

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 9 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06513

研究課題名（和文）抗癌薬や遺伝子治療薬を併用可能な二層型シート製剤に基づく癌局所治療の最適化

研究課題名（英文）Application of the administration system to the peritoneal organ surface for regional chemotherapy by two-layer sheet formulation with anticancer drugs and gene medicine

研究代表者

西田 孝洋（NISHIDA, Koyo）

長崎大学・医歯薬学総合研究科（薬学系）・教授

研究者番号：20237704

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：腫瘍部位へ直接貼付する、生分解性の基剤に各種添加剤を併用した二層型シート製剤を開発した。添加剤濃度により薬物放出速度を制御できる可能性が示唆された。抗癌薬ドキソルビシンが腫瘍へ選択的に分布し、他臓器や血漿への移行が抑制された。添加剤併用ドキソルビシン搭載シート製剤貼付群において、顕著に腫瘍増殖が抑制された。さらに、腹腔側臓器表面からの薬物吸収性をin vitroでの透析膜透過実験で予測可能なことをマウス肝臓表面からの薬物吸収速度との相関により明らかにした。添加剤の併用により、放出性や組織内濃度を制御し抗腫瘍効果の向上が期待でき、本製剤により局所的な癌化学療法を行える可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、従来の薬物投与方法の既成概念にとらわれず、局所動態・薬効の特性に優れたDDS製剤を開発する斬新な発想に特色を有している。消化器領域では、内視鏡などをDDSへ応用する基盤が臨床面で確立されており、臓器表面への二層型シート製剤の貼付は、肝臓や脾臓など腹腔内臓器において十分可能である。様々な製剤材料を駆使して、体温下でゲル化する熱感受性の材料を活用することで、インジェクタブルなDDS製剤として、投与後のシート形成や温度などの物理刺激による薬物放出制御も期待できる。従来は重篤な副作用や安定性に問題がある抗癌薬においては、このようなDDS製剤により臨床での適用拡大につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：We have developed the two-layer sheet including anticancer drug doxorubicin and formulation additives for attaching the peritoneal organ surface for chemotherapy. It was suggested that formulation additives could enable us to control the drug release rate by changing the concentration of the additives. Anticancer drug doxorubicin distributed selectively in the tumor, and the disposition in the other organs and plasma was highly restricted. Moreover, we clarified the prediction method for absorption rate from the peritoneal organ surface, by utilizing the release experiment with the viscous membrane. In conclusion, the possibility was suggested that the addition of viscous additives into the two-layer sheet could control the release rate and disposition characteristics, resulting in the sophisticated regional chemotherapy.

研究分野：薬剤学

キーワード：コントロールドリリース 癌化学療法

1. 研究開始当初の背景

癌は極めて難治性で死因の第 1 位を占め、癌克服が高齢化社会における世界的な最重要課題となっている。癌治療には、4 つの手法(外科的切除、化学療法、放射線療法、免疫療法)があり、多くは化学療法単独あるいは他の方法との組み合わせが用いられている。化学療法に用いられる抗癌薬は、一般に治療域が狭く、全身や臓器内非病巣への抗癌薬の分布に伴う重篤な副作用が深刻である。病巣部位に抗癌薬を送達させるドラッグデリバリーシステム(Drug Delivery System, DDS)研究が、国内外で活発に展開されている。しかしながら、静脈注射など一般的な投与方法では、臓器全体へ薬物が様に分布してしまうため、薬物の化学的、製剤学的修飾による一般的な DDS の手法では、病巣部位における薬物濃度の精密なコントロールは難しいのが現状である。そこで、従来の血管系を介した投与方法の既成概念にとらわれない斬新な発想が必要となる。一方、抗癌薬の単独投与による腫瘍縮小効果には限界があり、相乗効果を狙った各種抗癌薬などの併用療法が主流となっている。

研究代表者は、投与経路や形態を工夫する DDS に着目し、腹腔内の臓器表面から内部へ薬物を浸透させる投与形態では、病巣部位近傍に薬物が滞留する可能性が極めて高いと推測した。腹腔内臓器として肝臓をまず選び、肝臓表面からの薬物吸収・分布特性および肝臓表面への薬物投与に最適な製剤の基本条件をこれまでに明らかにしてきた。さらに抗癌薬や遺伝子治療薬へ展開させ、新規投与形態 DDS としての有用性を示してきた。

