

平成 21 年 5 月 27 日現在

研究種目： 若手研究(B)

研究期間： 2006～2008

課題番号： 18790920

研究課題名（和文）

血管内皮カドヘリンを介したタイトジャンクション制御によるナノ DDS の創製

研究課題名（英文）

Nano Drug Delivery System using Tight Junction Control via Vascular Endothelial Cadherin

研究代表者： 米虫 敦 (KOMEMURA ATSUSHI)

関西医科大学・医学部・助教

研究者番号： 80360254

研究成果の概要：

凝血剤として知られるトロンビンには、血管内皮細胞同士の結合タンパクである血管内皮カドヘリン(VE-Cadherin)を抑制する事によって内皮細胞間のタイトジャンクションを急速に15～20nm開大させ、血管透過性を著しく亢進させる作用がある事が注目されはじめた。本提案では、経カテーテル的な肝動注化学塞栓療法に使用する薬剤としてトロンビンと抗腫瘍薬の混合物を使用する。血管透過性亢進作用による抗腫瘍薬の高濃度暴露による濃度依存性効果増強と、自己凝血塊に含有された抗腫瘍薬の徐放効果による暴露時間延長による時間依存性効果増強を肝動脈塞栓術に応用する。

家兔の下腿部軟部腫瘍に対して、シスプラチン-リピオドールエマルジョンおよびトロンビン-シスプラチン-リピオドールエマルジョンの投与を行った。すなわち、家兔右大腿部に VX2 腫瘍を移植し、2 週間後に数 cm 大の腫瘍が発育していることを確認する。家兔左大腿動脈を外科的に露出させ、マイクロカテーテルを左大腿動脈から右外腸骨動脈に挿入する。右外腸骨動脈からの腫瘍への血流を確認した後、シスプラチン-リピオドールエマルジョンまたはトロンビン-シスプラチン-リピオドールエマルジョンの投与を行った。投与量としてシスプラチンは 1mg/kg、リピオドールは 0.1ml/kg、トロンビンは 100u/kg の投与を行った。投与 5 分後および投与 10 分後の血清中シスプラチン濃度、および投与 60 分後の腫瘍組織内シスプラチン濃度を測定した。

トロンビンを投与した群において、血清中へのシスプラチンの流出が抑制され、また、組織内への高濃度のシスプラチンの残留傾向を認めた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	700,000	0	700,000
2007 年度	900,000	0	900,000
2008 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	2,300,000	210,000	2,510,000

研究分野：放射線医学・低侵襲医療・インターベンショナルラジオロジー (IVR)

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：低侵襲治療システム

1. 研究開始当初の背景

我が国での部位別の癌死亡順位（国民衛生の動向 2003 年度版）では、肝臓癌は男性で第3位、女性で第5位となっており死因統計分類上、重要な地位を占めている。現在、我が国では経動脈的なカテーテル挿入による動脈内抗腫瘍剤注入療法および動脈塞栓術は日常的に施行されており、本疾患に対する治療戦略に於いて重要な役割を占めているが、その治療効果は限定的で頻回の再治療を前提としたものであり、その患者の負担は無視できないものであった。

凝固剤として知られるトロンビンには、血管内皮細胞同士の結合タンパクである血管内皮カドヘリン(VE-Cadherin)を抑制する事によって内皮細胞間のタイトジャンクションを急速に15~20nm 開大させ、血管透過性を著しく亢進させる作用がある事が注目されはじめた。本作用を各種のドラッグデリバリーシステムに応用する研究が行われており、申請者は本作用を肝臓悪性腫瘍の経カテーテル的な血管内治療に応用し新たなドラッグデリバリーシステムの開発に着手した。

本提案は、経カテーテル的な肝動注化学塞栓療法に使用する薬剤としてトロンビンと抗腫瘍薬の混合物を使用する。血管透過性亢進作用による抗腫瘍薬の高濃度暴露による濃度依存性効果増強と、自己凝血塊に含有された抗腫瘍薬の徐放効果による暴露時間延長による時間依存性効果増強を肝動脈塞栓術に応用する。

