

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 9 月 16 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592151

研究課題名(和文) 脊髄への定位的局所薬剤送達方法の開発

研究課題名(英文) Convection-enhanced drug delivery into the spinal cord

研究代表者

杉山 慎一郎 (Shin-ichiro, Sugiyama)

東北大学・医学(系)研究科(研究院)・非常勤講師

研究者番号：30623152

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：脊髄の病気(たとえば、脊髄損傷)は、現代の医療においても治療が難しい。その理由の一つとして、脊髄には血液-脳脊髄関門があり、十分な量の薬を投与することが難しいことが挙げられる。この研究では、convection-enhanced delivery (CED) 法という新しい薬剤投与方法を脊髄に応用することで、脊髄に十分な薬を投与することに成功した。また、コンピュータ・シミュレーションを使って、投与した薬がどのように脊髄に分布するかを予測する方法を開発した。最後に、東北大学病院倫理委員会の承認の下、ほかに治療方法のない末期の脊髄腫瘍の患者さんに、CED法を用いて薬を投与し、驚くべき治療効果を得た。

研究成果の概要(英文)：Convection-enhanced delivery (CED) is a method for distributing small and large molecules locally in the interstitial space of the spinal cord. Delivering these molecules to the spinal cord is otherwise difficult due to the blood-brain or spinal cord barrier. This study revealed regional distribution of macromolecules in the gray and white matter of the spinal cord. In addition, we developed computational methods to predict drug distribution after CED. Finally, we conducted CED treatment for patients with malignant spinal tumor under the approval of the ethical board in Tohoku University Hospital, and got excellent results.

研究分野：脳神経外科学

キーワード：ドラッグ・デリバリー コンピュータ・シミュレーション

1. 研究開始当初の背景

(1) 脊髄疾患の薬物治療は難しい。それは、従来の薬物投与方法、すなわち経口投与や静脈内注射では、血液-脳脊髄関門が障害となって、脊髄組織における有効な薬物濃度が得られないからである。また、脊髄実質内への単純な薬物注入では、ほとんど薬物が拡散せず、治療に有効な薬物分布を得ることができない。医学・薬学の進歩は、革新的治療薬を次々と産み出し続けているが、それら新規薬物も脊髄へと十分に送達されることができて、初めて、期待される治療効果を発揮することができる。新規治療薬を脊髄疾患の治療に適用するために必ず解決しなければならないのが、ドラッグ・デリバリーの問題であった。

(2) 対流強化輸送法 (convection-enhanced delivery (CED)法) は、とくに脳組織において、薬剤を陽圧下に局所注入することで高濃度かつ高範囲の薬剤分布を得る薬剤投与方法である。本研究グループは、CED法を用いた悪性脳腫瘍の治療方法に関する基礎研究を2005年より開始し、動物実験において、その安全性と有効性を証明した。さらに、東北大学病院倫理委員会の承認を得て、2008年より脳および脳幹における再発神経膠腫に対して臨床応用を開始し、従来、治療法が皆無であった脳幹部神経膠腫に対する劇的な治療効果を報告した。このような、脳・脳幹病変に対するCED法の基礎研究・臨床研究をふまえ、脊髄実質もまた、CED法の有効な標的組織となりうると考えたのである。

2. 研究の目的

(1) 本研究の目的は、脊髄へのドラッグ・デリバリー方法の開発である。CED法を脊髄へと応用し、脊髄実質に対する有効な薬物治療を可能にすることを目的とした。

(2) CED法の脊髄における有用性を検証するための薬物分布試験、および、将来の臨床応用を念頭においた数値流体力学的シミュレーション方法の開発を行う。

3. 研究の方法

(1) CED法による薬剤分布範囲の評価

CED法を用い、ラット脊髄に色素を注入する。色素の分布範囲は、脊髄の連続凍結切片を作成し、蛍光顕微鏡下に観察する。

(2) コンピュータ・シミュレーションによる薬剤分布予測

ラット脊髄の3次元データから、計算に用いるための脊髄モデルをコンピュータ上で再構築する。画像を解析・加工し、実際の実験に使用すると同サイズの仮想カニュラを脊髄モデル内に構築した後、周囲に計算格

子を設定する。脊髄実質を多孔質媒体と仮定し、連続の式とDarcyの法則を連立させた流体計算を、商用ソルバを用いて行う。

4. 研究成果

(1) CED法による薬剤分布範囲の評価

CED法を用い、ラット脊髄に色素を注入した際の分布範囲を示す(図1・2)。注入部位の選択により、薬剤分布が大きく異なることが明らかになった。すなわち、脊髄灰白質への注入においては、色素が注入カニュラ先端(図1・B)を中心として分布するのに対し、脊髄白質においては、脊髄後索に沿って、頭尾側方向へと長軸方向に分布した(図2)。

