

## 担癌マウスに対するドセタキセル含有リポソームの抗腫瘍効果

牛 田 環 里 見 貴 史 続 雅 子  
渡 辺 正 人 千 葉 博 茂

東京医科大学口腔外科学講座

**【要旨】** タキサン系抗癌剤ドセタキセル (DOC) を含有したリポソームを担癌マウスの腹腔内に投与し、抗腫瘍効果を検討した。実験群を対照群、DOC (DOC) 群、DOC 含有リポソーム (L-DOC) 群に分け、投与後の腫瘍体積と腫瘍発育率、および DOC の血中濃度、腫瘍と各臓器内濃度の経時的変化と病理組織変化を比較検討した。

腫瘍体積 (平均値) は、L-DOC 群が DOC より低値であった。血中濃度は投与 2 時間後から、L-DOC が DOC より高値を示した。

腫瘍内濃度は、L-DOC が投与 12 時間後に最高値を示し、24 時間後まで高値を示した。腎臓、肝臓、心臓、脾臓の組織内濃度は常に L-DOC が低値を示した。病理組織変化は、L-DOC 投与後の腫瘍細胞の変性は DOC より強く認められた。したがって、L-DOC は DOC に比較して、主要臓器への集積も少なく副作用も軽減でき、口腔癌治療に有用であると考えられた。

### はじめに

タキサン系抗癌剤のドセタキセル (docetaxel 以下 DOC と略す) は近年、頭頸部癌治療に頻用されているが、浮腫、骨髄抑制、口内炎、味覚障害などの副作用を発症する。しかも、投与期間が長期に及ぶと、薬物が体内に蓄積され、副作用の発生頻度が高まるため、より少量の抗癌剤を効率よく腫瘍局所に停滞させる方策が求められてきた。腫瘍組織の毛細血管は新生血管が多く、その内皮細胞は未発達で、正常組織より血管透過性が亢進している<sup>1-6)</sup>。したがって、通常は血管外へ漏出しにくい高分子物質も腫瘍血管から漏出しやすくなり、いったん腫瘍局所で漏出した高分子物質は容易にその場に停滞する。

高分子化合物であるリポソームに抗癌剤を含有して投与するような Drug Delivery System (D.D.S) を

用いると、通常の抗癌剤投与法に比較して腫瘍局所の薬剤濃度を上昇させ、しかも抗癌剤を局所に長時間停滞させることができる。

本研究では、口腔扁平上皮癌の担癌 C3H マウスの腹腔内に DOC を含有したリポソームを投与し、抗腫瘍効果と主要臓器への薬剤の集積を検討した。

### 研究材料および方法

#### 1. 実験材料

##### 1) 実験動物および移植腫瘍

実験動物は 7 週齢、体重 20 g 前後の雄性 C3H マウスを使用した。実験腫瘍は C3H マウス頬粘膜に発生した扁平上皮癌 NR-S1 細胞 10 世代 (放射線医学研究所より分与) を使用した。

平成 22 年 2 月 15 日受付、平成 22 年 3 月 2 日受理

キーワード: ドセタキセル、リポソーム、ドラッグデリバリーシステム

(別冊請求先: 〒160-0023 東京都新宿区西新宿 6-7-1 東京医科大学口腔外科学講座 牛田 環)

TEL: 03-3342-6111 (内 5731) FAX: 03-3342-0127

## 2) 使用薬剤およびドセタキセル含有リポソーム (以下 L-DOC と略す) の作製法

使用薬剤は DOC (ドセタキセル: サノフィ・アベンティスファーマ社) を使用した。L-DOC の作製は三重大学大学院工学研究科リポソームバイオ工学研究室で行われた。まず、DOC 原末を使用し、reverse-phase evaporation method (逆相蒸発法)<sup>7)</sup> (Table 1) により Diposphatidylcholine (DPPC) 240  $\mu\text{mol}$ 、cholesterol (CHOL) 240  $\mu\text{mol}$ 、DOC 7.92  $\mu\text{mol}$ 、Polyetirennngrycol (PEG) 9.6  $\mu\text{mol}$  を 6 ml のクロロホルムに溶解し、吸引下のロータリーエバポレーターで脂質薄膜を形成させた。これにクロロホルムを 5 ml 加えて脂質を溶解し、10 mM HEPES-NaOH と 145 mMNaCl (ph 7.5) を 2 ml 加え、それを 50°C で 5 分間、浴槽型ソニケーターで超音波処理を行い、W/O エマルジョンを形成させた。それをさらに 50°C のロータリーエバポレーターで吸引してクロロホルムを蒸発させ、脂質一重層上に炭化水素鎖が内を向き、親水性グループが外を向いた脂質一重層を形成して脂質二重層とした。これに、10 mM HEPES-NaOH、145 mMNaCl (ph7.5) を 3 ml 加えて 50°C のロータリーエバポレーターで吸引し、クロロホルムを完全に除去した。作製したリポソーム (LUV) 液を 0.4  $\mu\text{m}$ 、0.2  $\mu\text{m}$  ポアサイズの polycarbonate membrane の順に通し、リポソームのサイズを整えた。次に、作製したリポソーム液のリン脂質

