

令和元年6月3日現在

機関番号：32666

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19862

研究課題名(和文) 肝細胞癌に対する新規肝動脈化学塞栓物質の開発：視認性の高い薬剤徐放性ビーズ

研究課題名(英文) Development of new radiopaque drug-eluting beads for the treatment of hepatocellular carcinoma

研究代表者

嶺 貴彦 (MINE, TAKAHIKO)

日本医科大学・医学部・講師

研究者番号：00631293

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：(1) In vitro, 粒径の安定した新規DEBの作製：ミリプラチン(MPT), リピオドール(LPD)とポリカプロラクトン(PCL)を, 加熱混合し、複合材料MPT/LPD/PCL複合材料を作成した。マイクロ流体装置の各種条件(管径, 粘度, 流速など)の調整と最適化により, X線視認性を有し, 制御可能な生体内分解性と薬剤徐放性を有する球形塞栓物質(Drug-eluting beads: DEB)を開発した。(2) In vivo, 生体内でのDEBのX線視認性の評価：ウサギ生体に対する肝動脈化学塞栓術において, X線視認性に手技上の問題はなく, 臨床に応用可能なDEBとしての機能が確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肝動脈化学塞栓療法は, 切除不能肝癌の予後向上に寄与してきた。抗癌剤と油性造影剤であるリピオドールの懸濁液を腫瘍血管に注入する方法が一般的であるが, 近年, 海外では薬剤徐放性塞栓物質(Drug-eluting beads: DEB)を用いた塞栓術が主流となっている。ただし, DEBはX線透視下で視認性が低く, 合併症として意図しない血管へのDEB流入による臓器虚血障害が報告されている。本研究では, リピオドールの特長であるX線視認性と, beadsの特長である安定した粒子物質による薬剤徐放効果と塞栓効果を組み合わせ, 安全かつ治療効果のより高い次世代型DEBの新規開発を試み, その実現性が確認された。

研究成果の概要(英文)：(1) In vitro study; Development of new Drug-eluting beads (DEB). The composite material consists of Miriplatin (MPT), Lipiodol (LPD), and Polycaprolactone (PCL) was created with heating procedure. Radiopaque DEB with stable size and sustained drug-releasing properties was developed with the adjustment of various parameters of micro-fluid system to refine the DEB.

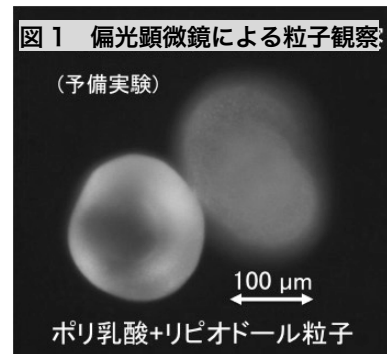
(2) In vivo study; the functional test of DEB in animal experiment. The experiment of transcatheter chemoembolization using the DEB demonstrated adequate radiopacity, embolic effect. These results indicated the possibility of clinical feasibility.

研究分野：放射線医学

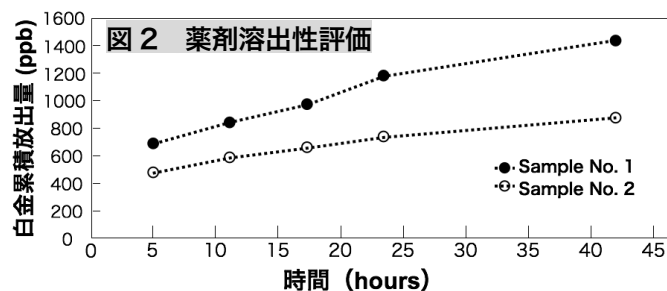
キーワード：血管内治療 IVR治療 肝動脈化学塞栓術 肝細胞癌

1. 研究開始当初の背景

肝動脈化学塞栓療法 (transarterial chemoembolization: TACE) は、切除不能な肝臓がんに対して適応される血管内治療であり、腫瘍を栄養している肝動脈にカテーテルと呼ばれる細い管を挿入し、抗がん剤と詰め物 (塞栓物質) を注入する治療法である。日本では X 線視認性に優れた油性造影剤 Lipiodol (LPD; ヨード化ケシ油脂肪酸エチルエステル) と抗がん剤の混合液を、肝動脈に注入した後、直径 1~2 mm のゼラチンスポンジ細片で血管を塞栓する手法が主流であり、徐放性が高い白金製剤 (ミリプラチン; MPT) -LPD 乳濁液の使用が広く普及している。一方欧米では、ポリマーに薬剤を含浸させた直径 100~300 μm, 300~500 μm, 500~800 μm の Drug-eluting beads (DEB) を、術者が塞栓先の血管径を考慮して注入し、抗がん剤注入と塞栓を一括とした手法が主流である。



