

平成21年4月14日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19790125
 研究課題名（和文）
 難水溶性抗がん剤の新規エマルジョン製剤化による臨床的付加価値の多面的付与
 研究課題名（英文）
 Addition of various clinical values to poorly water-soluble anti-cancer drugs
 by formulating them into novel emulsion system
 研究代表者
 大河原 賢一（OGAWARA KENICHI）
 岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教
 研究者番号：30291470

研究成果の概要：

近年、優れた抗がん効果を有するものの、その低い水溶性のため、臨床での使用に際し、問題を有する抗がん剤が少なくない。本研究課題では、これら難水溶性抗がん剤をエマルジョン製剤化することにより溶解性を改善できるだけでなく、抗がん剤内封エマルジョン製剤の体内動態を各種製剤技術により時間的・空間的に制御することによって、更なる臨床的な付加価値を付与できることを示した。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,100,000	0	2,100,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	330,000	3,530,000

研究分野：生物薬剤学

科研費の分科・細目：薬学・物理系薬学

キーワード：製剤学、ドラッグデリバリー

1. 研究開始当初の背景

パクリタキセルは、様々な難治性のがんに対する高い有効性が確認され、世界中で幅広く使用されているタキサン系抗がん剤である。しかしながら、その低い水への溶解性のため投与方法が限定され、臨床現場においては、エタノールとポリオキシエチレン硬化ヒマシ油誘導体を溶解補助剤として使用し、輸液中に混和、希釈することにより患者に点滴投与

されている。さらに、これら使用した溶解補助剤に起因する過敏症（アレルギー反応）が報告され、その報告数が増加するのに伴い、パクリタキセルを投与するすべての患者に対してステロイドならびに抗ヒスタミン薬が前投与されている。

液状製剤の1つであるエマルジョン製剤は、液体中にこれと相互に溶解しないほかの液滴

を分散させた製剤である。上述したように、パクリタキセルは水への溶解性が低い一方で、油への溶解性は比較的良好であるため、パクリタキセルの製剤化において、エマルションは有望な剤形のひとつである。さらにパクリタキセルのエマルション製剤化が可能になれば、過敏症の原因となる溶解補助剤を使用することなく、その溶解性が改善できることに加えて、エマルションからのパクリタキセルの放出速度を製剤技術により制御することで、その抗がん作用の持続化も可能となると考えられ、本化合物の臨床上の有用性を、製剤としての安全性とともに飛躍的に高めることができるものと考えられた。

2. 研究の目的

本研究課題では、上述したパクリタキセルをエマルション製剤化することによって得られるメリットに加え、私がこれまで行ってきた「微粒子性薬物キャリアーの体内動態制御」に関する研究成果を基盤に、パクリタキセル内封エマルション製剤の体内動態を時間的・空間的に制御することを目指した。一般に、腫瘍組織の有する解剖学的特性により、正常血管では血管外へ漏出しにくいナノ粒子（概して粒子径150 nm以下のもの）も腫瘍血管からは漏出し、いったん局所で漏出した粒子はその場で滞留しやすく、結果として静脈内投与後の血中滞留性が高いナノ粒子内部に抗がん剤を封入することで、抗がん剤の腫瘍への薬物送達が可能となることが知られている。従って、製剤学的技術により血中滞留性に優れたエマルション製剤を調製することにより、パクリタキセルの腫瘍組織への送達効率を改善できると考えられる。さらに製剤の血中滞留性を増大させるためには、腫瘍組織以外の臓器・組織への製剤の移行性を低減させる必要があるため、血中滞留性の高い製剤を開発

