

令和 2 年 5 月 26 日現在

機関番号：32666

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16489

研究課題名(和文) 親油性白金系抗癌剤のemulsion化による薬剤送達最適化の試み

研究課題名(英文) Optimizing drug distribution by emulsifying lipophilic platinum derivative

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、根治治療困難な肝細胞癌に対する主軸治療である肝動脈化学塞栓術における新たな塞栓物質の開発を主題とした。多孔性ガラス膜(SPG膜)を用い、界面活性剤としてポリエチレン硬化ヒマシ油60を添加して直接膜乳化を行うことで、均一な粒子径を有するミリプラチン とリピオドールの単分散系s/o/w emulsionを得ることに成功した。また動物実験では、この新たなs/o/w emulsionが従来のsuspensionと比較して、腫瘍内により良好に集積し、停滞する可能性が示された。また安全性についても、従来のものと同等ないし優れていることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、新たな塞栓物質である単分散系エマルジョンを使用することにより、肝細胞癌に対するカテーテル治療の成績が向上する可能性が示唆された。肝細胞癌の患者のうち、手術やラジオ波焼灼術などの根治治療の適応となる方は限られているため、本研究の臨床応用により肝細胞癌全体の治療成績の向上が期待できる。また近年では大腸癌や膵癌からの転移性肝腫瘍の患者が増えているが、本研究の成果を応用することにより、これらの疾患においても予後改善が期待できるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Development of a novel embolization agent for transcatheter arterial chemoembolization: a pivotal treatment for inoperable hepatocellular carcinoma, was attempted in this study. Monodisperse s/o/w emulsion of Miriplatin and Lipiodol was successfully obtained by performing direct emulsification method using Shirasu porous glass membrane and adding polyoxyethylene hydrogenated castor oil 60 as a surfactant. Better intra-tumoral accumulation and retention was observed with this novel emulsion, compared to conventional suspension in animal experiment. Incidence of adverse events was less frequent in s/o/w emulsion group, compared to suspension group.

研究分野：放射線医学

キーワード：肝細胞癌 経皮的肝動脈化学塞栓術 エマルジョン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肝細胞癌は日本人男性のがん死の第3位を占める、比較的頻度の高い悪性腫瘍である。根治治療は外科手術やラジオ波焼灼術・マイクロ波焼灼術であるが、これらの適応とならない患者も多い。根治治療の適応とならない患者に対しては、一般的に肝動脈化学塞栓術(TACE)あるいはチロシンキナーゼ阻害剤(TKI)の内服治療が行われる。化学療法の進歩に伴いTKIの治療成績向上が得られているものの、依然として局所制御(完全寛解、部分寛解)率は低い。これに対してTACEにおいては、より局所制御が得られやすいが、それでも完全寛解率は26.9-57.1%に留まっている。TACEの治療効果を高める為に、薬剤溶出性ビーズの使用やバルーン閉塞下TACEなどが試みられているが、十分な治療効果の向上は得られていない。

そこで治療効果を高めるための新たな塞栓物質の開発が急務となっている。通常TACEの際には各種抗癌剤(エピルピシン、ドキシソルピシン、シスプラチン、マイトマイシンC)と油性造影剤であるリピオドールを混和して作成したemulsionを経動脈的に投与する。リピオドールを使用することでX線視認性が確保されると共に、腫瘍血管床で薬剤が除放されるため、継続的に腫瘍へ高濃度の抗癌剤を曝露することが可能となる。しかし従来界面活性剤を使用せずに調剤していたため、得られるemulsionは不安定であった。また粒子径が不均一であるため、塞栓深度が安定せず、虚血性胆管障害を引き起こすなどの問題があった。

そこで本研究では疎水性の抗癌剤であるミリプラチンを用いてemulsionを作成することとした。ミリプラチンは通常リピオドールと混和してsuspensionとして調剤されるが、この状態では血管内で多様な粒子径を取りうるため、emulsion化することで均一な粒子径を得ることを試みた。

2. 研究の目的

ミリプラチンを用いた均一なサイズのemulsion(単分散系 emulsion)を作成し、その腫瘍内の挙動及び安全性を動物実験で検証することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 基礎実験

