

Basic and Experimental Studies on a New Anticancer Chemoembolic Material

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/7775

新しい制癌化学塞栓物質の基礎的ならびに実験的研究

金沢大学医学部第一外科学講座 (主任: 岩 喬教授)

酒 徳 光 明

(昭和60年2月4日受付)

化学塞栓療法における抗腫瘍効果の増強を目的として、新しい制癌製剤を開発した。すなわち、有機相からの相分離法を応用して、5-Fluorouracil (5-FU) を芯物質、ポリ L-乳酸を被膜とするマイクロカプセル化制癌製剤を調製した。本製剤 (5-FU-poly L-lactic acid-microcapsule, FU-PLA-mc) は直径約 200 μm の粒状であり、5-FU は約 40% 含有している。In vitro における FU-PLA-mc からの 5-FU 溶出の時間経過をみると、5-FU は徐々に放出され、50 時間後には最高値に達した。75 mg の FU-PLA-mc (5-FU 30 mg 含有)、または 30 mg の 5-FU 注射液を、正常家兎の大腿動脈より注入し、経時的に血中 5-FU 濃度を測定した。両群ともに、15 分後に最高値を示し、FU-PLA-mc 群では $1.03 \pm 0.16 \mu\text{g/g}$ 、5-FU 群では $2.28 \pm 0.22 \mu\text{g/g}$ であった。また、VX2 腫瘍移植家兎に、同量の FU-PLA-mc または 5-FU 注射液を大腿動脈内注入し、腫瘍内 5-FU 濃度を測定した。FU-PLA-mc 群では、72 時間後に $2.1 \pm 0.5 \mu\text{g/g}$ を示したのに対し、5-FU 群では 4 時間後に、 $0.6 \pm 0.2 \mu\text{g/g}$ にすぎなかった。In vivo における、FU-PLA-mc 化学塞栓療法の抗腫瘍効果は著明であった。すなわち、75 mg の FU-PLA-mc (5-FU 30 mg 含有) を、VX2 腫瘍移植家兎に動脈内注入した群の移植 28 日後の腫瘍重量比 T/C は 0.01% であった。一方、30 mg の FU-PLA-mc (5-FU 12 mg 含有)、30 mg の 5-FU 注射液、または 40 mg のポリ L-乳酸小球体 (5-FU 非含有) 注入群の T/C は、それぞれ 24.6%、22.2% および 72.3% であった。次いで、正常家兎の肝に与える FU-PLA-mc 肝動脈塞栓術の影響を、肝機能を測定し、検討するとともに、組織学的にも検討した。肝動脈塞栓術後の血清トランスアミナーゼ値、すなわち GOT 値と GPT 値は、一過性的上昇を認め、組織学的に肝炎類似変化を認めた。以上により、5-Fluorouracil 封入マイクロカプセル FU-PLA-mc は、癌腫に対する化学塞栓療法の塞栓物質として有用であると考えられた。

Key words chemoembolization, VX2 tumor, microcapsule, 5-Fluorouracil.

癌化学療法においては、それぞれ作用特性をもった多くの制癌剤が開発されているにもかかわらず、腫瘍組織に特異的に作用する、いわゆる選択毒性が付与された薬剤が、見出されていない現状にある。したがって、制癌剤の全身的投与方法による場合、その副作用のために、投与量や投与期間などに著しい制約をうけることになる。一方、副作用を生じさせない程度の投与量や投与期間では、制癌剤の有効腫瘍内濃度が得られず、十分な治療効果を期待することは、一般に困難である。このような癌化学療法の欠点を補い、制癌剤の腫瘍組織内到達性や保留時間の増強、延長を図るとともに、副作用の軽減を目的として、制癌剤の剤型変

換¹¹⁻⁸⁾や投与方法の改善⁹⁻¹¹⁾など、種々の工夫が試みられている状況にある。

この点に着目して、岩ら¹²⁾、平野ら¹³⁻¹⁵⁾および平野¹⁶⁾は、ポリグリコール酸と制癌剤 5-フルオロウラシル (5-Fluorouracil, 5-FU) を複合させて強靱な針とし、腫瘍に直接刺入する徐放性制癌製剤を開発した。さらに長期間の徐放性を得るために、基剤として、ポリ L-乳酸の適用に成功している¹⁷⁾¹⁸⁾。これら制癌剤の剤型変換、投与方法の改善による使用拡大の一環として、この度ポリ L-乳酸を被膜として内部に 5-FU を封入したマイクロカプセル (5-FU-poly L-lactic acid-microcapsule, FU-PLA-mc) を新しく調製し、さらに

Abbreviations: 5-FU, 5-Fluorouracil; FU-PLA-mc, 5-Fluorouracil-poly L-lactic acid-microcapsule; GOT, glutamic oxaloacetic transaminase; GPT, glutamic pyruvic transaminase; IU/l, international unit per liter; T/C, mean tumor weight of test group per mean

本製剤による化学塞栓療法の基礎的、実験的研究を行った。

材料および方法

I. 実験材料

1. FU-PLA-mc の調製

FU-PLA-mc は、以下に述べるように、有機相からの相分離の原理を応用し、調製した。基剤として、分子量 30,000~47,000、融点 160~168°C、分解点 265°C のポリ L-乳酸を用いた。すなわち、まず 3% のポリ L-乳酸ジクロロメタン溶液 30 ml に、封入物質としての 5-FU 結晶 0.5 g を懸濁せしめた後に、この懸濁液を攪拌しながら n-ヘプタンを徐々に滴下すると、相分離がおこり、ポリ L-乳酸がコアセルベート滴となって 5-FU 結晶のまわりに吸着する。n-ヘプタンの量が 30 ml になった時点で添加を止め、攪拌しつつこの分散液を氷冷すると、さらにポリ L-乳酸の 5-FU 結晶への吸着が増大する。これは温度を変化させると、ポリ L-乳酸の溶解度が変化することに起因する。次いでこの分散液を 10 分間静置し、上澄を除去すると、その沈澱物はスラリー状を呈して残存している。この沈澱物に、n-ヘプタン 30 ml を加え、激しく攪拌すると沈澱物は徐々に小球体状となる。さらに上澄を除去し、再び n-ヘプタン 30 ml を加えると、ポリ L-乳酸の被膜が完全に硬化し、5-FU を約 40% 含む FU-PLA-mc が調製される。この FU-PLA-mc を n-ヘキササンで数回洗浄した後、風乾し、有機溶媒を完全に除去する。次いで網目番号 60 号 (149 μm) および 100 号 (250 μm) のメッシュでふるいわけた後、120°C で 24 時間乾熱滅菌した。このようにして調製された FU-PLA-mc は粒径 $195.4 \pm 35.7 \mu\text{m}$ (mean \pm SEM, $n=100$) であり、5-FU 結晶はポリ L-乳酸被膜で完全に被覆され、マイクロカプセル化している (写真 1)。また、5-FU を含まないポリ L-乳酸小球体 (poly L-lactic acid particle, PLA pc) は、FU-PLA-mc の調製法に準じて調製した。

FU-PLA-mc は、レシチン分散液に懸濁した。すなわち、レシチン (旭化成、精製卵黄レシチン) 100 mg を超音波分散器 (Smith Kline 社製, Sonifier, model 185) を用いて生理的食塩水 10 ml に分散させ、この分散液に FU-PLA-mc 100 mg を懸濁せしめた。

2. 実験動物ならびに実験腫瘍

全実験を通じて日本白色種家兔 (家兎) を使用した。血中 5-FU 濃度の測定には、体重約 2 kg の雄性家兎を、正常肝に対する影響についての検討実験には、体

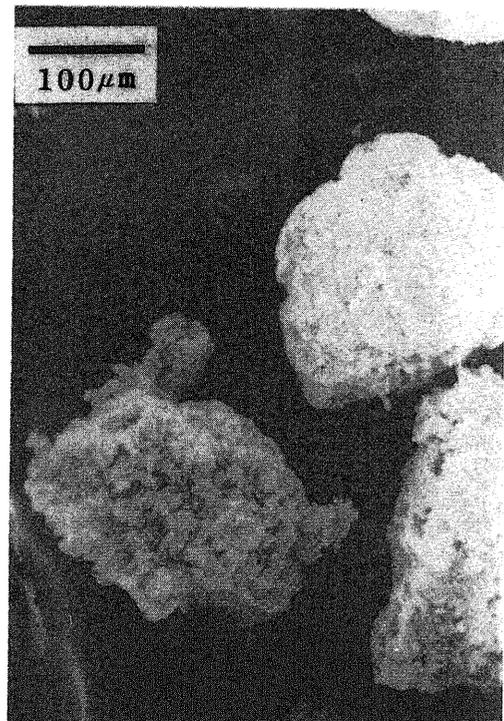


Photo 1. Scanning electron micrograph of microencapsulated 5-Fluorouracil preparation (FU-PLA-mc).

5-Fluorouracil was microencapsulated with poly L-lactic acid by the organic phase separation technique. The size of the microencapsulated 5-Fluorouracil preparation was about 200 μm and 5-Fluorouracil content was about 40% in weight basis.

