癌治療のための DDS の開発と問題点

橋 田 充*

Development of drug delivery systems for cancer chemotherapy and its implicated problem

Recently, an attempt to target anticancer agents to the tumor cells by controlling their *in vivo* disposition behavior has attracted great interest in cancer chemotherapy. However, these approaches including monoclonal antibody conjugate can not achieve sufficiently effective targeting by the systemic administration due to: ① predominant uptake by the reticuloendothelial system such as the liver before arriving at the target site, ② difficulty in escaping from the blood space to the interstices of the tumor, ③ lack of sufficient affinity to the tumor cell surface, ④ low efficiency in cellular internalization and drug release. In this paper, I will show our systematic approach to manage these problems in a design of immuno-conjugate of mitomycin C. Pharmacokinetic analysis of systemic disposition at a whole body level, local disposition in an organ perfusion system, and cellular association of the conjugates are discussed in relation to their physicochemical and biological characteristics. Based on these informations, we have designed macromolecular prodrugs of mitomycin C with therapeutic success. Possible application of drug delivery systems in a future cancer chemotherapy is also discussed.

Mitsuru Hashida*

*key words : cancer chemotherapy, targeting, macromolecular carrier,
in vivo disposition, mitomycin C*

DDS は薬物の体内動態を精密に制御し作用部位へ望ましいパターンのもとに送り込むことにより、薬物治療の最適化を達成することを目的として開発される新しい薬物投与形態を総称することばである。初期の DDS 研究においては、生体へ薬物を一定速度で導入することを目的とするコントロールドリリース型 DDS の開発が中心課題であったが、最近では、吸収障壁の克服や標的作用部位へのターゲティングなど、さまざまな薬物の生体内移行過程の制御を目的とした DDS の開発が進められている¹⁾。

現在、DDS 技術の導入によって治療効果の改善が期待されている疾患としては、細胞毒作用を作用機序とするため治療係数が小さく投与方法のむずかしい抗癌剤をはじめとして、循環器用薬、抗

生物質、抗炎症薬など種々のものがあげられる。特に、癌化学療法においては、① 標的作用部位が明確である、② 治療上の有用性と副作用のバランスにおいて相対的に前者にウエイトが置かれる、など DDS 開発に有利な点が多く、癌細胞を標的とする抗癌剤 DDS の開発が期待を集めている²⁾。わが国においては、臨床と基礎の両面から活動に研究が進められており、化学塞栓療法³⁾やリポドール/SMANCS⁴⁾ など独創的な DDS が生み出された。

筆者らの研究室でもかねてより、抗癌剤を対象とするターゲティング型 DDS の開発を系統的に行い、リポソーム⁵⁾、エマルジョン⁶⁾、ゼラチン微粒子⁷⁾、高分子結合体⁸⁾などの有用性を報告している。ここでは、癌治療を目的とする DDS の有用性とその開発における問題点を、高分子化抗癌剤に関する研究を例にとり考えてみたい。

* Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University,
Kyoto 606, Japan 京都大学薬学部

表 1 癌化学療法に利用されるターゲティング, 選択的作用発現達成のための方法論

方 法	実 例
1. 局所投与	腫瘍やその近傍への直接注入 選択的動脈カテーテル法を利用した動脈内注入
2. 特異的な生体反応の利用	昇圧化学療法 リビオドール塞栓療法 オスモティックオープニング(血液-脳関門)
3. 生理的機構による標的部位での選択的活性化	プロドラッグ(ドキシフルリジン)
4. 受動的薬物運搬体の利用	分子性運搬体(高分子化抗癌剤) 微粒子性運搬体(リボソーム, マイクロスフェア)
5. 生物学的認識機構に基づく運搬体の利用	抗体-抗癌剤結合体(免疫ミサイル療法) 抗体修飾リボソーム
6. 外部からの制御	磁性誘導(磁性マイクロスフェア) 温度による制御(温度感受性リボソーム)
7. 外部作用による薬物活性化	レーザー光によるヘマトポルフィリンの活性化

