 : 737-744, 1996.
 - 23) Maloney DG, Liles TM, Czerwinski DK et al. : Phase I clinical trial using escalating single-dose infusion of chimeric anti-CD20 monoclonal antibody (IDEC-C2B8) in patients with recurrent B-cell lymphoma. *Blood* 84 : 2457-2466, 1994.
 - 24) Sivam GP, Martin PJ, Reisfeld RA et al. : Therapeutic efficacy of a doxorubicin immunoconjugate in a preclinical model of spontaneous metastatic human melanoma. *Cancer Res.* 55 : 2352-2356, 1995.
 - 25) Yu B, Carrasquillo J, Milenic D et al. : Phase I trial of iodine 131-labeled COL1 in patients with gastrointestinal malignancies : influence of serum carcinoembryonic antigen and tumor bulk on pharmacokinetics. *J. Clin. Oncol.* 14 : 1798-1809, 1996.
 - 26) Lynch TJ, Jr, Lambert JM, Coral F et al. : Immunotoxin therapy of small-cell lung cancer : A Phase I study of N901-blocked ricin. *J. Clin. Oncol.* 15 : 723-734, 1997.
 - 27) Svensson HP, Vruthula VM, Emswiler JE et al. : *In vitro* and *in vivo* activities of a doxorubicin prodrug in combination with monoclonal antibody β -lactamase conjugates. *Cancer Res.* 55 : 2357-2365, 1995.
 - 28) Bader H, Ringsdorf H, Schmidt B : Watersoluble polymers in medicine. *Angew. Makromol. Chem.* 123/124 : 457-485, 1984.
 - 29) Yokoyama M, Inoue S, Kataoka K et al. : Preparation of adriamycin-conjugated poly(ethylene glycol)-poly(aspartic acid) block copolymer. *Makromol. Chem. Rapid. Commun.* 8 : 431-435, 1987.
 - 30) Yokoyama M, Miyauchi M, Yamada N et al. : Characterization and anticancer activity of the micelle-forming polymeric anticancer drug adriamycin-conjugated poly(ethylene glycol)-poly(aspartic acid) block copolymer. *Cancer Res.* 50 : 1693-1700, 1990.
 - 31) Yokoyama M, Okano T, Sakurai Y et al. : Toxicity and antitumor activity against solid tumors of micelle-forming polymeric anticancer drug and its extremely long circulation in blood. *Cancer Res.* 51 : 3229-3236, 1991.
 - 32) Kamishohara M, Kawai H, Sakai T et al. : Antitumor activity of a Spicamycin derivative, KR5500, and its active metabolite in tumor cells. *Oncol. Res.* 6 : 383-390, 1994.
 - 33) Jain RK : Barriers to drug delivery in solid tumor. *Scientific American* 271 : 58-65, 1994.