重約 3 kg の雄性家兎をそれぞれ使用した。また腫瘍内 5-FU 濃度の測定及び抗腫瘍実験には、VX 2 腫瘍¹⁹⁾を以下の方法により大腿筋肉内に移植した家兎を用いた。すなわち、大腿筋肉内に VX 2 腫瘍を移植後 4 週間目の家兎 (船橋農場) から腫瘍を摘出し、内部の壊死部分を選別、除去した。固型腫瘍は生理的食塩水に浸したメッシュ付円筒状容器の中で細切し、滅菌ゴム栓で軽く圧迫、濾過する。腫瘍細胞を含む濾液は 700 rpm, 10 分間遠心し、沈渣に適量量の生理的食塩水を加えて、 1×10^7 cells/ml 濃度の腫瘍細胞浮遊液を調製した。この細胞浮遊液 1 ml を体重約 2 kg の雄性家兎の大腿筋肉内に移植し、14 日後に腫瘍の長径が約 3 cm になった時点で実験に供した。

tumor weight of control group; PLA pc, poly L-lactic acid particle; SEM, standard error of mean.

II. *In vitro* における 5-FU の遊離試験

FU-PLA-mc 150 mg を上下面に孔径 30 μm のメッシュを有する容器に入れ、pH 7.4 のリン酸緩衝液 300 ml 中で 37°C, 200 rpm で攪拌し、経時的に 1 ml 宛採取した。採取試料中の 5-FU 濃度は、分光光度計(島津社製, 150-2 型)を用い、265 nm 波長で吸光度を測定した後、標準検量線によって算定した。

III. 血中 5-FU 濃度の測定

血中 5-FU 濃度の測定には 12 羽の正常家兎を使用した。ペントバルビタール 50 mg の静脈内注射による全身麻酔下に、右大腿動脈を露出し、20 G エラスター針を末梢側に向け留置した。エラスター針を介して、5-FU 30 mg を含む FU-PLA-mc 懸濁液、または 5-FU (30 mg) 注射液を注入し、それぞれ FU-PLA-mc 群、5-FU 群とした。

両群ともに、薬剤注入 15 分、30 分、60 分および 120 分後に、耳静脈より約 2 ml づつ採血し、直ちに血清分離を行い、凍結保存した。それぞれの血清試料約 1 g を容量 50 ml の振盪管に秤量して、1 N HCl 2.0 ml, クロロホルム 20 ml を加え 60 分間振盪後、2000 rpm, 15 分間遠心し、水層を分離した。この水層に 1 N NaOH を加えて pH 7.0 に調整し、エバポレーターで水分を溜去して得られた残渣を、適宜量のリン酸緩衝液 (pH 7.0) に溶解し被検液とした。

5-FU 濃度の測定は、黄色ブドウ球菌 209 P 株を検定菌とする薄層カップ法によった²⁰⁾。検定菌を 1×10^8 / ml 濃度に混じたミューラー-ヒントン寒天培地 5 ml を、直径 90 mm のプラスチック製シャーレに流しこみ、薄層寒天平板を作成した。その薄層平板に、外径 8 mm のペニシリンカップを立て、被検液 300 μl をカップ内に注入し、4°C で 4 時間予備拡散させた後、37°C で 16 時間培養した。その結果生じた阻止円直径を測定し、5-FU 標準検量線から各被検体中の 5-FU 濃度を算出した。

両群間の有意差は Cochran-Cox t-test によって検定した。

IV. 腫瘍内 5-FU 濃度の測定

腫瘍内 5-FU 濃度の測定には 60 羽の VX 2 移植家兎を使用した。ペントバルビタール 50 mg の静脈内注射による全身麻酔下に、VX 2 腫瘍移植側大腿動脈を露出し、20 G エラスター針を末梢側に向け留置した。エラスター針を介して、5-FU 30 mg を含む FU-PLA-mc 懸濁液、または 5-FU (30 mg) 注射液を注入し、それぞれ FU-PLA-mc 群、5-FU 群とした。

FU-PLA-mc 群では薬剤を注入して 15 分、1 時間、24 時間、72 時間及び 120 時間後に、また 5-FU 群では薬剤を注入して 15 分、1 時間、2 時間、4 時間及び 6

時間後にそれぞれ腫瘍を摘出し、直ちに凍結保存した。腫瘍試料の約 2 g を容量 50 ml の振盪管に秤取し、細切した後に 1 N HCl 4.0 ml を加えホモジナイズした。これにクロロホルム 25 ml を添加し、60 分間振盪後、2000 rpm, 15 分間遠心した。ここに得られた上澄液に 1 N NaOH を加えて pH 7.0 に調整した後、エバポレーター (65°C) で水分を溜去した。残渣に酢酸緩衝液 (pH 4.0) 2.0 ml を加え攪拌し、n-プロパノール・エーテル混液 (15:85) 20 ml 及び無水硫酸ナトリウム 1.0 g を加えて 60 分間振盪後、2000 rpm, 15 分間遠心し、n-プロパノール・エーテル層を分取した。これをエバポレーターで低温乾固した後、適宜量のリン酸緩衝液 (pH 7.0) を加えて溶解し、被検液とした。

5-FU 濃度の測定は、前述した薄層カップ法によった。

両群間の有意差は Cochran-Cox t-test によって検定した。

V. 抗腫瘍実験

VX 2 移植家兎 30 羽を使用した。移植後 14 日目に、ペントバルビタール 50 mg の静脈内注射による全身麻酔下に VX 2 腫瘍移植側大腿動脈を露出し、20 G エラスター針を介して薬剤を注入した。使用薬剤の種類により、以下の 5 群に分け、抗腫瘍性を検討した。

I 群: FU-PLA-mc 懸濁液を注入し、大腿動脈および、それより分枝する腫瘍動脈を完全に塞栓した群。FU-PLA-mc の投与量は 75 mg (5-FU 30 mg 含有) であり、体重当りの 5-FU 量は 15 mg/kg である。

II 群: FU-PLA-mc 懸濁液を注入し、大腿動脈および、それにより分枝する腫瘍動脈を部分的に塞栓した群。FU-PLA-mc の投与量は 30 mg (5-FU 12 mg 含有) であり、体重当りの 5-FU 量は 6 mg/kg である。

III 群: 5-FU (30 mg) 注射液を注入した群。体重当りの 5-FU 量は 15 mg/kg である。

IV 群: PLA pc 懸濁液を注入し、大腿動脈および、それより分枝する腫瘍動脈を完全に塞栓した群。PLA pc の投与量は 40 mg であるが、5-FU は含有されていない。

V 群: 大腿動脈を結紮、切離した群 (対照群)。

各群において、VX 2 腫瘍移植 14 日後、15 日後、17 日後、19 日後、21 日後、24 日後および 28 日後に体表より腫瘍の長径と短径を測定し、次式²¹⁾により腫瘍重量を算出した。

$$\text{腫瘍重量 (g)} = \frac{\text{長径 (cm)} + [\text{短径 (cm)}]^2}{2}$$

また、移植 28 日後の対照群 (V 群; C) に対する実験群 (I 群, II 群, III 群, および VI 群; T) の腫瘍重量比 T/C (%) を求め、各群間の抗腫瘍効果の対比におけ

る有意差を, Cochran-Cox t-test によって検定した。さらに移植 28 日後の局所腫瘍を摘出し, 病理組織学的検索を行った。

VI. 正常肝に対する肝動脈塞栓実験

12羽の正常家兎を使用した。ペントバルビタール 75 mg の静脈内注射による全身麻酔下に開腹し, 胃十二指腸動脈を結紮, 腹腔動脈根部および左胃動脈を一時遮断した。次いで脾動脈内に 20 G エラスター針を中枢側に向け留置し, X線透視下にエラスター針を介し, FU-PLA-mc 懸濁液または Gelfoam (Upjohn 社製) 細片浮遊液を肝内肝動脈が塞栓されるまで注入し, それぞれ FU-PLA-mc 群, Gelfoam 群とした(写真 2)。塞栓前, 塞栓 1 日後, 3 日後, 5 日後, 7 日後, 10 日後および 14 日後に耳静脈より採血し, 血清トランスアミナーゼ値 (glutamic oxaloacetic transaminase, GOT; glutamic pyruvic transaminase, GPT) を測定した。その際, GOT 値, GPT 値の単位は国際単位/l (International unit (IU)/liter, IU/l) で表記している。GOT 値及び GPT 値の両群間の有意差は Cochran-Cox t-test を用いて検定した。また, 塞栓 14 日後に肝を摘出し, 病理組織学的検索を行った。

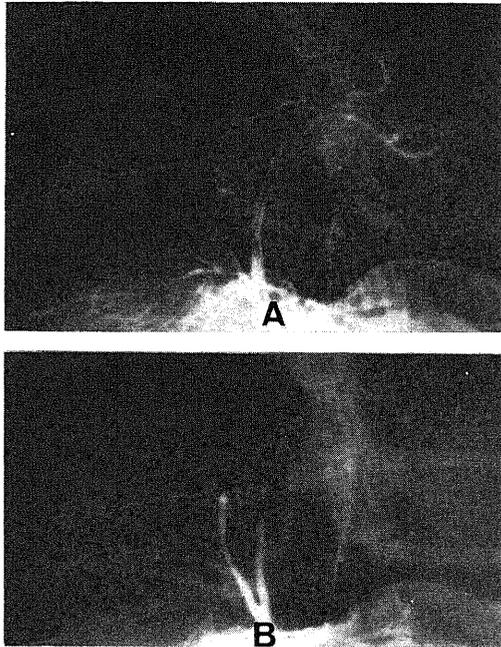


Photo 2. Angiogram of the hepatic artery in normal rabbit. Hepatic arterial embolization was performed with FU-PLA-mc. A, angiogram of pre-embolization state. Intrahepatic arteries are visualized. B, angiogram of post embolization state. Intrahepatic arteries are occluded.