癌治療を目的とする DDS 開発の基本的考えかた
癌化学療法においては, 癌細胞と正常細胞の抗癌剤感受性の間に十分な特異性の得られないことが最大の隘路になっている。そこで, 抗癌剤を癌病巣に選択的かつ望ましい濃度-時間パターンのもとに供給するとともに, 正常組織への移行を可能な限り少なくすることにより, 癌細胞に対する選択的作用発現を可能とするターゲティング型 DDS の開発が求められている。

現在, 抗癌剤を癌病巣にターゲティングさせる方法として, 表 1 のようなものが考えられている。各種医療技術を利用した標的部位への直接投与をはじめとして, 標的において選択的に活性化されるプロドラッグの開発や体外からの物理的作用による誘導などが試みられているが, なかでも, 抗癌剤を製剤学的手法を用いて修飾し, 修飾素材を薬物のキャリア(運搬体)に利用することによりその動態を制御する試みは, 応用性が広く重要である。キャリアには, 分子性や微粒子性のものがあるが, そのうち高分子物質を利用する高分子化抗癌剤開発のアプローチは, 高分子の幅広い特性が利用できることから注目を集めている⁹⁾。腫瘍細胞表面に存在する抗原を, 特異的に認識する抗体をキャリアに用いるいわゆる免疫ミサイル療法も, 高分子化修飾を利用したターゲティングの一種であり, 能動的ターゲティングと分類される。これに対し, 高分子物質が持つ一般的な物理学的性質により達成されるターゲティングは, 受動的

ターゲティングとよばれる¹⁰⁾。

薬物体内動態の視点よりみた場合, 生体は図 1 に示すように, 細胞により臓器が構成され, さらに臓器が血流によって結ばれて全身系となる, 多層的に構成されたシステムとして捉えられる。そして, システム内における薬物移行の各過程は, 拡散や容積流輸送, 濾過のような物理化学的現象, あるいは細胞膜に存在するキャリア輸送系による移動のような生物学的現象により成り立つものと考えられる。したがって, DDS の考えに基づいて薬物の体内動態に精密に制御するためには, こうした薬物動態に関する生体システムの特性を正確に理解し, 総合的にこれを制御する方策を立てなくてはならない¹¹⁾。

以上のように, 高分子修飾を利用して癌病巣部へのターゲティングを合理的に行うためには, 体内における高分子の移行動態を, ① 全身, ② 臓器, ③ 細胞のそれぞれのレベルで, 分子特性と関連づけて定量的に整理する必要がある。現在のところ, こうした情報は十分ではなく, 実験手技と解析理論の両面から, 正確な動態情報を与える方法論の確立がまず望まれているのが現状である。

筆者らはこうした認識のもとに, 抗癌剤-抗体結合体の合理的設計を最終目的として, ① 担癌マウス体内分布実験, ② 一般臓器灌流実験, ③ Walker 256 単離腫瘍標本の灌流実験, ④ 単層培養血管内皮細胞層の透過実験, ⑤ 培養腫瘍細胞を用いた細胞取り込み実験, など種々のレベルで実

図1 各種投与経路から投与された薬物の生体内移行過程とその機構

験を行い、得られた結果よりファーマコキネティクス解析を利用して、高分子化抗癌剤の分子量や電荷あるいは抗原に対するアフィニティーなどの分子特性と体内動態の関係を整理することを試みた。

高分子の物理化学的性質と全身分布特性との関連

高分子化抗癌剤の設計はすでに述べたように、本来、高分子物質の構造と特性に関する系統的な情報に基づいて、演繹的に行われるべきものであるが、現状ではたとえば高分子物質の体内動態、とりわけ全身投与後の分布動態に関する情報の蓄

図2 ターゲティング型 DDS のファーマコキネティクス評価

積は十分とはいいがたく、ターゲティング製剤の設計に適用しうる体系化された指針も得られていない。

全身レベルでの標的指向化を目的とする高分子化抗癌剤は、全身投与後、標的に到達するまえに血流に乗って全身を循環し、血液中での分解、血球や血漿タンパクとの相互作用、糸球体濾過による尿中排泄、肝臓などによる取り込み、などに曝される。したがって、高分子化抗癌剤は、これらの過程での損失ができるだけ少なくなるように分子設計されなくてはならず、この際、分子構造と物理化学的性質、体内動態間の関連に関する基礎情報は不可欠と考えられる。そこで、物理化学的性質の異なる各種デキストランやアルブミン誘導体をモデル高分子とし、高分子物質の物理化学的性質と生体動態の関係を検討した。

