

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461873

研究課題名(和文) 肝動脈化学塞栓術におけるナノミセルを用いた薬剤導入と集積方法に関する研究

研究課題名(英文) Recerch of the concentration technique of anticancer drug using intra-arterially nano micellar aggregation as a nano-DDS.

研究代表者

南 哲弥 (Minami, Tetsuya)

金沢大学・大学病院・准教授

研究者番号：60436813

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：ナノミセル凝集体はナノDDSとして腫瘍に対する効率的な薬剤導入方法であるとされている。このようなナノ粒子は一般的には一辺が100nm未満の物質と定義されており、多くの薬剤が効率よく腫瘍に集積し副作用を減らすことができるという劇的な効果をもたらしている状況である。一方で多血性腫瘍の分野においては現在マイクロスフィアが臨床使用されており、抗癌剤を含浸させた粒子を経動脈性に投与し、抗癌剤が徐放されることにより抗腫瘍効果が得られている。今回我々はラット、家兎の正常肝・腫瘍肝におけるナノ粒子と薬剤溶出性のマイクロスフィアでの組織の薬剤分布計測を行い、ナノ粒子がより効率的である可能性を示唆する知見を得た。

研究成果の概要(英文)：Nano micellar aggregation as a nano-DDS (drug driver system) have provided many improvements of effective target treatment of solid tumors. Nanomaterials are defined as substances smaller than 100nm. They have unique properties and function compared with conventional materials such as microsphere (microbead). We perfomed thrrapeutic experiment using rabbits and rats intra-arterially. The results shows higher potential of drug distribution in the tumor compared to microsphere.

研究分野：インターベンショナルラジオロジー

キーワード：肝動脈塞栓術

#### 1. 研究開始当初の背景

肝癌に対する治療法として塞栓術が確立している。本治療法は我が国によって初めて導入された方法で、現在は抗癌剤を半液状塞栓物質に混和(リピオドールエマルジョン)させて経動脈性に注入した後に固形の塞栓材を注入することにより効果を高めている。これに代わる治療として本研究が始まった後に欧米で使用されている抗癌剤吸着可能粒子(マイクロサイズ)が本邦でも市販化され、入手可能となった。一方で、抗癌剤を効率的に腫瘍内への導入し副作用発現を抑制するドラッグデリバリーシステム(DDS)として抗癌剤ナノ粒子が注目されている。我々はこのようなナノ DDS を作成し、経動脈的に腫瘍へと投与することで腫瘍に対して効果的に、且つ全身性副作用を軽減できる治療法が開発できると考えられた。さらに、観察方法として磁性を持つ DDS であれば磁気共鳴システムを用いることで非侵襲的に可視化できる可能性や、経動脈性に血管作動性物質を用いることによる一時的血管透過性亢進を利用した薬剤導入のさらなる高効率化を目指すことも重要であると考えられた。

#### 2. 研究の目的

薬剤担体としてのナノミセル DDS の作成。さらにこの DDS を用いて経動脈的に家兎肝ならびに、その腫瘍モデルの腫瘍内に動注し、薬剤の集積度を評価することを目的とした。対照として、従来の油性造影剤と水溶性抗癌剤のエマルジョンならびにマイクロ粒子としての薬剤含浸可能な球状塞栓物質を用いて比較することとした。

#### 3. 研究の方法

従来使用してきた油性造影剤と水溶アントラサイクリン系抗癌剤のエマルジョンはその混合比により oil in water あるいは water in oil エマルジョンとして投与されていた。この粒子の観察では安定化していないマイクロサイズの粒子が作成されるのみであった。一方、磁気共鳴イメージングで造影剤として利用される常磁性ナノ粒子への抗癌剤封入を高温、高圧状態にて試作。さらには油分を水溶成分ないに分散させてエマルジョンかさせる乳化能の高いレシチンや非イオン性界面活性剤であるポリオキシエチレンエーテルを用いて乳化したエマルジョンについて作成観察を行った。動物実験については当初ミニブタを用いた実感も考慮していたが、家兎のサイズに対してでも経大腿動脈経路でカテーテルを肝動脈まで導入し、処置を行える実験系を確立し、さらに同一固体に対して複数回の血管造影やインターベンションを行い経時的な観察を可能とした。この手法を用いて経動脈的に直接薬剤の注入を行いえた。腫瘍モデルについても家兎を利用することができるようになった。研究目的の正確な遂行には肝細胞癌モデルが理想的ではあるが、家兎では困難である観点からまずは VX2 肝腫瘍植え込みモデルを用いて同様の