濃度を測定し、DPPC/CHOL/PEG (2000)-DPPE/DOC-LUV = 40  $\mu\text{mol}$  /40  $\mu\text{mol}$  /1.32  $\mu\text{mol}$  /1.6  $\mu\text{mol}/\text{ml}$  に調整した。以上の過程で作製したリポソーム液は 24 時間以内に実験動物に使用した。

## 3) 実験方法

C3H マウスの右大腿部へ NR-S1 細胞 ( $1 \times 10^5$  個/0.1ml) を移植した (Fig. 1)。実験動物を対照群、ドセタキセル (DOC) 群、ドセタキセル含有リポソーム (L-DOC) 群に分け、腫瘍移植後の発育を待って、各薬剤 5 mg/kg をマウスの腹腔内に投与した。その後の各群の血中・腫瘍内濃度、主要臓器内濃度を経時的に測定し、さらに投与後の病理組織学的変化の比較観察から、L-DOC 投与後の抗腫瘍効果を評価した。なお、本研究は動物実験に関する東京医科大学動物実験指針を遵守して行った。

## 2. DOC 群、L-DOC 群の血中・腫瘍内濃度および主要臓器内濃度の測定

腫瘍移植後 7 日目に、各群 40 匹の C3H マウスに DOC と L-DOC を投与した。薬剤投与 30 分、2 時間、12 時間、24 時間後に各群 10 匹のマウスを屠殺し、腫瘍、心臓、肝臓、腎臓、脾臓を摘出した。腫瘍および各臓器の重量を測定後、ホモジナイズして混濁液とし、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で腫瘍および各臓器内の薬物濃度を測定した。血中の薬物濃度は、まず屠殺時に心腔内より 1.0 ml の血液を採血し、遠心分離法で血漿を分離後、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で測定した。以上の操作で、DOC 群と L-DOC 群の血中と腫瘍内薬物濃

**Table 1** Method of Docetaxel encapsulation in liposomes

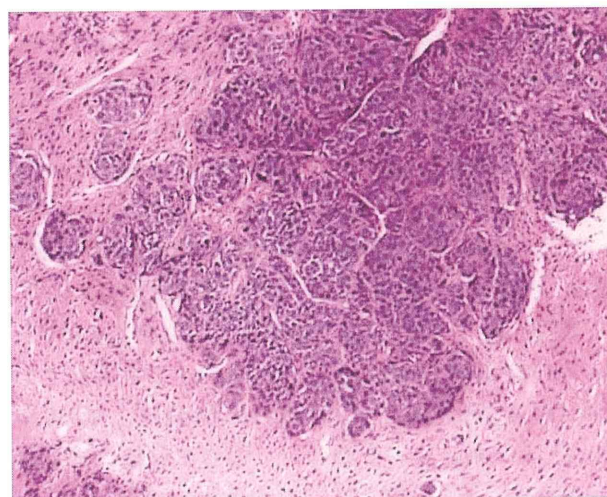
|   |
|---|
| DPPC+Cholesterol+PEG (2000)-DPPE+TX in chloroform   |
| 6 ml (240 $\mu\text{mol}$ /240 $\mu\text{mol}$ /7.92 $\mu\text{mol}$ /9.6 $\mu\text{mol}$ ) |
| ↓ Evaporation   |
| Lipid film  |
| ↓ + Chloroform 5 ml   |
| Lipid/chloroform solution   |
| ↓ + 10 mM HEPES NaOH/145 mM NaCl buffer (7.5) 2 ml ↓  |
| ↓ Bath sonication (50°C 5 min)  |
| W/O Emulsion  |
| ↓ Evaporation (50°C)  |
| ↓ +10 mM HEPES NaOH/145 mM NaCl buffer (7.5) 3 ml ↓↓  |
| ↓ Evaporation   |
| LUV   |
| ↓ Filtration through polycarbonate membrane (0.4 $\mu\text{m}$ → 0.2 $\mu\text{m}$ )        |
| Sized LUV   |

Reverse-phase evaporation method<sup>7)</sup>

DPPC : Diposphatidylcholine

PEG : polyethyleneglycol

W/O emulsion : water/oil emulsion



**Fig. 1** Photomicrograph of the transplanted tumor showing disorganized proliferation of NR-S1 carcinoma cells in the control group (magnification  $\times 100$ )

度、および各臓器内薬物濃度の経時的変化を比較検討した。

### 3. DOC 群、L-DOC 群、対照群の腫瘍体積と腫瘍成長率の測定

腫瘍径が約  $1 \times 1$  cm に増生した時点で、各群 10 匹の C3H マウスに、それぞれ DOC と L-DOC を投与し、移植 10 日、14 日、21 日後の腫瘍体積を比較検討した。また、移植 7 日～10 日、10 日～14 日、14 日～21 日後の腫瘍の成長率を対照群、DOC 群、L-DOC 群間で比較検討した。