成 績

I. *In vitro* における FU-PLA-mc からの 5-FU の遊離試験

In vitro における FU-PLA-mc からの 5-FU の遊離は, 1 時間後に 12%, 2 時間後に 20%, 5 時間後に 55%, 15 時間後に 85%, 20 時間後に 90%, 25 時間後に 92%, 40 時間後に 95% 放出され, 50 時間後には 100% と完全に放出された (図 1)。

II. 血中 5-FU 濃度の経時的変化

正常家兎に FU-PLA-mc 投与後の血中 5-FU 濃度の経時的変化は, 15 分後に $1.03 \pm 0.16 \mu\text{g/g}$ (mean \pm SEM $n=6$, 以下同様), 30 分後に $0.67 \pm 0.06 \mu\text{g/g}$, 60 分後に $0.37 \pm 0.06 \mu\text{g/g}$, 120 分後に $0.31 \pm 0.07 \mu\text{g/g}$ であった。一方, 5-FU 投与後の血中 5-FU 濃度は 15 分後に $2.28 \pm 0.22 \mu\text{g/g}$, 30 分後に $1.06 \pm 0.03 \mu\text{g/g}$, 60 分後に $0.50 \pm 0.06 \mu\text{g/g}$, 120 分後に $0.27 \pm 0.05 \mu\text{g/g}$ であった。FU-PLA-mc 群の 15 分後及び 30 分後の血中 5-FU 濃度は, 5-FU 群に比して有意に低く ($p < 0.01$) 徐放性のパターンを呈した (図 2)。

III. 腫瘍内 5-FU 濃度の経時的変化

VX 2 移植家兎に FU-PLA-mc 投与後の腫瘍内 5-

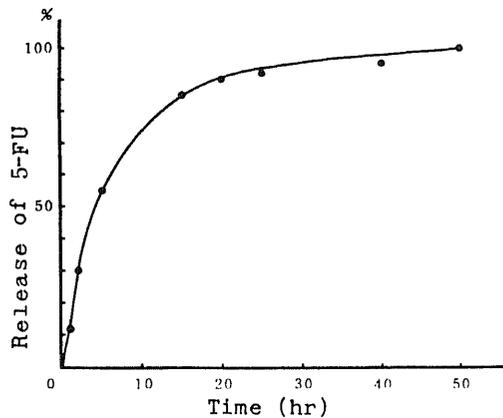


Fig. 1. Release of 5-Fluorouracil from FU-PLA-mc *in vitro*. Release of 5-Fluorouracil from FU-PLA-mc was determined by the dynamic dialysis system. One hundred and fifty milligrams of FU-PLA-mc were held in the receptacle which had nets of 30 μm meshes at its top and bottom. The receptacle was placed in 300 ml of isotonic phosphate buffer (pH 7.4) at 37°C and stirred at 200 rpm. An aliquot (1 ml) of test materials was withdrawn from the reaction mixture at the intervals stated and 5-Fluorouracil concentration was measured at 265 nm by spectrophotometer.

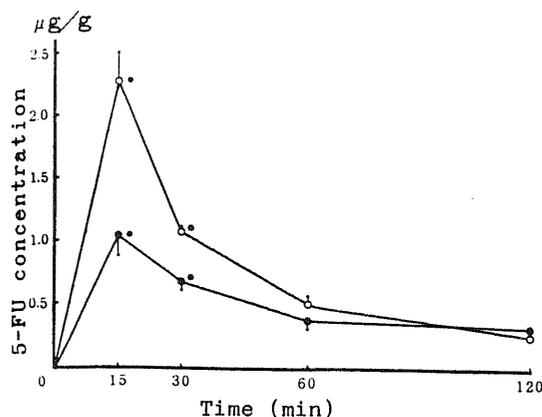


Fig. 2. 5-Fluorouracil levels in blood. Seventy five milligrams of FU-PLA-mc (5-Fluorouracil content, 30 mg) or 30 mg of 5-Fluorouracil were infused into 12 rabbits through femoral arteries. After infusion, 5-Fluorouracil concentration in blood was assayed by the thin plate cup method using *Staphylococcus aureus* 209p as the target bacteria. ●—●, FU-PLA-mc; ○—○, 5-Fluorouracil; each point and bar, mean±SEM (n=6); *, p<0.01 (Cochran-Cox t-test).

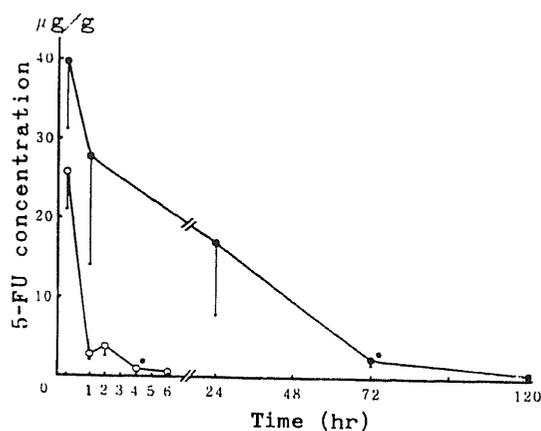


Fig. 3. 5-Fluorouracil levels in VX2 tumors. VX2 tumor was transplanted into femoral muscle of 60 rabbits and 75 mg of FU-PLA-mc (5-Fluorouracil content, 30 mg) or 30 mg of 5-Fluorouracil were infused into the tumor through femoral artery on the 14th after transplantation. After infusion, 5-Fluorouracil concentration in tumor mass was assayed by thin plate cup method. ●—●, FU-PLA-mc; ○—○, 5-Fluorouracil; each point and bar, mean±SEM (n=6); p<0.05 (Cochran-Cox t-test).

FU 濃度の経時的変化は、15分後に $39.7 \pm 8.6 \mu\text{g/g}$ (mean±SEM, n=6,以下同様)、1時間後に $26.9 \pm 13.1 \mu\text{g/g}$ 、24時間後に $16.7 \pm 4.9 \mu\text{g/g}$ 、72時間後に $2.1 \pm 0.5 \mu\text{g/g}$ を示し、120時間後になると測定限界以下であった。一方、5-FU 投与後の腫瘍内 5-FU 濃度は、15分後に $25.8 \pm 5.0 \mu\text{g/g}$ 、1時間後に $2.5 \pm 0.7 \mu\text{g/g}$ 、2時間後に $3.7 \pm 1.5 \mu\text{g/g}$ 、4時間後に $0.6 \pm 0.2 \mu\text{g/g}$ を示し、6時間後には測定限界以下となった。FU-PLA-mc 群の72時間後の腫瘍内 5-FU 濃度は、5-FU 群の4時間後の腫瘍内 5-FU 濃度に比較して有意に高く (p<0.05)、効率的に 5-FU の腫瘍内蓄積が認められた (図3)。

IV. 抗腫瘍効果

VX 2 移植側大腿動脈内に FU-PLA-mc を注入し、完全塞栓した I 群の局所腫瘍重量は、経時的に減少し、移植 28 日後の腫瘍はほとんど痕跡程度にまで退縮していた。すなわち、移植 14 日後に $13.4 \pm 2.1 \text{g}$ (mean±SEM, n=6,以下同様) であった腫瘍重量が、15 日後に $5.6 \pm 1.6 \text{g}$ 、17 日後に $1.0 \pm 0.4 \text{g}$ 、19 日後に $0.7 \pm 0.4 \text{g}$ 、21 日後に $0.2 \pm 0.1 \text{g}$ 、24 日後に $0.12 \pm 0.04 \text{g}$ 、28 日後には $0.04 \pm 0.01 \text{g}$ と著明に減少した。

同じく FU-PLA-mc で不完全塞栓した II 群では、移植 14 日後に $13.7 \pm 2.4 \text{g}$ であった腫瘍重量が、15 日後に $24.6 \pm 3.9 \text{g}$ 、17 日後に $23.7 \pm 2.0 \text{g}$ 、19 日後に $38.9 \pm 4.1 \text{g}$ 、21 日後に $59.0 \pm 9.3 \text{g}$ 、24 日後に $76.8 \pm$

9.6g と漸増し、28 日後には $153 \pm 22 \text{g}$ と塞栓前の約 10 倍に達した。

5-FU 注射液を注入した III 群の腫瘍重量は、移植 14 日後に $12.9 \pm 1.5 \text{g}$ であったものが、15 日後に $19.2 \pm 4.0 \text{g}$ 、17 日後に $26.1 \pm 5.2 \text{g}$ 、19 日後に $31.7 \pm 6.7 \text{g}$ 、21 日後に $45.0 \pm 9.1 \text{g}$ 、24 日後に $77.7 \pm 14.2 \text{g}$ 、28 日後に $138 \pm 17 \text{g}$ を示し、II 群とほぼ同様の経過で増大した。

一方、5-FU 非含有 PLA pc を注入し、完全塞栓した IV 群の腫瘍重量は、対照群とほぼ同様の経過を辿り、移植 14 日後に $15.2 \pm 1.7 \text{g}$ であったものが、15 日後に $12.4 \pm 1.8 \text{g}$ 、7 日後に $22.6 \pm 3.5 \text{g}$ 、19 日後に $38.6 \pm 6.6 \text{g}$ 、21 日後に $49.9 \pm 9.7 \text{g}$ 、24 日後に $208 \pm 80 \text{g}$ 、28 日後に $450 \pm 140 \text{g}$ と 7 日後以降急激に増大した。