多くの抗腫瘍薬は、濃度依存性・時間依存性に抗腫瘍効果を発現する事が知られている。申請者が着目したトロンビン併用肝動注化学塞栓療法は、濃度依存性の抗腫瘍薬において血管透過性亢進作用による組織内薬剤濃度の上昇を得ることができ、時間依存性の抗腫瘍薬においては凝血塊に含有された抗腫瘍薬の徐放効果による暴露時間延長を得ることができる。

予備的検討からは約 10 倍の組織内薬剤濃度および7~30 日間に及ぶ薬剤徐放効果が期待されており、局所制御率は従来の肝動脈化学塞栓療法に比して 2~3 倍に上昇するものと期待される。本研究結果が臨床に応用されれば、従来では治療効果が期待できなかった進行肝細胞癌に対して肝動注化学塞栓療法の適応を広げる事が可能となる。

2. 研究の目的

近年、トロンビンの血管内皮に対する作用が多数報告されており、VE-cadherin を抑制することによって血管内皮細胞間のタイトジャンクション結合に 15-20nm の細孔を発現させる作用が明らかになってきた (Rabiet MJ, Plantier JL, Rival Y, Genoux Y, Lampugnani MG, Dejana E., Thrombin-induced increase in endothelial permeability is associated with changes in cell-to-cell junction organization., *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1996 Mar;16(3):488-96.)。本作用をドラッグデリバリーシステムに応用する試みが注目を集めている (Gorodetsky R, Peylan-Ramu N, Reshef A, Gaberman E, Levdansky L, Marx G., Interactions of carboplatin with fibrin(ogen), implications for local slow release chemotherapy., *J Control Release.* 2005 Jan 20;102(1):235-45.)。

肝動注化学塞栓療法は本邦において開発された手技であり、その研究は本邦が主導的役割を果たしているが、本邦においては現時点でトロンビンの血管内注入は保険適応となっておらず、肝動注化学塞栓療法に本作用を応用した報告は存在しない。本提案は肝動注化学塞栓療法の効果増強に、トロンビンによる血管透過性亢進および自己凝血塊からの徐放効果を応用するもので、国内外に類似の研究は存在しない。

本治療法を実用化するにあたり解決すべき技術的課題は以下の三項目に集約される。

- 課題(1).トロンビンの至適濃度の決定
- 課題(2).抗腫瘍薬の組織浸透性増強効果、薬剤徐放効果の測定
- 課題(3).腫瘍増殖抑制効果の評価

上記のうち課題(1)、(2)については既に当教室で予備的検討の結果から課題が達成しつつある。トロンビン 1000 単位に対して Iopamidol 300mgI/ml 溶液 10ml にて希釈した溶液の緩徐な動脈内注入によって至適な塞栓効果を期待できることが予備的検討から判明し、既にトロンビンの至適濃度を決定することができた。また、抗腫瘍薬の組織浸透性増強効果および徐放効果については、シスプラチン投与後の組織内白金濃度を測定

することによってトロンビンの組織浸透性増強試験を行っており、トロンビンが 10 倍近い組織浸透性増強効果を有することを解明している。

本研究課題ではこれらの結果を踏まえてより実環境下、即ち担癌状態の実験動物に対するトロンビン併用肝動注化学塞栓療法による腫瘍増殖抑制を検討する。その具体的な目的および研究予定期間は以下の通りである。

目的(1)：急性期における生物学的、組織学的合併症の評価(平成 18 年度)

目的(2)：慢性期における腫瘍増殖抑制効果と生存期間延長の確認(平成 19~20 年度)

上記検討で得られた成果を基に VX2 腫瘍細胞による家兔肝腫瘍モデルに対して肝動注化学療法を行い、急性期組織評価、慢性期組織評価、腫瘍増殖抑制試験、生存期間評価を行う。

3. 研究の方法

家兔を全身麻酔下に、エコーガイドにて肝臓の辺縁に VX2 腫瘍細胞浮遊液を注入する。注入された腫瘍細胞は 7~10 日で直径 2cm 前後の孤立性腫瘍に発育し、家兔肝腫瘍モデルが作成される。

