

1 **Table 1 Protective effect of canolol against DSS-induced colitis (at day 7)**

Group	Body weight (g) #	Liver weight (g)	Length of large bowel (cm) #	DAI ^a #
Normal	44.5 ± 3.5**	3.1 ± 0.7	16.6 ± 0.4**	0
DSS	39.7 ± 4.9	2.4 ± 0.6	10.0 ± 0.8	9.6 ± 0.3
DSS + 0.1% canolol	46.4 ± 2.4*	2.8 ± 0.5	12.8 ± 0.5*	5.2 ± 0.7**
DSS + 0.3% canolol	46.9 ± 3.3*	2.7 ± 0.5	13.3 ± 1.0**	3.7 ± 0.6**

2 Data are means ± SEM, *n* = 6–10.3 ^aSee text for details.4 *, *P* < 0.05, **, *P* < 0.01, versus the DSS group.5 #, *P* < 0.05 by one-way ANOVA.

6

1 **Table 2** Suppression of AOM/DSS-induced colon carcinogenesis by canolol (at 6 weeks)

Group	Body weight (g)	Liver weight (g)	Length of large bowel (cm) #	Incidence rate and multiplicity of tumors	
				Tumor incidence rate	Tumor multiplicity #
AOM/DSS	44.0 ± 3.3	2.0 ± 0.2	8.7 ± 0.6	100	10.8 ± 4.2
AOM/DSS + 0.1% canolol	44.6 ± 6.1	2.1 ± 0.1	10.9 ± 0.9*	60	5.3 ± 2.7*
AOM/DSS + 0.3% canolol	44.7 ± 1.9	2.0 ± 0.1	10.7 ± 0.3*	57	5.6 ± 2.7*
Normal	48.0 ± 4.7	2.5 ± 0.4	13.0 ± 0.9**	0	0

2 Data are means ± SEM, $n = 10-20$.3 *, $P < 0.05$, versus the DSS group.4 #, $P < 0.05$ by one-way ANOVA.

5

1 **Table 3** Change in RBC, WBC, hemoglobin, and plasma liver enzyme levels and kidney
 2 **function after feeding canolol (0.3% for 6 weeks) treatment of ICR mice¹**

	RBC ($10^4/\mu\text{l}$)	WBC ($10^2/\mu\text{l}$)	Hb (g/dL)		
Normal	992.2 \pm 35.9	30.4 \pm 4.2	16.0 \pm 0.6		
Canolol ²	953.0 \pm 20.2	28.8 \pm 1.9	15.1 \pm 0.4		

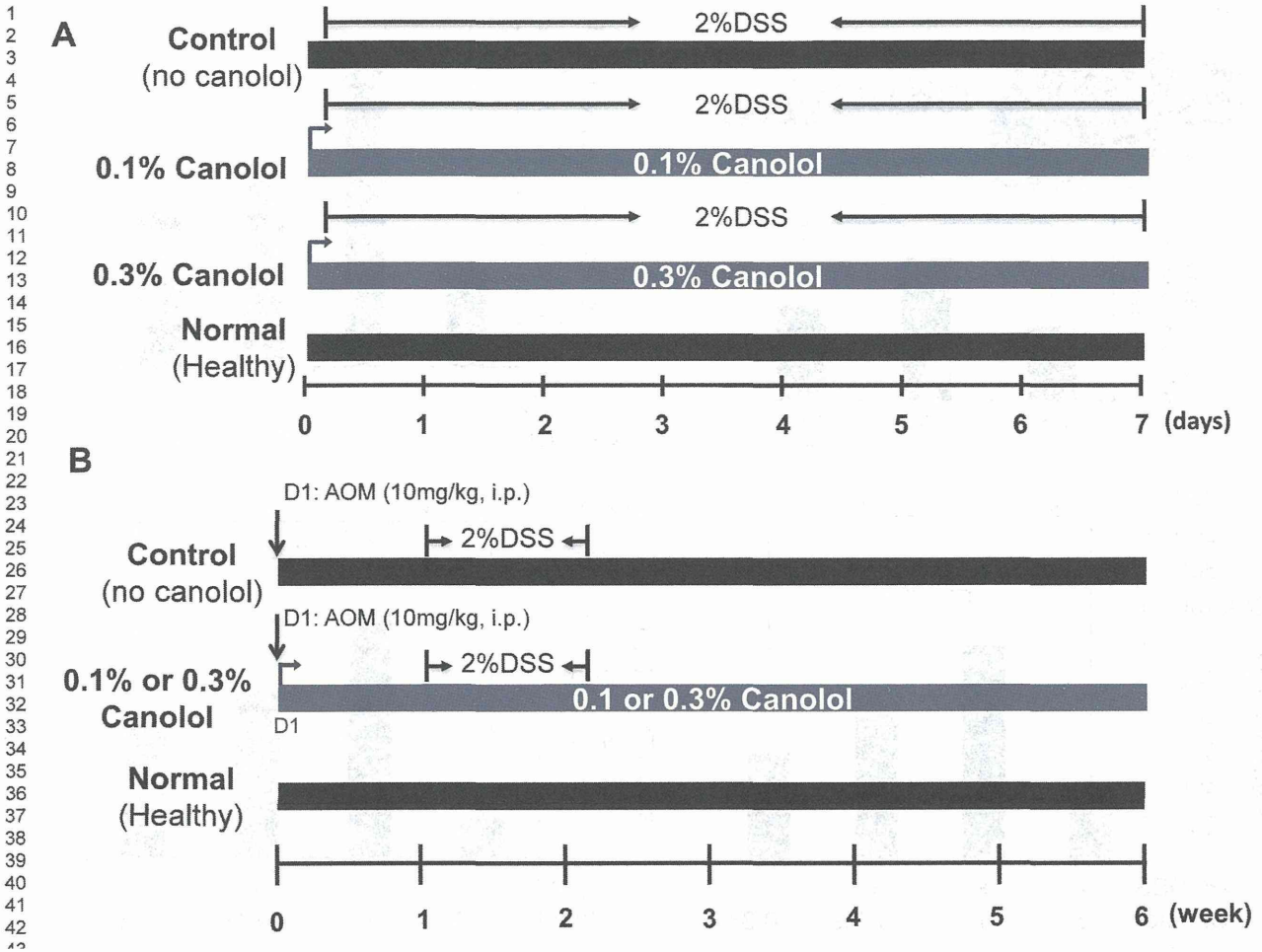
	BUN (mg/dL)	Cr (mg/dL)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	LDH (IU/IL)
Normal	20.7 \pm 0.8	0.15 \pm 0.02	67.3 \pm 2.8	28.4 \pm 2.2	1383.0 \pm 54.7
Canolol ²	21.5 \pm 1.3	0.13 \pm 0.01	65.1 \pm 4.5	37.6 \pm 4.2	1036.4 \pm 149.3

3
 4 ¹ No significant difference was found between canolol feeding mice and normal mice in all
 5 selected indices. Values are presented as means \pm SE, n = 5-8.

6 ² Canolol was administered at 0.3% (w/w) in diet. Assays were carried out at 6 weeks after
 7 feeding canolol.

8 Abbreviations used are: Hb, hemoglobin; BUN, blood urea nitrogen; Cr, creatinine; AST,
 9 aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; LDH, lactate dehydrogenase.