腫瘍成長率は、Giavazzi らの計測法で算出した。すなわち、 $L \times W^2/2$  ( $L$  = length mm、 $W$  = width mm) で腫瘍体積の測定後、 $V2-V1/V1 \times 100$  ( $V1$  = 各区間の初日の腫瘍体積、 $V2$  = 各区間の最終日の体積) で腫瘍成長率を算出した。統計学的検討は Student-T 検定を用い、 $P < 0.05$  を有意差ありとした。

### 4. DOC 群、L-DOC 群、対照群の病理組織学的変化

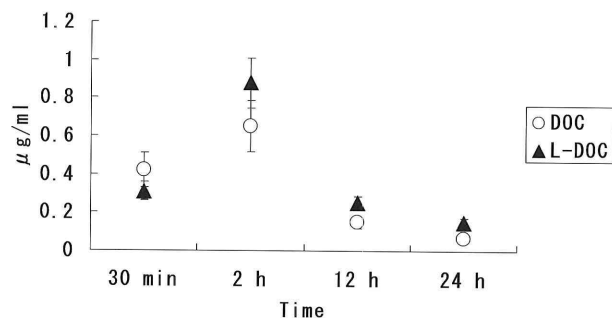
腫瘍移植 10 日後に C3H を屠殺し、腫瘍を摘出後、10% ホルマリンに固定しパラフィン包埋ブロックを作製した。これを薄切して Hematoxylin-Eosin 染色を施し、DOC 群、L-DOC 群、対照群の病理組織学的変化を観察した。

## 結 果

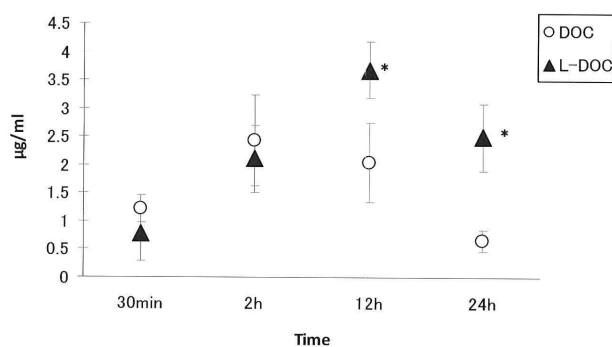
### 1. DOC 群、L-DOC 群の血中および腫瘍内濃度の経時的変化

DOC 群の薬剤血中濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ ) の平均値は、投与 30 分後  $0.42 \pm 0.08$ 、2 時間後  $0.65 \pm 0.11$ 、12 時間後  $0.15 \pm 0.03$ 、24 時間後  $0.07 \pm 0.01$  であり、L-DOC 群は投与 30 分後  $0.31 \pm 0.05$ 、2 時間後  $0.88 \pm 0.19$ 、12 時間後  $0.25 \pm 0.02$ 、24 時間後  $0.15 \pm 0.01$  を示した (Fig. 2)。ただし、薬剤投与 2 時間以降は、いずれの時点でも L-DOC 群が DOC 群より高値を示した。

一方、DOC 群の腫瘍内薬物濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ ) の平均値は、投与 30 分後  $1.22 \pm 0.38$ 、2 時間後  $2.43 \pm 0.63$ 、12 時間後  $2.05 \pm 0.72$ 、24 時間後  $0.66 \pm 0.15$  で、L-DOC 群は投与 30 分後  $0.78 \pm 0.41$ 、2 時間後  $2.11 \pm 0.53$ 、12 時間後  $3.68 \pm 0.45$ 、24 時間後  $2.50 \pm 0.48$  を示した (Fig. 3)。すなわち、両者の腫瘍内薬剤濃度は薬剤投与 2 時間後までは DOC 群が高く、12 時間以降は逆に L-DOC 群が高値を示し、12 時間後、24 時間後に統計学的有意差 ( $P < 0.05$ ) が認められた。



**Fig. 2** Plasma concentrations of docetaxel  
The concentration in blood was higher in the L-DOC group than in the DOC group, 2 hours after injection. ○ : docetaxel (+); ▲ : liposome-docetaxel (+)



**Fig. 3** The concentration in tumor  
The concentration in tumor reached a peak at 12 hours in the L-DOC group, and remained higher than in the DOC group at 24 hours. ○ : docetaxel (+); ▲ : liposome-docetaxel (+) (\* $P < 0.05$  compared with DOC).

