

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 31 日現在

機関番号：32666

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2015～2016

課題番号：15H06650

研究課題名(和文)単分散系エマルジョンを用いた革新的薬剤送達系に関する基礎的検討

研究課題名(英文)Fundamental study for the development of novel drug delivery system using mono-dispersed emulsion

研究代表者

安井 大祐(Daisuke, Yasui)

日本医科大学・医学部・助教

研究者番号：00755001

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：膵癌に対する高濃度抗癌剤投与を可能とするため、新たな薬剤送達系の開発を行った。癌組織と正常組織の微小循環の違いに着目し、正常組織には残留せずに癌組織に停滞する、極めて細径のエマルジョンを作成することを目指した。このため抗癌剤とリピドールを手動的に混和する従来のエマルジョンを改良することとした。界面活性剤を使用し、SPG膜という内部に均一な径の孔を有するガラス膜を使用することで、単一な粒子径を有するw/o/wエマルジョン(単分散系エマルジョン)の作成に成功した。粒子径測定ではエマルジョン径がほぼ均一であることが示された。本研究で得られた基礎的知見は今後の臨床応用の礎になるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Novel drug delivery system was developed to administer highly concentrated anticancer agents to pancreatic cancer, while minimizing normal tissue damage. Ultra-small sized emulsion was developed, which will pass through the normal tissue but will remain in the cancer tissue due to difference in microvascular architecture. Emulsion has been prepared by manually mixing anticancer agent and Lipiodol. In novel method, detergent was added and SPG membrane, which has small uniform-sized multi pore inside, was used to prepare emulsion. Mono-dispersed w/o/w emulsion was obtained, which was verified by particle size measurement. Findings obtained in this experimental study will be fundamental to clinical application of the emulsion.

研究分野：放射線医学

キーワード：抗癌剤 エマルジョン 膜乳化

1. 研究開始当初の背景

膵癌は今後増加が懸念される悪性腫瘍である。悪性度が高く、集学的治療の発展によっても目覚ましい予後の改善までは至っていない。治療の主軸は手術治療であるが、手術可能な症例は全体の15~20%程度にすぎず、手術で完全切除できた症例でさえ、5年生存率は20%程度である。手術不能症例に対する標準的治療は化学療法であるが、中央生存期間は11ヶ月程度であり、良好な成績とは言い難い。しかし稀ながら局所進行癌に対する化学療法が奏功して、手術への転換が可能となり、長期生存が得られる症例も存在する。腫瘍の縮小、並びに手術への転換の観点からは、局所の抗癌剤濃度を高めることが有効と考えられ、抗癌剤の動注療法がこれまで研究されてきた。しかし特に膵頭部癌において、腫瘍と十二指腸の栄養血管はしばしば分離困難であることから、腸管障害が投与薬剤の最大量を規定する因子となる。従って治療効果を向上させるためには、従来の抗癌剤とは異なった薬剤送達系が必要である。

そこで正常腸管と癌組織の微小血管構築に着目した。正常の十二指腸では、細動脈から分岐した毛細血管は、粘膜面において蜂巢状のネットワークを形成していることが知られている。ネットワークを構成する血管の径は10 μ mほどで比較的均一であり、細静脈へと接続している。また正常膵実質においては、細動脈と細静脈の間に生理的な短絡路が存在し、一部の血流が島組織へ分布する様になっている。これに対して、腫瘍血管においては、末端において途絶が見られることが知られている。また腫瘍組織内においては、血管透過性の亢進・リンパ管閉塞によって生じた間質圧の上昇の結果、血流速度が著しく低下し、組織内pHが低下していることが知られている。従って正常組織においては、均一な血管径を有するネットワーク内に十分な血流が得られているのに対し、腫瘍組織においては、血流が停滞し、血管の末梢が途絶しているという様に、血管構築に大きな差異がある。

このような血管構築の差異を最大限活用する方法として、抗癌剤と油性造影剤であるリピオドールを混合して作成される、「エマルジョン」を使用することとした。エマルジョンは、肝細胞癌に対する肝動脈化学塞栓術において、従来から使用されている。通常のエマルジョンは界面活性剤を使用することなく、手動的に作成される。しかしこの方法ではエマルジョンの径が大きく不均一となってしまうため、正常血管内に捕捉され、虚血性障害を招く危険がある。このため、均一で小さな径のエマルジョンを作成する必要がある。本研究では解決策として、膜乳化法を用いた単分散系エマルジョンを使用した。これは均一な孔を有する多孔性ガラスを用いることで、粒子径の均一なエマルジョンを作成する方法である。細血管径に比して十