ミリプラチン 60mgをリピオドール 3mLに溶解し、シリンジポンプを用いて20 μ mの多孔性ガラス膜(SPG膜、SPGテクノ、宮崎)を通過させて外水相に押し出すことにより、solid-in-water-in-oil (s/o/w) emulsionを作成した。Emulsionの安定性を検討し、粒子径の分布を評価した。

(2) 動物実験

次に動物実験に移行した。腫瘍モデルとしては、VX2を肝左葉に移植した日本白色ウサギを使用した。14週齢のウサギに対して腫瘍を植え込み、14日後にTACEを施行した。計10羽のウサギを5羽ずつ対照群と実験群に割り付けた。獣医師の協力の元、全身麻酔下に実験を行なった。治療前にまず造影CTを撮影した(Aquilion Prime, キヤノンメディカルシステムズ)。総大腿動脈を外科的に露出した後、4Frシースを挿入した。4FrのCobra型造影カテーテルにて腹腔動脈を選択した後、先端2Frのマイクロカテーテルを肝動脈左葉枝まで進めTACEを行なった。対照群に於いては従来法で作成したsuspensionを、実験群に於いては上述の方法で作成したs/o/w emulsionをそれぞれ0.1mLずつ投与した。TACE直後に単純CTを撮影した。

TACE2日後に造影CTを撮影した後、ウサギを屠殺して肝臓を摘出した。摘出した肝臓から腫瘍部をトリミング・抽出し、これを半切した。半分は質量分析(ICP-MS)に提出し、腫瘍内のヨード濃度を計測した。もう半分を用いて病理組織標本を作成した。HE染色を施して胆管炎/胆嚢炎などの有害事象を評価した。またオイルOレッド染色を施して腫瘍内のリピオドール集積部のマーキングを行なった。組織標本をwhole slide imagerを用いてデジタル化し、computer visionを用いてリピオドール集積の半定量的解析を行なった。まずHSV色空間に変換し、「色相」値が55から65までの領域を「青色」と定義して、同領域の「明度」を0とすることで電子的に除去した。残る領域を「赤色」とし、「彩度」を用いてリピオドール集積の程度を評価した。

以下の4項目を検討事項とし、2群間で比較を行なった。

腫瘍内ヨード濃度

治療前、治療直後、治療2日後の腫瘍のHU値及びwash out rate(治療2日後と直後のHU値の差を治療直後のHU値で割ったもの)

病理組織標本に於ける彩度 (リピオドール集積の半定量的評価)

有害事象

4. 研究成果

(1) 基礎実験結果

光学顕微鏡で得られた画像の解析により、ミリプラチンのs/o/w emulsionの粒子径は62.0 \pm 6.42 μ m(平均値 \pm 標準偏差)であり、比較的均一な粒子径分布を示した。

また光学顕微鏡で経時的に観察した結果、およそ14日間に渡ってemulsionは安定していることが示された。

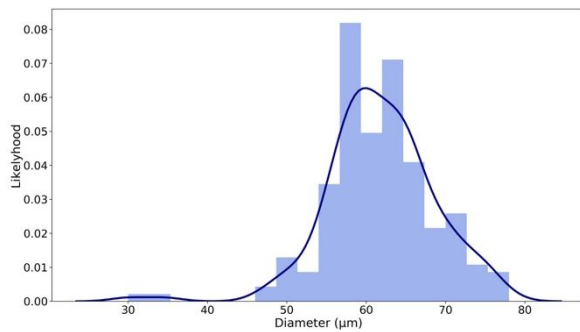


図1 Emulsion 粒子径の分布
縦軸：尤度、横軸：粒子径

(2) 動物実験結果

腫瘍内ヨード濃度

実験群のヨード濃度の中央値は 1100ppm (レンジ: 750-1500ppm)であるのに対して、対照群は 840 ppm (660-1800 ppm)であり、実験群に於いてより高い傾向にあった。

放射線学的評価

治療直後の対象病変内の HU 値の中央値は、実験群に於いては 199.6 (レンジ: 134.0-301.7) であるのに対して、対照群では 165.3 (131.4-280.5) であり、実験群に於いてより高い傾向にあった。

治療 2 日後の HU 値の中央値は、実験群が 114.2 (56.1-229.8) であるのに対して、対照群では 58.3 (42.9-132.5) であり、実験群に於いてより高い傾向にあった。