大腿動脈を結紮、切離しただけの V 群 (対照群) の腫瘍重量は、移植 14 日後に $15.7 \pm 2.1 \text{g}$ であったものが、15 日後に $19.1 \pm 2.1 \text{g}$ 、17 日後に $30.2 \pm 5.0 \text{g}$ 、19 日後に $48.2 \pm 11.2 \text{g}$ 、21 日後に $87.1 \pm 16.1 \text{g}$ 、24 日後 $285 \pm 93 \text{g}$ と増大し、28 日後には $622 \pm 81 \text{g}$ と全経過中最大の重量を示した。

VX 2 腫瘍移植 14 日後の腫瘍重量では各群間に有意差を認めなかったが、薬剤注入後では、I 群と V 群における腫瘍重量の対比において、明らかな有意差が

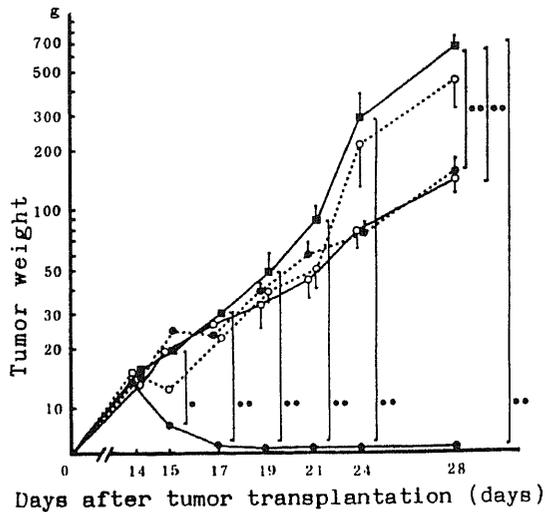


Fig. 4. Effect of FU-PLA-mc against VX2 tumors transplanted into femoral muscle in rabbits.

VX2 tumor was transplanted into femoral muscle of 30 rabbits and those were randomly assigned to five groups based on the treatment schedule on the 14th day after transplantation. On the same day, each drug was infused into the tumor through femoral artery. Tumor weight was calculated by the following formula:

$$\text{Tumor weight (g)} = \frac{\text{length (cm)} \times [\text{width (cm)}]^2}{2}$$

●—●, 75mg of FU-PLA-mc (5-Fluorouracil content, 30 mg); group I: ●—●, 30 mg of FU-PLA-mc (5-Fluorouracil content, 12 mg); group II: ○—○, 30 mg of 5-Fluorouracil; group III: ○—○, 40 mg of PLA pc (blank); group IV: ■—■, control (femoral artery was ligated and dissected); group V: each point and bar, mean±SEM (n=6): *, p<0.05; **, p<0.01 (Cochran-Cox t-test).

認められた (15日後で p<0.05, 17日後, 19日後, 21日後, 24日後および28日後で p<0.01)。また, II群とV群間およびIII群とV群間においても, 移植28日後には腫瘍重量に, それぞれ有意差が認められた (p<0.01) (図4)。

移植28日後のT/Cは, I群で0.01%, II群で24.6%, III群で22.2%, IV群で72.3%であった。

V. 局所腫瘍の病理組織学的所見

写真3は, VX2腫瘍移植28日後の腫瘍最大剖面像である。Aは5-FU 30mgを含むFU-PLA-mc懸濁液注入例, Bは5-FU 12mgを含むFU-PLA-mc懸濁液注入例, Cは5-FU (30mg)注射液注入例, DはPLA pc懸濁液注入例, Eは大腿動脈を結紮, 切離した例(対照例)である。

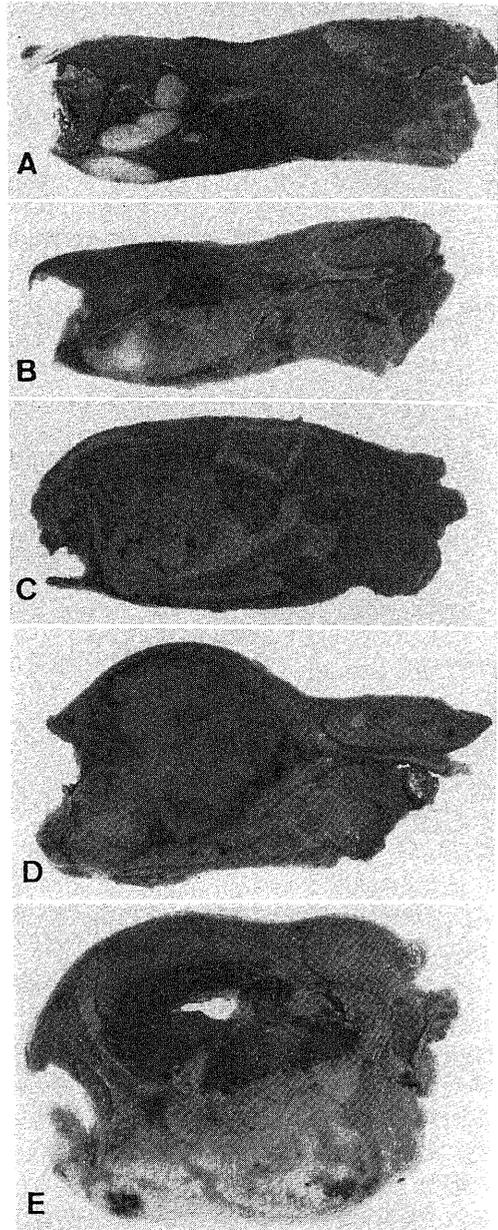


Photo 3. Macroscopic findings of VX2 tumors transplanted into femoral muscle. Photographs showed sliced specimens of VX2 tumors on the 28th day after tumor transplantation. The treatment with each drug was made on the 14th day after transplantation (see foot note of Fig. 4.). A, 75 mg of FU-PLA-mc (5-Fluorouracil content, 30 mg); B, 30 mg of FU-PLA-mc (5-Fluorouracil content, 12 mg); C, 30 mg of 5-Fluorouracil; D, 40 mg of PLA pc; E, control.

Aでは腫瘍は退縮し、島状に残存するにすぎなかったが、BおよびCでは腫瘍は増殖し、塊状を呈していた。またDおよびEでは腫瘍増殖が著しく、巨大な腫瘍塊を形成していた。

写真4はその組織像を示したもので、Aでは腫瘍部分は全域にわたって変性、壊死が認められた。Bでは線維性被膜は認められなかったが、腫瘍辺縁部に生存腫瘍細胞が認められた。Cでは腫瘍辺縁部にも変性、

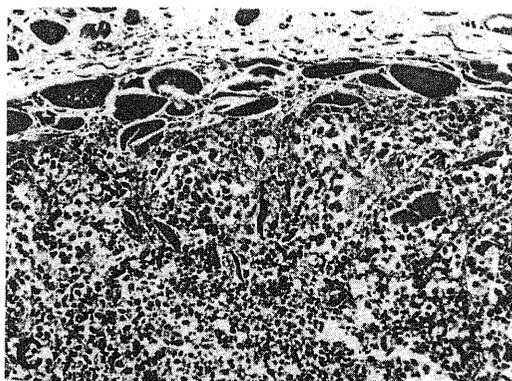
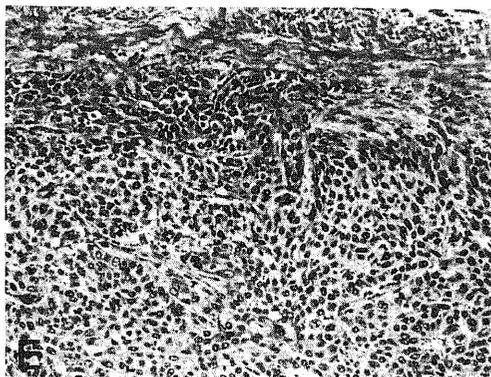
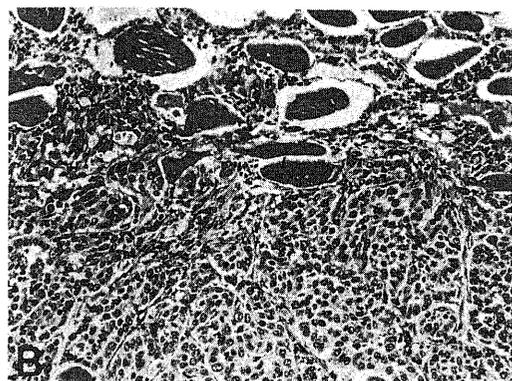
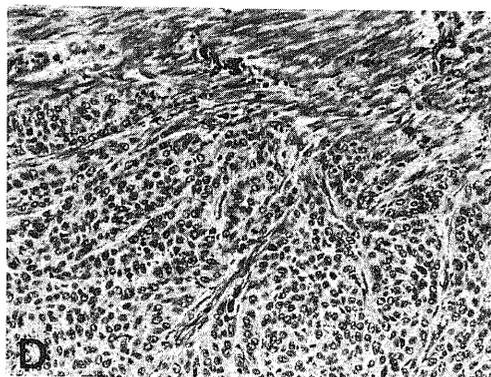
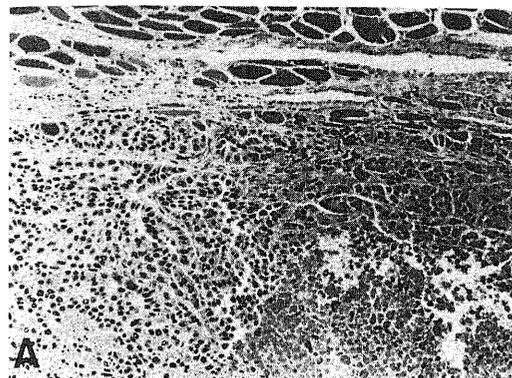


Photo 4. Microscopic findings of VX2 tumors transplanted into femoral muscle. Photographs showed histological pictures of VX2 tumors on the 28th day after tumor transplantation (A, B, C, D and E corresponded to those of photo 3.) ($\times 100$). A, degeneration and necrosis are seen at all of the tumor; B, viable cells are seen at peripheral portion of the tumor; C, degeneration and necrosis are seen at peripheral portion of the tumor but viable cells are seen at same portion; D, viable cells are seen at peripheral portion of the tumor; E, viable cells are seen at peripheral portion of the tumor.

