

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 5 月 18 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26293319

研究課題名(和文) 局所広範囲ドラッグデリバリー技術の安定化と汎用化に向けた研究

研究課題名(英文) Research for improvement of local CNS drug delivery system and its generalization

研究代表者

齋藤 竜太 (Saito, Ryuta)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：10400243

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,800,000円

研究成果の概要(和文)：我々は脳内広範囲ドラッグデリバリー法の開発に向けた研究を進めてきた。投薬技術の改良、安定化に向けた研究を進め、超音波併用装置を開発し薬剤分布容積を拡大させることに成功し、特許申請を行った。本研究では、投薬技術のさらなる安定化、効率化を目指して、薬剤注入ポンプを従来の従量式から従圧式へ変更すべく、従圧式ポンプを作成した。一定圧での制御が可能であること、一定圧制御時のばらつきが小さいことなど確認し、使用可能であることを実証した。一方で、専門としてきた脳腫瘍以外への本治療法応用の可能性を示すために、てんかんモデル、腫瘍を含む脊髄モデル、アルツハイマー病モデルへの本投薬装置を用いた投薬を実施した。

研究成果の概要(英文)：Recently, we have been working towards CNS (central nervous system) drug delivery system that enables effective distribution of the infusate. Aiming at improved and stable drug delivery system, we developed ultrasound facilitated drug delivery (UFD) device that achieve improved distribution in brain parenchyma. In this study, in order to improve the system, we developed pressure-controlled microinfusion pump. We demonstrated that our system enabled constant pressure delivery within +/- 1mmHg pressure range. Second generation UFD device was also fabricated for stable delivery. Subsequently, to prove that our device is applicable to multiple CNS diseases, we attempted to deliver therapeutic agents to epilepsy model, spinal disease model, and Alzheimer disease model. Anti-epileptic agents worked in epilepsy model, chemotherapeutic drug worked in spinal tumor model. Both of these headed for publication of the literature.

研究分野：脳神経外科学

キーワード：薬剤送達 中枢神経系 脳腫瘍 アルツハイマー病 てんかん

### 1. 研究開始当初の背景

Convection-enhanced delivery (CED)は、薬剤を持続陽圧下に脳細胞間隙に局所注入し高濃度かつ広範囲の薬剤分布を得る新規薬剤投与方法であり、血液脳関門をバイパスするため効率的な脳実質内薬物送達を可能とする画期的技術である。

申請者らは悪性脳腫瘍治療に対する CED 治療の基礎研究を 2005 年より開始し、齧歯・霊長動物を用いた前臨床試験を経て (Sugiyama S et al. J Neurooncol 2007; Sugiyama S et al. Neurol Res 2008; Kikuchi T et al. J Neurosurg 2008; Inoue T et al. Neuro Oncol 2009)、抗腫瘍薬 ACNU の脳内分布を MRI 画像モニタリング下に CED 投与する新規治療法の開発に世界で初めて成功した。東北大学倫理委員会の承認を得て 2008 年再発神経膠腫の臨床応用に至り安全性、有効性の評価を進めている。更に現行治療では未だ予後不良な脳幹部神経修腫の治療に成功し、2011 年より新たに東北大学倫理委員会の承認を得て脳幹部神経膠腫の治療研究を開始した。

このように脳腫瘍臨床研究を進めている一方で、投薬技術の改良、安定化に向けた研究も進めてきた。我々は超音波併用装置を開発し薬剤分布容積を拡大させることに成功し、特許申請を行った(取得済)。また、本薬剤送達技術は血液脳関門の存在により薬剤治療が困難となりがちな他の中枢神経疾患の新たな画期的治療法となる可能性を持つ。本研究では、てんかん科との共同によるてんかん治療への応用、脊髄疾患への応用、当院老年科との共同によるアルツハイマー病治療への応用を目指す。てんかんに関しては当科で開発した光過敏性受容体チャネルロドプシン(ChR2)のトランスジェニックラットを用いた新規ラットてんかんモデルを使用する。脊髄疾患に関しては、脳と同様に中枢神経であることから drug delivery に難渋することが多い部位であることからどう部位の損傷、腫瘍等、本治療の可能性を検討する。また、当院老年科はアルツハイマー病においてアミロイド蛋白の蓄積を可視化する研究を進めており、アルツハイマー病早期におけるアミロイド蛋白の蓄積は全般性ではなく、脳のある部位に特に蓄積が多くなる傾向があることが判明している。これらの疾患に関して局所治療法の確立を試み、proof of concept の確立を目指す。