ここで、当研究グループは、MPT-LPD 乳濁液の特長である薬剤徐放性・X 線視認性と、beads の特長である安定した粒子物質による塞栓効果を組み合わせた、新たな医療材料の開発に着手した。予備実験では、生分解性ポリマーであるポリ乳酸と LPD を組み合わせた固形複合材料の作製に成功した (図 1)。また、MPT の含浸にも成功し、in vitro ではその優れた薬剤徐放性が確認された (図 2)。これにより、X 線視認性と薬剤徐放効果が高い、すなわち安全性と治療効果が高い新規 DEB 開発の実現性が示唆された。LPD はその開発以降、液体としての特性に焦点が当てられてきたが、LPD を用いた固形材料の作成の報告はかつてない。



2. 研究の目的

肝細胞癌 (以下、肝癌) に対する TACE は、日本で開発され、切除不能肝癌の予後向上に寄与してきた。抗癌剤と油性造影剤であるリピオドール (LPD) の懸濁液を腫瘍血管に注入し、その後、ゼラチンスポンジ細片にて塞栓する方法が一般的であるが、近年、海外では**薬剤徐放性塞栓物質 (Drug-eluting beads: DEB)** を用いた **DEB-TACE** が主流となっている。ただし、DEB は X 線透視下で視認性が低く、合併症として意図しない血管への DEB 流入による臓器虚血障害が報告されている。この問題点を解消しつつ薬剤徐放効果を更に高めた、安全かつ治療効果のより高い次世代型 DEB の新規開発が望まれている。本研究は、DEB にリピオドールと抗癌剤を含浸させた新規の視認性の高い薬剤徐放性 DEB を日本の高い技術力のみにて開発することを目標とした。

3. 研究の方法

(1) 粒径の安定した新規ビーズの作製

マイクロ流体装置の条件の最適化を行うことで、粒径の安定した新規 beads を作製した。分散相と連続相の条件を最適化することで、粒径の制御されたビーズを作製した。分散相には、有機溶媒を用いたポリ乳酸と MPT を懸濁させた LPD の相溶溶液を用い、連続相には有機溶媒の希釈溶液を用いる。この際、押し出した分散相が球形となるためには、管径、押出量、粘度、連続層の流速と、有機溶媒の揮発速度制御が条件となる。作製した beads を、偏光顕微鏡を用いて観察することによって粒径分布を算出し、マイクロ流体装置の条件にフィードバックをかけることで、各条件の最適化を試みた。

(2) 新規ビーズからのミリプラチン溶出性評価

DEB からの薬剤徐放特性を評価するため、ビーズを溶液に浸漬した原子吸光分析法を用い、MPT の含有する白金の溶出濃度を測定した。

(3) 生体内での新規ビーズの X 線視認性の評価

作製した新規 DEB を用いて、日本白色ウサギに対する TACE を行い、生体内に注入中の DEB の X 線視認性を評価し、TACE における適性を検討した。

4. 研究成果

(1) 粒径の安定した新規ビーズの作製

MPT/LPD と分子量 $M_n = 45,000$ のポリカプロラクトン (PCL) を、窒素パージ下において加熱混合し、複合材料 MPT/LPD/PCL を得た。その後、熔融状態の MPT/LPD/PCL (70°C) をマイクロ流路の内部流として流すことで MPT/LPD/PCL-beads を作製した (図 3)。作製に際しては、外部流 (水) と内部流 (MPT/LPD/PCL) の体積流量比を変化させることで、beads 径の制御を試みた (図 4)。LPD と PCL の混合重量比を変化させることで X 線透過性 (X 線マイクロ CT を用いて CT 値を測定) の異なる LPD/PCL を作製することができた (図 5)。また、LPD/PCL は、体内を模擬した 37°C 下におけるリン酸緩衝生理食塩水の浸漬環境下において、生分解が起こることが HPLC によって示された。一般に、PCL のようなポリマー材料は、平均分子量 M_n が小さいほど、LPD のような溶媒と混合させてゲル化する際に必要最小限の重量比は大きくなる (図 6)。ゲルに内包される溶媒の比率によって、ゲル内部のナノマイクロ構造が変化するため、それにより生分解挙動制御が可能であると考えられる。

本結果から、X 線視認性を有し、制御可能な生体内分解性と薬剤徐放性を有する材料を創製し、粒子径分布が狭く径が制御可能な手法を用いて成形すれば、求められる新規 DEB となる可能性を見出した。

