シスプラチン封入リポソームを用いた動注化学療法の 基礎的研究

額綱 正和・西村 穰・柘植 勇人・馬場 駿吉
甕 久人・高木 一平・鈴木 賢二・四ッ柳智久*

An Experimental Study of Targeting Chemotherapy Using Liposome-Cisplatin

Masakazu Kouketsu, Jo Nishimura, Isato Tsuge, Shunkichi Baba,
Hisato Motai, Ippei Takagi, Kenji Suzuki and Tomohisa Yotsuyanagi
(Nagoya City University Medical School)

We performed a basic study using the cisplatin-liposome to examine the efficacy of blood vessel embolism by the liposome itself, gradual discharge of the agent from the liposome, and affinity of the liposome to cells.

Rats were allotted into 3 groups. Cisplatin and cisplatin-liposome were administered to rats by intravenous injection and intraarterial injection. In group 1, cisplatin alone was administered by intravenous injection, in group 2, cisplatin alone was administered by intraarterial injection, and in group 3, Cisplatin-liposome was administered by intraarterial injection.

Total platinum concentration in the blood, liver, lungs, kidneys, and the muscle of branching area was measured for 7 days after injection.

Rats bearing tumors were also allotted into 3 groups. Cisplatin and cisplatin-liposome were administered to the tumor-bearing rats by intravenous injection and intraarterial injection. In group 1, cisplatin alone was administered by intravenous injection, in group 2, cisplatin alone was administered by intraarterial injection, and in group 3, cisplatin-liposome was administered by intraarterial injection.

Tumor size and total platinum concentration in the tumor were measured 8 days after injection, and the pathological changes of the tumor were observed.

In all groups, the total platinum concentration in the blood dropped rapidly up to 2 hours after injection. In all groups, the total platinum concentration in the blood, kidneys and lungs changed similarly. In all groups, the total platinum concentration in kidneys was high. In the group administered cisplatin-liposome by intraarterial injection, the total platinum concentration in the muscle of the branching area and the liver was higher than that of the other groups.

名古屋市立大学医学部耳鼻咽喉科学教室

* 名古屋市立大学薬学部製剤学教室

In the tumor-bearing rat group administered cisplatin-liposome by intraarterial injection, the tumor size was smaller than in the other groups, and the total platinum concentration in the tumor was higher than in the other groups. The pathological change of the tumor showed good anticancer efficacy of the cisplatin-liposome.

These findings suggest that the cisplatin-liposome is applicable to selective intraarterial chemotherapy.

Key words: cisplatin, liposome, selective intraarterial injection

はじめに

癌細胞に特異的親和性を有する制癌剤は開発されておらず、制癌剤は治療係数の非常に低い薬物の一つとされる。これは正常細胞に対する毒性、即ち副作用が強いいため十分な治療効果が得られる程度に制癌剤の投与量を上げることが困難なことを意味する。薬物治療を行う際には薬物が治療を必要とする組織や器官だけに必要最低量だけが存在して効果を表すことが理想であるが、今日癌化学療法の効果を増強し、副作用を軽減しようとする試みの一つに薬物に放出制御性 (controlled release) と部位指向性 (targeting) を持たせようとする考え、即ち drug delivery system の考えに基づいた制癌剤の剤形の修飾がある。制癌剤封入リポソームもその効力持続性、腫瘍への到達性向上の可能性から近年注目されており、既に多くの基礎的実験の報告もされている^{1)~3)}。また目的の腫瘍細胞表面のタンパク質に対するモノクローナル抗体でリポソームを修飾し⁴⁾、特定の腫瘍細胞に集中させるミサイル療法、即ち targeting 効果を増強する試みや^{5)~7)}、温度感受性をもったリポソームを用いることにより温熱療法との併用によってさらに抗腫瘍効果を増強するといった試みもなされている^{8)~11)}。

リポソームは内部に水層を有する脂質二重膜からなる小胞体 (lipid vesicle) (図1) であるが、制癌剤の薬物担体 (drug carrier) として注目を集めている理由としては、主成分が生体膜由来のリン脂質であり、生体適合性物質 (biocompatible) であること、生体内分解物質 (biodegradable) であること、一部分に親水性、疎水性の