Fig. 1



Page 37 of 43
Fig. 2

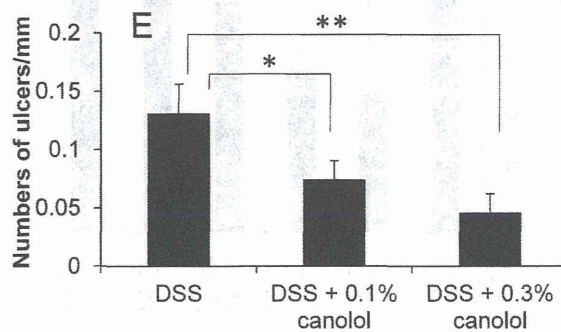
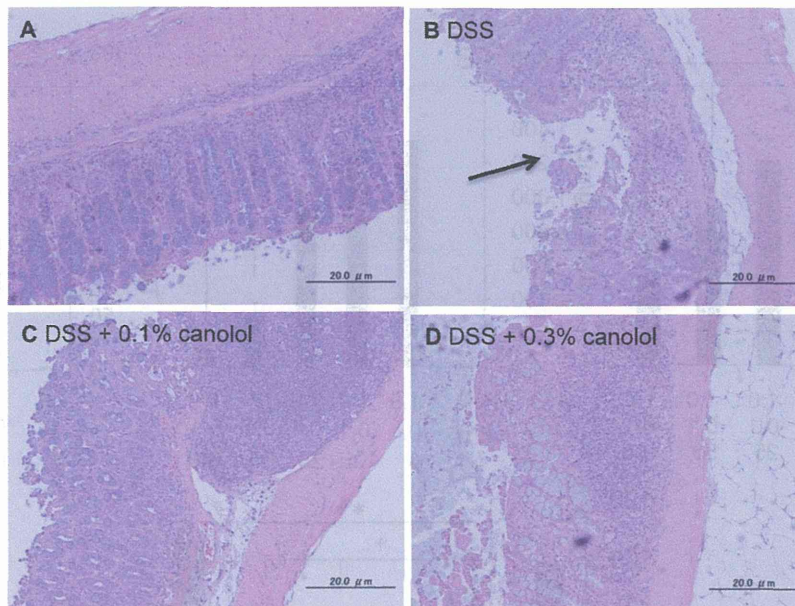
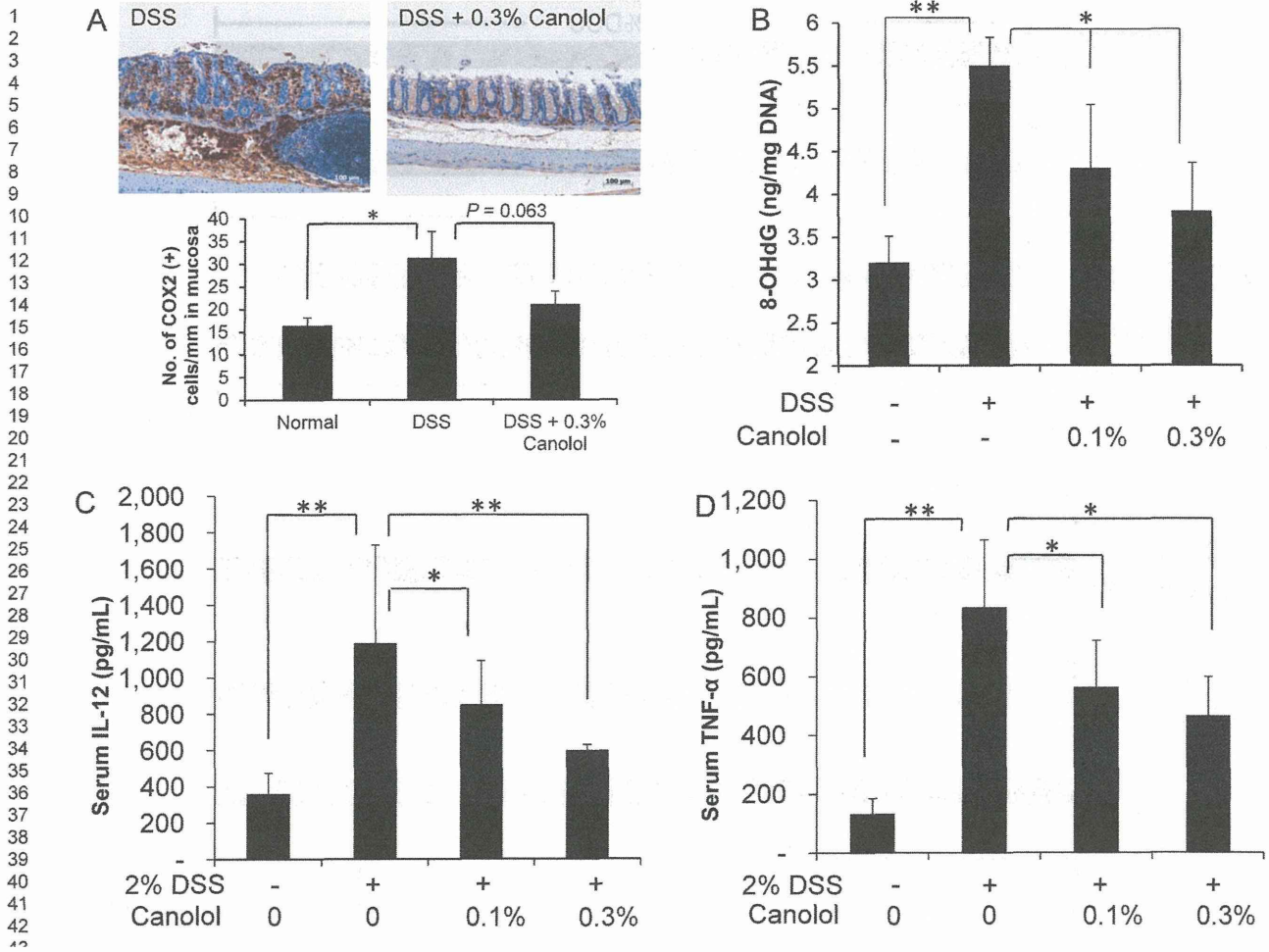