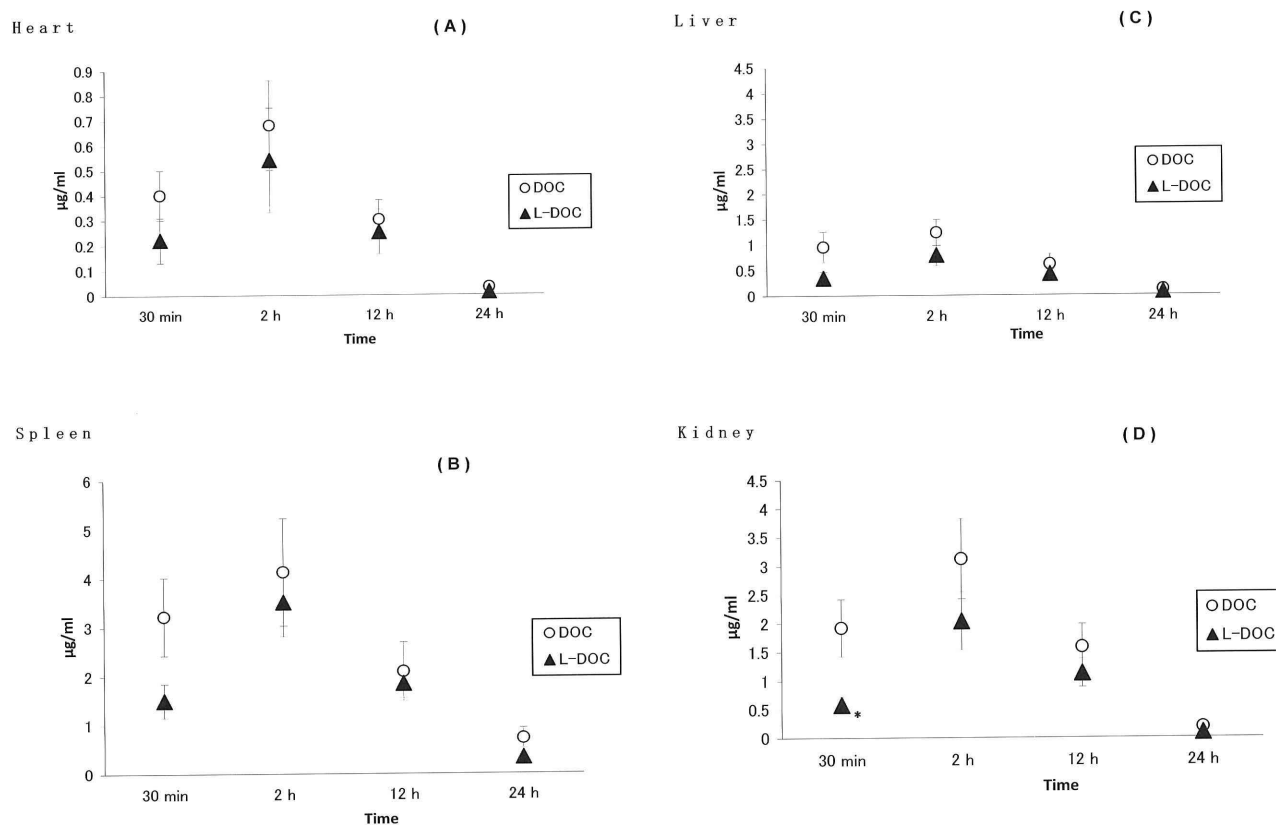
### 2. DOC 群、L-DOC 群の主要臓器内濃度の経時的変化

#### 1) 心臓の組織内薬物濃度

DOC 群の心臓組織内薬物濃度の平均値は、30 分後  $0.40 \pm 0.10$ 、2 時間後  $0.68 \pm 0.15$ 、12 時間後  $0.30 \pm 0.08$ 、24 時間後  $0.03 \pm 0.01$  で、L-DOC 群は 30 分後  $0.22 \pm 0.09$ 、2 時間後  $0.54 \pm 0.20$ 、12 時間後  $0.25 \pm 0.10$ 、24 時間後  $0.01 \pm 0.01$  を示した (Fig. 4A)。すなわち、DOC 群、L-DOC 群の薬物濃度はともに投与 2 時間後に最高値を示したが、L-DOC 群はいずれの時点でも DOC 群より低値を示した。

#### 2) 脾臓組織内薬物濃度

DOC 群の脾臓組織内薬物濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ ) の平均値は、30 分後  $3.22 \pm 0.84$ 、2 時間後  $4.13 \pm 1.10$ 、12 時間後  $2.09 \pm 0.30$ 、24 時間後  $0.72 \pm 0.03$  で、L-DOC 群は 30 分後  $1.50 \pm 0.20$ 、2 時間後  $3.51 \pm 0.52$ 、12 時間後  $1.85 \pm 0.20$ 、24 時間後  $0.33 \pm 0.01$  を示した (Fig. 4B)。いずれの群も 2 時間後に最高値を示したが、L-DOC 群はいずれの時点でも DOC 群より低値



**Fig. 4** Tissue concentrations of docetaxel  
 A: Heart; B: Spleen; C: Liver; D: Kidney  
 ○: docetaxel (+); ▲: liposome-docetaxel (+)  
 (\* $P < 0.05$  compared with DOC)

を示した。

### 3) 肝臓組織内薬物濃度

DOC 群の肝臓組織内薬物濃度 (µg/ml) の平均値は、30 分後  $0.95 \pm 0.21$ 、2 時間後  $1.23 \pm 0.31$ 、12 時間後  $0.60 \pm 0.03$ 、24 時間後  $0.11 \pm 0.01$  で、L-DOC 群は 30 分後  $0.34 \pm 0.03$ 、2 時間後  $0.78 \pm 0.18$ 、12 時間後  $0.41 \pm 0.01$ 、24 時間後  $0.06 \pm 0.01$  を示した (Fig. 4C)。いずれの群も 2 時間後に最高値を示したが、L-DOC 群はいずれの時点でも DOC 群より低値を示した。