どちらの物質も封入できること、徐放効果があること、さらにリポソームそのものが細胞と融合あるいはエンドサイトーシスにより特異的に細胞内に取り込まれ易いことなどがある¹²⁾。リポソームを全身的に投与するとリンパ節に高濃度のリポソームが集積するというリポソームの強いリンパ節指向性を示す報告もある¹³⁾。しかしこの細胞親和性は必ずしも腫瘍細胞に特異的ではない¹⁴⁾。

このような事実をふまえたうえで筆者らは、リポソーム自体の血管塞栓効果 (embolization) とその徐放効果 (controlled release) 及び細胞親和性 (cell affinity) に期待し薬物担体としてのリポソームを用いた動注化学療法を確立するための基礎的研究に取り組んだ。

本報ではシスプラチン (cis diamminedichloroplatinum, CDDP) をリポソームに封入することにより水溶性カプセル化し、これをラットに対する選択的動脈内注入法に用いた腫瘍に対する active targeting 療法の基礎的研究の結果について報告する。

図1 Liposome の構造

材料と方法

(1) シスプラチン封入リボソームの作製及び調製

材料：シスプラチン（ブリプラチン：ブリストルマイヤーズ）

精製卵黄レシチン（日本油脂）

コレステロール（和光純薬）

マンニトール（科研製薬）

ヘキサンエタノールに溶解したフォスファチヂールコリン及びコレステロールをナス型フラスコに入れ、ロータリーエバポレーターを用いて減圧下に溶媒を除去し脂質膜を作製した。以後リボソームの調製は逆相蒸発 (reverse phase evaporation) 法にしたがった。

フォスファチヂールコリンとコレステロールのモル比は 2 : 1 とした。次に精製エーテルを加え脂質膜を完全に溶解し、フォスファチヂールコリン 100 mg に対しシスプラチン水溶液 4 ml (シスプラチン : 2 mg) 及びマンニトール (20%) 0.5 ml を加えた。vortex mixer にて攪拌振盪、さらに超音波処理することにより乳濁液とし、その後再度ロータリーエバポレーターによりエーテルを除去しリボソームサスペンションを作製した。それを freeze-dry 法により乾燥させ 1 vial にフォスファチヂールコリン 100 mg, コレステロール 25 mg, マンニトール 100 mg, シスプラチン 2 mg を含むものを作製した。

用時には 1 vial ごとに注射用蒸留水 2 ml を注入し再構成し、さらに 2 ml の蒸留水にて希釈、4 ml 中にシスプラチン 2 mg を含む溶液として使用した。

このようにして作製及び調整したリボソームは一枚膜 (unilamellar) と多重膜 (multilamellar) が混在しており、1 ~ 10 μm の径 (メディアン径 3.5 μm , モード径 4.0 μm) を有し、リボソームのシスプラチン包含率は約 6 % であった。

(2) シスプラチン封入リボソーム投与後のシスプラチンの体内動態の検討

シスプラチン封入リボソーム投与後のシスプ

ラチンの体内動態を観察するために非担癌ラットに対してシスプラチン封入リボソームの大腿動脈への選択的動脈内注入を行い血漿及び各組織内のシスプラチン濃度の経時的変化を観察した。シスプラチン単独についても同様の実験を行い比較検討した。さらにシスプラチン単独については静脈内注入も行い 3 群を比較検討した。

即ちシスプラチン封入リボソームの大腿動脈への選択的動脈内注入を施行した群、シスプラチン単独の大腿動脈への選択的動脈内注入を施行した群、シスプラチン単独を静脈内注入 (全身投与) した群の 3 群の比較検討を行った。またシスプラチン封入リボソームとシスプラチン単独の動脈内注入での比較、シスプラチン単独での動脈内注入と静脈内注入の比較検討も行った。

ラットはドンリウ系の雄性 (中部科学資材) を使用し、8 週令体重 約 300 g (287 g ~ 319 g) のものを使用した。ネブタールにて腹腔内麻酔 50 mg/kg (体重) した後、動脈内注入については一側大腿動脈へシスプラチン相当量 1.0 mg/kg (体重) を選択的動脈内注入施行した。静脈内注入についても同量を注入した。注入施行後 30 分、1 時間、2 時間、6 時間、12 時間、2 日、4 日、7 日後に血液を採取、1500 回転 10 分間の遠心分離施行し血漿を採取した。また注入施行後 6 時間、12 時間、2 日、4 日、7 日後にラットを脱血屠殺し生理食塩水にて灌流後、肝、腎、肺、注入側大腿動脈支配領域筋を採取した。採取した血漿及び各組織中のプラチナ濃度を検体中のプラチナの励起現象を利用したフレイムレス法¹⁵⁾ (組織にトリトン X100 を加えて希釈し電気濾過熱により気化し、原子化し、その元素の原子蒸気層による原子固有の吸光度を 265.9 nm で測定) を用いて測定した。