Fig. 3



Page 39 of 43
Fig. 4

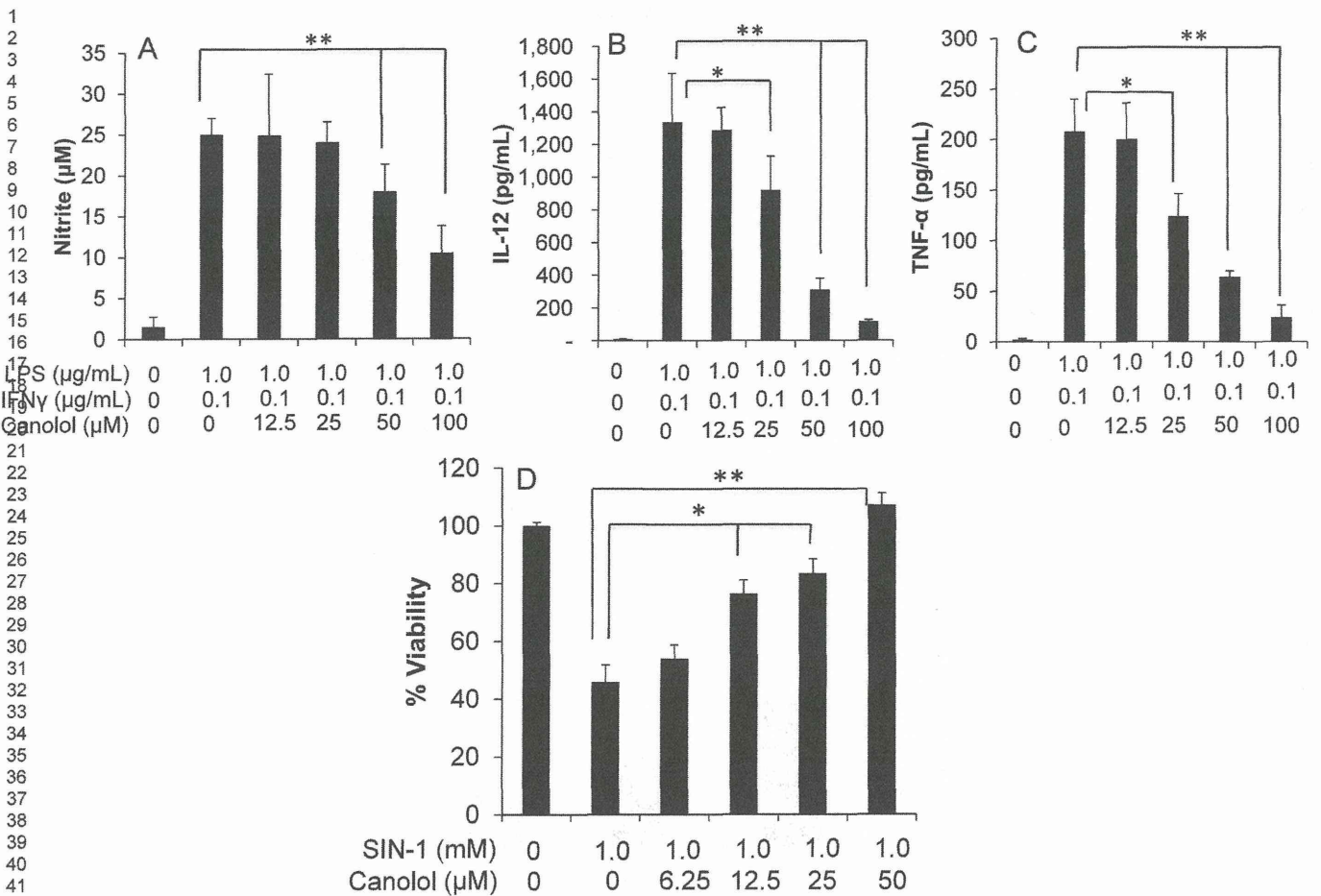


Fig. 5

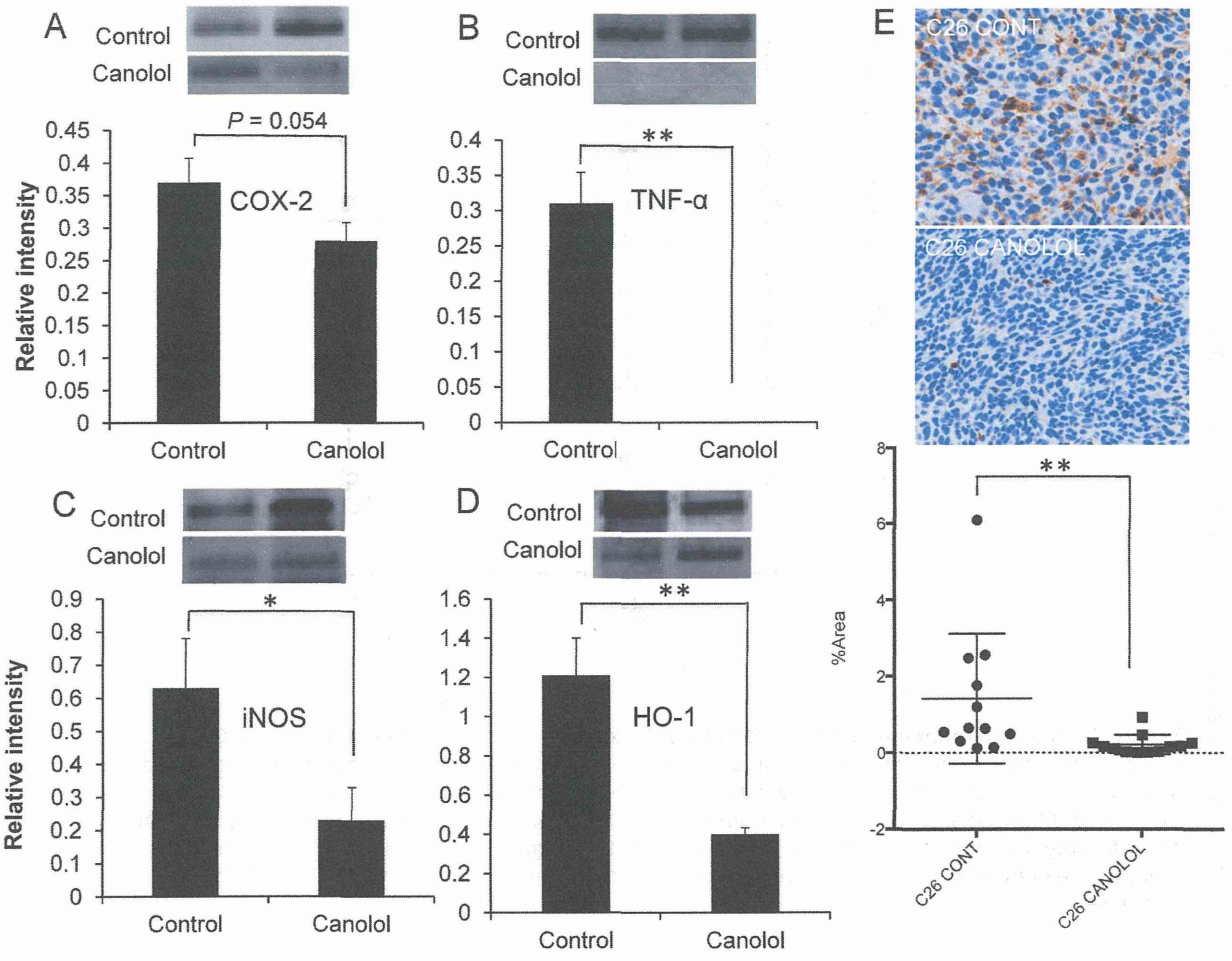


Fig. S1

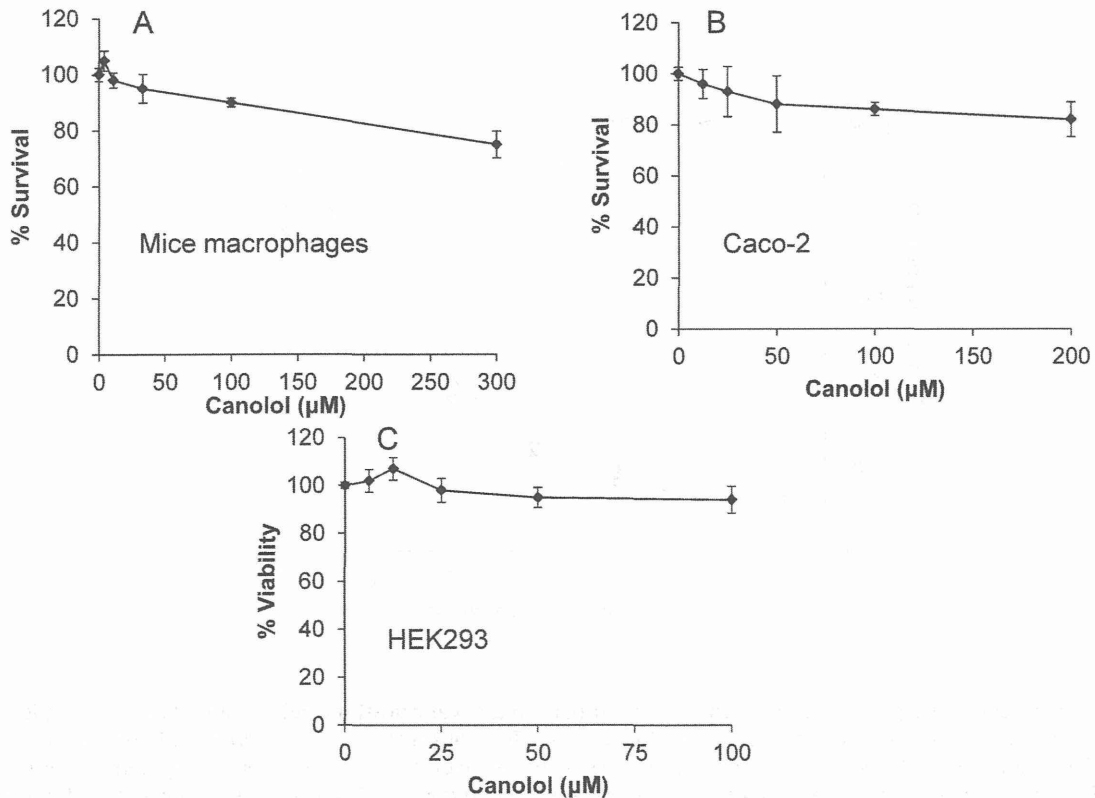


Fig. S1. Cytotoxicity of Canolol on mice macrophages (A), human colon cancer Caco-2 cells (B), and human embryonic kidney cells HEK293 (C). 3,000 cells/well were plated in a 96-well plate. After overnight preincubation, Canolol at indicated concentrations was added to the cells. After an additional 48 hours of incubation, cell viability was determined by using the MTT assay. Data are means \pm SEM ($n = 6-8$). *, $P < 0.05$, **, $P < 0.01$. See text for details.