こうした検討においては、全身レベルの移行動態をどのように評価、解析するかが重要な問題になる。図2に示すように、生理学的ファーマコキネティクスの考えに基づいて考えた場合、各臓器への移行性は、総合的な移行性をあらわす臓器移行クリアランス、これを血流のファクターと区別して評価する臓器固有クリアランス、あるいは細

胞により取り込みやリンパ移行のようなより具体的な過程に対する速度定数など、いろいろなレベルで議論することができる。今回の検討では、複雑な様相を示す種々の高分子の分布挙動をできるだけ単純な形で比較するため、一方向性の取り込みと蓄積を前提として、静脈注射後の臓器分布の時間推移より各臓器における取り込み速度を臓器移行クリアランスの形で求め比較した¹²⁾。ここでクリアランスを基礎とした解析では、蓄積性物質の標的部位への総移行率は、全身クリアランスに対する標的への取り込み(移行)クリアランスの比に相当する。

実際の計算は、モデル高分子の臓器中総蓄積量をその時点までの血漿中濃度—時間曲線下面積(AUC_p)で除することにより行った。ここで、アルブミン誘導体は ^{111}In で、デキストラン誘導体は ^{14}C による増炭反応で標識したものをを用いているが、これらの標識体はいずれも組織内で蓄積され、上記の解析の妥当性を保証している。

S-180 癌担癌マウスにおけるモデル高分子の全身分布挙動を検討した結果、物理化学的性質を反映して高分子の分布挙動がいちじるしく異なることが証明され、あわせて各臓器への移行過程のう

図3 各種モデル高分子のマウスにおける肝臓取り込みおよび尿中排泄クリアランスの比較

ち特に尿中排泄と肝臓による取り込みが、高分子の全身挙動を決定していることが示唆された。一方、腫瘍組織への移行性は、毛細血管壁透過性の昂進を反映して正常筋肉などよりも約10倍大きかったが、高分子間での差異は肝臓や尿への移行とくらべると小さかった¹³⁾。

以上の結果に基づき、腎臓および肝臓における消失を取り上げ、分子サイズや電気的性質など高分子物質の物理化学的性質がどのようにこれらに影響するかを、尿中排泄クリアランスと肝臓取り込みクリアランスを指標に検討したのが図3である。図より、分子量の小さいものは尿中排泄が、正電荷を持つものは肝臓への取り込みと尿中排泄の両方に大きいことが示され、また糸球体濾過速度、肝血流速度、肝臓の fluid-phase endocytosis 速度とこれらの値の関係も明らかとなった。

一般に、高分子物質を静脈注射した場合、一般臓器への分布は遅く、分布は実質的に循環血液中に限定される。このうち、分子量がおおよそ3万以下の物質の場合は、糸球体濾過を受けるために尿中に速やかに排泄され、血液中濃度も急速に低下すると考えられる。この際、糸球体血管壁は負電荷を持った膜なので、静電的相互作用により正電荷を持った高分子物質のほうが排泄されやすいことも知られている¹⁴⁾。糸球体濾過を受けない大きさの高分子物質の場合には、毛細血管から

図4 単離 Walker 256 癌標本を用いた連続灌流実験におけるデキストランおよび DEAE-デキストランの腫瘍内移行を説明するモデルとシミュレーション結果

自由に漏出し臓器実質細胞と接触することが容易な肝臓が、消失に大きな役割を果たすものと予想される。図3の結果は、これらの議論とよく対応するものである。なお、電荷と動態の関係については、電荷密度や構造が大きな影響を与えることが予想され、たとえば硫酸化多糖では、強い負電荷を有するにもかかわらず、これを認識処理する機構が血管内皮細胞などに存在することも見出されている¹⁵⁾。

