第12回 日本臨床薬理学会 1991年10月24日 仙台市民会館 シンポジウム I

6. 腫瘍血管をターゲットとした高分子と油剤による
固型癌の化学療法—理論と実際—

前田 浩*

1. 背景と理論

固型腫瘍は通常三次元的な構築をもち、多くはその増殖初期にあつては旺盛な血管新生によって腫瘍組織の増殖を維持している。これに対し血管構築をもたない場合、たとえば浮遊細胞が凝集したのみのスフェロイドなどでは、2~3 mm 以上の大きさにはなりにくい。われわれは数年前に生体親和性のある高分子を血管内に投与すると、分子量約7万以上の蛋白等になると長期間にわたり血管内を循環するものの、漸時、血管外腔に漏出し、しかも腫瘍内の濃度(T)が血中濃度(B)よりもはるかに高くなることを見いだした。この現象は正常組織や正常臓器では成立しないこと、また分子量がある大きさ以上ないと成立しえない(アルブミンなど血清蛋白と結合すると低分子でもよい)ことを見いだした¹⁾。このことは腫瘍血管における物質輸送/漏出が正常のそれとは、やや趣を異にすることを物語っている。言い方を変えると、低分子物質と高分子物質ではこの脈管系における拡散・漏出・再吸収が異なることによっていえる。

日常的に臨床における腫瘍血管の特性は造影剤を用いることによって、血管陰影の描出により容易にその増生の高密度、不規則性、高流速など hyper-vasculature の像として見いだされる。さらにまた、上記の高分子物質の腫瘍選択的な集積性はガリウムシンチグラフィにおける放射線ガリウムによる腫瘍濃染像におきかえることができる。この場合、ガリウムは分子量約9万のトランスフェリンと結合し、循環していると考えられ

る。このような高分子やリピッドの腫瘍集積現象をわれわれは固型腫瘍における EPR (enhanced permeability and retention) 効果と呼んでいる。以下に記す油剤(リピオドール/スマンクス)動注の場合も、腫瘍の栄養動脈上流より投与したリピオドールが同様に腫瘍に選択的に停滞することは、最近では周知のこととなっているが、これもまた EPR 効果として説明されるといえる²⁾。

2. スマンクスをプロトタイプとした高分子制癌剤の動物実験と臨床

いくつかの実験腫瘍のうち、ラット Walker 256 carcinoma の腹腔内投与は高率に腹腔大網上に転移結節を生ずる。1×10⁶ 個投与後、5~8日で多くは8~10 mm 娘結節となる。このモデルを用いた系において³¹Cr 標識アルブミンとスマンクスのおおのの静脈内投与後の腫瘍集積性の検討を行った。すでに、われわれが報告したようにマウスの皮内に移植した S-180 腫瘍のモデルにおけるスマンクス(スマンクスはネオカルチノスタチン(12 kDa)とスチレンマレイン酸コポリマー(2本)が2本結合した分子量約1万6千のものであるが、これはアルブミンと(68 kDa)非共有的に結合し、見かけ上、分子量約8万となっていると考えられている¹⁰⁾), アルブミン(68 K),あるいはIgG(160 K)などの集積性の実験成績と同じく^{1,2)}, Walker carcinoma 系でも、血中濃度よりもはるかに腫瘍内濃度が高くなることが確認され、12時間後は血中の5~6倍となった。

さらにこの系で、アンジオテンシンⅡ投与昇圧下での腫瘍集積の向上、骨髄集積の減少、制癌効果の向上を検討した。その結果は、1時間値、6時間値とも、1.2~1.8 倍の腫瘍内集積が亢進す

* 熊本大学医学部微生物学教室

〒860 熊本市本荘 2-2-1

Tab. 1 Accumulation of [^{51}Cr]BSA by tumor and the other tissues after iv administration under angiotensin II-induced hypertensive condition