分小さなエマルジョンを投与した場合、血流の豊富な正常腸管の毛細血管網を通過することは可能だが、盲端となっている腫瘍血管では捕捉されるものと考えられる。また前述のとおり、腫瘍組織内のpHは低下していることが知られている。低pH環境下ではエマルジョン表面の電荷が変化し、凝集反応が惹起され得ることが知られている。従って腫瘍組織内に到達したエマルジョンは凝集しやすく、リピオドールと抗癌剤が分離し、腫瘍組織内で薬剤が徐々に放出されると考えられる。

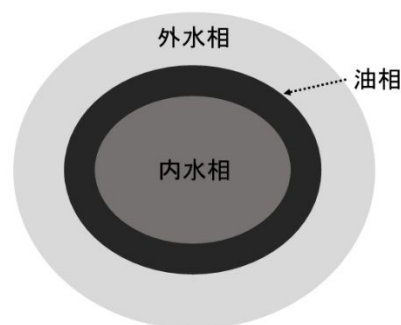
2. 研究の目的

前述のごとく、正常腸管の毛細血管ネットワークを通過し得るような細径かつ均一径の抗癌剤-リピオドールエマルジョンを作成し、その安定性や粒子径を検証することを目的として研究を行った。

3. 研究の方法

まず安定的なエマルジョン作成を試みた。内水相としてエピルピシン水溶液を、油相としてはリピオドールを含むw/o/wエマルジョンを作成した(以下の図を参照)。界面活性剤に関していくつかの組み合わせを検討した。w/o/wエマルジョンの作成には、シラス多孔性ガラス膜(以下SPG膜)を使用した直接膜乳化法を採用した。これはまず一次乳化を行い、w/oエマルジョンを作成した後、内部孔のサイズが均一なSPG膜を用いてw/o/wエマルジョンを作成する方法である。3 μ m及び5 μ mのSPG膜を使用し、検討を行った。安定性の検証として、pH7.4、36に調整した溶液内で安定性を確認した。また電子マイクロスコープによる粒子径測定を行い、粒子径のピーク及び分散を求めた。

W/O/W emulsion



4. 研究成果

エマルジョンの安定的な作成に難渋した。まず界面活性剤の選定を行った。いくつかの組み合わせを試した後、ポリオオキシエチレン硬化ヒマシ油(HCO-40)とポリグリセリン脂肪酸エステルを使用することが望ましいと判明した。また最初は手動的に一次乳化を行ったが、得られるw/oエマルジョンが不均一となってしまう、単位粒子あたりの抗癌剤量にばらつきが生じてしまう可能性があるこ

とがわかった。このためいくつかの乳化法を試した結果、攪拌型のホモジェナイザーを使用することとした。

作成されたエマルジョンを血中環境に模したピーカー内(pH 7.4, 36℃)で静置したところ、30分間以上安定していることが確認された。このことから対外で作成されたエマルジョンをヒトの血中内に投与しても、安定した状態で対象組織へ到達する可能性が高いと考えられた。

粒子径測定に関しては、レーザー回折法・散乱法などを用いた粒度分析が望ましいと考えられたが、コスト面で困難であったため、電子マイクロスコブを用いてw/o/wエマルジョンの粒子径を各々測定し、分布曲線を求めた。この結果、粒子のピークは使用する乳化膜のおよそ3倍程度となり、均一な分布の粒子が得られることが判明した。つまり3μmのSPG膜を使用した場合には、およそ10μm程度のw/o/wエマルジョンが得られると考えられ、毛細血管を通過させるのに必要な要件を満たしていると考えられた。これらの知見は単分散系エマルジョンの臨床応用の礎となると考えられる。

残念ながらエマルジョン作成及びその検討に時間を要したため、期間内に動物実験に移行することができなかった。臨床応用を目指す上での今後の展望としては、生体内での動態の確認、正常組織と癌組織での動態の違いの検証(正常組織においては毛細血管ネットワークを通過するのに対して、癌組織内に停滞するという仮説が正しいのか)を動物実験で検証する必要があると考えられる。また本研究結果は脾の動注療法のみならず、肝動脈化学塞栓術等にも応用可能であると考えられる。従来法のエマルジョンではなく、より均一な径のエマルジョンを投与することで、治療効果の改善が得られる可能性があると考えられる。

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6件)