(3) 担癌動物を用いた抗腫瘍効果の検討

次に担癌ラットを用い、その腫瘍に対しシスプラチン封入リボソーム及びシスプラチン単独の支配動脈に対する同様な選択的動脈内注入を施行し、それぞれの抗腫瘍効果、シスプラチンの腫瘍内濃度、腫瘍の病理組織学的変化につい

て比較検討した. さらにシスプラチン単独については静脈内注入も行い3群を比較検討した.

ラットはフィッシャー系の雄性 (中部科学資材) を使用し, 8週令体重約 220 g (216 g~233 g) のものを使用した. JCRB (Japanese cancer reserch resource bank) より分与されたラットの扁平上皮癌である SCC-131 を10%ウシ胎児血清含有の RPMI 1640培地で維持培養し, ラットの一侧後肢足背に細胞数 1×10^7 cells ずつ皮下移植した.

腫瘍の生着確認後, 腫瘍移植14日後に腫瘍体積を測定し, 腫瘍体積が均等になるようにラットを3群に分け, それぞれの群にシスプラチン封入リボソーム, リボソーム単独を前述の実験と同じくシスプラチン相当量 1.0 mg/kg (体重) を腫瘍移植側の大腿動脈への選択的動脈内注入及び静脈内注入施行した.

注入施行8日後に脱血屠殺し, それぞれの群の腫瘍体積, シスプラチンの腫瘍内濃度の測定及び腫瘍組織の病理組織学的観察を行った. 腫

図2 血漿における CDDP 組織内濃度の経時的変化

図3 肝における CDDP 組織内濃度の経時的変化

瘍体積は腫瘍の縦、横、高さの積で算出した。

結 果

(1) 血漿に於けるプラチナの濃度推移

血漿に於けるプラチナの濃度推移は3群とも2時間後までに血中のプラチナは速やかに減少している。シスプラチン単独投与群での比較では、30分後では静脈内注入群が動脈内注入群に比して高値であったが、静脈内注入群は24時間後までにその殆どが血中より消失した。これは家兎を用いた立山らの同様の実験でも報告され

ている¹⁶⁾。また動脈内注入群での比較では両群には殆ど差は認められなかった(図2)。

(2) 主要臓器に於けるプラチナの濃度推移

主要臓器(肝、腎、肺)に於ける濃度推移は、腎、肺では3群の間に殆ど差は認められなかったが肝ではシスプラチン封入リボソーム投与群の方が24時間後以後高値を示した。また一般に腎はプラチナの主要排泄臓器であり、3群とも腎に於いて高いプラチナ濃度を維持した(図3, 4, 5)。

図4 腎における CDDP 組織内濃度の経時的変化

図5 肺における CDDP 組織内濃度の経時的変化

(3) 支配領域筋に於けるプラチナの濃度推移

大腿動脈支配領域筋に於けるプラチナ濃度は3群とも投与7日後までに徐々に低下傾向を示したが, シスプラチン封入りポソーム投与群が明らかに高濃度を維持した. シスプラチン単独投与群での比較では両群には殆ど差を認めなかったが静脈内注入群に比して動脈内注入群は24時間後までやや高値を示した(図6).

(4) 腫瘍体積の変化

注入施行8日後の腫瘍体積はシスプラチン封

入りポソーム投与群が他の2群に比して低くおさえられた. これは統計学的にも有意な差が認められた(T-test $p < 0.01$). またシスプラチン単独投与群での比較では動脈内注入群のほうが腫瘍体積は僅かに低くおさえられた(図7, 8).