することにより、標的組織である腫瘍組織以外の臓器・組織にパクリタキセルが移行することにより起こりうる、様々な副作用の発現も同時に低減できることになる。

本研究課題にて標榜しているパクリタキセルの新規エマルション製剤を適切に設計することが出来れば、① パクリタキセルの溶解性の改善、② 過敏症発生の抑制（製剤の安全性の担保）、③ 放出速度制御による抗がん作用の持続化、④ 標的組織へのデリバリー効率の改善による抗がん作用の増強、⑤ 他臓器への移行性を低下させることによる副作用の低減を一度に達成することが可能となり、本化合物に対して臨床的な付加価値を多面的に付与できると考えられた。

3. 研究の方法

(1) エマルション組成の最適化

エマルション製剤の体内でのパフォーマンスに関する各種検討に先立ち、まず、その処方最適化を念頭に、エマルション調製に使用する成分の絞込みを行った。

(2) 生体適合性の評価

従来のパクリタキセルの点滴用製剤の臨床上の問題点のひとつは、製剤成分に起因する過敏症の発症である。一般的に過敏症の本態を司る重要なプロセスとしてヒスタミンの過剰分泌が挙げられる。そこで、調製した製剤の生体適合性を肥満細胞からのヒスタミンの放出量を指標に評価した。

(3) 腫瘍モデル動物の作成とその最適化

抗がん剤の薬理効果の評価には、腫瘍モデル動物を作成し、それらを用いて抗がん剤の抗腫瘍効果を評価するという方法が最も一般的である。中でも最も汎用されているモデルは、がん細胞を皮下に移植することにより固形がんを作製し、製剤は静脈内投与により投与するというものである。一方、腹膜播腫を想定したモデルとして、がん細胞を腹腔内に

移植し、製剤も同じく腹腔内に投与するというものがある。この場合には投与部位が腹腔内であることもあり、製剤の粒子径には特に制限がない。そこで私は、実際に調製したエマルジョン製剤の中に、その粒子径以外の要素においては申し分のない特性を有するものが見出される可能性を想定し、調製されたエマルジョン製剤の体内でのパフォーマンスを、より最適なモデルにて評価するため、これら両モデルを確立することにした。

(4) エマルジョン製剤の体内動態特性の評価

エマルジョン製剤の体内動態特性の評価は、検討項目(5)の結果と結び付けて成果を議論しやすくするために、担がんマウスを用いて行う。実験は、脂質の放射標識体を処方中にトレーサーとして添加することによりエマルジョン製剤を放射標識し、担がんマウスに静脈内投与した後の各種サンプル中の放射活性を測定することで、その血中濃度推移、臓器中蓄積量、腫瘍組織への蓄積量をそれぞれ定量することにより行った。これらの製剤側の体内動態特性の検討にあわせ、実際に抗がん作用を発揮するパクリタキセルの血中・腫瘍組織中濃度推移も測定することで、パクリタキセルの放出に関する知見も含めた、パクリタキセルの体内動態特性に関する、詳細な情報を取得した。

(5) エマルジョン製剤の抗がん効果の評価

エマルジョン製剤の抗がん効果の評価は、エマルジョン製剤投与後、経日的に腫瘍のサイズを測定するとともに、マウスの生存日数を計測ことにより行った。副作用の指標として、薬物投与後の体重の推移も合わせて計測した。腹膜播腫マウスモデルを用いた検討の場合には、腫瘍のサイズを計測する代わりに、蓄積した腹水の体積を測定した。

4. 研究成果

エマルジョン組成の最適化

油相成分やその混合比の異なる種々のエマルジョンを調製し、粒子径、ゼータ電位および油相に対するパクリタキセルの溶解度を測定した。いずれのエマルジョン製剤も粒子径約100 nm前後に調製でき、それらのゼータ電位は約 -15 mV付近を示した。またパクリタキセルの油相中溶解度は、トリアセチンの割合が増加するにつれて上昇する傾向が認められた。調製したエマルジョン製剤(12種類)のうち、いくつかの処方においては、時間が経過するとクリアリングや二相分離が観察されるものがあり、特にトリアセチンの割合が多いと二相分離しやすい傾向がみられた。そこでエマルジョン調製後の安定性ならびにパクリタキセルの油相中溶解度を考慮して Emulsion A、D、G を選択した。尚、選択した3種のエマルジョン製剤については調製後1ヶ月までは粒子径、粒度分布に大きな変化が起らないことを確認している。