高分子の物理化学的特性と臓器、細胞レベルで移行特性の関連

以上において、モデル高分子の全身レベルにおける体内動態を、臓器移行クリアランスを指標に用いて単純な形で整理することが可能となった。しかしながら、各臓器における移行現象をその分子特性と具体的に関連づけて議論するためには、つぎの段階として、臓器あるいは細胞レベルでの移行のメカニズムに関する情報が必要である。そこで、モデル高分子を対象に、ラットの腎臓や肝臓を用いて臓器灌流実験を行い、その物理化学的性質と移行動態の関連について詳細に検討した。

解析の結果、たとえば正電荷をもつ高分子の肝

¹⁴C-MMC-Dcat (T-70) ¹⁴C-MMC-Dan (T-70)

図5 MMC-Dcat(T-70)および MMC-Dan(T-70)を静脈内注射後のザルコーマ180担癌マウスにおける体内挙動の模式図

臓集積が、肝臓の実質細胞と非実質細胞のそれぞれに静電的相互作用に基づいて、血漿との接触表面積に応じ結合することにより起こることが明らかとなり、結合サイト数、結合定数および結合後起こる内在化現象の速度が求められた¹⁶⁾。同様に腎臓においても、糸球体濾過過程や尿管管における再吸収過程における高分子物質の動態が定量的に整理され、高分子物質の物理化学的性質がこれらに及ぼす影響も明らかにされた。

一方、ターゲティングの標的となる固形癌病巣に関しても、Gullino らの方法¹⁷⁾に準じて作成した Walker 256 癌単離標本を用いた灌流実験系を開発し¹⁸⁾、モデル高分子の腫瘍移行性をそれぞれの物理化学的性質と関連づけて整理した。図4は得られた結果の一部を示したものであるが、同じ平均分子量7万のデキストラン(中性)と正電荷を持つ DEAE-デキストランを比較した場合、後者のほうが数倍癌移行性が高く、特に癌増殖部位に蓄積することが明らかとなった。これに対し、前者は相対的に壊死部位に高濃度に分布した。これらの結果をモデルを用いて解析した結果、移行の

駆動力が容積流輸送であり、両物質間の移行性の若干の違いは、静電的相互作用に基づく組織への結合性の差異によって説明されることが示唆された。また、腫瘍細胞(ヒト大腸癌 SW 1116 株)や血管内皮細胞の培養細胞層を用いた透過実験においても、こうした相互作用は確認された。

高分子化修飾を利用したマイトマイシンCの腫瘍ターゲティング

高分子化抗癌剤開発の大きな目的は、癌病巣への選択的送達を、全身投与(静脈注射)というもっとも簡便な投与方法で達成することにある。抗体など腫瘍に特異的親和性を有する物質を、キャリア高分子の中で導入して能動的ターゲティングを実現するのがその理想的な姿の一つであるが、すでに述べたように、癌病巣では毛細血管の透過性が正常臓器よりも昂進し、サイズの大きい物質でも血管外へ漏出しやすいので、この現象をうまく利用すれば、腫瘍細胞に特別な親和性を持たない一般高分子をキャリアに用いる場合でも、癌病巣への標的指向化が可能になるものと思われる。

図6 抗ヒト大腸癌モノクローナル抗体A7と負電荷を持つマイトマイシンC-デキストラン結合体(MMCDan(-70))との結合体の化学構造

これまでの結果より、腫瘍組織へのターゲティングを考える増合には、標的への移行クリアランスにそれほど大きな差がみられないので、全身クリアランスを小さくすることに目を向ける必要があることを示された。一方、高分子物質の分子サイズや電荷を調節することで、尿中排泄や肝臓取り込みの過程が制御できることが明らかとなった。この場合、糸球体濾過を受けない程度の分子量(7万)と分子全体として適度の負電荷を持つ高分子が、絶対量としてはもっとも腫瘍部位に蓄積することが示唆された。

そこで、以前の研究¹⁹⁾において、局所投与型高分子化抗癌剤プロドラッグとして開発を行ったマイトマイシンC-デキストラン結合体(MMC-D)を全身性腫瘍ターゲティングにも展開し、モデル高分子の分布挙動に立脚した設計指針の妥当性を評価した。ここでもモデル高分子の場合と同様に、S-180 担癌マウスに電荷と分子量の異なる6種類のMMC-Dを静脈注射し、MMCとデキストランの血中濃度、尿中排泄、臓器分布などを検討した。