(5) 腫瘍組織内プラチナ濃度

注入施行8日後の腫瘍組織内プラチナ濃度では, シスプラチン封入りポソーム動脈内注入群に高濃度が得られた. シスプラチン単独投与での比較では静脈内注入群に比して動脈内注入群

図6 支配領域筋における CDDP 組織内濃度の経時的変化

図7 腫瘍体積の変化

の方が僅かに高濃度を示した (図9)。

(6) 病 理

シスプラチン封入リポソームの選択的動脈内注入8日後の腫瘍の病理組織の一例を示しているが、一部に壊死を伴う部分もみられ強い抗腫瘍効果を示している (図10)。

今回の実験において使用したラットは全実験期間中固形飼料と滅菌水道水を自由摂取としたが数例に体重減少を認めた以外は副作用は認めなかった。動脈内注入群に注入直後から数日間

注入側下肢の運動障害を認めるものがみられたが、これは注入時の外科的操作によるものと思われた。

考 察

リポソームの生体内挙動を左右する要因としてはリポソームの組成、粒子径、電荷、投与量などがある。これらの要因の中でも粒子径は大きな影響を与える。一般に $0.1\ \mu\text{m}$ から $3\ \mu\text{m}$ 程度の粒子は静脈あるいは動脈内投与すると細網内皮系の発達した肝臓、脾臓などに集積し血液から速やかに消失する。また $4\ \mu\text{m}$ から $6\ \mu\text{m}$ 程度の粒子は肺泡毛細血管を自由に通過し体循環しながら肝臓、脾臓に集積する。一方 $7\ \mu\text{m}$ 以上の粒子は最初の標的である末梢毛細血管に集積する¹⁷⁾。

今回我々が作成したリポソームは $1\sim 10\ \mu\text{m}$

図8 注入施行8日後の腫瘍
(動注群での比較)

図9 CDDP 腫瘍組織内濃度 (投与8日後)

図10 腫瘍の病理組織学的変化

図11 リポソームの凝集

程度の径を有するものであるが、シスプラチン製剤に含まれる塩化ナトリウムのイオンの作用によりリポソームが凝集するため(図11)実際には数倍のより大きな凝集塊として作用していると思われる。

血管塞栓を目的とした選択的動脈内注入に用いる粒子サイズとしては $150\ \mu\text{m}$ ~ $250\ \mu\text{m}$ の程度のものが最適との報告もあり¹⁸⁾、今回用いたリポソームが選択的動脈内注入に用いた場合どの程度の目的血管床を塞栓し得たかは確かではないが、先述した抗腫瘍効果はリポソームによる塞栓効果及び細胞親和性とその徐放効果が総合的に作用したものと思われる。

リポソームの細胞への取り込みには2つの経路がある。その1つはエンドサイトーシスであり、リポソームは形質膜小胞に包まれて細胞内に取り込まれリソゾームのホスホリパーゼにより破壊され内容物が遊離する。第2の経路は形質膜との融合による方法であるが生体内でのリポソームの取り込みは殆どがエンドサイトーシスであると考えられている¹⁹⁾。

また今回の実験において用いたリポソームは膜の強度が弱いというリポソームの欠点を克服するために、レシチンに対しコレステロールを50 mol% 加えるという工夫を試みた²⁰⁾²¹⁾。これはリポソームを構成するリン脂質が血漿中の高比重リポタンパク (HDL) へ転移することをコレステロールのパッキング効果²²⁾ により防ぐことで膜の安定化を図ったものである。

分子量：300.1

cis-Platinum (II) Diammine dichloride (CPDD)

図12 構造式

シスプラチンは抗腫瘍活性を有する金属配位体で、分子構造の中心の白金 (platinum) 原子に2つの塩素 (Cl) と2つのアミン (NH_3) が平面に対しシス位に配位した水溶性の錯体化合物である(図12)。1965年 Rosenberg らが白金電極の近傍で E coli の細胞分裂が抑制されることに注目したことをきっかけとして開発されて来たが²³⁾²⁴⁾、抗腫瘍作用の作用機序は、その構造中の Cl が活性化され2つの反応基を作り、二本鎖 DNA (特にグアニンの N-7位) に intra-strand cross link (一部は DNA protein cross link) を形成、DNA の二重らせんの変性をきたし、DNA 合成阻害を招くことによると考えられている²⁵⁾²⁶⁾。

薬理学的効果は下山の分類で濃度依存性作用群 Ib といわれており、血中濃度を高めることは本剤の抗腫瘍効果を高めるのに有効と考えられる。しかし副作用という面から考えると、いたずらに高い濃度で全身に投与することは出来ない。そこで全身としての投与量は同じでそれを効率良く標的部位に移行させることができれば局所的な抗腫瘍効果の増大と副作用の軽減につながると考えられる。