### 2. 研究の目的

新規薬物送達法 Convection-enhanced delivery(CED)は、脳実質内局所広範囲に高濃度の薬剤の送達を可能とする。申請者らは CED を用いた抗癌剤による悪性脳腫瘍の新規治療法を開発した(基盤 A, 2009-11)。さらに MRI 画像誘導下の投薬技術を確立し、悪性脳腫瘍に対する臨床応用を進めてきた。治

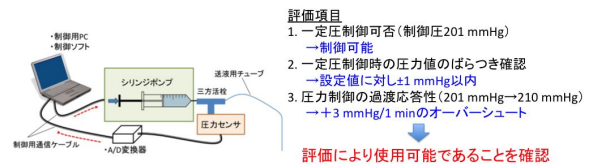
療困難とされる脳幹部再発神経膠腫に対する治療成功例を報告し、さらなる研究を遂行中である。本研究は、この投薬技術の安定化をはかることと他中枢神経疾患への応用を目指すことを目的とする。前者に関しては、現行の従量式薬剤送達から従圧式薬剤投与への変更を目指し、投薬システムへの圧センサーの導入による圧駆動型投薬システムの構築を目指す。後者は特に脳梗塞、てんかん、アルツハイマー病を標的として新規治療法の開発を行い proof of concept を得ることを目的とする。

### 3. 研究の方法

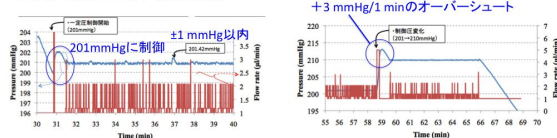
#### 研究 1: 投薬技術の安定化: 従圧式薬剤注入システムの開発

東北大学大学院医工学研究科; 生体機械システム医工学; ナノデバイス医工学研究分野で開発している小型圧測定装置を用いる。この装置を現行の投薬システムに組み込み、正常ラット脳を用いて薬液注入を行う。この際に測定される圧データを解析することで圧駆動の可否を検討する。これが可である場合、測定した圧データを注入ポンプにフィードバックするシステムを構築する。

#### 注入圧制御システム(圧センサ + 流量ポンプ)



#### 注入圧制御システム評価結果



#### 研究 2: 他中枢神経疾患・脳腫瘍他治療への応用

##### (1) てんかんモデルの治療

てんかんモデルとしては、光過敏性受容体チャネルロドプシン(ChR2)のトランスジェニックラットを用いた新規ラットてんかんモデル(東北大学より特許出願済)を使用する。このラットは光刺激で痙攣発作を誘発するモデルである。脳波測定下に抗てんかん薬レベチラセタムを用いた CED を行うことにより、光刺激で誘発されるてんかんの抑制効果を検討する。

##### (2) 脊髄への薬剤送達法の確立

ラット脊髄への色素投与を実施し、CED による脊髄への薬剤送達の基礎を確立する。さらにラット脊髄腫瘍モデルを用いて、抗がん剤脊髄内投与による治療開発を行う。

##### (3) アルツハイマー病モデルへの投薬

まず、本治療に用いるアミロイド分解薬剤

の選定を行う。アミロイド 蛋白 (A $\beta$ ) の分解に関与する分子としては、蛋白分解酵素ネプリライシン、bapineuzumab、solanezumab、ponezumab、gantenerumab などのような A $\beta$  を認識する抗体が考えられる。まず、ラット脳内投与実験を実施し、毒性、脳内投与時の薬剤拡散性を評価する。毒性を認めず、脳内に広く分布するものの中から引き続き研究に使用する薬剤を選定する。アルツハイマー病モデルを用いてアミロイドタンパク低減効果につき、検討する。

#### (4) 脳腫瘍免疫治療への応用

本研究の期間中に脳腫瘍治療に大きな変化があった。広く癌治療において、免疫抑制経路を制御する PD1 などに対する抗体治療が注目されるようになったことから、脳腫瘍においても免疫治療が注目されるようになった。当科でも免疫の共刺激因子を用いた腫瘍ワクチン治療の増強を証明していたが、この共刺激因子の一つ CD40 刺激抗体を脳腫瘍内に CED を用いて局所投与することによる治療効果増強が得られるかを検討する。