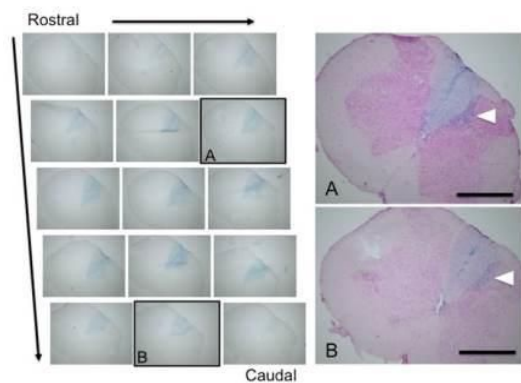


図1 CED法による脊髄灰白質への色素投与 (Rostral: 頭側, Caudal: 尾側)

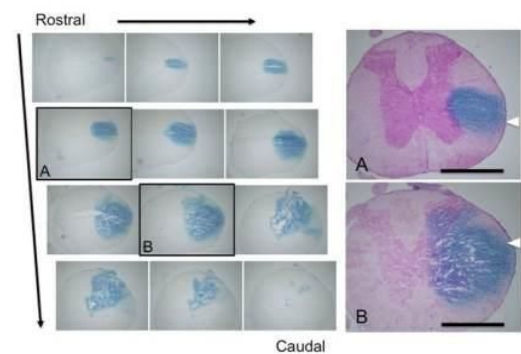


図2 CED法による脊髄白質への色素投与 (Rostral: 頭側, Caudal: 尾側)

これらの定性的評価に加えて定量的評価を行った結果、CED法を用いて薬剤を灰白質に投与する場合、白質への投与と比較すると、頭尾方向に約0.8倍の分布が得られることが分かり、これをグラフ化することができた(図3)。これは、CED法を脊髄へと臨床応用するにあたり、薬剤投与前にその分布を評価するために、極めて重要な知見である。

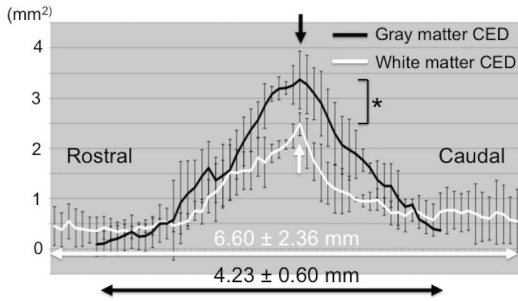


図 3 CED 法による薬剤投与：灰白質と白質における定量的差異 (Gray matter：灰白質 . White matter：白質 .Rostral：頭側 .Caudal：尾側)

(2) コンピュータ・シミュレーションによる薬剤分布予測

数値流体力学的手法を用い、CED 法における薬剤分布を予測する手法を開発した。境界条件として、脊髄組織の空隙率、脊髄間質を満たす脳脊髄液の密度、動粘度、注入薬剤の密度、動粘度、その他を入力した。その結果、前述のごとき動物実験で得られた結果を、理論的に裏付ける結果が得られた。

図 4 および図 5 は、薬剤分布の経時的変化に関するコンピュータ・シミュレーションの結果である。図 4 において、薬剤を青色で示している (濃淡は薬剤濃度を示す)。上段が灰白質投与の場合、下段が白質投与の場合である。両者の場合とも、左から右へと注入時間・注入量が多くなるにつれて、薬剤分布範囲が広がっていく。しかし、灰白質投与の場合、白質投与の場合と比較し、薬剤の頭尾側方向 (長軸方向) への広がりが狭いことが分かる (図 5)。

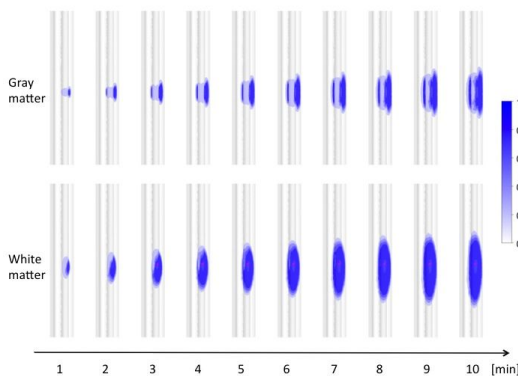


図 4 薬剤分布の経時的変化に関するコンピュータ・シミュレーション-定性的検討 (Gray matter：灰白質 . White matter：白質)