家兔肝腫瘍モデルの右大腿動脈より 4F コブラ型カテーテルを挿入する。4F コブラ型カテーテル内腔に 2.0F マイクロカテーテルを挿入し、固有肝動脈に 2.0F マイクロカテーテル先端を留置する。マイクロカテーテルよりトロンビン・シスプラチン混合液を注入し、肝動脈塞栓術を施行する。肝動脈塞栓術後、腹腔動脈造影によるフォローアップを行い、塞栓効果を確認する。

術直後 60 分で家兔を屠殺し組織を摘出し、組織学的な急性期合併症の有無を検索する。また、組織内白金濃度を測定することによって、血管透過性亢進作用による組織内へのシスプラチン移行を評価する。血中白金濃度を経時的に計測し、抗腫瘍剤の凝血塊からの徐放効果を評価する。

4. 研究成果

ブタ動脈内にトロンビンを投与し、その塞栓形成状況を放射線科学的に検討した。トロンビン濃度と塞栓形成状況を対比し、その有用性を明らかにした。

この結果をふまえて、家兔の下腿部軟部腫瘍に対して、シスプラチン-リピオドールエマルジョンおよびトロンビン-シスプラチン-リピオドールエマルジョンの投与を行った。すなわち、家兔右大腿部に VX2 腫瘍を移植し、2週間後に数 cm 大の腫瘍が発育していることを確認する。家兔左大腿動脈を外科的に露出させ、マイクロカテーテルを左大腿動脈から右外腸骨動脈に挿入する。右外腸骨動脈からの腫瘍への血流を確認した後、シスプラチン-リピオドールエマルジョンまたはトロンビン-シスプラチン-リピオドールエマルジョンの投与を行った。投与量としてシスプラチンは 1mg/kg、リピオドールは 0.1ml/kg、トロンビンは 100u/kg の投与を行った。投与 5 分後および投与 10 分後の血清中シスプラチン濃度、および投与 60 分後の腫瘍組織内シスプラチン濃度を測定した。

トロンビンを投与した群において、血清中へのシスプラチンの流出が抑制され、また、組織内への高濃度のシスプラチンの残留傾向を認めた。

現在、実験結果についてその詳細取りまとめを行っている。

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 12 件)

① Composite Material Stent Comprising Metallic Wire and Polyactic Acid Fibers, and its Mechanical Strength and Retrievalability.

Shomura Y, Tanigawa N, Tokuda T, Kariya S, Kojima H, Komemushi A, Sawada S.

Acta Radiol. 2009 Mar 20:1-5.

② Transcatheter coil embolization for steal syndrome in patients with hemodialysis access.

Kariya S, Tanigawa N, Kojima H, Komemushi A, Shomura Y, Shiraiishi T, Kawanaka T, Sawada S.

Acta Radiol. 2009 Jan;50(1):28-33.

③ High-flow priapism undergoing arterial embolization: review of literature following American Urological Association guideline on the management of priapism.

Kojima H, Tanigawa N, Kariya S, Komemushi A, Shomura Y, Yanishi M, Murota T, Sawada S.

Minim Invasive Ther Allied Technol. 2009;18(1):1-5.

④ Cerebral microembolisation during radiofrequency ablation of lung tumours: detection by carotid duplex ultrasound.

Tanigawa N, Kariya S, Kojima H, Komemushi A, Shomura Y, Ikeda K, Omura N, Tokuda T, Maehara M, Terada J, Sawada S.

Br J Radiol. 2009 Mar;82(975):249-53.

⑤ Improvement in respiratory function by percutaneous vertebroplasty.

Tanigawa N, Kariya S, Kojima H, Komemushi A, Shomura Y, Tokuda T, Ueno Y, Kuwata S, Fujita A, Terada J, Sawada S.

Acta Radiol. 2008 Jul;49(6):638-43.

⑥ Diffusion-weighted imaging for predicting new compression fractures following percutaneous vertebroplasty.