## 4. 研究成果

### 研究 1: 投薬技術の安定化

#### (1) 従量式薬剤送達から従圧式薬剤投与への変更

小型圧測定装置を投薬システムに組み込み、注入ルート内の圧を feedback し従圧注入するシステムを構築した(従圧式薬剤投与ポンプを作成した)。一定圧制御の可否、一定圧制御時の圧力値のばらつき確認、圧力制御の過渡応答性を評価項目としてシステムの評価を実施し、一定圧注入が可能であること、 $\pm 1\text{mmHg}$  以内での一定圧制御が可能であること、圧力制御値を変更した際も  $+3\text{mmHg}/1\text{min}$  のオーバーシュートで制御可能であることを証明した。しかし、実用化研究において、注入ルートの閉塞がある際には圧上昇により安全機構が働き、ポンプが停止することが問題となった。そこで、我々が開発した薬液注入装置(2016年特許取得)において、注入ルート閉塞が起こりにくいように修正した形を開発し、特許出願を行った。

### 研究 2: 他中枢神経疾患・脳腫瘍他治療法への応用

#### (1) てんかんモデルの治療

光刺激誘発性てんかん動物モデルを用いて、脳波測定下抗てんかん剤投与によるてんかん波抑制を実証した。本研究に関しては英文論文投稿中である。

#### (2) 脊髄疾患への応用

脳同様に薬剤送達に困難を極める脊髄への応用を試みた。脊髄灰色質、白質への投与で薬剤分布が異なることを示し、コンピュー

ターシミュレーションによる薬剤分布予測の可能性も示した。本研究は J Neurosurg Spine 誌に inpress となっている。また、脊髄腫瘍モデルに対する抗がん剤塩酸ニムスチンの投与を研究し、その最高安全投与濃度を検討するとともに効果を証明した。この研究は Acta Neurochir (Wien). 2017 May; 159(5): 939-946 誌に掲載された。

#### (3) アルツハイマー病への応用

アルツハイマー病モデルマウスを用いて、アミロイドタンパクを分解するネプリライシンの局所投与を実施した。しかし、アミロイドタンパクの優位な低下は証明できなかった。ただし、投与ネプリライシンによる毒性も証明されておらず、最適投与量の検討から再度開始している。引き続き、実験を進める予定である。

#### (4) 脳腫瘍免疫治療への局所薬剤投与の応用

マウス頭蓋内腫瘍モデルに対して、共刺激因子 CD40 刺激抗体の CED による局所投与が強い免疫誘導効果を示すことが証明された。また、通常の脳腫瘍モデルに対して強い抗腫瘍効果を示すとともに、脳腫瘍幹細胞を用いた難治性腫瘍モデルに対しても強い効果を示すことを証明した。この研究は Neuro Oncol. 2016 Aug; 18(8): 1120-1128 誌に掲載された。

## 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 8件)

#### 1. Saito R, Tominaga T.

Convection-enhanced Delivery of Therapeutics for Malignant Gliomas. 査読有 Neurol Med Chir (Tokyo). 57(1): 8-16, 2017.

#### 2. Ogita S, Endo T, Sugiyama S, Saito R, Inoue T, Sumiyoshi A, Nonaka H, Kawashima R, Sonoda Y, Tominaga T.

Convection-enhanced delivery of a hydrophilic nitrosourea ameliorates deficits and suppresses tumor growth in experimental spinal cord glioma models. 査読有 Acta Neurochir (Wien). 159(5): 939-946, 2017.

#### 3. Mano Y, Saito R, Haga Y, Matsunaga T, Zhang R, Chonan M, Haryu S, Shoji T, Sato A, Sonoda Y, Tsuruoka N, Nishiyachi K, Sumiyoshi A, Nonaka H, Kawashima R, Tominaga T. Intraparenchymal ultrasound application improve the distribution of convection-enhanced delivery in rodents'

and non-human primates' brain. 査読有 Journal of Neurosurgery, 124(5): 1490-1500, 2016.

#### 4. Shoji T, Saito R, Chonan M, Shibahara

I, Sato A, Kanamori M, Sonoda Y, Kondo T, Ishii N, Tominaga T.

Local convection-enhanced delivery of an anti-CD40 agonistic monoclonal antibody induces antitumor effects in mouse glioma models. 査読有 Neuro Oncol. 18(8): 1120-1128, 2016.

5. Endo T, Fujii Y, Sugiyama S, Zhang R, Ogita S, Funamoto K, Saito R, Tominaga T. Properties of convective delivery in spinal cord gray matter: laboratory investigation and computational simulations. 査読有 J Neurosurg Spine. 24(2): 359-366, 2016.

6. Yang X, Saito R, Nakamura T, Zhang R, Sonoda Y, Kumabe T, Forsayeth J, Bankiewicz K, Tominaga T.

Peri-tumoral leakage during intra-tumoral convection-enhanced delivery has implications for efficacy of peri-tumoral infusion before removal of tumor. 査読有 Drug Delivery. 23(3): 781-6, 2016.