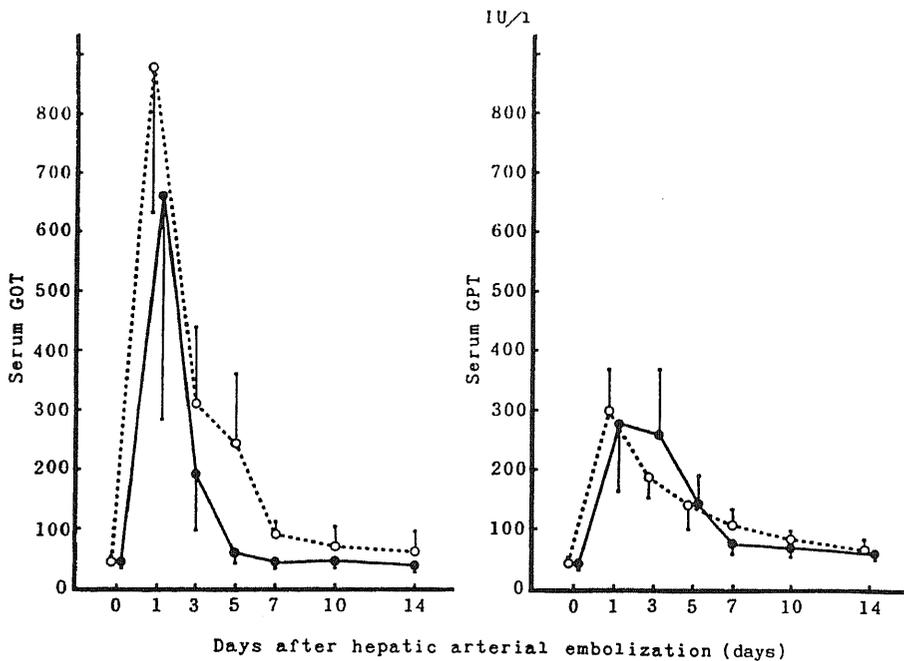


Fig. 5. Changes in serum transaminases after hepatic arterial embolization. Hepatic arterial embolization was performed in 12 rabbits with FU-PLA-mc or Gelfoam particle. After embolization, levels of serum transaminases (glutamic oxaloacetic transaminase, GOT; glutamic pyruvic transaminase, GPT) were measured. ●—●, FU-PLA-mc; ○—○, Gelfoam particles; each point and bar, mean \pm SEM (n=6).

壊死が認められ、線維性被膜は認められなかったが、同時に生存腫瘍細胞も認められた。DおよびEでは腫瘍辺縁部に生存腫瘍細胞が認められ、幅の広い線維性被膜が認められた。

VI. 正常肝に及ぼす FU-PLA-mc の影響

正常家兎の肝動脈を塞栓した場合の影響を、血清 GOT 値および GPT 値を指標として検討した。

FU-PLA-mc 群の GOT 値は、塞栓前では 41 ± 9 IU/l (mean \pm SEM, n=6. 以下同様) であったものが、塞栓 1 日後に 658 ± 375 IU/l, 3 日後に 189 ± 91 IU/l, 5 日後に 54 ± 15 IU/l, 7 日後に 42 ± 9 IU/l と一過性に高値を示したが、10 日後に 42 ± 10 IU/l, 14 日後に 38 ± 7 IU/l と低下していた。

Gelfoam 群の GOT 値は、塞栓前では 43 ± 10 IU/l であったものが、塞栓 1 日後では 878 ± 246 IU/l と高値を示し、3 日後に 312 ± 130 IU/l, 5 日後に 248 ± 113 IU/l, 7 日後 89 ± 24 IU/l, 10 日後に 78 ± 27 IU/l, 14 日後に 61 ± 36 IU/l と経日的に低下した。

FU-PLA-mc 群の GPT 値については、塞栓前 40 ± 5 IU/l であったものが、塞栓 1 日後に 280 ± 117 IU/l と上昇し、3 日後にも 256 ± 101 IU/l と高値を示した

が、5 日後に 142 ± 49 IU/l, 7 日後に 77 ± 20 IU/l, 10 日後に 73 ± 11 IU/l, 14 日後に 59 ± 11 IU/l と漸減した。

Gelfoam 群の GPT 値は、塞栓前で 41 ± 7 IU/l, 塞栓 1 日後 298 ± 72 IU/l となったが、3 日後に 186 ± 40 IU/l, 5 日後に 139 ± 42 IU/l, 7 日後に 108 ± 27 IU/l, 10 日後に 83 ± 15 IU/l, 14 日後には 65 ± 23 IU/l と漸減した。GOT 値および GPT 値の両群間における有意差は認められなかった (図 5)。

両群における病理組織学的検索を行った。Gelfoam 群の塞栓 14 日後における肝組織像所見は、うっ血、肝細胞の空泡形成及び門脈域の小円形細胞浸潤を認めた。一方、FU-PLA-mc 群の塞栓 14 日後における肝組織像所見は、小葉中心帯には肝細胞の腫大、淡明化、空泡形成などの変化が認められた (写真 5 A)。類洞には多核白血球、特に好酸球がやや目立って存在した (写真 5 B)。グリソン鞘内には小円形細胞と多核白血球、特に好酸球の浸潤が著明であり (写真 5 C)、肝細胞の巣状壊死による脱落と小円形細胞の浸潤集簇のみられた部分が散在した (写真 5 D)。また一部分に小葉単位の肝細胞脱落がみられ、同部には線維化、異物反応および

出血が認められた (写真 5 E).

考 察

化学塞栓療法の塞栓物質として、マイトマイシン C を主剤とする徐放性制癌製剤が報告されている^{22)~25)}.

一方、FU-PLA-mc の主剤は 5-FU である。下山ら²⁶⁾ および下山²⁷⁾ は、制癌剤を殺細胞作用から、濃度依存性作用群と時間依存性作用群に分類した。マイトマイシン C は前者に属し、5-FU は後者に属するとしている。すなわち、マイトマイシン C は、癌細胞との接触時間

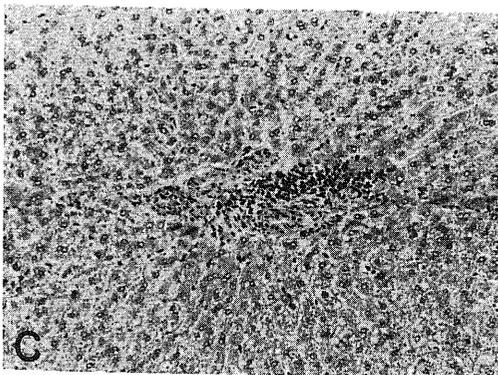
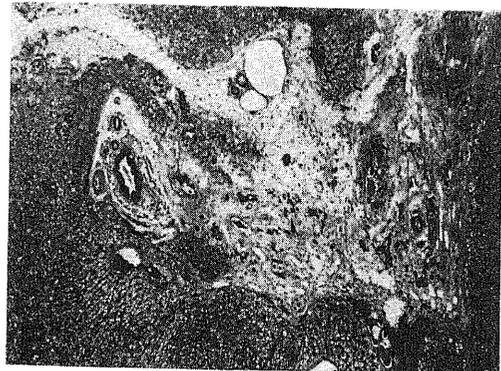
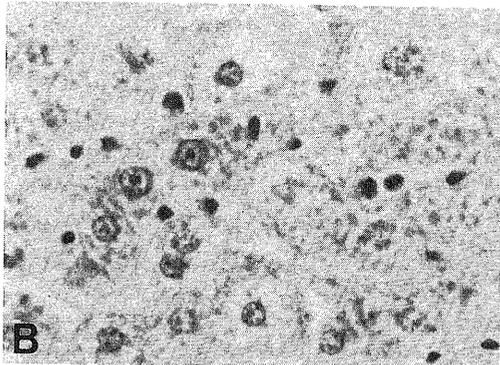
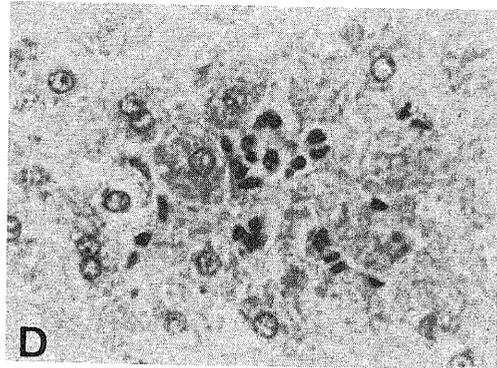
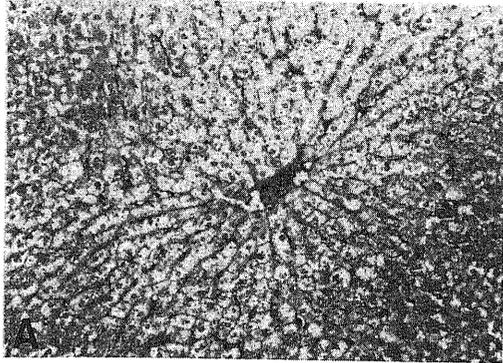


Photo 5. Microscopic findings of the liver after hepatic arterial embolization with FU-PLA-mc.