また wash out rate の中央値は、対照群に於いて 55.6% (51.1-75.4%) であるのに対して、実験群では 49.9% (23.8-58.1%) であり、実験群に於いてより低い傾向にあった。

以上より実験群に於いてより集積が良好であり、washout がより少ないという結果が示された。

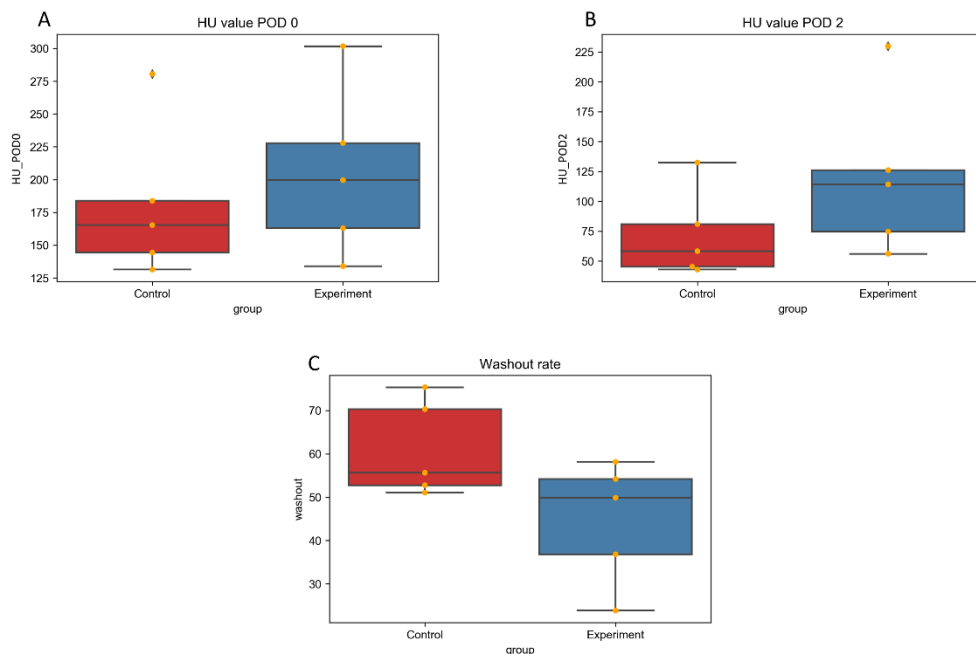


図2 腫瘍内 HU 値の経時的推移

A: 治療直後の HU 値、B: 治療 2 日後の HU 値、C: washout rate

病理組織学的評価

彩度の中央値(レンジ)は実験群に於いては 4.4 (2.8-20.3) であり、対照群に於いては、3.8 (2.1-8.1) であり、実験群に於いてより高い結果となった。

有害事象

実験群に於いては、5羽中4羽において、治療直後に胆嚢壁へのリピオドール集積が見られたが、2日後には全例において washout を認め、胆嚢炎は生じなかった。

これに対して対照群においては、3羽において治療直後に胆嚢壁へのリピオドール集積を認めた。2日後には2羽に washout を認めたが、残る1羽では washout は見られず、病理組織学的に胆嚢炎の合併が確認された。

虚血性胆管障害はいずれの群に於いても観察されなかった。

以上より s/o/w emulsion を用いることにより、従来の suspension と比較してより良好な薬剤分布が生じ得る可能性が示唆された。また安全性の面においても、従来の suspension と同等あるいはより良い可能性が示唆された。本研究結果から、s/o/w emulsion の有用性が示唆されたが、抗腫瘍効果を確認するには至らなかった。