Fig. S2

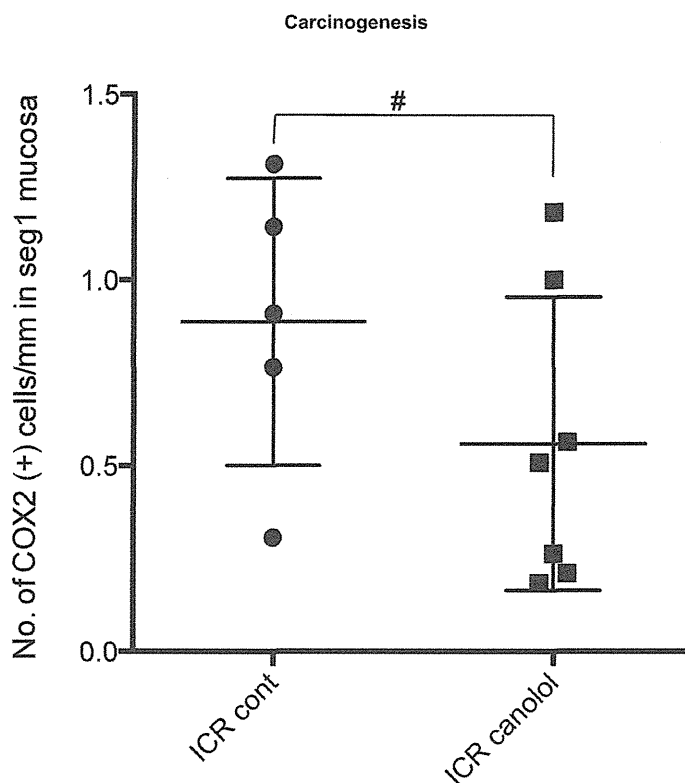


Fig. S2. Immunohistochemical analysis of COX-2 expression in the colon mucosa of AOM/DSS treated ICR mice fed diet with or without canolol. Expression of COX-2 in colon mucosa upon different treatments was detected immunohistochemically, using a rabbit anti-mouse COX-2 polyclonal antibody (diluted 1:500, Cayman Chemical, Ann Arbor, MI). To quantitate the degree of staining, numbers of COX-2 positive cells were counted in a distal quarter of colon mucosa (since this region is target of AOM/DSS) and divided by the length of the evaluated colon specimens to compare each sample equally. The numbers of COX-2 positive cells are illustrated in unit length (mm). #, $P = 0.202$ by Mann Whitney test. See text for details.

Fig. S3

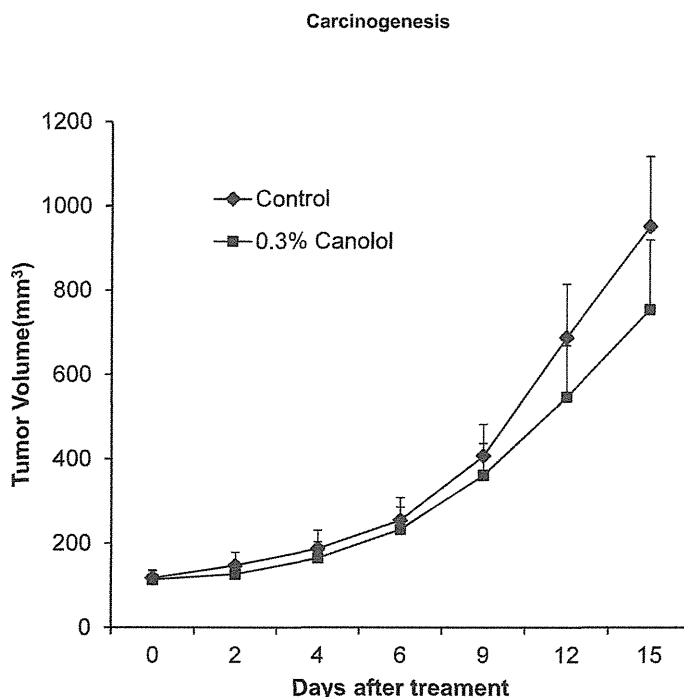


Fig. S3. Effect of canolol against a mouse colon cancer (Colon 26) xenograft model. Cultured Colon 26 cells (2×10^6) were implanted subcutaneously in the dorsal skin of Balb/c mice. Ten days after tumor inoculation, when tumor reached a diameter of 5-6 mm, canolol (dissolved in corn oil) was orally administration at the dose of 100 mg/kg, corn oil without canolol was used for control mice. Administration was carried out every second day, totally for 3 times. Growth of the tumors was monitored every 2-3 days by measuring tumor volume with a digital caliper, which was estimated by measuring longitudinal cross section (L) and transverse section (W) according to the formula $V = (L \times W^2)/2$. Data are means \pm SEM ($n = 8$). See text for details.

癌治療におけるナノテクノロジー

ジェニファー H. グロスマン

スコット E. マクニール

(訳者 前田 浩)

腫瘍血管の微細構築はこれまでほとんど未開拓の分野であり、それが癌研究の弱点であった。ナノマテリアルの登場によって正常組織に傷害を与えることなく癌治療の道が開けつつある。本稿では、腫瘍の弱点は、腫瘍(細胞)そのもののもつ弱点ではなくて、腫瘍に栄養を補給している腫瘍の血管そのものにある点であり、その問題に関連付けて論じるものである。

癌は生物の生まれながらの宿命的病気であり、生命現象の象徴でもある。また、癌は細胞複製の制御が逸脱した状態である。歴史的に癌治療において外科手術は有効であるが、化学的手法(いわゆる化学療法)は最も効果的な方法の一つである。しかし、細胞に毒性のある化学物質を用いるこの手法は癌細胞と同時に健全な正常細胞も殺してしまう。従って、このような化学療法剤を用いるかぎり、正常細胞には無毒で癌細胞のみを選択的に殺すことは至難の業である。それがもしできるとしてもほんの短時間のみで例外的な場合である。一方、癌細胞の増殖速度は大変早く、また、同時に薬剤耐性の能力をいち早く獲得することも癌治療が困難な理由である。

ナノサイズ分子の新薬の出現によって、研究者の対癌作戦の範囲は今や物理学的な問題として、例えば物質輸送や流体力学的手法を用いて挑戦できるようになっている。これらのナノマテリアル型の薬剤(ナノメディシン)を開発することにより癌研究者はいくつかの成功をみつつあるとはいえ、同時に一連の物理学上の問題を提起している。

[著者]

- a) ジェニファー・グロスマン氏は米国メリーランド州フレデリック市にある国立がん研究所(フレドリック)ナノテクノロジー評価研究室(NCL)およびワシントンD.C.にあるアメリカン大学の物理学特任教授である。
- b) スコット・マクニール氏は同上のナノテクノロジー評価研究室(NCL/NCI)のディレクター(室長)である。

[訳者]

- c) 前田 浩、崇城大学 DDS 研究所特任教授/熊本大学名誉教授

ナノメディシンの原理・原則

腫瘍形成のごく初期においては、腫瘍固有の血管はなく、腫瘍は酸素や栄養素を周辺の正常組織の血管から摂取している。その腫瘍細胞が増殖し、腫瘍（塊）となると、その腫瘍塊の周辺部の腫瘍細胞は、その中心部の腫瘍細胞よりもより多く栄養を摂取できるので、増殖は盛んである。一方、腫瘍の中心部の細胞は栄養が乏しく、また酸素も欠乏状態になっており、低酸素下にある旨のシグナル蛋白質を放出する。その蛋白質は正常組織の血管まで拡散により到達し、それによってそこから新しい引き込み線の血管（訳注：新生血管＝腫瘍血管）の新生を促し、酸素や諸々の栄養の供給を促進し、旺盛な腫瘍細胞全体の増殖を保持している。