実験結果を整理し、同一分子サイズ(平均分子量7万)で正電荷を持つMMC-Dcatと、負電荷を持つMMC-Danの静脈注射後の全身移行挙動を比較したのが図5である²⁰⁾。予想通り、MMC-Danが血流中に長く滞留し、徐々に癌病巣に蓄積することが確認された。一方、MMC-Dcatは肝臓への

取り込みや尿中排泄のため急速に血液中から消失し、小さなAUCしか与えないので、結果として癌病巣への総移行量はMMC-Danの約15分の1にすぎないことが明らかとなった。

分布挙動の制御に基づく全身性ターゲティングのなかでも、抗体を標的認識素子に利用した腫瘍ターゲティングは、もっとも期待を集めている。そこで、モデル高分子およびMMC-Dで得られた結果をもとに抗体-抗癌剤結合体の合理的設計を試みた。京都府立医大第一外科高橋らとの共同研究により、図6の構造を持つ抗ヒト大腸癌マウスモノクローナル抗体A7とMMCの結合体を、MMC-Danを基礎に設計し合成した²¹⁾。得られた結合体は、ヌードマウスに移植したA7に感受性を持つヒト大腸癌SW 1116株に、MMC-Danあるいは本細胞株に特異性を示さないマウスIgG抗体結合体よりさらに数倍集積し、同時にこれに対応する治療効果も得られた。

以上、MMCの各種高分子プロドラッグに関してマウスにおいて得られた結果を、それぞれの全身クリアランスと癌病巣への移行クリアランスの関係に着目して整理し、図7上にプロットした¹²⁾。本図により、両クリアランス値の比によって高分子化誘導体のターゲティング効率が決定されることが、わかりやすく示されている。ここでは、MMC-Dcat/S-180とMMC-Dan/S-180の間で電荷の影響が、A7-MMC-Dan/SW 1116とIgG-

図7 マイトマイシンCと抗体およびデキストラン結合体の癌病集積性

表2 抗体を利用した免疫ミサイル療法の問題点とその対策

問題点	対策
1. 調製過程における薬物、抗体の失活	調製技術の改良
2. アナフィラキシー、免疫複合体による障害	ヒト抗体の利用、抗体・製剤の純化
3. 細網内皮系による取り込みとその結果生じる障害	結合体の物理化学的性質と薬物放出機構の改善
4. 腫瘍血管壁透過性、腫瘍間質移行性の不足	物理化学的性質の改善、白血病等への適用
5. 血中阻害物質による消耗 遊離抗原 抗体結合体抗体	血漿交換 ヒト抗体の利用、抗原性の除去
6. 抗原過多	標的細胞数減少をもたらす他の治療法との併用
7. 標的の抗原性変化	複数抗体の使用、新規抗体の作成
8. 抗原の特異性不足	抗原の修飾、新規抗原の探索

MMC-Dan/SW1116 間で抗体のアフィニティーの影響が説明される。

高分子化修飾を利用した腫瘍ターゲティングの問題点とその対策

以上において、抗体に代表される目的とする認識素子の特性に応じて、もっとも適した抗癌剤結合体を分子計するための基本的な方法論を確立することができた。しかし、これらの問題とは別に、モノクローナル抗体を利用するアプローチにおいては、表2にまとめたように、抗原の特異性や抗原の血中漏出現象などに関してさらに本質的な問題のあることが指摘されている。それぞれの問題

について、表に示したような対策が立てられているが、現時点ではすべての条件を満足させる分子設計を実現することは困難である。

とりわけ、局所灌流実験で明らかになったように、血管壁の透過あるいは癌組織内での移動など、局所における移行の効率、動態に関する問題は、生体側の解剖学的あるいは生理学的条件によって基本的な枠組みが規定されてしまうため、分子構造の修飾を行ってもこれを大きく改善することはむずかしい。