Specimen (Time after injection)	% of injected dose per gm tissue ^a		Ratio of distribution Hypertension/Normotension
	Normotension	Hypertension	
Tumor, omentum			
(1 hr)	0.26 $\pm$ 0.05	0.46 $\pm$ 0.11*	1.77
(6 hr)	0.58 $\pm$ 0.09	0.70 $\pm$ 0.10	1.21
Ascites			
(1 hr)	0.48 $\pm$ 0.13	0.64 $\pm$ 0.04*	1.33
(6 hr)	1.70 $\pm$ 0.44	2.07 $\pm$ 0.22	1.22
Bone marrow			
(1 hr)	0.23 $\pm$ 0.02	0.19 $\pm$ 0.02*	0.83
(6 hr)	0.09 $\pm$ 0.02	0.06 $\pm$ 0.01*	0.74
Small intestine			
(1 hr)	0.25 $\pm$ 0.01	0.23 $\pm$ 0.00	0.92
(6 hr)	0.31 $\pm$ 0.10	0.20 $\pm$ 0.06	0.64
Blood			
(1 hr)	4.64 $\pm$ 0.20	4.40 $\pm$ 0.43	0.95
(6 hr)	2.26 $\pm$ 0.53	2.05 $\pm$ 0.29	0.91

a; Results were expressed as mean value $\pm$ SD. 1×10^6 dpm of [^{51}Cr]BSA was injected iv during normotensive (90-110 mmHg) or AT-II induced hypertensive (140-160 mmHg) condition. Infusion of AT-II was continued for 15 min after injection of [^{51}Cr]BSA. Rats were sacrificed at 1 hr and 6 hr after injection. n=3 or 4 for each group. * and *; Significantly higher or lower than the value in normotension ($P<0.05$). Note that time dependent increase in tumor or tumor compartment are seen perhaps due to EPR effect, whereas normal tissues showed time dependent decrease in macromolecular drug accumulation.

Tab. 2 Accumulation of SMANCS is enhanced in tumor and reduced in the bone marrow and the small intestine after iv administration under angiotensin-II-induced hypertensive condition

Specimen (Time after injection)	% of injected dose per gm tissue ^a		Ratio of distribution Hypertension/Normotension
	Normotension	Hypertension	
Tumor, sc. (1 hr)	0.29 $\pm$ 0.09	0.44 $\pm$ 0.17*	1.63
(6 hr)	0.52 $\pm$ 0.17	0.70 $\pm$ 0.31	1.35
Tumor, omentum			
(1 hr)	0.26 $\pm$ 0.20	0.33 $\pm$ 0.28	1.27
Bone marrow*			
(1 hr)	0.24 $\pm$ 0.07	0.17 $\pm$ 0.10	0.71
Small intestine			
(1 hr)	0.11 $\pm$ 0.05	0.07 $\pm$ 0.03	0.64
Blood			
(1 hr)	3.03 $\pm$ 0.68	3.06 $\pm$ 0.73	1.01

Model: Walker 256 carcinoma in rats. Blood pressure in normotensive and hypertensive conditions were 90-110 mmHg and 140-160 mmHg, respectively. n=4-10 for each group.

Assay: ELISA. a: Results were expressed as mean value $\pm$ SD.

*: Values of the bone marrow was calculated based on the estimated bone marrow weight of 56 mg per two femurs used for the assay.

*: Statistically significant from the value in normotensive condition ($P<0.01$), Student's t-test.

Fig. 1 肺癌症例. A. 肺腺癌治療開始時 B. 昇圧下スマンクス静脈注射治療経過中の CT 像.

るとともに、さらに重要なことは、骨髓、小腸等の正常組織への集積が 60~80% に減少することが確認された (Tab. 1, 2). 一方、昇圧の有効性を低分子薬剤のモデルとして $[^3\text{H}]$ グルコースを用いて、アンジオテンシン II による同様の昇圧下静脈注射後の腫瘍と正常組織への集積性を検討したところ、昇圧下、投与 15 分後には腫瘍部への集積性が約 20% 有意に上昇したものの、正常血圧に戻って 45 分後 (昇圧 60 分後) には有意な亢進は見られず、高分子薬剤のほうが、より昇圧化学療法の有効性は示唆された (データ省略). 低分子と異なり、高分子では、血行性の吸収が容易でなく、リンパ系の回収機能もないためと考えられ

ている^{1~4)}.