Sugimoto T, Tanigawa N, Ikeda K, Ohmura N, Maehara M, Kariya S, Kojima H, Komemushi A, Ha-Kawa SK, Saito Y, Tajika A, Kinoshita T, Sawada S.

Acta Radiol. 2008 May;49(4):419-26.

⑦ Intraosseous Venography with Carbon Dioxide in Percutaneous Vertebroplasty: Carbon Dioxide Retention in Renal Veins.

Komemushi A, Tanigawa N, Kariya S, Kojima H, Shomura Y, Tokuda T, Nomura M, Terada J, Kamata M, Sawada S.

Cardiovasc Intervent Radiol. 2008 Nov-Dec;31(6):1174-7.

⑧ Biochemical markers of bone turnover in percutaneous vertebroplasty for osteoporotic compression fracture.

Komemushi A, Tanigawa N, Kariya S, Kojima H, Shomura Y, Tokuda T, Nomura M, Terada J, Kamata M, Sawada S.

CardioVascular & Interventional Radiology, 2008 Mar-Apr;31(2):332-5.

⑨ Relationship between cement distribution pattern and new compression fracture after percutaneous vertebroplasty.

Tanigawa N, Komemushi A, Kariya S, Kojima H, Shomura Y, Omura N, Sawada S.

AJR Am J Roentgenol. 2007 Dec;189(6):W348-52.

⑩ Lower limb ischaemia caused by fractured osteochondroma of the femur.

Tanigawa N, Kariya S, Kojima H, Komemushi A, Fujii H, Sawada S.

Br J Radiol. 2007 Apr;80(952):e78-80.

⑪ Primary Patency with Cutting and Conventional Balloon Angioplasty for Different Types of Hemodialysis Access Stenosis.

Kariya S, Tanigawa N, Kojima H, Komemushi A, Shomura Y, Shiraishi T, Kawanaka T, Sawada S.

Radiology. 2007 May;243(2):578-87.

⑫ Clinical impact of multidetector row computed tomography on patients with pancreatic cancer.

Satoi S, Yamamoto H, Takai S, Tanigawa N, Komemushi A, Yanagimoto H, Toyokawa H, Matsui Y, Mergental H, Kamiyama Y.

Pancreas. 2007 Mar;34(2):175-9.

[学会発表] (計 13 件)

① Percutaneous vertebroplasty for osteoporotic compression fracture, First 500 levels of a single center: Long term evaluation of the technical and clinical outcomes

N. Tanigawa, S. Kariya, Y. Shomura, T. Tokuda, S. Sawada, A. Komemushi

SIR 2009
March 7 - 12, 2009
San Diego, CA, U.S.A

② Effect of Percutaneous Vertebroplasty Combined with Intensity-modulated Radiotherapy: A Phantom Study

Motoo Nomura, Atsushi Komemushi, Minoru Kamata, Noboru Tanigawa, Hiroyuki Kojima, Satoshi Sawada

RSNA2008
November 30 - December 5 2008
McCormick Place, Chicago, U.S.A.

③ Comparison of embolic behavior and absorption process between gelatin sponge microspheres and water-soluble polyvinyl alcohol (PVA) microspheres in pig liver model

Y. Shomura, N. Tanigawa, M. Shibutani, T. Tokuda, J. Terada, S. Kariya, H. Kojima, A. Komemushi, S. Sawada

CIRSE 2008
September 13th - 17th, 2008
Copenhagen, Denmark

④ Transcatheter embolization of pseudoaneurysms in visceral and

peripheral arteries
T. Tokuda, N. Tanigawa, Y. Shomura, S. Kariya,
H. Kojima, S. Sawada, A. Komemushi, J. Terada
CIRSE 2008
September 13th - 17th, 2008
Copenhagen, Denmark

⑤ Does Bone Cement Injected to
Vertebra Affect Radiotherapy Dose
Distribution?
M. Nomura, A. Komemushi, M. Kamata, N.
Tanigawa, Y. Hori, S. Sawada, M. Arakawa,
M. Nakashuji, S. Kariya, H. Kojima, Y.
Shomura, T. Tokuda, J. Terada
SIR 2008
March 15 - 20, 2008
Washington, D. C., U. S. A.