また、Weinstein らは、親和性の非常に強い抗体をターゲティングに利用した場合、血管周囲の癌細胞との結合のため組織深部への到達が逆に阻

表 3 DDS 技術の導入によって進歩が期待される癌治療法の例

適用薬物例	適用薬物の特性	対 策
抗悪性腫瘍薬	特定の細胞群が標的、副作用が強く治療係数が小さい	ターゲティング、コントロールドリリリース
サイトカイン	多様な生理活性の分離が必要	ターゲティング、コントロールドリリリース
オピオイドペプチド関連物質	血液-脳関門の透過性がわるい 作用時間が短い	透過促進によるターゲティング、 コントロールドリリリース
DNA・アンチセンスオリゴヌクレオチド (遺伝子治療)	細胞内の核への送達が必要	ターゲティング、生体膜透過性改善

害される場合があることを、拡散モデルを用いたシミュレーションにより示しているが²²⁾、こうした問題も避けては通れない。実際、リポソームなど微粒子性キャリアを利用する場合に、こうした問題はさらに大きな障害になるものと思われる。これらを克服する方策として、対象とする癌のタイプ、特性と DDS の組み合わせを工夫したり、あるいは新しい認識装置を開発することが有用と考えられる。

現在筆者らは、抗原抗体反応にかわる誘導装置の検索を行い、細胞の糖鎖認識機構を利用した抗癌剤ターゲティングの可能性について検討を行っている。

おわりに

以上、癌治療に用いられる抗癌剤の DDS について、高分子化抗癌剤を例にとり、開発の基本的考えかたから問題点まで紹介した。

癌治療において DDS が果たす役割を広く考えた場合、今後 DDS 技術の導入が大きな利益をもたらすことが予想される癌治療の分野として、表 3 のようなものがあげられる。技術面からみた場合、たとえば、薬物濃度あるいは治療効果(副作用)を測定するセンサーを組み込み、コンピューターを利用したフィードバック機構により投与量を調節するコントロールドリリリースシステムは、抗癌剤やサイトカインの投与の精密化に大きな力を発揮することが期待される。また、オピオイドペプチドを脳内へ効率よく送り込むことの出来る製剤手法の開発は、癌患者の quality of life を高めるうえからも有用であろう。

現在、エイズ治療においては、HIV-1 ウィルスエンベロープ蛋白 gp120 や、これが結合するヒト

T cell 糖蛋白受容体 CD4 を標的とした治療システム、ターゲティング型 DDS の開発が遺伝子操作技術を武器に精力的に進められているが、癌治療においても同様のアプローチが大きな可能性を持つものと思われる。

また将来、遺伝子あるいはアンチセンスオリゴヌクレオチドを用いた治療が一般化される場合には、これらを標的細胞に効率よく送達するターゲティング技術が重要な役割を果たすものと思われる。今後、医薬工学などの各分野における研究動向の的確な把握と成果の統合を通じて、真に治療に役立つ DDS が生まれることを期待する。

文 献

- 1) 医薬品の開発 13. 薬物送達法。(瀬崎 仁・編), 広川書店, 東京, 1989.
- 2) 抗癌剤の効果増強とターゲティング療法。(塚越 茂, 藤田 浩, 水島 裕・編), サイエンスフォーラム, 東京, 1987.
- 3) Kato, T., Nemoto, R., Mori, H., Kumagai, I.: Sustained-release properties of microencapsulated mitomycin C with ethylcellulose infused into the renal artery of the dog. *Cancer* 46: 14-21, 1980.
- 4) Konno, T., Maeda, H., Iwai, K., Maki, S., Tashiro, S. 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.
- 5) Sasaki, H., Matsukawa, Y., Hashida, M., Sezaki, H.: Characterization of alkylcarbonyl derivatives of 5-fluorouracil and their application to liposome. *Int. J. Pharmaceut.* 36: 147-156, 1987.
- 6) Tanigawa, N., Satomura, K., Hikasa, Y., Hashida, M., Muranishi, S. et al.: Surgical chemotherapy against lymph node metastases: An experimental study. *Surgery* 87: 147-152, 1980.
- 7) Hashida, M., Sezaki, H.: Specific delivery of mitomycin C: Combined use of prodrugs and spherical delivery systems. *Microspheres and Drug Ther-*