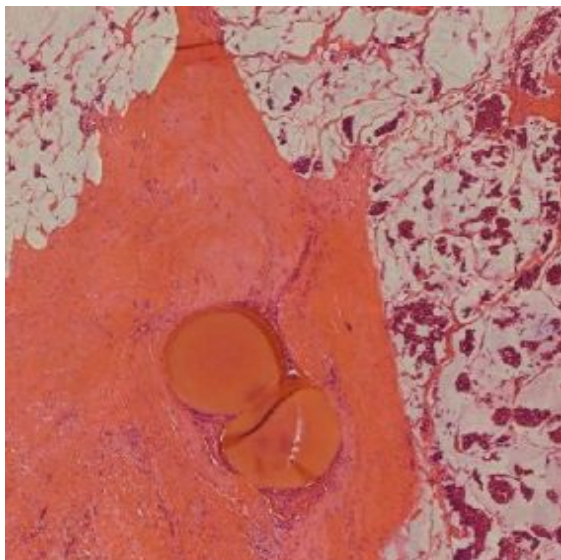
経動脈的な方法で薬剤動注を施行した。肝癌モデルについてはラットを用いることが理想的であると判断されたが、現時点ではラットの血管造影ならびにインターベンションについては実験実行中であるものの複数回の手技に耐えうる状況ではない。この点についてはさらなるデバイスの改良や手技確立について検討中の事項である。

#### 4. 研究成果

ナノ粒子作成については安定化した粒子作製が困難であり、サンプルの取り寄せあるいは市販化された薬剤であるアルブミン・パクリタキセルの結合ナノ粒子を用いて実験。観察を行った。ナノ粒子の抗腫瘍剤として使用されているナブパクリタキセルについては、経カテーテル的に比較的容易に使用可能であり、今回の実験では動注用薬剤として使用を試みた。マイクロサイズの粒子としてはゼラチンコーティングアクリル系共重合体非吸水性マイクロスフィアであるエンボスフィアと架橋化ポリビニルアルコールポリマー親水性樹脂からなるマイクロスフィアであるディーシービーズを使用している。後者は陽性電荷を持つアントラサイクリン系抗癌剤等を含浸することが可能であり、肉眼的にも赤い色調をしているので、容易に観察可能であるという特徴を有している。この粒子にエピルピシンを含浸させた薬剤溶出性マイクロスフィアとしても同様に肝動脈を選択的に動注塞栓した。

なお、ナブパクリタキセルのようなタキサン類の肝癌への効果については否定的であるとされているが、長期の抗腫瘍効果の観察を行う実験ではなく、動態観察であるという観点と比較的入手が容易なナノ粒子であるという観点から、今回の実験で使用するに至った。X線透視下で動注手技を行う点からナブパクリタキセル 50mg を 10ml 水溶性造影剤にと混和させたものと 50mg を従来より肝細胞癌の治療に際してエマルジョンを作成して選択的に腫瘍血管に動注する薬剤担体であるリピオドール 8ml と水溶性造影剤 2ml の混和させたものをそれぞれ選択的に動注した。実験中の X線透視下における視認性については後者が良好であった。組織学的な分布状況については水溶性造影剤による溶解にての動注の方が良好であると考えられた。油性造影剤であるリピオドールにより十分な血流内への流入が困難となったために差異が生じたものと考察された。実際の肝癌の発生の母地となっている硬変肝においては臓器の動脈血化と胆管周囲動脈叢が発達しているため、微細粒状化したリピオドールが至適なサイズとなるという意見もあるが、今回のような正常肝についてはそのシミュレーションが不十分になってしまうと思われる。今後は自然な free flow 下ではなくバルーン閉塞により強制的に薬剤を注入することでさらに良好な結果が得られるようにすることも考慮している。このような実験に関してはす

でに我々の研究グループにおいて豚肝動脈からの注入により、エチレンビニルアルコール樹脂が胆管周囲動脈叢を通じて門脈域までの塞栓が可能となった。結果を報告しており、より小型の動物においても実験観察が行えるように実験系を整えている。

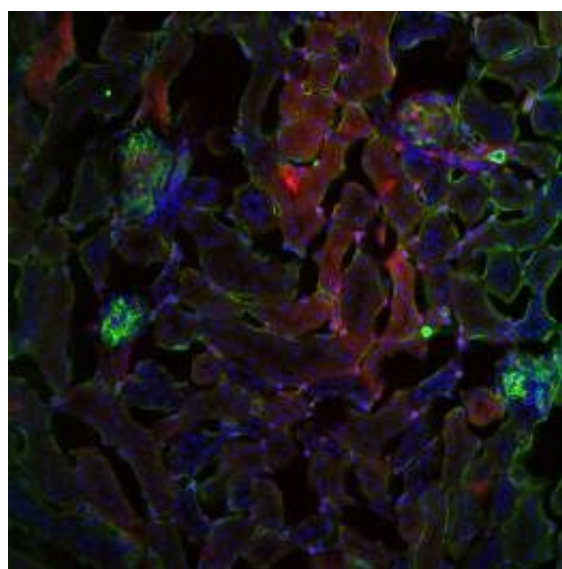
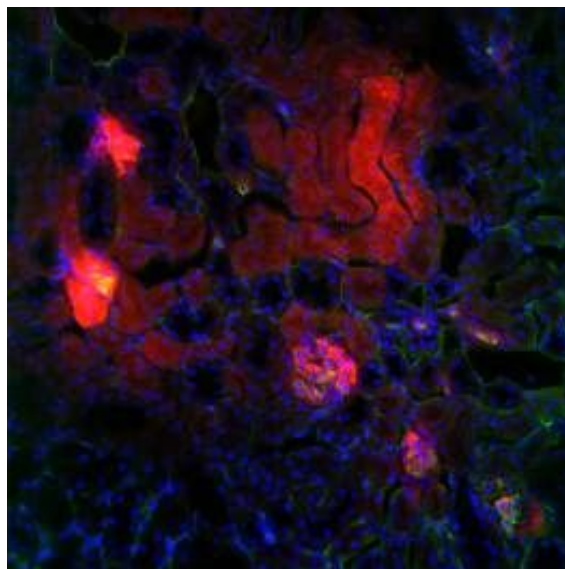