シスプラチンの副作用として主なものは ① 消化器障害 (悪心、嘔吐) ② 腎機能障害 (主として尿細管障害) ③ 骨髄抑制 ④ 聴力障害 ⑤ 過敏症状 ⑥ 肝機能障害、などであるが、このうち治療上しばしば問題となるのは悪心、嘔吐等の消化器症状及び腎機能障害であり、これが dose limiting toxicity となっている。

今回の実験はラットを用いたため悪心、嘔吐についてははっきりせず、また投与量がシスプラチン相当量 $1.0\ \text{mg/kg}$ (体重) と少量であったため、腎機能に対する作用としては腎に於ける組織内濃度でしか判定できなかったが、シスプラチン封入リポソームの選択的動脈内注入群は腎に於けるプラチナの組織内濃度については他の2群とほとんど差を認めなかった。

肝に於けるプラチナの組織内濃度については他の2群に比して高値を示したが、これはリポ

ソームの持つ特性、即ちリポソームの細網内皮系への取り込みによるものと思われる。

リポソームを動物に投与すると主に肝臓の kupffer 細胞と脾臓の細網内皮系細胞に取り込まれる²⁷⁾。リポソームの臓器への取り込みは主にリポソームの大きさによって影響されるが、特に肝臓ではその傾向が著しい。肝細胞には実質細胞（肝細胞の約70%）と非実質細胞（肝細胞の約30%：kupffer 細胞 7% 類洞内皮細胞 23%）とがあり、肝実質細胞にリポソームが到達するためにはまず内皮細胞間隙（0.1 μm ）を通過しなければならず、0.2～3 μm のリポソームは非実質細胞に取り込まれる¹⁹⁾。従って今回の肝への取り込みも多くが非実質細胞への取り込みと思われる。いずれにせよ生体内に投与されたとき肝、脾などの細網内皮系に集まりやすいことはリポソームの問題点の1つといえ今後検討が必要と思われる。

血漿に於けるプラチナ濃度はシスプラチン単独の静脈内注入（全身投与）とほとんど差を認めなかったが、これはリポソームのシスプラチン包含率の低さも関係していると思われる。今日、シスプラチンは耳鼻咽喉科領域に於ける neoadjuvant chemotherapy の中心的役割をはたす薬剤であるが、この neoadjuvant chemotherapy は単に局所に対する抗腫瘍効果だけでなく、全身に対する転移の制御も目的としており、この点から考えると全身的なシスプラチン濃度が静脈内注入（全身投与）と同等に保たれることは全身的な micro metastasis の制御に対しては有効と考えられる。

今回の研究によりシスプラチン封入リポソームの選択的動脈内注入法は、副作用の軽減という目的は達し得なかったが、シスプラチン単独の静脈内注入法、選択的動脈内注入法に比較して腫瘍におけるプラチナ濃度を高め、さらに抗腫瘍効果を高めるのに有効なことが分かった。しかも動脈内注入でも静脈内注入でも全身的なプラチナ濃度にはほとんど差を認めないことより、シスプラチン封入リポソームの選択的動脈

内注入法は全身微小転移巣に対する効果もシスプラチン単独の静脈内注入（全身投与）法と同等に期待し得ると言える。

以上シスプラチン封入リポソームを用いた active targeting 療法の基礎的研究の結果について報告し検討した。

文 献

- 1) 柴田尚武, 陣内敬文, 越智 章, 他: リポソーム封入シスプラチンによる脳腫瘍ターゲティング療法. DDS 5: 2; 83～87, 1990.
- 2) 神尾善郎, 加藤 浩, 岸川輝彰, 他: シスプラチン封入リポソームによる神経芽腫治療に関する研究. 藤田学園医学会誌 10: 177～180, 1986.
- 3) 矢口豊久, 山内晶司, 永田二郎, 他: アドリアマイシン包埋リポソームを使用した消火器癌のターゲティング療法. 日本臨床 47: 1391～1395, 1989.
- 4) 橋本嘉幸: モノクローナル抗体の治療への応用. 細胞工学 1: 57～64, 1982.
- 5) Heath TD, Montgonery JA, Piper JR, et al: Antibody-targeted liposomes; increase in specific toxicity of methotrexate-raspartate. Proc Natl Acad Sci USA 80: 1377, 1983.
- 6) 谷内 昭, 今井浩三, 平田博巳, 他: モノクローナル抗体・抗癌剤結合体によるターゲティング療法. 日本臨床 47: 1391～1395, 1989.
- 7) 今野弘之, 熊井浩一郎, 鈴木啓一郎, 他: モノクローナル抗体結合抗癌剤封入リポソームのターゲティング効果. 日本臨床 47: 1396～1401, 1989.
- 8) Yatvin MB, Weinstein JN, Deniss WH, et al: Design of liposomes for enhanced local release of drugs by hyperthermia. Science 202: 1290～1293, 1978.
- 9) Yatvin MB, Munhlensiepen H, Porschen W, et al: Selective delivery of liposome associated cis-dichlorodiammineplatinum (II) by heat and its influence on tumor drug uptake and growth. Cancer Res 41: 1602～1607, 1981.
- 10) 前川宗一郎, 上尾裕昭, 甲斐秀信, 他: 制癌剤封入温度感受性リポソームの抗腫瘍効果に関する実験的研究. 癌と化学療法 13: 2; 271～274, 1986.