癌化学療法では、経カテーテル動脈塞栓療法や癌病巣部位への直接注射など様々な投与の工夫が試みられている。しかし、重篤な副作用発現や傷害性の課題が残されており、低侵襲的な治療法の開発が強く望まれている。研究代表者は、腹腔内の臓器表面からの薬物吸収を利用する新規投与形態の可能性を検証し、一連の研究により、製剤自体の腹腔内での滞留性向上が臨床応用へ向けた重要課題であることを示してきた。そこで癌病巣での治療効果を増強し、副作用を軽減できる臨床応用可能な DDS 製剤の開発が急務となる。

次の段階として、癌病巣へ安全に直接貼付できる、複数の抗癌薬や各種製剤添加剤などを含有させたシート状製剤の開発を企図した。シート状の製剤により、抗癌薬が長期間にわたり局所で徐々に放出することで、薬効の増強・持続、および臓器内の正常部位での副作用軽減が期待できる。シート状製剤を二層型とすることで、腹腔側への抗癌薬の漏出を防ぐことも可能である。一方、これまでの DDS 製剤開発において、病巣部位における薬物濃度・効果を精密に制御した例はない。そこで、抗癌薬の局所での薬物動態と効果を評価した解析結果に基づいて、製剤添加剤の最適化を行う。各種抗癌薬の局所および同時ターゲティングを可能にする DDS 製剤の合理的な製剤設計により、治療効果の有意な向上や癌周辺での再発・合併症や転移の防止が期待できる。したがって、本研究の癌化学療法上の意義は高く、社会に大きく貢献できる。

2. 研究の目的

本研究課題では、血管系ではなく腹腔内の臓器表面に二層型シート製剤を貼付して、癌病巣部位に複数の抗癌薬や遺伝子治療薬を長期間滞留させ、腹腔への薬物漏出も抑制することで、薬効の向上と副作用軽減を目的としている。腹腔内の癌表面に貼付する二層型シート製剤を数種類作製し、効果の評価系としての皮下担癌マウスに適用し、抗癌薬の理想的な動態・効果が得られる製剤を選別する。

本研究課題では、従来の投与方法の既成概念にとらわれず、局所動態・薬効の特性に優れた DDS 製剤を開発する斬新な発想に特色を有している。消化器領域では、内視鏡などを DDS へ応用する基盤が臨床面で確立されており、臓器表面への二層型シート製剤の貼付は、肝臓や脾臓など腹腔内臓器において十分可能と考えられる。体温下でゲル化する熱感受性の材料を活用することで、インジェクタブルな DDS 製剤として、体内投与後のシート形成や温度などの物理刺激による薬物放出制御も期待できる。

本研究課題において、二層型シート製剤の腹腔内臓器表面(肝臓、脾臓、腎臓など)への貼付により複数の抗癌薬で癌病巣を選択的に治療する新しい DDS を確立できれば、従来は重篤な副作用や安定性に問題がある抗癌薬においては、臨床での適用拡大につながる可能性がある。さらに斬新な投与方法に関する検討が、外科手術後の腹膜播種の補助療法や腹膜硬化症などの難治性疾患に対する標的細胞選択的な遺伝子治療の確立にも寄与できるものと期待する。

本研究課題では、腹腔内の癌表面に貼付する複数の抗癌薬を含有する二層型シート製剤を開発し、腹腔内の臓器表面からの薬物吸収を利用する DDS 製剤を臨床応用するための基盤を構築する。

抗癌薬を単独で含有する二層型シート製剤に関しては、これまでにプロトタイプを既に数種類試作して予備的検討を行ってきた。2021, 2022 年度では、片面からの精密な薬物放出を可能にする二層型シート製剤を新たに作製し、in vitro 放出性およびマウスの皮下移植癌へ貼付後の薬物動態および治療効果を系統的に解析して、有望な製剤条件を選定する。2023 年度には、引き続き二層型シート製剤の最適化を進めながら、in vitro での透析膜透過実験による腹腔内臓器表面からの薬物吸収性を精査することにより、二層型シート製剤を複合的に評価した。