Photographs showed histological pictures of the liver on the 14th day after hepatic arterial embolization with FU-PLA-mc. A, swelling and vacuole degeneration of liver cells at the centrilobular area ($\times 100$); B, eosinophile infiltration in the sinusoid ($\times 400$); C, small mononuclear cell and eosinophile infiltration at the portal area ($\times 200$); D, focal necrosis and small mononuclear cell infiltration ($\times 400$); E, an area of collapse of hepatic parenchyma associated with fibrosis ($\times 20$).

が短時間であっても、高濃度であれば、殺細胞作用は増大するとされている。一方 5-FU は、癌細胞との接触時間が短時間であれば、殺細胞作用は僅小であるが、接触時間が長くなるにつれて、低濃度であっても、殺細胞作用は増大するとされている。このような観点から、徐放性制癌剤の主剤として、5-FU は妥当なものであると考えられる。

制癌剤に徐放性を付与する担体は、生体に対して無害であるだけでなく、生体が代謝、処理するような材質であることが重要である。前述した徐放性制癌剤の担体としては、エチルセルロースや仔牛血清アルブミンが用いられている。しかし、エチルセルロースは生体非分解性物質であり、また仔牛血清アルブミンは異種タン白である点で、徐放性制癌剤の至適基剤とは考え難い。

FU-PLA-mc の基剤はポリ L-乳酸である。ポリ乳酸は、ポリグリコール酸とともに、医用応用が大いに期待されている生体分解性高分子、ポリラクチド類である。ポリラクチド類は、主鎖骨格中に、比較的加水分解を受けやすいエステル結合を持ち、その分解生成物は、代謝サイクルに組みこまれて、最終的に H₂O と CO₂ とに分解され、吸収されるという性質を持っている。さらに、ポリグリコール酸とポリ L-乳酸は、結晶性高分子であり、熱に対して安定であるために、乾熱滅菌が可能である。

ポリグリコール酸は、外科用縫合糸 Dexon® (American Cyanamid Company 社) として、すでに、広く臨床面で利用されている。また岩ら¹²⁾、平野ら^{13)~15)}および平野¹⁶⁾は、5-FU とポリグリコール酸とを、高温下混合法を用いて複合させた徐放性制癌剤を開発し、切除不能型胃癌に対して臨床応用し、有効例を得ている。

ポリ乳酸は、Kulkarni ら²⁸⁾により、人工血管や外科用縫合糸の材料としての利用が示唆された。その後、1975 年には、Ethicon 社から、ポリ乳酸とグリコール酸との共重合体を材料とする外科用縫合糸が、Vicryl として市販され、その安全性は確認されているところである。また、動物実験において、骨接合材料²⁹⁾³⁰⁾や人工腱³¹⁾等としての利用が試みられ、その生体親和性は良好であるとされている。さらに、徐放性薬剤の基剤としての利用も試みられている³²⁾。岩ら¹⁷⁾および平野ら¹⁸⁾は、前述の 5-FU とポリグリコール酸との複合製剤の徐放時間の延長を図るために、基剤をポリ L-乳酸に変更し、良好な結果を得ている。

以上の諸知見から、ポリ L-乳酸は抗原性がなく滅菌可能な生体内分解物質であり、制癌剤をマイクロカプセル化する担体として至適基剤であると考えられる。

ところで FU-PLA-mc の大きさは直径約 200 μ m であるが、腫瘍動脈を塞栓し、最大の抗腫瘍効果を得るためには、より末梢での動脈塞栓が必要である。肝癌に対する肝動脈結紮術³³⁾や、Gelfoam 細片を用いた肝動脈塞栓術^{34)~37)}では、比較的早期の側副血行路の発生や塞栓動脈の再開通のために、十分な抗腫瘍効果が得られないことが報告されている。しかし、より末梢で動脈塞栓術を行うために、塞栓物質のサイズを小さくすると、肝不全や肝臓傷³⁸⁾の危険性があり、胃十二指腸穿孔や胆嚢塞栓の合併症³⁹⁾などが報告されている。また、肝硬変や肝癌については肝動脈—門脈吻合の存在が報告されており^{40)~44)}、あまりに小さい塞栓物質を使用すると、門脈塞栓をひきおこす危険性がある。一方、直径約 200 μ m 以下の肝内肝動脈は機能的終動脈とされ⁴⁵⁾⁴⁶⁾、このレベルで、動脈塞栓術を行うと肝内側副血行路は発生しにくいと報告されている³⁹⁾。以上のことから、FU-PLA-mc の大きさは 200 μ m 位が妥当であると思われる。

FU-PLA-mc の 5-FU 含有率は約 40% であり、徐放時間は 50 時間である。マイクロカプセル化制癌剤としては、5-FU 含有率が高いほど、また徐放時間が長いほど、得られる抗腫瘍効果は大であると考えられる。しかし、5-FU 含有率を高くすれば徐放時間が短くなり、また徐放時間を延長せしめるには、5-FU 含有率を低下せざるを得ないという薬剤調製上の問題がある。以上、5-FU 含有率 40%、徐放時間 50 時間という条件が最良であると考えられる。

先に述べたごとく、5-FU は時間依存性制癌剤であるが、抗腫瘍効果の増強と副作用の軽減を目的として、投与方法に種々の工夫が試みられている。すなわち、Curreri ら⁴⁷⁾や Ansfield ら⁴⁸⁾は、5-FU 15 mg/kg の静脈内投与を 5 日間続けた後、7.5 mg/kg の静脈内隔日投与を可及的長期間続ける方法を提唱した。その後、極めて強い副作用がみられたところから、2 時間点滴静注法⁴⁹⁾⁵⁰⁾、8 時間点滴静注法⁵¹⁾などが試みられるようになった。また、剤型変更によって、経口投与や経直腸投与なども行われている。しかし、これらの方法では、腫瘍組織内の 5-FU 濃度を有効濃度以上に維持し、十分な抗腫瘍効果を得るには、血中濃度を高値に維持せしめざるを得ないという難点がある。これらの欠点を補い、選択的に腫瘍内 5-FU を高濃度で、しかも長時間維持するための手段として、腫瘍動脈内注入療法⁵²⁾⁵³⁾が試みられ、その有用性が報告されている。

本研究においても、腫瘍動脈内への 5-FU 注入群で、腫瘍内 5-FU 濃度は血中濃度に比して高値を持続することができたが、さらに FU-PLA-mc 注入群のほうが 5-FU 群に比して、有意に高濃度を長時間にわたって

持続しうることが実証された。しかも、5-FUの有効腫瘍内濃度は、 $0.05 \mu\text{g/g}$ と報告されているが⁵⁴⁾、本研究においては、5-FUの含量が30mgに過ぎないFU-PLA-mc懸濁液を用いたにもかかわらず、72時間後の腫瘍内濃度が $2.1 \mu\text{g/g}$ と、有効濃度をはるかに上まわる高濃度が得られた。また、血中5-FU濃度については、5-FU群に比して、FU-PLA-mc群が低値であった。このことは、FU-PLA-mc懸濁液を腫瘍動脈に注入することによって、FU-PLA-mcは細動脈を塞栓し、徐々に5-FUが放出されるために、5-FUが血流に洗い流されることなく腫瘍組織内にとりこまれたためと考えられる。これらのことから、FU-PLA-mc懸濁液腫瘍動脈注入法は、時間依存性制癌剤の5-FUの投与方法として高く評価し得るものである。

抗腫瘍実験においても、他群に比してI群で著明な抗腫瘍効果が得られた。このことは前述したように、72時間にわたり $2.1 \mu\text{g/g}$ 以上の腫瘍内濃度が得られた5-FUの殺細胞作用と、腫瘍動脈の完全塞栓による虚血効果との相乗作用によると考えられる。一方、IV群においては、VX2腫瘍が比較的血管に乏しい腫瘍であるために、腫瘍動脈の完全塞栓による虚血効果単独では、充分な抗腫瘍効果が得られなかったものと考えられる。また、II群とIII群においては、一応の抗腫瘍効果が得られた。III群における抗腫瘍効果は、少なくとも4時間にわたり $0.6 \mu\text{g/g}$ 以上の腫瘍内濃度が得られた5-FUの殺細胞作用によると考えられる。一方II群における抗腫瘍効果は、腫瘍動脈の部分塞栓による虚血効果は少ないが、FU-PLA-mcから徐々に放出された5-FUの作用によるものと考えられる。しかも、中等量の5-FUを含むFU-PLA-mc投与のII群と、5-FUの大量投与のIII群における抗腫瘍効果は同程度のものであった。これらの点で、本製剤の効用は評価しうるものと考えられる。

ところで、Gelfoam細片を用いた肝動脈塞栓術の安全性については、実験的⁵⁵⁾⁵⁶⁾、臨床的⁵⁷⁾に確認されている。本研究においても、Gelfoam細片を用いた家兎肝動脈塞栓術後の血清トランスアミナーゼ値の上昇は、一過性のものであり、肝組織学的変化も軽微であった。一方、FU-PLA-mcを用いた肝動脈塞栓術後の血清トランスアミナーゼ値の上昇も、Gelfoam細片を用いた場合と差異がなかった。ただ、肝組織学的変化には若干の差異が認められた。すなわち、FU-PLA-mc群での軽度の肝炎類似変化と、一部分の梗塞性変化が認められた。これらの変化はFU-PLA-mcが末梢で肝動脈を塞栓することと、徐々に放出された5-FUが長時間、高濃度で作用したためと考えられる。従って、FU-PLA-mcを用いた肝動脈塞栓術を行うにあたっては、可及

