

氏名	Samah Ibrahim Mohamed EL-Ghlban
授与した学位	博士
専攻分野の名称	工学
学位授与番号	博甲第5050号
学位授与の日付	平成26年 9月30日
学位授与の要件	自然科学研究科 機能分子化学専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	A Novel Drug Delivery System For Pancreatic Cancer Treatment: Tumor Targeting with Doxorubicin Liposome Modified with Chlorotoxin-Fc Protein (膵臓がんへの新規ドラッグデリバリーシステム：Chlorotoxin-Fc タンパク質を提示したドキシソルビシン内封リポソームによる腫瘍標的)
論文審査委員	教授 妹尾 昌治 教授 大槻 高史 教授 世良 貴史

学位論文内容の要旨

Pancreatic cancer is the fourth most common cause of cancer-related mortality worldwide and is characterized by local invasion, early metastasis, and a strong desmoplastic reaction. Blockage of the metastasis process remains a significant clinical challenge requiring innovative therapeutic approaches. For these purpose, molecules that inhibit matrix metalloproteinase (MMP) activity are potentially interesting. Because collagen IV is one of the major components of the basement membrane, MMP-2, is believed to be of special significance during tumor invasion. Precisely locating tumors always proves to be difficult. To find a molecule that can specifically bind to tumor cells is the key. Recently, chlorotoxin (CTX) has been proved to be able to bind to many kinds of tumor cells. The CTX receptor on the cell surface has been demonstrated to be MMP-2. However, all the studies of CITx have focused on brain tumors, gene delivery method and chemical drug delivery method. It remains an open question whether CITx modified drug delivery system could specifically bind to other tumor cells beside gliomas. Since the CITx receptor is MMP-2, which is also highly expressed in pancreatic cancer, breast cancer, lung cancer and so on. Thus, the aim of this study was to identify the inhibitory mechanism of M-CTX-Fc on MMP-2 and to evaluate whether chlorotoxin-Fc fusion modified drug delivery system has anti-tumor effect on PANC-1 cells.

In this study, the fusion protein (M-CTX-Fc) was generated by joining the CTX peptide to the amino terminus of the human IgG-Fc domain without a hinge domain. The monomeric form of chlorotoxin was then used to target PANC-1 cells. M-CTX-Fc decreased MMP-2 release into the media of PANC-1 cells. Furthermore, M-CTX-Fc was shown to inhibit and arrest the cell proliferation machinery without being toxic to the cells. Thus, we evaluated whether the M-CTX-Fc-modified liposomes could target the pancreatic cancer and further increase the antitumor effect via increasing uptake in tumor cells and hence has an antitumor effect on pancreatic cancer. To realize this strategy, We established the targeted liposomes conjugated to M-CTX-Fc and entrapped with anticancer drug (DOX). The M-CTX-Fc modified liposome treatment slowed tumor growth more significantly than non-modified liposome without causing the unexpected side effects and could be used as safe drug carriers. The immunohistochemical studies showed a decrease in Ki67 and CD31 staining in tumor cells from DOX-SSL-M-CTX-Fc treated mice, which suggests that an inhibition of tumor proliferation rate and angiogenic process associated with tumor growth.

論文審査結果の要旨

マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) ファミリーは、増殖や遊走、血管新生など、がんの進行と深く関わっている。MMPファミリーの中でもタイプIVコラゲナーゼであるMMP-2は多くのがん細胞の浸潤過程で顕著な発現上昇が認められる。したがって、MMP-2は悪性度が高いがんのマーカーのひとつであり、これを分子標的する治療薬の研究には大きな意義がある。

本論文では、サソリ毒ペプチドクロトキシシン (CTX) と、ヒトIgGのHingeを除いたFcドメインとを結合した融合タンパク質 (M-CTX-Fc) が、ヒト膵臓がん由来細胞 (PANC-1) と結合して、MMP-2の分泌量を抑制すること、PANC-1細胞内に取り込まれること、PANC-1細胞の遊走と増殖を抑制することを*in vitro*で示した。この活性は、CTX単独と比較して高くなっており、融合タンパク質の有用性を期待させる結果である。元来、CTXはMMP-2に特異的に結合すると考えられているが、グリオーマとの高い親和性が報告されているのみである。本研究によりCTXによるグリオーマの分子標的への可能性が膵臓がんへも拡大され、MMP-2高発現細胞へ一般化される可能性を世界で初めて示した。

さらに、ドキソルビシン (DOX) を内包したリポソームの表面にM-CTX-Fcを提示してDOX-SSL-CTXを作成し、PANC-1担がんマウスを用いた*in vivo*試験を行った。その結果、DOX-SSL-CTX が致死量のDOXを投与しながらも副作用を低減して、薬効を効率良く発揮し、血管新生を抑制して腫瘍の成長を抑制することを明らかにした。

本方法は、MMP-2を高発現する膵臓がんを標的にして、薬剤の副作用を抑えながら、標的細胞内にその薬剤を送達することを可能にするDDSとして有望であり発展が期待できるため、審査委員の全員が本論文を博士 (工学) の学位にふさわしい論文であると評価した。