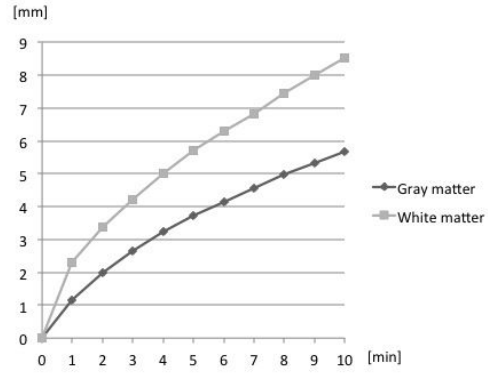


図 5 コンピュータ・シミュレーションで予測される薬剤分布 (長軸方向) の経時的変化-定量的検討 (Gray matter：灰白質 . White matter：白質)

図 6 および図 7 は、CED 法による脊髄への薬剤注入後 (合計 $4\mu l$) の薬剤分布を、コンピュータ・シミュレーションで予測した結果である。図 6 において、薬剤を青色で示している (濃淡は薬剤濃度を示す)。左段が灰白質投与の場合、右段が白質投与の場合である。灰白質投与の場合、薬剤注入部位 (図 6 のピンク色部分) を中心の薬剤分布が得られるのに対し、白質投与の場合には頭尾側方向に長い薬剤分布が得られることが予測される。図 7 は、横軸に注入部位からの距離を、縦軸にその水平断面での薬剤分布面積をプロットした定量的解析の結果である。

これらのコンピュータ・シミュレーションの結果は、ラットを用いた動物実験における実際の結果と一致する。

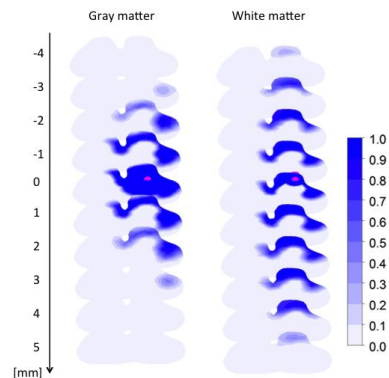


図 6 コンピュータ・シミュレーションで予測された最終的な薬剤分布-定性的解析 (Gray matter：灰白質 . White matter：白質)

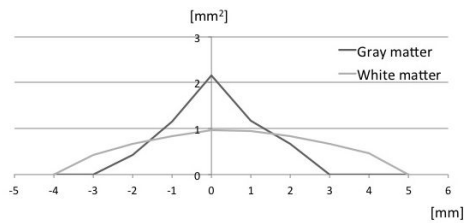


図 7 コンピュータ・シミュレーションで予測された最終的な薬剤分布-定量的解析 (Gray matter: 灰白質, White matter: 白質)

(3) 以上の研究成果をふまえ、東北大学病院施設倫理委員会の承認のもと、他に治療方法のない末期の脊髄腫瘍症例に CED 法を用いた抗腫瘍剤投与を行った。その結果、驚くべき優れた治療効果が得られたが、これは、世界で初めての知見であるとともに、脊髄疾患で苦しむ全ての人々への福音となりうる知見であった。すなわち、CED 法を用いた脊髄への定位的ドラッグ・デリバリーが、難治性脊髄疾患に対する薬物治療の効果を、劇的に改善する可能性を示唆するものである。

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 1 件)

Toshiki Endo, Yushi Fujii, Shin-ichiro Sugiyama, Kenichi Funamoto, Teiji Tominaga, et al. Property of convective delivery in the spinal cord gray matter: Laboratory investigation and computational simulations: *Journal of Neurosurgery, spine*. 査読有. 2015. in press

〔学会発表〕(計 1 件)

杉山慎一郎, 遠藤俊毅, 齋藤竜太, 冨永悌二. Convection-enhanced delivery 法によるラット脊髄灰白質および白質への薬剤送達: 脳神経外科学会第 73 回学術総会. 2014 年 10 月 9 日~11 日. グランドプリンスホテル新高輪 (東京)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.nsg.med.tohoku.ac.jp/research/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉山 慎一郎 (SUGIYAMA, Shin-ichiro)
東北大学・大学院医学系研究科・非常勤講師

研究者番号: 30623152

(2) 研究分担者

遠藤 俊毅 (ENDO, Toshiki)
東北大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号: 00535370

船本 健一 (FUNAMOTO, Kenichi)
東北大学・流体科学研究所・助教
研究者番号: 70451630