以上の原理に基づく水性スマンクス昇圧下静脈内投与のヒト肺癌症例における有効性を Fig. 1 に示した.

次に、腫瘍血管の特性を示す例として、油剤 (リピオドール、その他植物油、中鎖脂肪酸トリグリセライドなど) をキャリアーとして、腫瘍の栄養動脈側より注入することによって、ほぼ選択的に制癌剤が腫瘍部へ集積する事例を示す^{3,5)}. 油性スマンクス (Smancs/Lipiodol= SX/Lp) を実験腫瘍 (ウサギ VX-2/肝) の肝動脈内に注入し、その薬剤の集積性をみると、圧倒的な選択性をもって腫瘍部に集積し、しかも長期にわたり持

Tab. 3 Distribution of radioactivity at 15 min and 24 hr after injection of lipids via the proper hepatic artery in rabbits bearing VX-2 carcinoma in the liver (Ref. 5)

Tissue or organ	Radioactivity (cpm) per gram tissue and types of lipids injected ³ ($\times 10^3$)		
	A. 15 min	B. 15 min	C. 24 hr
Tumor	12.15	1377.98	1358.23
Liver ^b	3.98	639.02	226.71
Liver ^c	2.71	141.75	13.70
Lung	0.11	48.58	11.93
Kidney	0.06	2.00	4.95
Heart	0.15	2.68	2.92
Spleen	0.14	0.08	1.80
Stomach	0.13 (antrum ^d)	1.57	8.55 ^e
	(fundus)	0.67	4.99
Duodenum	—	0.91	4.18 ^e
Small intestine	0.10	—	—
Large intestine	0.26	0.32	3.17
Mesenteric lymph node	0.15 ^e	—	—
Thymus	0.04 ^e	—	—
Brain	0.11 ^e	—	—
Bone marrow	—	—	—
Muscle	0.14 ^e	—	—
Skin	0.08 ^e	—	—
Bladder	0.17 ^e	—	—
Urine (fresh)	0.01 ^e	0.29	1.18
Plasma	0.04	0.67	1.73
Bile	0.49 ^e	—	—

^a: A: mixture of [¹⁴C] linoleic acid and olive oil: B and C are mixture of [¹⁴C] linoleic acid and medium chain triglyceride. All samples were injected 0.2 ml. Each value is an average of data for two rabbits.

^b: Non-tumorous but adjacent to tumor.

^c: Non-tumorous and distant from tumor.

^d: Data for the antrum and fundus were arbitrary.

^e: Result from a single rabbit.

続し, T/B 比は 2500 にもなった³⁾. Tab. 3 に植物油の例を示す⁵⁾.

これらデータをもとにわれわれは約 8 年前に主としてヒト肝癌を対象にパイロットスタディを開始した. この SX/Lp の動注症例について熊本大学を中心とした症例について記載したい. 油性投与症例の大半は原発性肝癌患者であり, 高度進行癌で手術不能症例であった. 生存率による成績では, 肝硬変がないかあっても軽度で, 癌が肝内 1 区域内に限局している場合は 5 年生存率約 90% であった (Fig. 2, 3). また上記 SX/Lp 投与の全症例および Child 分類 A, B および C クラスを含めた例は (n=147) 50% 生存期間は約 19 カ月であ

Fig. 2 原発性肝癌の治療成績の比較. 各群肝癌は腫瘍 2 区域占拠 [油剤動注群と肝切除手術群の比較] (熊本大・第一外科今野博士の好意による).