今後の展望としては、この新しい単分散 emulsion の体内挙動について、基礎的な研究を進めていき、段階的に臨床応用を目指す。また将来的に、対象疾患の範囲を肝細胞癌から近年増加傾向にある転移性肝腫瘍（特に消化管悪性腫瘍からの）に広げることを目指し、本邦における悪性腫瘍克服の一助となることを目指す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Yasui Daisuke, Yamane Aya, Itoh Hiroshi, Kobayashi Masayuki, Kumita Shin-ichiro	4. 巻 -
2. 論文標題 Efficacy and safety of a monodisperse solid-in-oil-in-water emulsion in transcatheter arterial chemoembolization in a rabbit VX2 tumor model	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1101/759316	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Daisuke Yasui, Satoru Murata, Tatsuo Ueda, Fumie Sugihara, Shiro Onozawa, Chiaki Kawamoto, Shin-ichiro Kumita	4. 巻 59
2. 論文標題 Novel treatment strategy for advanced hepatocellular carcinoma: combination of conventional transcatheter arterial chemoembolization and modified method with portal vein occlusion for cases with arterioportal shunt: a preliminary study	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Acta Radiologica	6. 最初と最後の頁 266, 274
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/0284185117717762	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Izumi Miki, Satoru Murata, Fumio Uchiyama, Daisuke Yasui, Tatsuo Ueda, Fumie Sugihara, Hidemasa Saito, Hidenori Yamaguchi, Ryusuke Murakami, Chiaki Kawamoto, Eiji Uchida, Shin-ichiro Kumita	4. 巻 27
2. 論文標題 Evaluation of the relationship between hepatocellular carcinoma location and transarterial chemoembolization efficacy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 World Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 6437, 6447
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3748/wjg.v23.i35.6437	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Satoru Murata, Shiro Onozawa, Daisuke Yasui, Tatsuo Ueda, Fumie Sugihara, Akira Shimizu, Kenichi Suzuki, Mitsuo Satake	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Evaluating the Feasibility of Isolated Pancreatic Perfusion for Chemotherapy Using Computed Tomography: An Experimental Study in Pig Models	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cardiovascular and Interventional Radiology	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00270-017-1599-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tatsuo Ueda, Satoru Murata, Izumi Miki, Daisuke Yasui, Fumie Sugihara, Hiroyuki Tajima, Tetsuro Morota, Shin-ichiro Kumita	4. 巻 40
2. 論文標題 Endovascular Treatment Strategy Using Catheter-Directed Thrombolysis, Percutaneous Aspiration Thromboembolectomy, and Angioplasty for Acute Upper Limb Ischemia	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cardiovascular and Interventional Radiology	6. 最初と最後の頁 978, 986
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00270-017-1599-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計6件(うち招待講演 0件/うち国際学会 4件)

1. 発表者名 安井 大祐、村田 智、上田 達夫、杉原 史恵、斎藤 英正、伊藤 博、小林 正行、汲田 伸一郎
2. 発表標題 VX2担癌ウサギを用いた単分散系ミリプラチン懸濁液の安全性と有効性に関する検討
3. 学会等名 日本IVR学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Daisuke Yasui, Satoru Murata, Tatsuo Ueda, Fumie Sugihara, Hidemasai Saito, Izumi Tanaka, Sayaka Shirai, Hiroshi Itoh, Masayuki Kobayashi, Aya Yamane, Shin-ichiro Kumita
2. 発表標題 Initial experience of a novel drug delivery system for anticancer agent: monodisperse solid-in-oil-in-water emulsion using VX-2 tumor bearing rabbits
3. 学会等名 CIRSE (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Daisuke Yasui
2. 発表標題 Novel treatment strategy for locally-advanced hepatocellular carcinoma
3. 学会等名 JSIR & ISIR 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Daisuke Yasui, Tatsuo Ueda, Fumie Sugihara, Hidemasa Saitou, Izumi Tanaka, Yasuo Miyagi, Satoru Murata, Hiroyuki Tajima, Shin-ichiro Kumita
2. 発表標題 Percutaneous intervention for tricuspid valve vegetation under intracardiac echocardiographic guidance
3. 学会等名 12th Symposium of the Japanese Scandinavian Radiological Society (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安井大祐、村田智、上田達夫、杉原史恵、齊藤英正、米澤美令、竹下俊行、汲田伸一郎
2. 発表標題 産科的処置にて制御困難な産科出血に対する経皮的動脈塞栓術の有用性
3. 学会等名 日本IVR学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Daisuke Yasui, Satoru Murata, Tatsuo Ueda, Fumie Sugihara, Hidemasa Saitou, Nobuhiko Taniai, Eiji Uchida, Shin-ichiro Kumita
2. 発表標題 Endovascular treatment for post-operative bleeding after hepato-pancreato-biliary surgery
3. 学会等名 IASGO world congress 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----