- 11) 高橋孝行, 熊井浩一郎, 石引久弥, 他: 抗癌剤封入温度感受性リポソームと局所温熱療法併用による DDS. 日本臨床 **47**: 1408~1411, 1989.
 - 12) Fidler IJ, Raz A, Fogler WE, et al: Design of liposomes to improve delivery of macrophage augmenting agents to alveolar macrophages. *Cancer Res* **40**: 4460~4466, 1980.
 - 13) 矢口豊久, 山内晶司, 高木 弘, 他: アドリアマイシン包埋リポソームのリンパ節移行性. *DDS* **15**: 47~50, 1991.
 - 14) Papergolas G, Neerunjun ED, Gregoriadis G, et al: Penetration of target areas in the rat by liposome associated bleomycin, glucose oxidase and insulin. *FEBS Lett* **63**: 235~239, 1976.
 - 15) Leroy AF, Wehling ML, Sponseller HL, et al: Analysis of platinum in biological materials by flameless atomic absorption spectrophotometry. *Biochem Med* **18**: 184~191, 1977.
 - 16) 立山一郎, 森 崇英, 富永俊朗, 他: CDDP 動注法と静注法における Platin の性器組織内濃度および, 血中, 尿中動態の比較研究. *J Jpn Cancer Ther* **22**: 3; 614~620, 1987.
 - 17) 室田英行, 後藤昭雄, 海野勝雄: 薬物担体の粒子径と腫瘍部集積移行性. 日本臨床 **47**: 1363~1368, 1989.
 - 18) 加藤哲郎: 抗癌剤マイクロカプセルによるターゲティング療法. *クリニカ* **11**: 892~896, 1985.
 - 19) 坂野喜子, 野沢義則: リポソームの医学応用・最近の進歩と展望. 膜 (MEMBRANE) **10**: 4; 235~246, 1985.
 - 20) Kirby C, Clark J and Gregoriadis G: Effect of the cholesterol content of small unilamellar liposomes on their stability in vivo and in vitro. *Biochem J* **186**: 519, 1980.
 - 21) Davis C and Gregoriadis G: The effect of lipid composition on stability of liposomes in vivo. *Biochem Soc Trans* **7**: 680, 1979.
 - 22) Finkelstein MC and Weissmann G: Enzyme replacement via liposomes variations in lipid composition determine liposomal integrity in biological fluids. *Biochem Biophys Acta* **587**: 202~216, 1979.
 - 23) Rosenberg B, Van Camp L, Trasko JE, et al: Platinum compounds; a new class of potent anti-tumor agent. *Nature* **222**: 385~386, 1969.
 - 24) Rosenberg B and Van Camp L: The successful regression of large solid sarcoma 180 tumors by platinum compounds. *Cancer Res* **30**: 1799~1802, 1970.
 - 25) 加藤 俊, 太田和雄, 新島端夫: シスプラチン—その臨床応用. 協和企画通信. 1980.
 - 26) 新島端夫, 小磯謙吉: シスプラチン. *医薬ジャーナル* **16**: 10; 1583~1590, 1980.
 - 27) Segal AW, Wills EJ, Richmond JE, et al: Morphological observations on the cellular and subcellular destination of intravenously administered liposomes. *Br J Exp Path* **55**: 320~327, 1974.
- (別刷請求先: 額正和
〒467 名古屋市瑞穂区瑞穂町川澄 1
名古屋市立大学医学部耳鼻咽喉科学教室)