的腫瘍動脈だけを塞栓するよう配慮すべきであることが示唆された。

結 論

悪性腫瘍に対する化学塞栓療法の効果増強を目的として、新しいマイクロカプセル化制癌剤FU-PLA-mcを開発し、その効果と作用性に関する基礎実験を行った。

1. 相分離法によって、5-FUを封入物質、ポリL-乳酸を被膜とするマイクロカプセル化製剤を調製した。本製剤は直径 $195.4 \pm 35.7 \mu\text{m}$ の粒状であり、5-FUを約40%濃度に含有している。

2. *In vitro*においてFU-PLA-mcからの5-FUの溶出は、2時間で20%、5時間で55%、20時間で90%であり、50時間後には100%と完全に溶出した。

3. 家兎大腿動脈よりFU-PLA-mc懸濁液(5-FU 30mg含有)を注入した後の血中5-FU濃度は、15分後に $1.03 \pm 0.16 \mu\text{g/g}$ 、30分後に $0.67 \pm 0.66 \mu\text{g/g}$ 、60分後に $0.37 \pm 0.06 \mu\text{g/g}$ 、120分後に $0.31 \pm 0.07 \mu\text{g/g}$ であった。5-FU(30mg)注射液注入群に比して有意に低く、徐放性のパターンを示した。

4. VX2腫瘍移植側大腿動脈より、5-FU(30mg)注射液を注入した後の腫瘍内5-FU濃度は、4時間後に $0.6 \pm 0.2 \mu\text{g/g}$ であった。一方、FU-PLA-mc(5-FU 30mg含有)群の腫瘍内5-FU濃度は、72時間後でも $2.1 \pm 0.5 \mu\text{g/g}$ であり、長時間にわたり高値が持続した。

5. FU-PLA-mcを用いた腫瘍動脈塞栓術群においては、局所腫瘍重量は経日的に減少し、移植28日後のT/Cは0.01%であった。肉眼的には、VX2腫瘍は退縮し、島状に残存しているに過ぎなかった。組織学的には、腫瘍全域に変性、壊死が認められた。一方、5-FU動注群、あるいはPLA-pcを用いた動脈塞栓術群では、局所腫瘍重量は漸増し、28日後のT/Cは、それぞれ22.2%、72.3%であった。両群ともに腫瘍増殖は著しく、巨大な腫瘍塊を形成していた。

6. FU-PLA-mcを用いた家兎肝動脈塞栓術の正常肝に与える影響は、血清トランスアミナーゼ値の一過性の上昇と、組織学的に軽度な肝炎類似変化と梗塞性変化がみられたに過ぎなかった。

以上の実験成績から、FU-PLA-mcは悪性腫瘍に対する化学塞栓療法に塞栓物質としてきわめて有用であることが示された。

この研究の一部は文部省科学研究費第58480275による。

謝 辞

稿を終わるに臨み、御指導、御校閲を賜りました恩師岩橋教授、また本研究に直接御指導、御助言を戴きました金沢大学がん研究所化学療法部越村三郎教授に、心から深謝致します。また、薬剤調製にあたり、多大な御協力を頂きました東京理科大学薬品物理化学教室近藤 保教授、荒川正幸博士、後藤 剛氏、三井東圧株式会社坂井勝也氏に深く感謝致します。

文 献

- 1) Benoy, C. J., Schneider, R., Elson, L. A. & Jones, M.: Enhancement of the cancer chemotherapeutic effect of the cell cycle phase specific agents methotrexate and cytosine arabinoside when given as a water-oil-water emulsion. *Eur. J. Cancer*, **10**, 27-33 (1974).
- 2) Yarkoni, E., Meltzer, M. S. & Rapp, H. J.: Tumor regression after intralesional injection of emulsified trehalose 6-6'-dimycolate; efficacy increases with oil concentration. *Int. J. Cancer*, **19**, 818-821 (1977).
- 3) Gregoriadis, G.: Drug entrapment in liposomes. *FEBS Letters*, **36**, 292-296 (1973).
- 4) Kobayashi, T., Kataoka, T., Tugugoshi, S. & Sakurai, Y.: Enhancement of anti-tumor activity of 1- β -D-arabinofuranosylcytosine by encapsulation in liposomes. *Int. J. Cancer*, **20**, 581-587 (1977).
- 5) Juliano, R. L. & Stamp, D.: Pharmacokinetics of liposome-encapsulated anti-tumor drugs; studies with vinblastine, actinomycin D, cytosine arabinoside, and daunomycin. *Biochem. Pharmac.*, **27**, 21-27 (1978).
- 6) 犬山征夫・小津雷助・堀内正敏・浅岡一之・中島康夫: 頭頸部悪性腫瘍に対する油性プレオマイシン局注療法. *耳鼻臨床*, **69**, 347-355 (1976).
- 7) 高橋俊雄・山口俊晴・河野研一・成沢富雄: 直腸癌に対する 5-FU 坐薬の術前投与. *癌と化学療法*, **5**, 1257-1267 (1977).
- 8) 近田千尋: フトラフル・ズボ. *癌と化学療法*, **5**, 457-462 (1978).
- 9) Klopp, C. T., Alford, T. C., Bateman, J., Berry, G. N. & Winship, T.: Fractionated intra-arterial cancer; chemotherapy with methyl bis amine hydrochloride. *Ann. Surg.*, **132**, 811-832 (1950).
- 10) Almgad, L. E., Fernström, I., Haverling, M. & Ljungqvist, A.: Treatment of renal adeno-

carcinoma by embolic occlusion of the renal circulation. *Brit. J. Urol.*, **45**, 474-479 (1973).

- 11) Doyon, D., Mouzon, A., Jourde, A. M., Regensberg, C. & Frileux, C.: L embolisation arterielle hepaticque cans les tumoeurs malignes du foie. *Ann. Radiol.*, **17**, 593-603 (1974).
- 12) 岩 喬・平野 誠・若狭林一郎・坂井勝也・中原理人: 体内吸収性高分子化合物と制癌薬の複合体による癌治療法の開発. *医学のあゆみ*, **121**, 1136-1138 (1982).
- 13) 平野 誠・若狭林一郎・市橋 匠・渡辺洋宇・岩 喬・中原理人・坂井勝也: 新しい埋込み用制癌剤-高分子複合の開発とその適用. *人工臓器*, **11**, 221-224 (1982).
- 14) 平野 誠・若狭林一郎・岩 喬・中原理人・坂井勝也: 徐放性制癌剤複合体の研究-ポリグリコール酸製剤について-. *人工臓器*, **11**, 1179-1182 (1982).
- 15) 平野 誠・酒徳光明・山下良平・岩 喬: 新しい徐放性制癌剤の研究-5-FU-ポリグリコール酸複合体針について-. *癌と化学療法*, **11**, 1569-1572 (1984).
- 16) 平野 誠: 徐放性制癌剤 5-Fluorouracil-Polyglycolic acid 複合体の基礎的ならびに臨床的研究. *日外会誌*, **85**, 1508-1517 (1984).
- 17) 岩 喬・平野 誠・山下良平・酒徳光明: 徐放性制癌剤の研究-5-FU-ポリ乳酸複合体針. *医学のあゆみ*, **128**, 655-656 (1984).
- 18) 平野 誠・酒徳光明・山下良平・岩 喬: 徐放性制癌剤複合体の研究-ポリ乳酸製剤について-. *人工臓器*, **13**, 1176-1179 (1984).
- 19) Ito, Y., Kimura, I. & Miyake, T.: Comparative studies on pathogenesis of two strains of transplantable carcinoma of rabbits, VX2 and VX7. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, **18**, 1106-1111 (1968).
- 20) 藤田 浩: 制癌剤の体内分布-測定法(第1部). *癌と化学療法*, **1**, 497-503 (1974).
- 21) Geran, R. I., Greenberg, N. H., Macdonald, M. M., Schumacher, A. M. & Abbott, B. J.: Protocols for screening chemical agents and natural products against animal tumors and other biological systems (Third Edition). *Cancer Chem. Rep.*, **3**, 47 (1972).
- 22) 加藤哲郎・根本良介・熊谷都太郎・西本 正・森久: マイクロバプセル化抗癌剤の研究 1. マイクロバプセル化マイトマイシンCの試作とその特性. *日癌治*, **14**, 152-156 (1979).
- 23) Kato, T., Nemoto, R., Mori, H., Takahashi,