### 4) 腎臓組織内薬物濃度

DOC 群の腎臓組織内薬物濃度 (µg/ml) の平均値は、30 分後  $1.92 \pm 0.43$ 、2 時間後  $3.12 \pm 0.66$ 、12 時間後  $1.58 \pm 0.40$ 、24 時間後  $0.18 \pm 0.01$  で、L-DOC 群は 30 分後  $0.58 \pm 0.01$ 、2 時間後  $2.04 \pm 0.03$ 、12 時間後  $1.13 \pm 0.02$ 、24 時間後  $0.09 \pm 0.01$  を示した。いずれの群も 2 時間後に最高値を示したが、L-DOC 群はいずれの時点でも DOC 群より低値を示し、特に投与 30 分後は両者間に統計学的有意差 ( $P < 0.05$ ) が認められた (Fig. 4D)。

## 3. 対照群、L-DOC 群、DOC 群の腫瘍体積および腫瘍発育率の経時的変化

すべてのマウスでは腫瘍移植 7 日後に腫瘍径が約  $1 \times 1$  cm に達したため、同日 DOC、L-DOC を投与した。

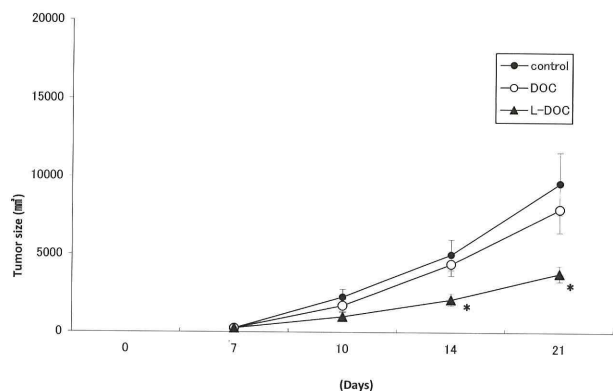
### 1) 腫瘍体積の比較

腫瘍移植 10 日後の各群の腫瘍体積の平均値は、対照群  $2,273 (\pm 242)$  mm<sup>3</sup>、DOC 群  $1,720 (\pm 164)$  mm<sup>3</sup>、L-DOC 群  $999 (\pm 136)$  mm<sup>3</sup> で、14 日後は対照群  $5,001 (\pm 979)$  mm<sup>3</sup>、DOC 群  $4,386 (\pm 826)$  mm<sup>3</sup>、L-DOC 群  $2,118 (\pm 165)$  mm<sup>3</sup>、21 日後には対照群  $9,602 (\pm 2,189)$  mm<sup>3</sup>、DOC 群  $7,939 (\pm 1,546)$  mm<sup>3</sup>、L-DOC 群  $3,791 (\pm 321)$  mm<sup>3</sup> と変化した (Fig. 5)。すなわち、腫瘍体積の平均値は 10 日後、14 日後、21 日後とも L-DOC 群が最小値を示し、14 日後、21 日後には統計学的有意差 ( $P < 0.05$ ) が認められた。

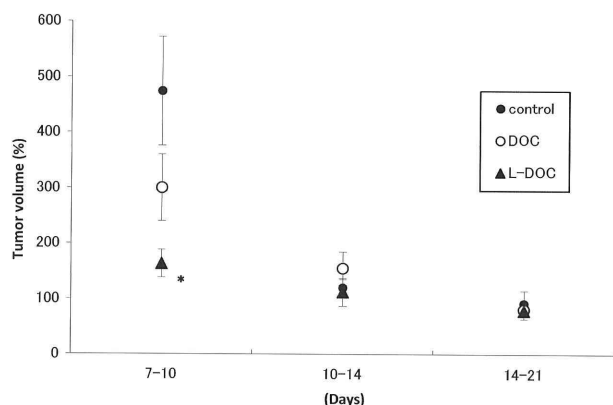
### 2) 腫瘍発育率の比較

各群における腫瘍移植 7 日～10 日後の腫瘍発育率の平均値は、対照群 474%、DOC 群 300%、L-DOC





**Fig. 5** Effects of liposomal and free docetaxel on tumor growth in the NR-S1 tumor-bearing mice. DOC and L-DOC show the group with docetaxel, and liposome-docetaxel, respectively.  
(\* $P < 0.05$  compared with control)