7. Zhang R, Saito R, Shibahara I, Sugiyama S, Kanamori M, Sonoda Y, Tominaga T. Temozolomide reverses doxorubicin resistance by inhibiting P-glycoprotein in malignant glioma cells. 査読有 J Neurooncol. 126(2): 235-242, 2016.

8. Zhang R, Saito R, Mano Y, Kanamori M, Sonoda Y, Kumabe T, Tominaga T. Concentration rather than dose defines the local brain toxicity of agents that are effectively distributed by convection-enhanced delivery. 査読有 Journal of Neuroscience Methods. 222: 131-137, 2014.

〔学会発表〕(計 7件)

1. 佐藤綾耶、井上憲司、齋藤竜太、Jia Wenting、奥野 さおり、大橋 雄二、鎌田 圭、吉川 彰、冨永悌二. 第 77 回応用物理学会秋季学術講演会(新潟 朱鷺メッセ 2016/9/13)(口演)超音波併用薬剤送達デバイスの開発 - 高効率化・安定化による効果実証 - .

2. 井上憲司、佐藤綾耶、齋藤竜太、Jia Wenting、奥野 さおり、大橋 雄二、鎌田 圭、吉川 彰、冨永悌二. 第 77 回応用物理学会秋季学術講演会(新潟 朱鷺メッセ 2016/9/13)(口演)超音波併用薬剤送達デバイスの開発.

3. Ryuta Saito, Teiji Tominaga. SNO-SCIDOT Joint Conference on Therapeutic Delivery to the CNS (San Antonio, USA. 2015/11/19) (口演) Convection-enhanced delivery of nimustine hydrochloride for brainstem malignant glioma.

4. 齋藤竜太、園田順彦、庄司拓大、針生新也、眞野唯、長南雅志、金森政之、隈部俊宏、冨永悌二. 日本脳神経外科学会 第 74 回学術

総会(北海道札幌、ロイトン札幌/札幌芸術文化の館/札幌市教育文化会館 2015/10/16) (口演)MRI モニタリング下ニトロソウレア剤 Convection-enhanced delivery による神経膠腫新規治療法の開発 .

5. 齋藤竜太、園田順彦、金森政之、庄司拓大、眞野唯、隈部俊宏、冨永悌二. 第 52 回(社)日本脳神経外科学会東北支部会(福島、ホテルサンルートプラザ福島 2015/9/5)(口演)MRI モニタリング下化学療法剤局所投与による脳幹部悪性神経膠腫の治療 .

6. 齋藤竜太、園田順彦、金森政之、隈部俊宏、冨永悌二. 第 32 回日本脳腫瘍学会学術集会(千葉 シェラトン・グランデ・トーキョウベイ・ホテル 2014/11/30)(口演)初回再発悪性神経膠腫に対する摘出術後塩酸ニムスチン convection enhanced delivery 投与とテモゾロミド内服 Phase I/II 臨床試験 .

7. 齋藤竜太、園田順彦、金森政之、永松謙一、山下洋二、隈部俊宏、冨永悌二. 日本脳神経外科学会 第 73 回学術総会(東京 グランドプリンス新高輪 2014/10/11)(口演)MRI モニタリング下ニトロソウレア剤局所投与による脳幹部再発神経膠腫新規治療法の開発 .

〔図書〕(計 1件)

齋藤竜太、金森政之、冨永悌二. 脳腫瘍学 - 基礎研究と臨床研究の進歩 - DDS(Drug Delivery System). 日本臨床 74(増刊号7) 759-763, 2016.

〔産業財産権〕

出願状況(計 1件)

名称: 薬液注入装置

発明者: 冨永悌二、齋藤竜太他

権利者: 国立大学法人東北大学

種類: 特許権

番号: 特願 2016-111559(整理番号 P20150302)

出願年月日: 2017年6月3日

国内外の別: 国内

取得状況(計 1件)

名称: 薬剤注入装置および薬剤注入方法

発明者: 冨永悌二、齋藤竜太他

権利者: 国立大学法人東北大学

種類: 特許権

番号: 2015-540402(特願 2013-207903)

取得年月日: 2016年7月1日

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1)研究代表者

齋藤 竜太(SAITO RYUTA)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号: 10400243

(2)研究分担者

富永 悌二 (TOMINAGA TEIJI)  
東北大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号：00217548

芳賀 洋一 (HAGA YOICHI)  
東北大学・医工学研究科・教授  
研究者番号：00282096

荒井 啓行 (ARAI HIROYUKI)  
東北大学・加齢医学研究所・教授  
研究者番号：30261613