Fig. 3 原発性肝癌の治療成績、腫瘍が一区域を占拠した場合【油剤動注群と肝手術群の比較】(熊本大・第一外科・今野博士の好意による)。

ったが、手術例（非高度進行症例状群）（ $n=79$ ）のそれは約7カ月であり、その SX/Lp 投与全症例の5年生存率は約35%であった（今野未発表）。背景因子においてはるかに軽症の手術施行症例の5年生存率が約7%であるのと比べ大幅に優れており、すべての点で油性スマックス動注例の優位性がみられた。

3. 考 察

以上の成果は、高分子型およびその油剤化制癌剤は、1) 腫瘍ターゲティング後、2) 毒性（副作用）の軽減、さらに 3) 著明な臨床での制癌効果（生存期間の延長、5年生存率の向上）の点から今後の発展に期待されるものであるといえる。

水溶性の高分子化制癌剤の静脈注射による腫瘍への高い集積性は、スマックス以外に、アドリアマイシン-酸化デキストランが藤田ら⁶⁾によって、また、英国の Len Seymour ら⁷⁾がヒドロキンプロピルメタアクリレート・ペプチド共重合体のドキシソルビン結合物においても、最近証明されている。われわれは、この高分子ヤリピッドの固型腫瘍への集積性を EPR 効果 (enhanced permeability and retention effect) と命名している。一般にはリピッドや蛋白質が血管外腔に滲出した場合、それらは再び血行性には吸収されることはなく、リンパ管へ回収されることが知られている。このような回収が起こらず、数日、数週にわたって少なくとも正常組織より回収され難く、そこに残

存することはリンパ系の機能低下あるいは腫瘍組織内でのリンパ管の未発達を示すものといえる。

次に、高分子薬剤を用いることは EPR 効果によって、自動的により効率に薬剤を腫瘍へターゲティングすることができるのみではなく、アンジオテンシン II による昇圧化学療法の有用性を2~3倍高めうるわけで（腫瘍集積の増加+正常組織での集積性の減少）、この組合せが肺癌症例で示したように今後の有望な治療戦略になりうるものと期待される。

油性制癌剤の動注による有用性は今野らによってすでに確立されているが⁸⁾、油剤の投与ルートとしては腫瘍の栄養動脈よりの注入が広く用いられている。油剤は経静脈的な全身投与ができないが、油相から水相への徐放制は体腔（胸腔/腹腔）内投与剤としてもその有用性が報告されている⁹⁾。水溶性高分子薬剤も体腔から一般循環への移行が遅く、コンパートメント内に長期にわたり高い濃度で維持できるので、こちらも癌性胸・腹膜炎等の治療に期待されると考えられる。いずれにしる、本論文で示したような新しい方向により臨床での癌化学療法の進歩が展開するのではないかと信じている。

文 献

- 1) Matsumura, Y. and Maeda, H.: *Cancer Res.*, **46**: 6387-6392 (1986).
- 2) Maeda, H. and Matsumura, Y.: *Crit. Rev. Therap. Drug Carrier Syst.*, **6**: 193-210 (1989).
- 3) Iwai, K., Maeda, H. and Konno, T.: *Cancer Res.*, **44**: 2115-2121 (1984).
- 4) Maeda, H.: *Adv. Drug Delivery Rev.*, **6**: 181-202 (1991).
- 5) Iwai, K., Maeda, H., Konno, T. et al.: *Anti-cancer Res.*, **7**: 321-328 (1987).
- 6) 藤田 浩, 岡本公章, 高尾亜由子: *Drug Delivery System*, **6**: 133-138 (1991).
- 7) Seymour, L.: *CRC. Crit. Rev. Therap. Drug Carrier Syst.*, **6**: 178-216 (1991).
- 8) Konno, T.: *Cancer*, **66**: 1897-1903 (1990).
- 9) 木村正美, 今野俊光, 前田 浩: *細胞工学*, **10**: 118-123 (1991).
- 10) Kobayashi, A., Oda, T. and Maeda, H.: *J. Bioactive Compatible Polymer.*, **3**: 319-333 (1988).