上述のように血管新生、つまり新生血管の成長（増殖）は固型癌の特徴の最たるものであり、これによって癌に栄養を供給し、旺盛な増殖を支える。その血管は正常血管のような規則性はなく、不規則で粗雑であり、血管壁を形成する血管内皮細胞間の間隙が大きく、漏出しやすい。この血管内皮細胞間の間隙の大きさは、その腫瘍組織の種類やステージ（進行度）によって異なるが、一般に数百 nm から 3~4 μm までであるといわれている²⁾。これに対して、正常の血管の内皮細胞間の間隙のサイズはわずか 2~6 nm である。従って、直径 10~300 nm のナノ粒子のサイズは腫瘍に栄養を供給する新生血管の内腔側から漏出するのに好都合な間隙であるが、ここで重要なのは正常の血管では、このサイズのナノ粒子の薬物（抗癌剤）は透過・漏出しないことである。従って、ナノ粒子型薬物による正常組織に対する傷害はない。このように原理的にはこのようなナノ粒子を化学療法剤として用いれば、癌に対して選択的に薬物を送達できるが、正常の細胞に対しては毒が届かないので、傷害（副作用）がない。図1にこのことを示している。

事実、ナノ粒子は選択的に癌組織に純物理的理由により集積する。この現象は癌組織における EPR 効果（enhanced permeability and retention effect—高分子の血管透過性亢進と滞留性）と呼ばれている³⁾ [訳者コメント参照]。図2に、ナノ粒子ではない低分子性の酸化鉄を静脈注射し、マウス大腿背部に移植した腫瘍における動きを観察した様子を示している。即ち、この薬剤の腫瘍内部への移動の様子（漏出）を45分間にわたって、追跡、可視化したものである。それによれば、低分子の薬物はそれが癌の中心部に到達する頃には、腫瘍周辺からは拡散により消失している。これに対し、図3に示すように、そのマウスに酸化鉄のナノ粒子を注射すると、今度はそれとは異なり、時間の経過につれて EPR 効果により腫瘍全体に集積するのがみられる。投与24時間後でもナノ粒子の腫瘍への集積はまだ増加が続いている [訳者コメント参照]。

ナノ粒子の薬剤の使用にあたって一つ困ったことがある。動物には本来、生体防衛のための免疫系が存在する。ウイルス（や細菌）のような外来性の微粒子体は、白血球の一種、マクロファージ（単核貪食細胞系システム MPS）によって血中から急速に捕捉除去されてしまう。これは外来性の感染性病原体に対する正常の生体防御の大切な反応の一つである。その結果、静脈内に投与されたナノ粒子はこの MPS 系細胞により除去され、さら

に MPS により肝臓や脾臓に運ばれるため、目的の癌組織には集まらないことが多い。

EPR 効果を発現しつつ、癌治療を行うためにはナノ粒子はサイズの大きさ（訳注：分子量では約 5 万以上）以外に、表面の性質を考慮しなければならない。表面の特性はナノレベルの粒子では表面積/体積比が大きいいため、特に重要となる。ナノ粒子を考えるにあたって、次の基本的な二つの要素に限って考えてみると便利である。即ち、環境に接触しないナノ粒子の中心部と、環境に接するその表面層部である。

全ての細胞の表面にある細胞膜は殆んど陰性荷電を有しており、従って細胞に対して表面が陽性荷電をもつナノ粒子は細胞に吸着して内容物（薬剤）を細胞内へとり込みやすいといえるが、癌細胞に到達する前に正常組織の細胞に吸着するかもしれない（訳注：即ち、静脈注射により血中に入り、血液循環の途中の血管内皮細胞などに吸着してしまうため、静脈内投与後すぐに血中から消失し、腫瘍部までに到達しない）。そのため、研究者は一般に中性のポリエチレングリコール（PEG）で被覆（コーティング）し、ステルス化することにより、細胞との相互作用を抑えるとともに MPS による捕捉から回避することが可能になる。その結果、血液の循環中の滞留性が高くなり、EPR 効果により、標的腫瘍により多く集まるようになる。PEG 鎖の長さとその被覆密度を上げることによって標的腫瘍へより到達性を上げることができる [訳者コメント参照]。

ナノメディシン製剤の腫瘍標的へのデリバリー（送達）は腫瘍細胞に至るまでのいくつかの物理的な障壁があり複雑なものである。多くの癌組織では癌細胞を取り巻き、保護している癌間質といわれる組織に囲まれている。この癌の間質には、線維芽細胞、内皮細胞および免疫系細胞、血管周皮細胞、分泌された増殖因子（蛋白）などに加えて、細胞外のマトリックス物質（コラーゲン）等が存在する。ある腫瘍では細胞外の高密度に相互架橋したコラーゲン線維で繋がっており、これがナノ製剤その他の薬剤の浸透性の障害にもなっている。例えば、膵臓のように間質が強固で密な場合は薬剤がほとんど入っていない。そのような癌をもつ患者にとっては化学療法を行っても数ヶ月以上の生存は困難である [訳者コメント参照]。

もう一つの癌への薬剤の到達性に対する物理的障壁は腫瘍中心部における高い水圧（浸透圧）である。この圧力（訳注：浮腫状態）の高まりが脈管系を圧迫し、固型腫瘍におけるリンパ系回収システムの機能が抑えられる。中心部の圧は周辺部の圧より高く、大きい腫瘍ではその差が特に大きい。従って、主たる物質の動きは拡散によることとなり、ナノ粒子では限られたことになる。

近年、抗癌剤の腫瘍へのデリバリーの研究は盛んであるが、その方向の一つは物質輸送の腫瘍物理学ともいえるものである。そこでは、物質輸送の物理的障壁の諸特性ならびに時間的動力学の二つの要因を問題にしている⁵⁾。ハーバード大学医学部（マサチューセッツ総合病院）のラキャシュ・ジュイン教授はこの基本的問題を研究している一人である。彼によると、このような腫瘍組織内の障壁はナノメディシンの到達性を減弱し、問題であるというのは、周辺部へは EPR 効果により効率よく浸透するものの、腫瘍の中心部へは到

達できないからであるという⁶⁾。薬物が充分量到達できないと腫瘍は殺されずに残存するのみならず、薬剤耐性を獲得する。(訳注：これは細菌の抗生物質に対する耐性獲得と同じことである。つまり、低用量の抗生剤は耐性菌を誘導することがよく知られている。) しながら、デリバリーの障壁に対しては対策が考えられている。抗血管増殖因子の処理によって腫瘍中心部の圧力を下げ、それによって制癌剤のデリバリーを高めることができるという [訳者コメント参照]。

もう一つの方策としては、ナノ粒子の設計にあたっては粒子内に包含される薬物を外部からの刺激で放出すべく設計することである。例えば、光照射、超音波、熱、電磁場、さらにはそれが腫瘍の中心部の酸性 pH に接遇したときなどの環境要因に対する pH 応答性を応用することである。ひとたび粒子に内包している低分子薬剤が粒子から放出されると、自由拡散によって腫瘍内へ拡散到達するため、この問題は解決される。これに関連して、多段階型ナノ粒子というのも考えられている。それはナノ粒子で EPR 効果により腫瘍に到達させ、さらに小型粒子 (分子) を解離することにより腫瘍のより深部へ到達し、腫瘍細胞に吸着・侵入させようというのである。

現在、臨床治験が行われているナノ粒子型製剤としては 82 件あり、その多くは既知の低分子性の化学療法剤をナノキャリアーに包含したものである。その他のものとしては放射線療法の効果増強剤、試験管内レベルでの診断薬、あるいは温熱療法や温熱剥離療法に用いるナノ粒子である。

成功例

上記のナノ製剤化の技術の有効性は実証されつつあり、二つの例として通常の化学療法剤のドラッグデリバリー型 (DDS) 製剤化 (再製剤化) 薬剤を示す。即ち、アブラキサソン®とドキシル®で両剤は米国 FDA (食品・医薬品安全局) により承認され、患者に用いられている。図 4a に示したアブラキサソンは水に難溶性の強力な制癌剤であるパクリタキセルを血清蛋白質のアルブミンに結合したものである。その原体の薬剤のタキソールはナノテク製剤ではないが、毒性のあるヒマシ油に溶かした製剤であり問題である。それに比べ、アブラキサソンはより有効性が高く、毒性も少ない。図 4b に示すドキシル®は制癌剤含有のナノサイズのリポソーム製剤である。そのもとの原薬のドキシソルピシンは、その類縁化合物 (ピラルピシン、アクリラルピシンなど) と同様、心筋への毒性ひいては心臓毒性が知られているが、ナノ粒子 (リポソーム) 化したドキシルにすることにより、心臓への蓄積もなく、より有効性があることがわかったが、こちらは皮膚への蓄積が生じ、皮膚傷害が出現することが問題になっている。何れにしろ化学療法剤を用いる限りは何らかの副作用は不可避である。皮膚傷害の方が心臓毒性よりましということである。