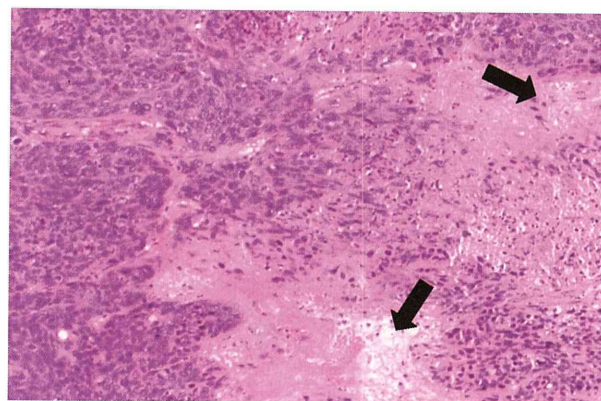


**Fig. 6** Effects of liposomal and free docetaxel on tumor growth rate in the NR-S1 tumor-bearing mice  
○: docetaxel (+); ▲: liposome-docetaxel (+)

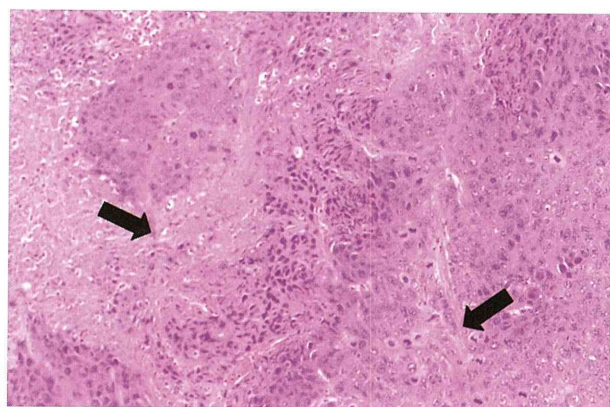
群 163% で、L-DOC 群の腫瘍発育抑制効果が最も高く、統計学的有意差 ( $P < 0.05$ ) が認められた (Fig. 6)。腫瘍移植 10 日～14 日後は対照群 120%、DOC 群 155%、L-DOC 群 112% で、14 日～21 日後は対照群 92%、DOC 群 81%、L-DOC 群 79% と減少し、全測定期間を通して L-DOC 群の腫瘍成長率が最も低値を示した。

#### 4. 腫瘍移植後の病理組織学的変化

対照群では、濃染した大小不整の核を有する扁平上皮由来の癌細胞が不規則な胞巣を形成しながら充実に増生していた (Fig. 1)。一方、DOC 群では、腫瘍細胞の各所に壊死が生じ、核は膨化して、巣状の壊死像が認められた (Fig. 7)。L-DOC 群でも DOC 群と同様の変化が進行するが、さらに著しい腫瘍細胞の壊死が DOC 群より広範囲に認められた (Fig. 8)。



**Fig. 7** Photomicrograph of the necrotic tumor nest demonstrating partially collapsing tumor nests in DOC group. There are remaining viable tumor cells. Arrows in the figure show the site of necrotic tumor nests. (magnification  $\times 100$ )



**Fig. 8** Photomicrograph of the prominent necrotic tumor nest in the L-DOC group. There are scattered vacuolated tumor cells. Tumor nest almost completely disappeared. Arrows in the figure show the site of necrotic tumor nests. (magnification  $\times 100$ )

#### 考 察

近年の Drug Delivery System (D.D.S.) の研究や開発は目覚ましいものがある。Adriamycin や Taxol などの抗癌剤を人工膜のリポソームに含有することで、抗腫瘍効果を増強させ副作用の軽減を図る実験的研究が続けられ、臨床応用への可能性が検討されてきた<sup>8-17)</sup>。なかでも、Doxorubin をリポソームに封入した Caelyx は、米国でカポジ肉腫に臨床応用されており、近年は小児の神経芽腫への応用が試みられている<sup>16)17)</sup>。一方、タキサン系抗癌剤のドセタキセル (DOC) は近年、頭頸部癌治療に頻用されているが、われわれは DOC を含有したリポソームが口腔悪性腫瘍のなかで発生頻度の高い扁平上皮癌治療に有効であるかを検討した。本実験では、扁平上皮癌 NR-S1 細胞を C3H/He マウスの大腿部に移植した

後、DOC を含有したリポソーム (L-DOC) を腹腔内に投与し、各種因子からその抗腫瘍効果を評価した。

### 1. DOC 群、L-DOC 群の血液内および腫瘍内濃度の経時的变化

各種抗癌剤の血中濃度は、Fig. 2 の結果から投与30分後には L-DOC 群に比較して DOC 群がわずかに高値を示すが、2時間後に L-DOC 群は DOC 群の約 1.5 倍に上昇し、その傾向は 12 時間後、24 時間後も変わらないことが明らかになった。Papahadjopoulos ら<sup>14)</sup> はこの理由を次のように説明している。すなわち、脂質表面にポリエチレングリコール (PEG) を付加することによって表面電荷を中性にし、オプソニン効果を抑制することができる。この結果、リポソームは網内系から回避されて吸収が抑制され、高い血中滞留性が確保される。本実験の L-DOC 群の血中濃度も同じ理由から高まったと推測される。