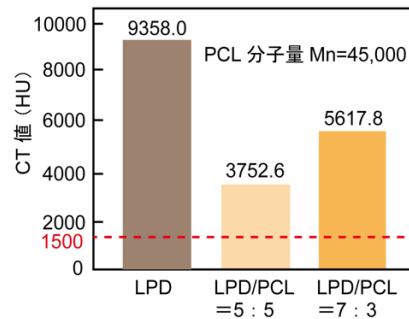


図5 LPD/PCL重量比とCT値の関係

(2) 新規ビーズからのミリプラチン溶出性評価

脂溶性抗がん剤である MPT を含有した MPT/LPD/PCL-beads を PBS, Lipase/PBS, 水酸化ナトリウム水溶液 (NaOH) 中に浸漬し、所定の時間ごとに溶液を取り出して MPT 由来の白金量を測定することで、薬剤徐放性を評価した。薬剤徐放率は以下の式

$$\text{薬剤徐放率 (\%)} = \frac{R_i - R_d}{R_i} \times 100$$

より求めた。 R_i , R_d はそれぞれ溶液浸漬前のビーズ中の MPT 量, 浸漬後の溶液中の MPT 量である。図 7 に薬剤徐放率測定結果を示す。浸漬溶液によって、薬剤溶出率が大きく異なり、PBS に浸漬した際には 32 日で 97% であったのに対し、NaOH に浸漬した場合では 30% に留まった。また、*in vitro* の分解性試験では PBS よりも Lipase/PBS に浸漬した場合の方が高い重量減少率を示していたが、薬剤徐放率はその逆の結果となり、浸漬から 32 日で Lipase/PBS 中では、

図3 MPT/LPD/PCL 複合材料による DEB 作製

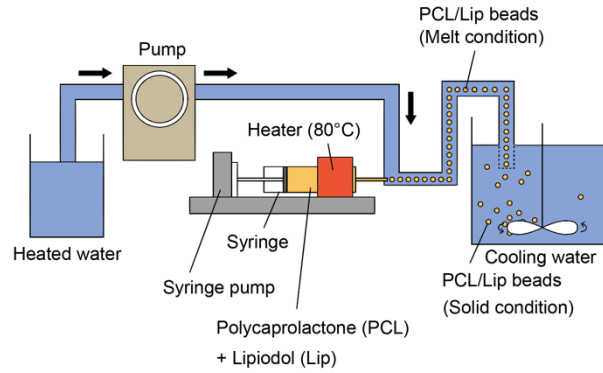
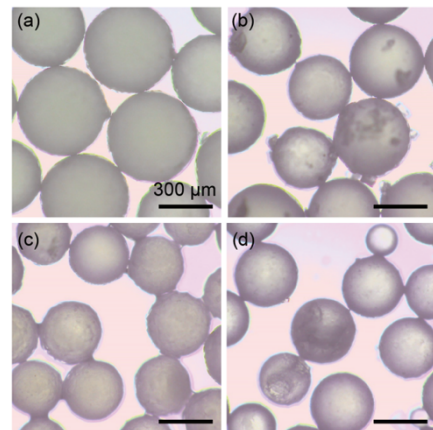


図4 流体パラメータを変化させたときのビーズ

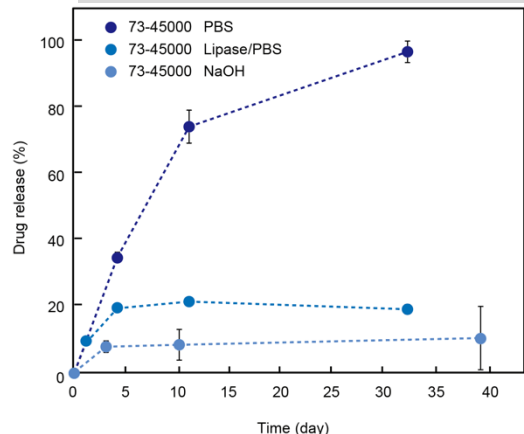


| LPD/PCL 重量比 | 5:5 | 6:4 | 7:3 | 8:2 |
|----------------|-----|-----|-----|-----|
| PCL 分子量 45,000 | ○ | ○ | ○ | × |
| PCL 分子量 10,000 | ○ | × | × | × |

○ 均一なゲル × LPD が漏出

図6 LPD/PCL重量比と分子量によるゲル化相図

図7 新規 DEB からのミリプラチンの徐放挙動



PBS 中の 5 分の 1 以下である 19%であった。以上の結果より、MPT/LPD/PCL-beads からの薬剤溶出挙動は、beads の分解よりも拡散による影響が大きいことが示唆された。