以上にあげた化学療法剤の細胞毒性に基づく作用以外の作用機構をもつ多くのナノメディシンが開発されている。例えば、図 4c に示す AuroShell® (オーロシェル) は金ナノ粒子でこれも EPR 効果に基づき腫瘍局所に集積する。これが腫瘍部に集積したところで、近赤外線を照射すると、金ナノ粒子が加熱され、その熱によって腫瘍とその血管を破壊する

が、ナノ粒子の蓄積のない正常の健全組織に影響はない。オーロシエルは現在、頭頸部腫瘍に対する第一相試験が進行中である。

次世代型薬剤への新たな挑戦

当然のことながら、ナノ粒子の製剤化も限界がない訳ではない。いわゆるナノメディシンを大量に製造するにあたって、高度の品質管理と再現性が大きな障害になりうる。多くの研究室では試験管内の実験成果の理論的裏付けをミリグラムのスケールでできるとしても、キログラムスケールとなるとそれなりの経済的な製造コストの問題に加え、大規模バッチの製造下での、全く同一の品質を担保することの問題は大きな課題である。

さらに、ナノ粒子は数百、さらには数千の原子を含んでいる。化学構造のはっきり決まっている低分子と異なり、ナノ粒子においてはいかに高純度のものであっても、原子の数と配列は一定していないということである。その変動は図5にあるように明らかである。すべてのナノメディシンの材料（多くの場合ポリマー）を用いるため、その特徴としてサイズと形において広い分散性を常に示すことである。その結果としていえることは、ナノメディシンの性状は絶対的な一定の数値ではなくて、許容可能な範囲の値として決めなければならない。例えば、腫瘍マーカー分子を標的とするある素子を含むナノメディシンの剤型設定において、ナノ粒子1個あたり、この標的マーカー素子の結合数は5~20個の範囲で機能をもたせている。

ナノメディシンの製造にあたっては充分かつ細心の制御された状況下で製造されることはいうまでもないが、バッチごとのばらつきは困るわけで、十分に性状を明らかにせねばならない。つまり、臨床応用に入る前には、ナノ粒子のサイズ、形状、表面の化学特性、凝集状態/凝集塊などを明らかにすべきである。ナノメディシンの性状はしばしば試料の多分散性にあるため、より複雑になるのである。従って、同じ性状の測定も複数の方法によって確認せねばならない。例えばサイズについていえば、電子顕微鏡（訳注：と光散乱法）などを用いることにより詳細な理解が得られる。最近の米国FDAの規制概要書では、ナノメディシンのいくつかの製造上の性状を決めるにあたってのいくつかの問題点を提示している。

ナノテクノロジーによる癌治療の臨床展開を支援促進するため、米国国立癌研究所のナノテクノロジー評価研究部門（Nanotechnology Characterization Laboratory, NCL）はナノテク関連の癌治療法の研究開発や、その理論的実証的研究に対する支援を行い、また同時にナノメディシンの物理化学的性状、安全性および毒性について試験管内並びに動物の系での実験的評価・検証も行っている。勿論、FDAとNIST（米国国立標準技術研究所）とも密接な協力のもと、ナノマテリアルに関連する医薬の有効性の評価を行っている。またナノテクノロジーに関する各種方法論の情報をナノテク研究者や癌研究者に周知させることも行っている。これまでにNCLでは臨床応用をめざした250種以上のナノ粒子の評価を行っている。

ある実証的研究によればナノメディシンの性状についての解析と評価が重要であることを物語っている。例えば、ある会社で作成された癌治療を目的としたポリマー被覆型金ナノ粒子を米国国立癌研究所 (NCI) で、動物での安全性の検討を行った。即ち、その粒子の一般毒性をみるために助手がラットに静脈投与したところ、肺臓に予期せぬ出血病変を呈した。このものはもとの製造会社でラットに投与したときは何ら病変を起こさなかったものである。そこで、担当の NCI の助手はもう一度、新しく合成したバッチを用いて詳しく再検討したところ、何ら病変を生じなかったという。そこでこの二つのバッチのサンプルを用いて詳しく検討したところ、両者間に何ら違いは見出されなかった。両者は全く同じ工程と手法で合成されており、両者のサイズも表面の荷電レベルも同じであり、電子顕微鏡による観察でも同じであった。そこで別の技師はこれらナノ粒子の表面の被覆状況を検討したところ、新鮮なバッチの方が古いバッチよりも表面のポリマーの密度が高いことがわかった。また、古い方のバッチのナノ粒子はより長時間的にわたり、イオンにさらされていたようで、その結果生じたわずかな表面のポリマー密度の差が *in vivo* においては大きな差となって現れるという訳で、究極的には一方は実質的には安全であるが、もう一方はそうでないということになる。(訳注：全く同じものでも静脈注射の速さ、即ち、ゆっくりと点滴した場合とワンショットの急速注入の場合とでは異なる。後者のほうが血栓形成とか、ショックなどの可能性が高くなる。さらにマウスやラットの種類や系統が異なっても毒性が違うことがある。)

価格

新技術は必ずしも安くつくとは限らない。現在のところナノメディシンも例外ではない。FDA が認可している二つの抗癌性のナノメディシン、アブラキサンとドキシル製剤はもとの低分子型薬剤よりもはるかに高額である。アブラキサンとドキシルの夫々の一回の投与量の金額は夫々 5000 ドル (2009 年 邦価 約 40 万円) である。一方、低分子薬剤のタキソールではそれが 500 ドル (約 4 万円) であり、ドキシルに内包されているもとのドキシルピシンでは 200 ドル (約 1 万 6 千円) 以下である。価格が高い理由としては、ナノ粒子薬の生体内での優位性のためであるという。つまり、ナノメディシンの方がより毒性が低く、正常の臓器、組織に障害を与えない。その結果、患者の QOL (Quality of life—生活の質) は低分子性のもとの薬よりはるかによいことである。とはいえ、これらのナノテク型新薬も追跡調査でわかったことは相対生存率の延長はわずかであることである⁹⁻¹²⁾。従って、ナノテク型制癌剤がこのように在来型に比べ一桁も高い価格帯であるとする、10 倍以上延命をもたらさない限り困ったことである。(訳注：英国では国立医療評価研究所、NICE [National Institute for Clinical Excellence] は、治療中、さらに治療の後も、その患者の QOL がよい状態で一年の延命をもたらす薬剤の妥当な価格帯として邦価 約 400 万円を目途とし、それより高いものは国の健康保険による支払いをすべきでないとしている。一方、我が国はほぼ放任状態である。)

しかしながら、ナノテクノロジーには特許切れの薬剤をナノテク化した DDS 製剤とし

て改良することによって開発のコストを相当下げることが可能になると考えられる。一般に新薬は発見から、基礎研究、前臨床試験などの研究開発を経て、最終的にはヒトの臨床での有用性、有害性の評価ののち、市場に供給するまでには、その経費は約 1000 億円を要するといわれている。その出費のかなりは開発中止になった数多くの薬の分も含まれるからであるが、臨床治験に進んでからでも、5 種の候補薬のうち、毒性その他の好ましさからざる作用のために最後まで残り、成功するのは 1 つだけである。従って、開発中止になった候補新薬にかかった経費は生き残った新薬に上乘せされ、市場に出た時の価格を押し上げることになる。(訳注：その薬価については、日本では製薬会社と厚労省のネゴシエーションで決まるが、高額治療になると公費で支払うことになるので、本人負担は軽いものである。国庫による医療費は H.24 に 37.4 兆円である。)