- 1) Ueda T, Murata S, Miki I, Yasui D, Sugihara F, Tajima H, Morota T, Kumita S. Endovascular Treatment Strategy Using Catheter-Directed Thrombolysis, Percutaneous Aspiration Thromboembolectomy, and Angioplasty for Acute Upper Limb Ischemia, Cardiovascular and Interventional Radiology. doi:10.1007/s00270-017-1599-z 査読あり
- 2) Sugihara F, Murata S, Ueda T, Yasui D, Yamaguchi H, Miki I, Kawamoto C, Ushida E, Kumita S. Haemodynamic changes in hepatocellular carcinoma and liver

parenchyma under balloon occlusion of the hepatic artery. European Radiology. doi: 10.1007/s00330-016-4573-2. 査読あり

- 3) Onozawa S, Murata S, Mine T, Sugihara F, Yasui D, Kumita S. Amplatzer Vascular Plug Anchoring Technique to Stabilize the Delivery System for Microcoil Embolization. Cardiovascular and Interventional Radiology 2016; 39: 750-760. doi: 10.1007/s00270-015-1248-3. 査読あり
- 4) Murata S, Onozawa S, Sugihara F, Sakamoto A, Ueda T, Yamaguchi H, Yasui D, Mine T, Kumita S. Feasibility and Safety of Negative-Balance Isolated Pelvic Perfusion in Patients with Pretreated Recurrent or Persistent Uterine Cervical Cancer. Annals of Surgical Oncology 2015; 22: 3981-3989. 査読あり
- 5) Murata S, Onozawa S, Ueda T, Sugihara F, Yasui D, Kumita S. Retrograde-outflow percutaneous isolated hepatic perfusion using cisplatin: A pilot study on pharmacokinetics and feasibility. European Radiology 2015; 25: 1631-1638. 査読あり
- 6) Murata S, Onozawa S, Mine T, Ueda T, Sugihara F, Yasui D, Kumita S, Shimizu A, Satake M. Minimizing Systemic Leakage of Cisplatin during Percutaneous Isolated Pancreas Perfusion Chemotherapy: A Pilot Study. Radiology 2015; 276: 102-109. 査読あり

〔学会発表〕(計6件)

- 1) 安井大祐, 村田智, 上田達夫, 杉原史恵, 三樹いずみ, 齋藤英正, 竹下俊行, 横田裕行, 汲田伸一郎 産科出血に対する経皮的動脈塞栓術の有用性に関する検討, 第53回腹部救急医学会総会 2017/3/2 神奈川県・横浜市
- 2) Yasui D, Murata S, Ueda T, Sugihara F, Yamaguchi H, Miki I, Saitou H, Kumita S. Trans-splenic approach for portal intervention in the presence of massive portal vein thrombosis and ascites. CIRSE 2016, 2016/9/14 パルセロナ (スペイン)
- 3) Yasui D, Murata S, Ueda T, Sugihara F, Yamaguchi H, Miki I, Tani N, Uchida E, Kumita S. Ischemic complication following isolation of the parent artery for postoperative bleeding after hepatopancreatobiliary surgery World Congress of IASGO 2016 2016/9/8 ソウル (韓国)

- 4) 安井大祐, 村田智, 上田達夫, 山口英宣, 杉原史恵, 三樹いずみ, 齋藤英正, 川本智章, 横田裕行, 汲田伸一郎 経皮経肝穿刺が困難な症例に対する経皮経脾静脈アプローチによる門脈系 IVR 第 45 回日本 IVR 学会総会, 2016/5/1 愛知県・名古屋市
- 5) 安井大祐, 村田智, 上田達夫, 杉原史恵, 谷合信彦, 内田英二, 汲田伸一郎 術後出血に対する固有・総肝動脈の Isolation の有効性と安全性に関する検討 第 52 回腹部救急医学会総会, 2016/3/3 東京
- 6) Yasui D, Murata S, Onozawa S, Ueda T, Yamaguchi H, Sugihara F, Miki I, Saitou H, Kumita S. Transcatheter arterial chemoembolization for advanced stage hepatocellular carcinoma with portal vein invasion, World Congress of IASGO 2015, 2015/9/5 福州 (中国)

〔図書〕(計 1 件)

荒井保明、中島康雄、田島廣之編 塞栓物質を使いこなす 2016年9月出版 メジカルビュー社 190-193 (安井大祐、村田智、田島廣之分著)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安井 大祐 (YASUI, Daisuke)

日本医科大学・医学部・助教

研究者番号：00755001