3. 研究の方法

(1) 二層型シート製剤の作製および *in vitro* 放出実験

抗癌薬ドキシソルピシン (DOX) を含有する臓器表面側のシート製剤の形成には、生分解性ポリマーの乳酸グリコール酸重合体 (PLGA) とヒドロキシプロピルセルロース (HPC) などの高分子添加剤を用いた。腹腔側のシート製剤については、PLGA などの生分解性ポリマーで構成した。2種類のシート製剤を重ね合わせて、片面 (臓器表面側) からの薬物放出を可能にする二層型シート製剤を作製した。まず腹腔側のシート製剤からの薬物放出が抑制されるかを確認した。

(2) 二層型シート製剤の *in vivo* での分布および腫瘍抑制効果

次の段階として、抗癌薬の選択的集積に基づく治療効果が期待でき、かつ副作用が見られない有望なシート製剤処方を選定した。マウスの皮下に移植した癌 (Hepa1-6) に二層型シート製剤を貼付して、抗癌薬 (DOX) の癌局所濃度、腹腔への漏出量、血中濃度、および製剤残存量を、紫外可視分光光度計を用いて測定した。腫瘍抑制効果については、腫瘍体積の変化を治療効果の指標とした。

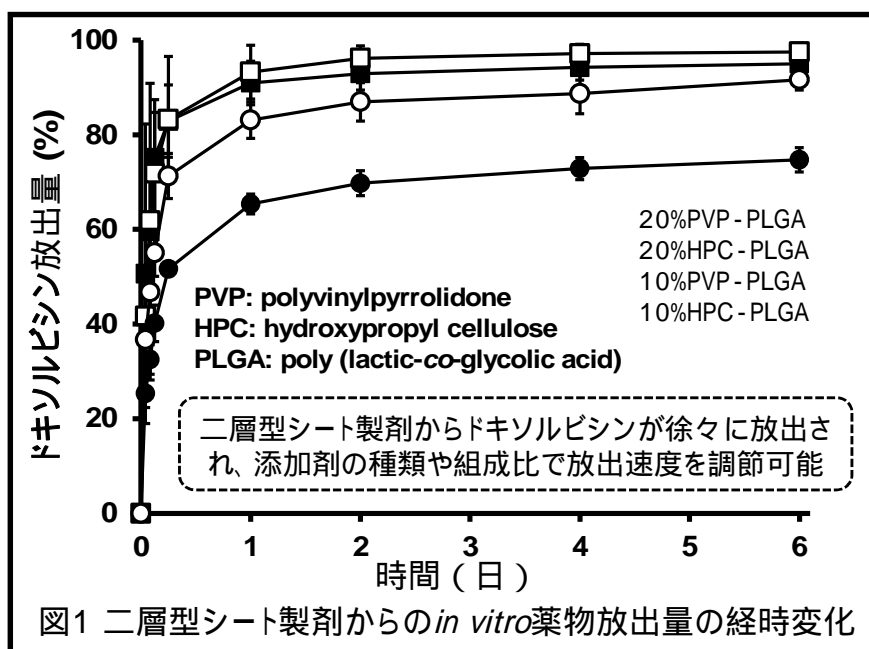
(3) *in vitro* 透析膜透過実験による腹腔内臓器表面からの薬物吸収速度予測

さらに、抗癌薬の理想的な肝臓内微視的分布が得られる製剤学的条件を解析するために、粘性添加剤併用時の腹腔内臓器としての肝臓表面からの薬物吸収速度の予測に関する基礎的知見を得るために、粘度や透析膜の透過性に及ぼす粘性添加剤の影響を調べ、*in vivo* における腹腔内臓器表面からの薬物吸収速度との相関性を検討した。粘性添加剤を添加して、DOX や 5-FU などの各種抗癌薬の透析膜からの放出性を調べた。

4. 研究成果

(1) 二層型シート製剤の作製および *in vitro* 放出実験結果

癌化学療法による全身及び非病巣への抗癌薬分布に伴う重篤な副作用を克服するため、これまでに腫瘍部位へ直接貼付するシート状のコントロールドリリース製剤の開発に着手してきた。放出制御のため乳酸グリコール酸共重合体 (PLGA) を製剤作製の基剤に使用し、腹腔側への薬物放出を抑制し副作用を軽減する目的で二層型の構造とした。二層型シート製剤からの放出性および抗腫瘍効果向上のための添加剤を選出するため、抗癌薬ドキシソルピシン (DOX) を搭載した、ポリエチレングリコール (PEG)、ヒドロキシプロピルセルロース (HPC)、ポリビニルピロリドン (PVP) を 10% または 20% で併用したシート製剤を作製し、*in vitro* 放出性を検討した。PLGA, DOX, 添加剤を混合したシート製剤と PLGA のみのカバーを重ね合わせ二層型のシート製剤を作製した。作製したシート製剤をリン酸緩衝生理食塩水の水面に静置し経時的にサンプリングし放出性を評価した。シート製剤から DOX が持続的に放出され、添加剤の併用により放出速度が向上し、20% 添加剤併用時において初期に高濃度の DOX が放出された (図 1、PVP と HPC のデータ)。このように、*in vitro* においてシート製剤からの持続的なドキシソルピシンの放出が認められ、その放出速度を添加剤の組成比や種類により調節可能であった。