- M., Tamakawa, Y. & Harada, M.: Arterial chemoembolization with microencapsulated anti-cancer drug. *JAMA*, **245**, 1123-1127 (1981).
- 24) Kato, T., Nemoto, R., Mori, H., Takahashi, M. & Harada, M.: Arterial chemoembolization with mitomycin C microcapsules in the treatment of primary or secondary carcinoma of the kidney, liver, bone and intrapelvic organs, **48**, 674-680 (1981).
- 25) 遠藤文夫・藤本 茂・橘川征夫・宮崎 勝・雨宮邦彦・大山欣昭・呉 正信・志村賢範・高橋 修・奥井勝二・森本雍憲・杉林堅次: 効果増強を目的とした制癌剤封入アルブミン小球体の基礎的検討. *医学のあゆみ*, **8**, 809-811 (1982).
- 26) 下山正徳・木村嬢代二: 各種抗がん剤の *in vitro* における殺細胞作用について. *最近医学*, **28**, 1024-1039 (1963).
- 27) 下山正徳: 制癌剤の cell-kill-kinetics と至適投与法. *癌と化学療法*, **3**, 1103-1110 (1976).
- 28) Kulkarni, R. K., Pani, K. C., Neuman, C. & Leonard, F.: Polylactic acid for surgical implants. *Arch. Surg.*, **93**, 839-843 (1966).
- 29) Cutright, D. E. & Hunsuck, E. E.: The repair of fractures of the orbital floor using biodegradable polylactic acid. *Oral Surg.*, **33**, 28-35 (1972).
- 30) Getter, L., Cutright, D. E., Bhaskar, S. N. & Augsburg, J. K.: A biodegradable intraosseous appliance in the treatment of mandibular fractures. *J. Oral Surg.*, **30**, 344-348 (1972).
- 31) Alexander, H., Parsons, J. R., Strauchler, I. D., Corcoran, S. F., Gona, O., Mayott, C. & Weiss, A. B.: Canine patellar tendon replacement with a polylactic acid polymer-filamentous carbon degrading scaffold to form new tissue. *Orthopaedic Review*, **10**, 41-51 (1981).
- 32) Wakiyama, N., Juni, K. & Nakano, M.: Preparation and evaluation *in vitro* of polylactic acid microspheres containing local anesthetics. *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 3363-3368 (1981).
- 33) Koehler, R. E., Korobkin, M. & Lewis, F.: Arteriographic demonstration of collateral arterial supply to the liver after hepatic artery ligation. *Radiology*, **117**, 49-54 (1975).
- 34) Stigsson, L., Ekelund, L., Jonsson, N. & Sjögren, H. O.: Transcatheter arterial embolization of experimental hepatic tumors in the rat. *Acta. Radiol. Diagn.*, **20**, 422-432 (1979).
- 35) Chuang, V. P. & Wallace, S.: Hepatic artery embolization in the treatment of hepatic neoplasms. *Radiology*, **140**, 51-58 (1981).
- 36) 大石 元・大上庄一・葛城正己・松尾尚樹・吉川公彦・村田敏彦・細木靖弘・打田日出夫: 肝細胞癌塞栓術後の経時的血管造影像の検討. *臨放*, **27**, 1235-1241 (1982).
- 37) 大友 邦・古井 滋・吉川宏起・八代直文・荒木力・坂井悠二・飯尾正宏: 肝細胞癌に対する経カテーテル的動脈塞栓術後の肝外性側副血行路. *臨放*, **28**, 763-766 (1983).
- 38) Doppman, J. L., Girton, M. & Kahn, E. R.: Proximal versus peripheral hepatic artery embolization; experimental study in monkeys. *Radiology*, **128**, 577-588 (1978).
- 39) Burgener, F. A. & Göthlin, J. H.: Angiographic, microangiographic and hemodynamic evaluation of hepatic artery embolization in the rabbit. *Invest. Radiol.*, **13**, 306-312 (1978).
- 40) Hales, M. R., Allan, J. S. & Hall, E. M.: Injection-corrosion studies of normal and cirrhotic livers. *Am. J. Path.*, **35**, 909-941 (1959).
- 41) Viamonte, M. Jr., Martinez, L., Parks, R. E., Warren, W. D. & Fomon, J.: Liver Shunts. *Am. J. Roentgenol.*, **102**, 773-775 (1968).
- 42) Okuda, K., Moriyama, M., Yasumoto, M., Jinnouchi, S., Shimokawa, Y., Nakayama, T., Kanda, Y., Fukuyama, Y., Musha, H., Kuratomi, S. & Nakashima, T.: Roentgenologic demonstration of spontaneous reversal of portal blood flow in cirrhosis and primary carcinoma of the liver. *Am. J. Roentgenol.*, **119**, 419-428 (1973).
- 43) Okuda, K., Musha, H., Yoshida, T., Kanda, Y., Yamazaki, T., Jinnouchi, S., Moriyama, M., Kawaguchi, S., Kudo, Y., Shimokawa, Y., Kojiro, M., Kuratomi, S., Sakamoto, K. & Nakashima, T.: Demonstration of growing casts of hepatocellular carcinoma in the portal vein by celiac angiography: the thread and streaks sign'. *Radiology*, **117**, 303-309 (1975).
- 44) Adler, J., Goolgold, M., Mitty, H., Gordon, D. & Kinkhabwala, M.: Arteriovenous shunts involving the liver. *Radiology*, **129**, 315-322 (1978).
- 45) Walter, J. F., Passo, B. T. & Cannon, W. B.: Successful transcatheter embolic control of massive hematemesis secondary to liver biopsy. *Am. J.*

Roentgenol., 127, 847-849 (1976).

46) Jander, H. P., Laws, H. L., Kogutt, M. S. & Mihas, A. A.: Emergency embolization in blunt hepatic trauma. Am. J. Roentgenol., 129, 249-252 (1977).

47) Curreri, A. R., Ansfield, F. J., Melver, F. A., Waisman, H. A. & Heidelberg, C.: Clinical studies with 5-fluorouracil. Cancer Res., 18, 478-484 (1958).

48) Ansfield, F. J., Schroeder, J. M. & Curreri, A. R.: Five years clinical experience with 5-Fluorouracil. JAMA., 181, 295-299 (1962).

49) Klant, M. J.: Alteration in the administration of 5-Fluorouracil, experiences with two-hour infusion. Cancer Chemother. Rep., 15, 35-39 (1961).

50) 三浦 健: 5-FUによる癌の化学療法の検討. 医学のあゆみ, 65, 151-162 (1968).

51) Lemon, H. M.: Reduction of 5-Fluorouracil toxicity in man with retention of anticancer effects by prolonged intravenous administration in 5% dextrose. Cancer Chemother. Rep., 8, 97-101 (1964).

52) Helsper, J. T. & deMoss, E. V.: Regional intraarterial infusion of 5-Fluorouracil for cancer. Surgery, 56, 340-348 (1964).

53) 太田 潤: 動注化学療法における5-Fluorouracilの至適投与法に関する実験的研究(第2報)-投与方法による腫瘍内・組織内薬剤濃度と効果・副作用. 癌と化学療法, 10, 2362-2369 (1983).

54) 江口実美・原 泰寛・河野 彬・田中睦子: 局所動注による制癌剤5-FU組織内濃度から推定される有効濃度について. 癌と化学療法, 6, 373-377 (1979).

55) Cho, K. J., Reuter, S. R. & Schmidt, R.: Effects of experimental hepatic artery embolization on hepatic function. Am. J. Roentgenol., 127, 563-567 (1976).

56) 佐藤守男・山田龍作: 肝細胞癌に対する肝動脈塞栓治療法の基礎的臨床的検討. 日医放会誌, 43, 977-1005 (1983).

57) Yamada, R., Sato, M., Kawabata, M., Nakamura, K. & Takashima, S.: Hepatic artery embolization in 120 patients with unresectable hepatoma. Radiology, 148, 397-401 (1983).

Basic and Experimental Studies on a New Anticancer Chemoembolic Material Mitsuaki Sakatoku, Department of Surgery (1), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 - J. Jusen Med. Soc., 94, 193-207 (1985)

Key words: chemoembolization, VX2 tumor, microcapsule, 5-Fluorouracil

Abstract

An attempt was made to develop a new anticancer drug inducing enhanced tumor response to arterial chemoembolization therapy. Then, 5-Fluorouracil (5-FU) was microencapsulated with poly L-lactic acid by the organic phase separation technique. This granular preparation containing 5-FU (FU-PLA-mc) was about 200 μm in diameter and was about 40% in 5-FU content. The release of 5-FU *in vitro* from FU-PLA-mc gradually increased, extending over 50 hours to reach the maximum level. When 75 mg of FU-PLA-mc (5-FU content, 30 mg) or 30 mg of 5-FU was infused into normal rabbits through femoral arteries, the maximum level of 5-FU in blood was $1.03 \pm 0.16 \mu\text{g/g}$ in FU-PLA-mc treated group and was $2.28 \pm 0.22 \mu\text{g/g}$ in 5-FU treated group respectively at 15 minutes after infusion. Meanwhile, arterial infusion of the same dosage of FU-PLA-mc or 5-FU into VX2 tumor-bearing rabbits resulted in the production of high level of 5-FU ($2.1 \pm 0.5 \mu\text{g/g}$) in the tumor tissue of the former even after 72 hours, whereas that of 5-FU infusion was only $0.6 \pm 0.2 \mu\text{g/g}$ after 4 hours. *In vivo* antitumor effect of FU-PLA-mc was significantly demonstrated; when a large dose (75 mg/head) of FU-PLA-mc was administered to VX2 tumor-bearing rabbits through arterial infusion, the T/C ratio of the mean tumor weight was 0.01% on the 28th day after tumor transplantation. However, administration of a small dose

(30 mg/head) of FU-PLA-mc, 30 mg of 5-FU or 40 mg of poly L-lactic acid particle (blank) was less effective, indicating 24.6, 22.2 and 72.3% in the T/C ratio, respectively. Subsequently, influences of hepatic arterial embolization with FU-PLA-mc on livers of normal rabbits were examined as to hepatic function and histological findings of the liver. After inducing embolization, the value of serum transaminases, GOT and GPT, was transiently increased, and hepatitis-like changes and lobular necrosis in the treated liver were partially observed.