

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 10 月 17 日現在

機関番号：15101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2011

課題番号：22659220

研究課題名（和文） マイクロバブルを用いたドラッグデリバリーの開発

研究課題名（英文） Development of a new drug delivery system using micro bubbles

研究代表者

神納敏夫 (KAMINOU TOSHIO)

鳥取大学・医学部・准教授

研究者番号：20254401

研究成果の概要（和文）：

肝細胞癌の化学療法としては主に動注化学療法が行われ、長期にわたって薬剤をリリースする担体の開発が必要とされている。そこで、各種粉末性抗がん剤（CDDP, MMC, epi-ADR）について、肝の造影にも使用される超音波用造影剤（界面活性剤パルミチン酸とガラクトースの混合物）と混和し、安定性の確認を行い、マイクロバブルを表面に含有する本造影剤が、ドラッグデリバリーとして適当かの検討を行った。超音波造影剤に含まれるマイクロバブルと各種抗がん剤の親和性はいずれも不良で、早期に分離することから、有効なドラッグデリバリーシステムとはならないと考えられた。

研究成果の概要（英文）：

As a chemotherapy for hepatocellular carcinoma, hepatic arterial infusion chemotherapy has been mainly performed. But no effective drug delivery system for the treatment of hepatocellular carcinoma has been developed.

We examined usefulness of micro-bubbles formed at the surface of ultrasonographic contrast media as an intra-arterial drug delivery system.

The affinity of micro-bubbles and anti-cancer drugs (CDDP, MMC, epi-ADR) was defective. Micro-bubbles released powder of anticancer drugs within a short time. Micro-bubbles made by whipping methods were not to be an effective drug delivery system.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	800,000	0	800,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	1700,000	270,000	1970,000

研究分野：医歯薬学

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：動注化学療法、抗がん剤、ドラッグデリバリーシステム、悪性腫瘍
超音波造影剤、マイクロバブル

1. 研究開始当初の背景

現在、肝細胞癌に対する動注化学療法として現在最も広くおこなわれている方法は、抗癌剤と油性造影剤（ヨード化ケシ油脂脂肪酸エチルエステル）を混和し、カテーテルを用いて腫瘍の栄養血管に動注する方法である。油性造影剤を使用する目的は、これが肝細胞癌の血洞に比較的長期間停滞するという性質を利用して腫瘍内に抗癌剤を高濃度かつ長時間停滞させることにある。しかし、水溶液である抗癌剤溶液と油を安定して混合状態（エマルジョン）にすることは困難であり、実際の治療現場ではカテーテルを腫瘍の栄養血管へ導く十数分の操作の間にも抗癌剤溶液と油性造影剤は容易に分離してしまう。逆に抗癌剤と油性造影剤の親和性の高い製剤では、1ヶ月経過しても6%程度しか腫瘍内に抗癌剤が除法されず、治療効果が不十分となる可能性が指摘されている。

さらには、動注療法後の肝細胞癌再発をチェックするために行われるダイナミック CTにおいて、癌病巣に貯留した油性造影剤があまりに高い CT 値を呈するため腫瘍の再発を見逃してしまう危険があることが知られており、これも油性造影剤を用いた動注療法の欠点のひとつである。

これらの問題点を克服するために、油性造影剤に代わる抗癌剤の運搬物質としてマイクロバブルを利用することを考案した。マイクロバブルをドラッグデリバリーとして応用することができれば、マイクロバブル自体の持つ肝細胞癌への蓄積効果の他、体外からの高圧超音波を照射することによってマイクロバブルを破碎し、抗癌剤を一瞬にして腫瘍内に徐放する事が可能となると考えられる。また、マイクロバブルは CT で描出されないため、dynamic CT において診断の妨げにならず、理想的なドラッグデリバリーとな

る可能性を秘めている。

2. 研究の目的

肝細胞癌に対する肝動注用ドラッグデリバリーシステムとして、超音波用造影剤表面に形成されるマイクロバブルが使用可能か否かを検討する。すなわち、マイクロバブルと抗癌剤を安定した混和状態（ホイップ状態）に調製できる方法について検討する。