製薬会社にとってナノテクノロジー（日本ではドラッグデリバリーシステム (DDS) 型製剤）は、在来は見捨てられていた薬剤も新薬の候補として、利用価値のあるものに変換する機会を与えてくれる。このことはシード化合物発見のコスト削減の立場からも重要な切り札になる。ナノテク化した DDS 製剤によって在来の低分子薬剤にみられる好ましさからざる性状を抑えることが可能となり、薬物の体内での動力学的改善とターゲティング能の向上の立場からも、より好ましい性状を付与することが可能になる。また、ナノ粒子薬剤はキャリアーとして用いる素材により水難溶性の各種の薬剤の溶解度を向上させることができ、多くの化合物に応用可能となる。また EPR 効果による腫瘍標的性や徐放性を付与できるので、開発中止になった薬を再び生き返らせることができる。

そのような例として、1980~90 年代に臨床治験が試みられた蛋白質性製剤の腫瘍壊死因子 (TNF) がある。TNF はもともと、強力な化学療法剤の候補であったが、強力な副作用のため開発中止になったものである。現在、オーリムューン (Aurimune®) として再登場し、展開が期待されている。図 4d に示すようなオーリムューンはナノサイズの金粒子の表面に TNF をまぶしたものである。その臨床第一相試験が最近、行われたが、その結果は、在来の投与量の 3 倍量でも副作用なしで、静脈内投与が可能になっている¹³⁾。

安全性と環境への配慮

癌治療以外にナノ粒子を応用することは大変興味あるところであるが、同じ材料がヒトの健康や環境に思わぬ影響がでることがある。多くのナノ材料の急性毒性は一般に低いものであるが¹⁴⁾、その慢性毒性の立場からの評価は多くの研究論文をみても必ずしも満足されるレベルにあるとはいえない(訳注：しかしながら、PEG などについては膨大な研究がある)。

ナノテクノロジーに関する慢性的な健康被害の研究としてはカーボンナノチューブおよびカーボンナノ材料が大半である。例えば、マウスの腹腔内に投与したカーボンナノチューブは、アスベストで生ずる中皮腫と同様の疾患を引き起こすという¹⁵⁾。しかしながら、最近の別の研究所は、ナノチューブとフラーレンの毒性は低く¹⁶⁾、また化学修飾により毒

性は減らせるという。(訳注：何れにしるこのように生体内で分解されず、長期に残留する物質は要注意である)。たとえばナノチューブの吸入によって奇病が生ずるとしても、その毒性はナノ材料自体というよりも、そのもつ特殊な構造、例えば繊維状構造をとっているために生ずる固有の現象なのかどうかは不明である^{17), 18)}。

ナノ材料の健康と安全性についてのリスク評価はいくつかの要因によって複雑なものになっている。例えば同じナノ材料でも、異なった会社由来のものは必ずしも同一の性状を示さないことがあり、また経時的に変質することがある。例えば空気中のナノ粒子は急速に凝集し、沈降速度や肺内の沈着が変わってくる。最も重要なことは、リスクと有害性評価に対して、十分な解析がなされていないナノ材料では、その有害性がナノ材料のどの特性によって生じているか明らかでないことである。有害性評価における混乱要因の一つは例えばナノ粒子の可溶化や、凝集防止に用いられている界面活性剤のような分散剤の使用である。これはつまり、分散剤それ自体が、毒性があることがあるので、ナノ材料の暴露実験だけではわからないかもしれない。

ナノ材料の製造過程であれ、使用に際してであれ、その毒性、健康への悪影響はそれが現実のものか、あるいは予測されたレベルのものかは別として、ナノテクノロジーが癌治療、あるいはそれ以外の用途に際して、社会にもたらす有害性と利益とのバランスを考慮して判断すべきであろう。

謝辞

癌の生物学に関する有益な検討をいただいたパヴァン アジセサイア博士 (Pavan Adiseshaiyah) に感謝する。本研究課題は国立癌研究所 (NCI/NIH) の助成金による。本論文の内容は健康保健省 (Department of Health & Human Service) の見解あるいは方針を示すものではない。また、とり上げた商品名、製品あるいは企業は米国政府の承認を意味するものではない。

[訳者コメント]

著者らはナノ粒子からみた癌治療作戦を物質論の立場から概観している。当訳者は EPR 効果の発見¹⁾に続き、それに関する担癌生体における宿主側の EPR 効果をもたらす生化学的薬理学的メディエーター (内因性因子) の多くを明らかにした。例えば、そのメディエーターとしてはブラジキニン、NO (一酸化窒素)、プロスタグランジン、一酸化炭素 (CO) などである^{2), 3)}。その場合、生体由来のメディエーターの薬理的応答により、物質移動のダイナミズムが多様に変化することに注目している。即ち、それらのメディエーターは腫瘍と炎症部で特異的に産生が高くなっているためである。その結果として腫瘍血管の透過性 (その血管外腔への漏出性) が亢進し、血管の直径や血管内皮細胞間の間隙は拡張している^{2), 3)}。この知見に基づき当訳者らは様々なメディエーターの投与によって、ナ

ノメディシンのデリバリーを腫瘍部選択的に顕著に増強することが可能になることを証明した。さらにその操作により人為的に血圧を上げるなどにより、ナノメディシンの癌部より深部への到達性を増強できることも明らかにし、臨床応用を行っている⁴⁾。

腫瘍局所でこれらの生成を人為的に高める物質、例えばニトログリセリン、降圧剤のACEインヒビター（エナラプリル®など）、高分子化ヘミンなど、さらにアンジオテンシンの超微量の静脈内注入によって全身血圧を上げるなどの操作によりナノ粒子の腫瘍へのデリバリーを2~3倍上げることができ、その結果、抗腫瘍効果も上昇すると同時に副作用も抑えられる^{2,3)}。上記の血圧を上げた（例えば110→150mmHgに）状態では、腫瘍血管選択的に薬物の漏出・浸透性が大きく上がり、難治性の高度進行癌にも有効になるとの報告をしている⁴⁾。このような手法はナノメディシンを使ったときのみ顕著である。

EPR効果は生体親和性のある高分子化（>分子量4万）薬剤でみられるが、そのうちのポリエチレングリコール（PEG）の結合物はよく用いられる。PEGで被覆された粒子は血中半減期は延び、EPR効果で腫瘍局所に集積するが、次のステップとしてその局所の癌細胞内への取り込みが抑制されてしまう。そのことがPEG化薬剤のジレンマといえる。（文献5）、6）参照）

また別の事例として、高分子化ナノメディシン（ポリマー）と腫瘍標的素子分子を結合した場合、その結合数が多くなるに従って生体親和性が低下し、血中半減期が短くなる。それはとりもなおさずEPR効果を下げることになり、腫瘍集積性も低下する。

[訳者注の参考文献]

1. Y. Matsumura and H. Maeda: **Cancer Res.**, 46, 6387-6392 (1986)
2. H. Maeda: **Proc. Jpn. Academy, Series B.** 88, 53-71 (2012)
3. H. Maeda, H. Nakamura, J. Fang: **Adv. Drug Deliver. Rev.** (available online, Dec. 2012, doi: 10.1016/j.addr.2012.10.002)
4. A. Nagamitsu, K. Greish, H. Maeda: **Japan. J. Clinical Oncol.** 39, 756-766 (2009)
5. H. Nakamura, J. Fang, B. Gahininath, K. Tsukigawa, H. Maeda: **J. Control. Release**, 155, 367-375 (2011).
6. H. Hatakeyama, H. Akita, K. Kogure, M. Oishi, Y. Nagasaki, Y. Kihira, M. Ueno, H. Kobayashi, H. Kikuchi, H. Harashima: **Gene Ther.** 14 (1) (2007) 68-77.