(組織内のマイクロスフィア)

マイクロスフィアにおける塞栓実験については正常肝、VX2 腫瘍肝ともに組織の血管の発達が乏しく、液状あるいは半液状のエマルジョン動注よりもより不十分な集積効果が得られないという結果に終わっている。薬剤溶出性球状塞栓物質からの薬剤溶出は粒子から 1mm 未満であることを考慮すると腫瘍内と腫瘍周辺のいわゆるセーフティーマージンといわれる領域に溶出する抗癌剤量は不十分なものであると言わざるを得ない。しかしながらこのことについては、人における通常の肝癌は、硬変肝に生じ、肝全体の動脈血化ならびに胆管周囲動脈叢の発達により異常拡張した動脈にマイクロスフィアが分布できうる可能性があるとも考えられた。したがって、従来より臨床で行われているようにマイクロサイズが到達可能な部位からの薬剤溶出で十分な薬剤効果と(腫瘍)組織阻血効果が得られているものと考えられた。

今回の検討では拡張していない動物モデルにおいてもナノ粒子はマイクロ粒子に比して良好なドラッグデリバリーが可能であることが示唆された。動注後の塞栓についてはその有無による組織学的な変化を観察することによりより効果的な治療が期待出来る。さらに、肝細胞癌のような多血性腫瘍意外にも乏血性の腫瘍についてもナノサイズの粒子であれば効率的に薬剤を動注、導入が出来る可能性が示唆された。

さらに、追加の実験として今回は血管透過性亢進因子を付加した状況でも薬剤の導入実験と追加した。血管透過性亢進状態は炎症時に局所にて発現している状況であるが、腫瘍に対しての薬剤注入をより効果あるものとするために局所に注入し、それと同時に薬剤あるいはナノ・マイクロサイズの塞栓物質を注入することにより組織内の塞栓物質集積性や薬剤集積の効率化を目指すものである。



(上段が血小板化性因子 (PAF) を注入した組織で下段が注入していない組織)

今回の実験では VX2 腫瘍モデルでの薬剤透過性亢進については証明できなかった。しかしながら上記図は系球体における ICG の漏れを画像化することができ、このような変化については肝組織でも生じていると考えられた。血管透過性亢進物質との同時使用についてはサブナノサイズ粒子の透過性亢進は得ら

れるとされている。ナノサイズの粒子についてはどの程度のものから血管作動物質による効果が得られるかは残念ながら不明であり、今後の課題となった。しかしながらサブナノサイズの粒子あるいは液状薬剤を先行注入し、塞栓を加えることで治療の効果を高めることも考慮に入れて実験を進めることも視野に入れて種々の実験を遂行していく必要があると考えられた。

#### <引用文献>

Ogi T, Matsui O, Sanada J, Minami T, Kozaka K, Inoue D, Gabata T. Forcible intraarterial injection of a nonadhesive liquid embolic agent under microballoon occlusion: experimental study in swine liver. J Vasc Interv Radiol. 25 巻, 2014, 579-585

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 2 件)

南 哲弥、眞田 順一郎、小林 聡、他 10 名、Conventional TACE 不応肝細胞癌症例に対する DEB-TACE、IVR: Interventional Radiology、査読なし、Vol. 30、No. 2、2015、pp. 126-131

南 哲弥、眞田 順一郎、小林 聡、他 12 名、TACE 不応後の治療方針 Beads TACE (DEB-TACE)、肝・胆・膵、査読なし、Vol. 70、No. 1、2015、pp. 109-116

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：

取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

南 哲弥 (MINAMI, Tetsuya)  
金沢大学附属病院・准教授  
研究者番号：60436813

##### (2)研究分担者

小林 聡 (KOBAYASHI, Satoshi)  
金沢大学・保健学系・教授  
研究者番号：30313638

香田 渉 (KODA, Wataru)  
金沢大学・医学系・准教授  
研究者番号：30401920

吉田 耕太郎 (YOSHIDA, Kotaro)  
金沢大学・医学系・助教  
研究者番号：30645130

##### (3)連携研究者

なし