(3) 生体内での新規ビーズの X 線視認性の評価

作製した MPT/LPD/PCL-beads の生体内での分解挙動を調査するため、日本白色ウサギを用いた動物実験を実施した。全身麻酔下にウサギの大腿動脈を外科的に露出し、4Fr シースを挿入して、カテーテルを X 線透視下に肝動脈まで誘導し、beads を肝動脈から注入した。X 線視認性に手技上の問題はなく、血管造影上の血流停滞も確認された。TACE に応用可能な DEB としての機能が確認された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 9 件)

- ① Mine T, et al. (8人中1番目) A Stepwise Embolization Strategy for a Bronchial Arterial Aneurysm: Proximal Coil and Distal Glue with the Optional use of a Microballoon Occlusion system. *Cardiovasc Intervent Radiol.* (査読有) 2018 Aug;41(8):1267-1273. DOI: 10.1007/s00270018-1969-1.
- ② Izumi H, Mine T, et al. (12人中9番目) Internal biliary drainage for isolated posterior segmental biliary obstruction: a case report. *J Med Case Rep.* (査読有) 2018 Jun 4;12(1):156. doi: 10.1186/s13256-018-1699-7.
- ③ Matsumoto T, Mine T, et al. (9人中6番目) Feasibility and Safety of Repeated Transarterial Chemoembolization Using Miriplatin-Lipiodol Suspension for Hepatocellular Carcinoma. *Anticancer Res.* (査読有) 2017 Jun;37(6):3183-3187.
- ④ Mine T, et al. (7人中1番目) Balloon-occluded retrograde transvenous obliteration using a new microballoon for gastric varices. *Minim Invasive Ther Allied Technol.* (査読有) 2017 Jun;26(3):177-181. doi: 10.1080/13645706.2016.1253590.
- ⑤ Kimura T, Mine T, et al. (10人中4番目) Combination Therapy of Interventional Radiology and Surgery for Infarction of the Small Intestine Caused by Portal Vein and Mesenteric Vein Thrombosis: A Patient Report. *Yonago Acta Med.* (査読有) 2016 Sep 12;59(3):237-240.
- ⑥ Matsumoto T, Mine T, et al. (7人中2番目) CT Fluoroscopy-Guided Transsacral Intervertebral Drainage for Pyogenic Spondylodiscitis at the Lumbosacral Junction. *Cardiovasc Intervent Radiol.* (査読有) 2017 Jan;40(1):125-129. doi: 10.1007/s00270-016-1452-9.
- ⑦ Yamato Y, Hayashi T, et al. (9人中6番目) Biocompatibility Tests and Adhesion Improvements for Hydrogen-Free Amorphous Carbon for Blood-contacting Medical Devices. *Sensors and Materials.* (査読有) 2017 Jun;29(6):843-854. DOI: 10.18494/sam.2017.1573
- ⑧ Onozawa S, Mine T, et al. (7人中4番目) Can an enhanced thin-slice computed tomography delineate the right adrenal vein and improve the success rate? *Jpn J Radiol.* (査読有) 2016 Sep;34(9):611-9. doi: 10.1007/s11604-016-0564-0.
- ⑨ Onozawa S, Mine T, et al. (6人中3番目) Amplatzer Vascular Plug Anchoring Technique to Stabilize the Delivery System for Microcoil Embolization. *Cardiovasc Intervent Radiol.* 2016 May;39(5):756-760. doi: 10.1007/s00270-015-1248-3.

[学会発表] (計 5 件)

- ① Mine T, et al. In vitro study of the effects of increased temperature on the glue viscosity and its potential role for bronchial arterial embolization using microballoon systems. *CIRSE 2018.* 2018.
- ② Mine T, et al. Transvenous Coil Embolization for a Dural Arteriovenous Fistula with Angiographically Isolated Transverse-Sigmoid Sinus. *Progress in Radiology 2018.* 2018.
- ③ Mine T, et al. Transvenous Coil Embolization for a Dural Arteriovenous Fistula with Angiographically Isolated Transverse-sigmoid Sinus: Multiple Microcatheter Technique via a Modern Triaxial System. *ASNR 56th Annual Meeting.* 2018
- ④ Mine T, et al. Endovascular management for mediastinal bronchial arterial aneurysms. *Progress in Radiology 2016.* 2016.
- ⑤ 嶺 貴彦・他, 縦隔型気管支動脈瘤に対する IVR 治療戦略. 第 45 回日本 IVR 学会総会. 2016 年.

[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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

嶺 貴彦 (MINE TAKAHIKO)

日本医科大学・医学部・講師

研究者番号: 00631293

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。