一方、腫瘍内濃度 Fig. 3 が示すように、投与2時間後までは DOC 群が高値を示すものの 12 時間後には逆転し、L-DOC 群が統計学的有意差を持って高値を示し、24 時間後も変化しない。すなわち、2 時間後の血中濃度は L-DOC 群が高いのに、同時間の腫瘍内濃度は DOC 群の方が高いことになる。この理由は次のように考えられる。すなわち、薬剤投与2時間後までは L-DOC 群に比較して分子量の小さい DOC 群が腫瘍組織の血管外へ移行しやすく、腫瘍内で高濃度を示すのであろう。ただし、DOC 群は投与2時間後にピークを迎え、その後順次下降するのに対して、L-DOC 群は 12 時間後にピークを迎えるが、24 時間後も DOC 群のピークよりも高値を保つ。すなわち、L-DOC 群は腫瘍内濃度と血中濃度の経時的变化に数時間のずれが生じている。この理由は、腫瘍局所に到達したリポソームの微粒子が血管外に移行しても、DOC 群に比較してリンパ系に回収されにくく、腫瘍組織内に停滞するからと考えられる。

### 2. DOC 群、L-DOC 群の主要臓器内濃度の経時的变化

Fig. 4A-D の結果より、心臓、脾臓、肝臓、腎臓の組織内薬物濃度は測定したすべての時間で、L-DOC 群が DOC 群より低値を示し、特に薬剤投与30分後の腎臓組織内濃度は統計学的に有意差を認めた。この結果から、L-DOC 群は DOC 群よりも血

管内から正常臓器に移行しにくい性質を有しており、さらに担癌マウスでは DOC が腫瘍に集積されることにより、その分主要組織への移行が少なくなったものと考えられる。したがって、L-DOC 群は DOC 群よりも主要臓器への副作用を抑制あるいは軽減することが示唆された。このことは、Caelyx を用いることによって、副作用が著しく軽減されるとする Gabizon<sup>15)</sup> らの報告と一致する。

### 3. DOC 群、L-DOC 群、対照群の腫瘍体積および腫瘍成長率の経時的变化

全測定日で L-DOC 群の腫瘍体積が最も小さく、移植 21 日後の腫瘍体積は対照群、DOC 群の約 1/2 であった (Fig. 5)。この結果からも、L-DOC 群では腫瘍増大傾向が著しく抑制されていることが明らかになった。一方、全測定期間内の腫瘍成長率は Fig. 6 で示すように L-DOC 群が最も低い、統計学的有意差は腫瘍移植後 7 日～10 日の期間のみに認められ、他の期間では各群の腫瘍成長率に大きな差は認められなかった。このことから、L-DOC 群は他の群に比較して薬剤投与より 3 日間は薬剤の抗腫瘍効果が継続するが、その後は体内から薬剤が排出されるため、DOC が減少し、その結果、各群の腫瘍成長率に大きな変化が生じないと考えられる。

### 4. 病理組織学的検査の検討

本実験では、Fig. 7、8 に示すように L-DOC による腫瘍細胞の壊死は DOC より強く、しかも広範囲に認められた。SCID (severe combine immuno-deficient) マウスの腹部にヒト乳癌細胞 (16 mg/kg) を皮下注射し、7 週後の腫瘍細胞を H-E 染色標本で観察した実験<sup>16)</sup> では、Taxol-liposome 群では核の膨化や染色性の低下など、変性した腫瘍細胞が数多く認められ、変性は Taxol (free drug) 群より強いと報告されている。さらに、リポソームに抗癌剤 Doxorubicin (DXR) を含有した薬剤 Caelyx をマウスの神経芽腫に使用した実験<sup>17)</sup> では、3 日目に腫瘍中心部に BM-1 染色陽性細胞が多く見られ、アポトーシス出現のピークを示したと述べている。L-DOC もこれらと同様に、高分子化合物のため長時間、血中に維持された後、腫瘍血管透過性の亢進によって腫瘍内へ放出され、蓄積される<sup>12)16)</sup> ために、高濃度の DOC が腫瘍内に長く留まり、腫瘍組織が著しく壊死されたのであろうと考えられた。

## 結 論

L-DOC は血中停滞性が高く、腫瘍組織内濃度が長時間、高く維持される。一方、心臓、脾臓、肝臓、腎臓組織内濃度は低いため、副作用の軽減が期待できる。すなわち、リポソームにドセタキセル (DOC) を含有することによって、同量の DOC 使用に比較して副作用を軽減しつつ、優れた腫瘍抑制効果が発揮されることが示唆された。

本研究の一部は東京医科大学がん研究事業団より授与された研究費によって行われた。

## 謝 辞

本研究に使用したドセタキセル含有リポソームは三重大学大学院工学研究科リポソームバイオ工学研究室吉村哲郎名誉教授に作製を依頼し、実験腫瘍 (NR-S1 細胞を有する C3H マウス) は放射線医科学研究所安藤興一先生より分与されたものである。稿を終えるにあたり、両先生に感謝の意を表します。