- apy : Pharmaceutical, Immunological and Medical Aspects. (ed. Davis, S. S., Illum, L., McVie, J. G., Tomlinson, E.), Elsevier, Amsterdam, 1984, p 281-293.
- 8) 橋田 充 : 高分子修飾マイトマイシン C の合成と薬効. 有機合成化学協会誌 46 : 776-788, 1988.
 - 9) Sezaki, H., Hashida, M. : Macromolecule-drug conjugates in targeted cancer chemotherapy, CRC Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst 1 : 1-38, 1984.
 - 10) Tomlinson, E. : Theory and practice of site-specific drug delivery. Adv. Drug Deliv. Rev. 1 : 87-198, 1987.
 - 11) 橋田 充 : 薬物ターゲティング, 序論. 生物薬剤学—最近の進歩. (伊賀立二, 奥村勝彦・編) 薬業事報社, 1989, p 371-383.
 - 12) 橋田 充 : 高分子修飾を利用したターゲティング型 DDS の設計と評価. DDS 技術の進歩. 薬物—高分子ハイブリッドの展開. (嘉悦勲・編), 薬業時報社, 東京, 1990, p 83-98.
 - 13) Takakura, Y., Fujita, T., Hashida, M., Sezaki, H. : Disposition characteristics of macromolecules in tumor-bearing mice. Pharm. Res. 7 : 339-346, 1990.
 - 14) Bohere, M. P., Baylis, C., Humes, H. D., Glasscock, R. J., Robertson, C. R. et al. : Permselectivity of the glomerular capillary wall : Facilitated filtration of circulating polycations. J. Clin. Invest. 61 : 72-78, 1978
 - 15) Meijer, D. K. F., Melema, G., Jansen R. W., Moolenaar, F. : Design of cell specific drug targeting preparations for the liver, where cell biology and medicinal chemistry meet. Trends in Drug Research. (ed. Claassen, V.), Elsevier, Amsterdam, 1990, p 303-332.
 - 16) Nishida, K., Tonegawa, C., Nakane, S. Takakura, Y., Hashida, M. et al. : Effect of electric charge on the hepatic uptake of macromolecules in the rat liver. Int. J. Pharmaceut. 65 : 7-17, 1990.
 - 17) Gullino, P. M., Grantham, F. H. : Studies on the exchange of fluids between host and tumor. I. A method for growing "tissue isolated" tumors in laboratory animals. J. Natl. Cancer Inst. 27 : 679-689, 1961.
 - 18) Ohkohchi, K., Imoto, H., Takakura, Y., Hashida, M., Sezaki, H. : Disposition of anticancer drugs after bolus arterial administration in a tissue-isolated tumor perfusion system. Cancer Res. 50 : 1640-1644, 1990.
 - 19) 本田和男, 里村紀作, 橋田 充, 瀬崎 仁 : 高分子化制癌剤誘導体マイトマイシン C-デキストラン結合体 (MMC-D) の局所応用に関する基礎的, 臨床的検討. 癌と化学療法 12 : 530-535, 1985.
 - 20) Hashida, M., Takakura, Y., Sezaki, H. : Control of pharmacokinetic profiles of mitomycin C by dextran conjugation. Xenobiotic Metabolism and Disposition. (ed. Kato, R., Estabrook, R. W., Cayen, M. N.), Taylor & Francis, London, 1989, p 531-538.
 - 21) Noguchi, A., Takahashi, T., Yamaguchi, T., Kitamura, K., Takakura, Y. et al. : Tumor localization and *in vivo* antitumor activity of the immunoconjugate composed of anti-human colon cancer monoclonal antibody and mitomycin C-dextran conjugate. Jpn. J. Cancer Res. 82 : 219-226, 1991.
 - 22) Fujimori, K., Covell, D. G., Fletcher, J. E., Weinstein, J. N. : Modeling analysis of the global and microscopic distribution of immunoglobulin G, F (ab'), and Fab in Tumors. Cancer Res. 49 : 5656-5663, 1989.