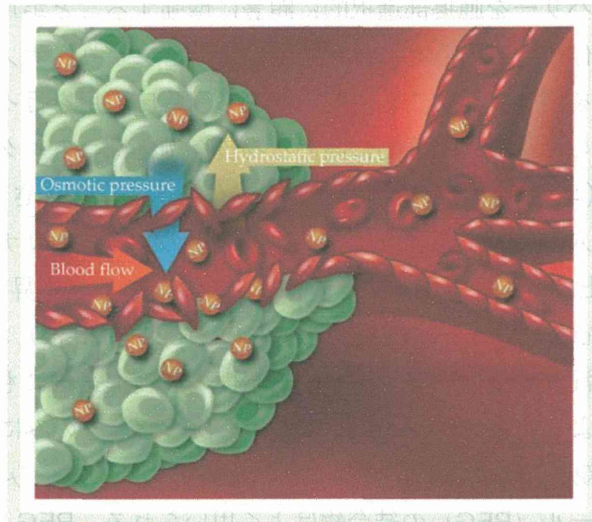


図 1. **固型腫瘍の血管**は正常の血管に比べ、その内皮細胞間の間隙が大きいこと、あるいは、その血管の走行が不規則なこと、血流の流れに恒常性がないことなどが特徴である。直径が 300nm 以下のナノ粒子はその間隙を容易に純物理的に透過漏出し (permeability)、その腫瘍部局所に蓄積 (retention) する。この現象を前田らは EPR 効果と命名した³⁾ (図の縮尺は実際とは異なる)。

図中の NP はナノパーティクル、HP は hydrostatic pressure は水圧、blood flow は血流の方向、osmotic pressure は浸透圧を示す。

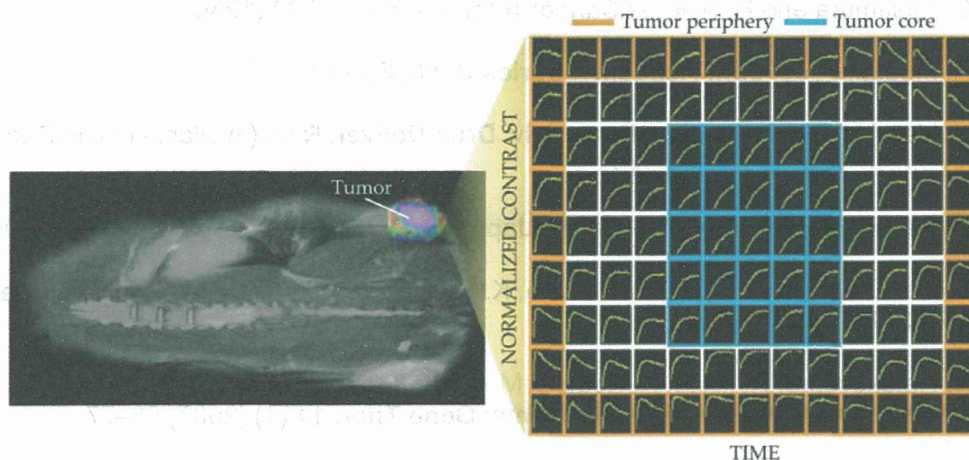


図 2. **腫瘍を移植したマウス**の場合は低分子性の造影剤 (非ナノ粒子) を静脈内に注射したときの MRI 装置で得た画像を示す。右側の各格子は画素 (ピクセル) ごとの 45 分間にわたる画像の経時変化を呈示している。この低分子 (造影剤) はまず腫瘍の辺縁に浸透するが、すばやく (拡散により) 消失する。中心部へは時間とともに浸透するものの、低分子造影剤は次第に拡散し消失する。(図提供は Marcello Bernard 氏と Lilia Ileva 氏の好意による。)

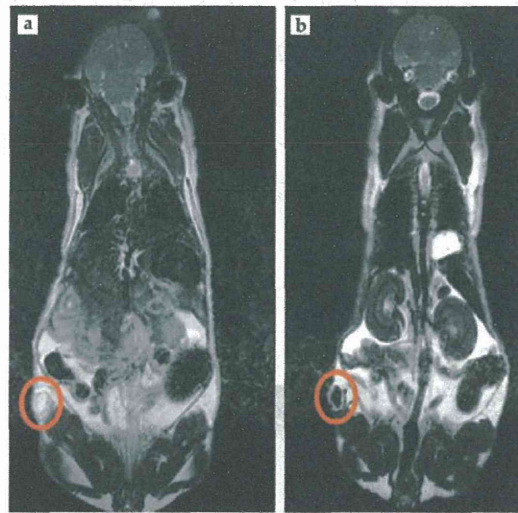


図3、 図2と異なり、この場合は酸化鉄のナノ粒子を静脈内に投与したマウスのMRI装置による画像を示す。左大腿部表層に大腸癌を移植し、腫瘍サイズが4~5mmになったところで、酸化鉄ナノ粒子を尾部静脈内に注射した。(a)はナノメディシンの静注前の腫瘍像で明るく(白く)みえる(赤色円内)。(b)は投与24時間後の腫瘍像(赤色円内)はナノ粒子の蓄積により暗く(黒く)みえる。この場合、24時間でも腫瘍像のコントラストはまだ増加中であった。(図提供は M. Bernard 氏と L. Ileva 氏の好意による。)

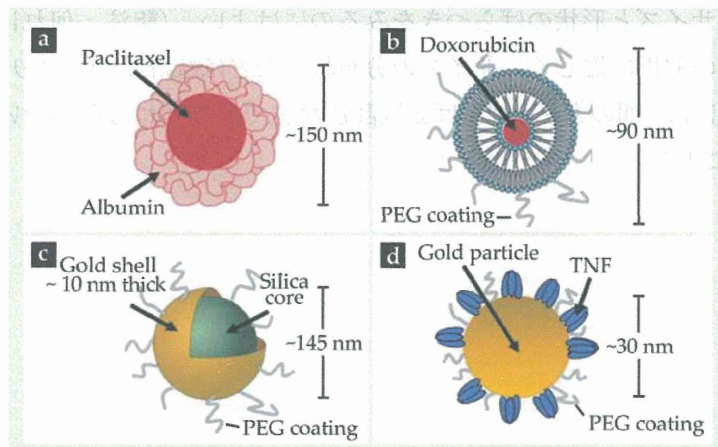


図4、 癌治療をめざしたナノメディシンのいくつか：臨床に用いられているもの、あるいは治験中の4例のナノ粒子の構造の模式図。(a) アブラキサン®はセルジーン(Celgene)社が開発したナノ粒子で、血清蛋白質のアルブミンに低分子性制癌剤のパクリタキセルが結合したもの。(b)はジョンソン・アンド・ジョンソン社のドキシル®である(イスラエルの発明)。これはもともと低分子のドキソルビシンを包含するリポソーム製剤であったが、血

中での消失を抑えるため、その表面をポリエチレングリコール (PEG) により被覆している (ステルス化リポソームという)。(c)はナノスペクトラ・バイオサイエンス社のオーロシエル®で、これは通常の制癌剤を含まない金のナノ粒子である。このものの投与後、近赤外線レーザー照射によりその癌局所の温度を上昇させ、その熱により制癌効果を示す。(d)はサイトイミュン・サイエンス社のオーリイムューン®で、腫瘍壊死因子 (TNF) を金のナノ粒子の表面にまぶしたものである (本文参照)。

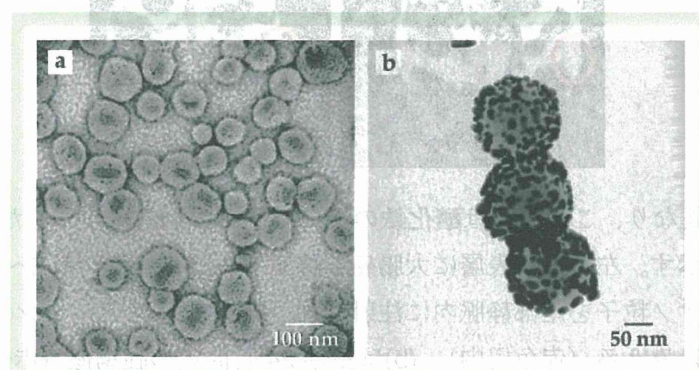


図 5、電子顕微鏡像 (a)はドキシル、(b)はのちにオーロシエルとなる初期の金のナノ粒子。電子顕微鏡は、光学顕微鏡では見えないナノ材料を可視化するのに有力な手段である。しかしながら、電子顕微鏡は同時に限られた数の粒子しか見えないので、全体としての粒子のばらつきや性状をみるには必ずしも適当でない。ここに示す電顕像では試料中のかぎられたナノ粒子のサイズと形状のばらつきをみるのにはよい。(訳注：何れにしる何百、何千という粒子の像の解析は難しく、サイズの分布状況などは統計学的により有意性の高いデータを得るためには、別の方法、例えば光散乱法などで計測せねばならない。(写真は Ulrich Baxa 氏の好意による)。