⑥ The Location of Parotid Gland
Tumors: Evaluation with Parotid
Tractography Using 3-tesla MRI
Koshi Ikeda, Naoto Ohmura, Hiroaki
Kurokawa, Atsushi Komemushi, Yoko Harima,
Satoshi Sawada
RSNA2007
November 25 - 30 2007
McCormick Place, Chicago, U. S. A.

⑦ Prospective Analysis of
Respiratory Function Following
Percutaneous Vertebroplasty
Noboru Tanigawa, Shuji Kariya, Hiroyuki
Kojima, Atsushi Komemushi, Yuzo Shomura,
Satoshi Sawada
RSNA2007
November 25 - 30 2007
McCormick Place, Chicago, U. S. A.

⑧ Prediction of Progression and
Metastasis of Advanced Cervical Cancers
after Radiotherapy According to
Expression Profiles of 69 Genes Selected
by Microarray Analysis
Yoko Harima, Minoru Kamata, Atsushi
Komemushi, Koshi Ikeda, Satoshi Sawada
RSNA2007
November 25 - 30 2007
McCormick Place, Chicago, U. S. A.

⑨ An Arterial Stent Graft Covered
with an Electro-spun Nanofiber Sleeve:
Structural Characteristics and in Vivo
Behavior in Pig Model
Yuzo Shomura, Takanori Tokuda, Noboru
Tanigawa, Hiroyuki Kojima, Shuji Kariya,
Atsushi Komemushi
RSNA2007

November 25 - 30 2007
McCormick Place, Chicago, U. S. A.

⑩ Fistulography Using Carbon
Dioxide in Percutaneous Transluminal
Angioplasty for Hemodialysis Access
Failure: A Prospective Evaluation
Shuji Kariya, Noboru Tanigawa, Hiroyuki
Kojima, Atsushi Komemushi, Yuzo Shomura,
Hiroshi Yamamoto
RSNA2007
November 25 - 30 2007
McCormick Place, Chicago, U. S. A.

⑪ Artificial blood vessel of
composite material knitted core and
electrospun nanofiber sleeve: evaluation
of structural characteristics and
biocompatibility in pig model
T. Tokuda, Y. Shomura, A. Komemushi,
S. Kariya, N. Tanigawa, S. Sawada
CIRSE 2007
8th - 12th September 2007
Athens, Greece

⑫ Cement leakage in percutaneous
vertebroplasty for osteoporotic
compression fracture with or without
intravertebral clefts
N. Tanigawa, A. Komemushi, S. Kariya, H.
Kojima, Y. Shomura, T. Tokuda, H. Yamamoto,
S. Sawada
CIRSE 2007
8th - 12th September 2007
Athens, Greece

⑬ Biochemical markers of bone
turnover in percutaneous vertebroplasty
for osteoporotic compression fracture
Atsushi Komemushi, Noboru Tanigawa, Shuji
Kariya, Hiroyuki Kojima, Yuzo Shomura,
Takanori Tokuda, Hiroshi Yamamoto,
Satoshi Sawada
SIR 2007 : 32nd Annual Scientific Meeting
March 1 - 6, 2007
Seattle, Washington, U. S. A.

[図書] (計 0 件)
なし

[産業財産権]
○出願状況 (計 0 件)

なし

○取得状況（計 0 件）

なし

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

米虫 敦 (KOMEMUSHI ATSUSHI)

関西医科大学・医学部・助教

研究者番号：80360254

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

谷川 昇 (TANIGAWA NOBORU)

関西医科大学・医学部・講師

研究者番号：90227215

狩谷秀治 (KARIYA SHUJI)

関西医科大学・医学部・助教

研究者番号：40368220

小島 博之 (KOJIMA HIROYUKI)

関西医科大学・医学部・助教

研究者番号：30368229

庄村 裕三 (SHOMURA YUZO)

関西医科大学・医学部・助教

研究者番号：70298868

澤田 敏 (SAWADA SATOSHI)

関西医科大学・医学部・教授

研究者番号：80121937