(2) in vivo 体内分布および腫瘍抑制効果

次の段階として、二層型シート製剤の担癌マウスでの抗腫瘍効果、体内分布を評価した。皮下担癌マウスの腫瘍へ PLGA シート製剤、DOX シート製剤、添加剤併用 DOX シート製剤を 14 日間貼付し、腫瘍径と体重を測定した。貼付 14 日後に腫瘍、各臓器、血漿の DOX 濃度を分光蛍光光度計により定量した。担癌マウスへ貼付 14 日後においても DOX が腫瘍へ選択的に分布し(図 2)、他臓器や血漿への移行が抑制された。相対腫瘍体積は PLGA シート製剤貼付群と比較して添加剤併用 DOX シート製剤貼付群において約 4 分の 1 以下となり(図 2)、顕著に腫瘍増殖が抑制された。特に PEG20%併用時と PVP20%併用時に優れた抗腫瘍効果が発揮された。PEG20%併用時には、初期バーストの後に PEG の溶解により形成された細孔から DOX が徐々に拡散し持続的に放出されたことに加え、PEG の粘性により組織滞留性が向上したため、腫瘍部位への選択的な分布が確認されたと考えられる。高い腫瘍増殖抑制効果が得られた PEG20%併用時と PVP20%併用時においては高濃度の DOX が腫瘍へ分布しており、初期放出量や腫瘍への DOX の浸透性が抗腫瘍効果に大きく影響を与えたと考えられる。

添加剤の併用により、放出性や組織内濃度を制御し抗腫瘍効果の向上が期待でき、本製剤により全身循環への移行を抑制した局所的な癌化学療法を行える可能性が示された。本製剤により全身循環への移行を抑制した局所的な抗腫瘍効果の発揮が期待される。