3. 研究の方法

マイクロバブルとしては超音波用造影剤（界面活性剤パルミチン酸とガラクトースの混合物）を使用した。マイクロバブルの発生はガラクトースが液体に溶解する際に発生するマイクロバブルを界面活性剤であるパルミチン酸により安定化するもので、経静脈投与可能な超音波用造影剤として広く臨床応用されている。このバブル（空気）と液体の界面に難溶性の微粒子（抗癌剤）を封入し、安定化させられる混和比率や抗癌剤抹の粒子サイズを検討する。

まず、超音波用造影剤が組織に一定時間停滞するか否かを検討するため、豚を使用し、超音波造影剤を脾動脈より注入し、経時的に動脈造影を行いその停滞性を確認した。

次に、今回の主目的であるドラッグデリバリーシステムとしての有用性を検討するため、肝細胞癌に対する感受性が確認されており、かつ粉末製剤として提供されている抗癌剤（CDDP、epi-ADR、MMC）と超音波造影剤を混和した後に注射用蒸留水を加え、安定した化合物（ホイップ）が形成できるかどうか検討した。

抗癌剤の量は実際の肝細胞癌の治療現場で一般的に使用される1回投与量（CDDP は 25-50mg、epiADR は 30-60mg、MMC は

2-6mg) の中で 3 通りの濃度を準備し、各粉末を溶解する蒸留水は、診療現場の動注療法におけるリピオドールエマルジョンの量を参考に 5ml とした。これらの混合液を試験管に入れ、調整直後、10 分後、6 時間後に肉眼的、顕微鏡的に観察した。

次に、抗癌剤末がマイクロバブルの存在により液体に溶解しない状態で安定しているかどうかを検討するため、溶解 10 分後の各溶液の一部を各々 2 枚のビニールパックにとりわけて水中に沈めたのち、一方のみに高音圧超音波を照射してマイクロバブルを破碎し、水溶液中の抗癌剤濃度を、超音波を照射していないもの比較した。

4. 研究成果

前実験として行った、豚脾動脈よりの超音波造影剤の注入により、脾動脈の血流が一定時間遅延し、造影剤が脾組織内に停留することが確認された。また、この停滞時間はその注入量に依存した。

抗癌剤と超音波造影剤の混和実験において、粉末 CDDP では、溶液作成直後、10 分後、3 時間後のいずれにおいても肉眼的および顕微鏡的にフリーの抗癌剤粒子が確認された。10 分後では粒子周囲にマイクロバブルの付着がみられたが、その結合は弱く、試験管の攪拌にて容易に分離した。また、3 時間後にはマイクロバブルは消失し CDDP 粉末が溶解せず多く残存していた。MMC と epi-ADR でも CDDP と同様の傾向であったが、抗癌剤末の平均粒子径が小さいため混和直後ではマイクロバブルと比較的良好に混和されたように見えた。しかし、10 分後、3 時間後では MMC、epi-ADR とともに抗癌剤粒子は視認されず水溶液化していた。なお、いずれの抗癌剤においても、抗癌剤の量（各種

3 通り）は、マイクロバブルとの混和状態に影響を与えなかった。

次に、各混和物（混和 10 分後）への高圧超音波照射実験では、各検体につきそれぞれ 6 回ずつ測定を行ったが、いずれも高圧超音波の照射による水溶液中の抗癌剤濃度の変化は確認されなかった。すなわち、マイクロバブルの破碎によってホイップとなっていた抗癌剤が溶液中に溶け出すという、われわれの予想した現象は確認されなかった。

今回の一連の実験、とくに顕微鏡による粒子の観察では、粒子径の大きな CDDP 粉末とマイクロバブルとの親和性が最も不良であった。抗癌剤のホイップ化が成功しなかった要因として、マイクロバブルのサイズ（平均 $1.3\mu\text{m}$ ）に対して、いずれの抗癌剤粉末も粒子径が大きすぎたため気泡と液体との界面に微粒子として安定することができなかった可能性がある。抗癌剤粉末を超微細顆粒に粉碎する技術があれば、我々の実現できなかった抗癌剤のホイップ化が実現できるかもしれない。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 0 件）

〔学会発表〕（計 0 件）
〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕
○出願状況（計 0 件）
○取得状況（計 0 件）

〔その他〕
ホームページ等
特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者
神納敏夫 (KAMINOU TOSHIO)
鳥取大学・医学部・准教授
研究者番号：20254401

(2)研究分担者

大内泰文 (OUCHI YASUFUMI)

鳥取大学 医学部付属病院・講師

研究者番号：40304224