## 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 tumoritropics accumulation of proteins and the antitumor agent smancs. *Cancer Res* **46** : 6387-6392, 1986
- 3) Maeda H, Matsumura Y : Tumoritropic and lymphotropic principles macromolecular Drugs. *Critical reviews in therapeutic drug cancer system* **6** : 193-210, 1989
- 4) Dvorak HF, Nagy JA, Dvorak JT, Dvorak AM : 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, Yamamoto T, Konno T, Maeda H : kinin-generating cascade in advanced cancer patients and *in vitro* study. *Jpn J Cancer Res* **82** : 732-741, 1991
- 7) Maezawa S, Yoshimura T, Hong K, Düzgüneş N, Papahadjopoulos D : Mechanism of protein-induced membrane fusion : fusion of phospholipid vesicles by clathrin associated with its membrane binding and conformational change. *Biochemistry* **28** : 1422-1428, 1989
- 8) Papahadjopoulos D, Poste G, Vail W, Biedler J : Use of lipid vesicles as carriers to introduce actinomycin D into resistant tumor cells. *Cancer Res* **36** : 2988-2994, 1976
- 9) Bimanesh S, Rupak R, Pratima S, Durlav K : Effect of liposomal encapsulation of Cisplatin diamminodichloride in the treatment of Ehrlich ascites carcinoma. *Oncology* **40** : 372-376, 1983
- 10) Forssen E, Tokes Z : Improved therapeutic benefits of doxorubicin by entrapment in anionic liposomes. *Cancer Res* **43** : 546-550, 1983
- 11) 熊井浩一郎、高橋孝行、壺内泰二郎、鈴木啓一郎、平畑 忍、石井久弥、安部令彦 : 抗癌剤封入リポソームを利用したターゲット療法。臨床外科 **43** : 1755-1764, 1988
- 12) 矢口豊久、山内晶司、永田二郎、高木 弘、林 豊、大石誠子、八木國夫 : アドリマイシン包埋リポソームを使用した消化器癌のターゲッティング療法。日本臨床 **47** : 1369-1372, 1989
- 13) 谷藤公紀、鈴木和信、鈴木敬二 : Liposome 封入 Adriamycin 局所投与の実験的研究。東医大誌 **51** : 242-53, 1993
- 14) Papahadjopoulos D, Allen TM, Gabizon A, Mayhew E, Matthey K, Huang SK, Lee KD, Woodle MC, Lasic DD, Redemann C, Matrin FJ : Sterically stabilized liposomes : improvements in pharmacokinetics and antitumor therapeutic efficacy. *Proc Natl Acad Sci USA* **88** : 11460-11464, 1991
- 15) Gabizon A, Catahe R, Vziely B, Kaufman B, Safrat T, Cohen R, Martin F, Haung A, Barenholz Y : Prolonged circulation time and enhanced accumulation in malignant exudates of doxorubicin encapsulated in polyethylene-glycol coated liposomes. *Cancer Res* **15** : 987-992, 1994
- 16) 榑原 敬 : SCID マウスを用いたヒト乳癌モデルに対する Taxol-liposome に有用性について。日本外科系連合学会誌 **25** : 132-137, 2000
- 17) 田辺好英、伊藤伸一、長江逸郎 : マウス神経芽腫モデルに対する liposome 封入 doxorubicin (Caelyx) の治療効果。東医大誌 **58** : 481-493, 2000
- 18) 田辺好英、長江逸郎、野牛道晃、青木達哉、小柳泰久 : 神経芽腫と liposome 封入 doxorubicin (Caelyx) 治療。小児外科 **34** : 772-780, 2002

## Antitumor Effect of Docetaxel Encapsulated in Liposomes in Tumor-bearing Mice

Tamaki USHIDA, Takafumi SATOMI, Masako TSUZUKI,  
Masato WATANABE, Hiroshige CHIBA

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Tokyo Medical University

### Abstract

Docetaxel (DOC) is the second member of the taxane class of cytotoxic agents to be approved for clinical use. DOC, an antitumor alkaloid drug which stabilizes microtubules, demonstrates marked activity against head and neck squamous cell carcinoma. Targeted drug delivery and antitumor effects of DOC encapsulated in liposomes (L-DOC) were evaluated. NR-S1 mouse squamous cell carcinoma was transplanted to one leg each of 7-week-old C3H/He male mice. L-DOC or free DOC (DOC) was intraperitoneally injected in C3H/He mice which had been inoculated with NR-S1. We then performed an *in vivo* study of the antitumor effects and concentrations of DOC encapsulated liposomes. We compared the untreated control group, the DOC group, and the L-DOC groups in terms of the concentration in blood, tumor, and tissue (heart, spleen, liver, kidney), as well as the tumor volume. The results showed that the tumor volume was significantly lower ( $p < 0.05$ ) in the L-DOC group than in the DOC group. The concentration in blood was higher in the L-DOC group than in the DOC group. 2 hours after injection. The concentrations in tumor reached a peak at 12 hours in the L-DOC group ( $P < 0.05$ ), and remained higher than in the DOC group at 24 hours ( $P < 0.05$ ). The concentrations in the tissues studied were always lower in the DOC group than in the L-DOC group. L-DOC can be expected to increase drug concentrations in tumors and reduce the tumor growth rate.

---

〈Key words〉 : Liposome, Docetaxel, Drug delivery system

---