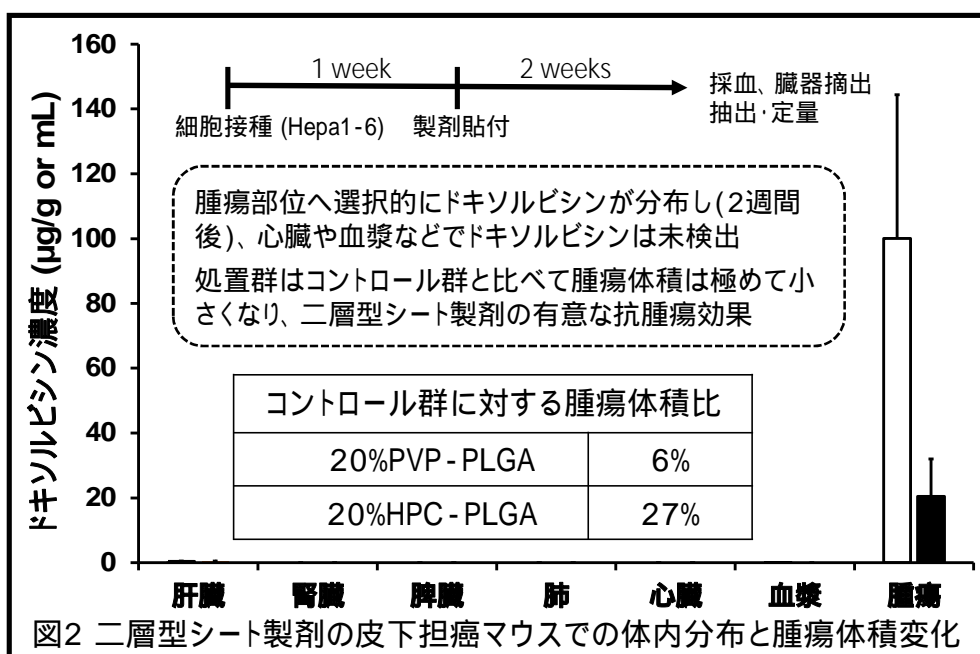


図2 二層型シート製剤の皮下担癌マウスでの体内分布と腫瘍体積変化

(3) in vitro 透析膜透過実験による腹腔内臓器表面吸収速度予測

in vivo で高い吸収抑制効果を示した PVA 15%において、in vitro 透析膜透過実験では、いずれのモデル化合物(DOX、5-FU など)の放出量は大きく低下した。透析膜内残存率の経時変化を片対数プロットしたところ、直線的な減少を示し、その傾きより放出速度定数を算出できた。いずれのモデル化合物についても、肝臓表面からの吸収速度定数と in vitro での放出速度定数との間に良好な相関関係が認められた。したがって、in vitro での簡便な透過実験から放出速度定数を算出し、製剤添加剤を併用時の腹腔内の肝臓表面からの薬物吸収を予測できる可能性が示唆された。ここで得られた腹腔内臓器表面からの薬物吸収に及ぼす製剤添加剤の影響を予測することにより、二層型シート製剤の設計を合理的に行える可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tomoaki Akagi, Yosuke Kariya, Hisashi Hamasaki, Miyako Sakaguchi, Hirotaka Miyamoto, Shintaro Fumoto, Koyo Nishida	4. 巻 71
2. 論文標題 Development of a Two-Layered Sheet Formulation of 5-Fluorouracil for Application to Rat's Livers to Ensure Controlled Release and Local Drug Disposition	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Chemical and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 277-281
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/cpb.c22-00775	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9件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 袁 飛、満留 菜央、宮元 敬天、麓 伸太郎、西田 孝洋
2. 発表標題 Studies on the effect of formulation additives on anti-tumor efficacy of bi-layer sheet loaded with doxorubicin
3. 学会等名 第39回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yuan Fei, Yuka Watanabe, Hikari Sada, Hirotaka Miyamoto, Shintaro Fumoto, Koyo Nishida
2. 発表標題 Relationship between drug release from dialysis membrane and absorption from the mouse liver surface, aiming to predict viscous additives effect
3. 学会等名 第38回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 満留菜央、村上優衣、赤城友章、袁飛、宮元敬天、麓伸太郎、西田孝洋
2. 発表標題 癌表面に貼付するドキソルビシン搭載シート製剤の抗腫瘍効果に及ぼす添加剤の影響
3. 学会等名 第38回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 満留菜央、松本美月、袁飛、宮元敬天、麓伸太郎、西田孝洋
2. 発表標題 ドキソルビシン搭載二層型シート製剤の腫瘍集積性と抗腫瘍効果の向上を目指した製剤設計
3. 学会等名 第39回日本薬学会九州山口支部大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西田孝洋、袁飛、岩田栞、鳥越彩伽、宮元敬天、麓伸太郎
2. 発表標題 マウスとラットの種差による肝臓表面投与時の薬物吸収動態の差異とその予測
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 坂口美也子、田中里奈子、袁飛、宮元敬天、麓伸太郎、西田孝洋
2. 発表標題 組織透明化法による肝臓表面投与後のDoxorubicinやマーカー物質の吸収性と分布の評価
3. 学会等名 日本薬剤学会第36年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 満留菜央、松本真由子、赤城友章、村上優衣、塚田凜、宮元敬天、麓伸太郎、西田孝洋
2. 発表標題 高選択的な局所化学療法に向けたDoxorubicin含有二層型シート製剤の各種組成における薬物放出性と体内分布評価
3. 学会等名 第37回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 YUAN FEI, Watanabe Yuka, Sada Hikari, Miyamoto Hirota, Fumoto Shintaro, Nishida Koyo
2. 発表標題 Relationship between drug release from dialysis membrane and absorption from the mouse liver surface, aiming to predict viscous additives effect
3. 学会等名 第37回日本薬学会九州支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 満留菜央、村上優衣、赤城友章、袁飛、宮元敬天、麓伸太郎、西田孝洋
2. 発表標題 癌病巣選択的治療に向けたドキシソルピシン搭載シート製剤の腫瘍集積性と抗腫瘍効果の評価
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

長崎大学薬理学分野ホームページ https://www.ph.nagasaki-u.ac.jp/lab/dds/index.html

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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------