生体適合性の評価

肥満細胞からのヒスタミン遊離惹起物質であることが知られている compound 48/80が肥満細胞からのヒスタミン放出を有意したのに対し、選択した3種のエマルジョン製剤は肥満細胞からのヒスタミンの遊離量はコントロールと同程度と非常に小さいものであることが示され、これら調製したエマルジョン製剤の生体適合性は高いことが示唆された。

放出特性の評価

エマルジョンを用いた薬物療法において、主薬の放出挙動は、薬効を大きく左右する重要な要素であり、至適な速度での薬物放出を実現させることがエマルジョン製剤を用いた治療の成否を握ることになる。そこで次に、調製した各エマルジョンからのパクリタキセルの放出特性に関する検討を行った。平衡透析法を用いた評価に際し、内水相として、腹

水がんモデルラットより採取した腹水あるいは正常ラット血清を使用した。その結果、いずれの場合もEmulsion Dからのパクリタキセルの放出が最も速いことが示された。

腹膜播腫モデルマウスにおける抗腫瘍効果の評価

Ehrlich細胞移植3日後の腹水がんモデルマウスに対して、パクリタキセルを含有した各エマルジョン製剤を腹腔内投与し（パクリタキセル25 mg/kg）、経日的な生存率を測定した結果、Emulsion Dを投与したマウス以外は移植25日までに全てが死亡したのに対し、Emulsion Dを投与したマウスは移植60日後においても4匹中3匹が生存していた。他の製剤については有意な生存日数の延長傾向はみられず、コントロール群と同様に、速やかな生存率の低下が認められた。

固形がんモデルマウスにおける抗腫瘍効果の評価

腫瘍の体積が約 100 mm³ に達した固形がんモデルマウスに対して、パクリタキセルを含有した各エマルジョン製剤をパクリタキセルとして 1 mg/kg の投与量で静脈内投与し、経日的に腫瘍の体積を測定した。結果、Emulsion A、D、Gを投与することにより、コントロール群と比較して有意に腫瘍体積の増加を抑制することが明らかとなり、Emulsion A、D、Gの高い抗腫瘍効果が示された。またパクリタキセルを内封していないエマルジョン製剤においては腫瘍体積の増加抑制が認められなかったことから、得られた抗腫瘍効果は、明らかにパクリタキセルによるものであることが示された。

今後の展望

本研究課題において、生体適合性の高いパクリタキセル内封エマルジョン製剤の処方を三種類見出すことができた。これら三種のエマルジョンからのパクリタキセルの放出速度

は、いずれも遅いものであったが、Emulsion Dからのパクリタキセルの放出が他の二種と比較して速いことが示された。また、腹水がんモデルマウスにおいてEmulsion Dを投与したマウスにおける顕著な生存日数の延長が示され、これらのことよりEmulsion Dの速い放出特性がその高い抗腫瘍効果に結びついたものと考えられた。さらに固形がんモデルマウスにおいては、エマルジョン間では顕著な差は認められなかったものの、いずれのエマルジョン製剤も腫瘍増殖を有意に抑制することが明らかとなった。これらの結果は、調製したパクリタキセル内封エマルジョン製剤が種々のがんに対して有効性を発揮する可能性を示唆している。今後はより広範な腫瘍モデルを用いて、パクリタキセル内封エマルジョン製剤の有用性を明らかにしていく予定である。

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）

〔学会発表〕（計1件）

- ① Yuta Yoshizawa, Yusuke Kono, Yoshiko Fukuoka, Ken-ichi Ogawara, Kazutaka Higaki and Toshikiro Kimura, Development and evaluation of novel nanoparticle formulation of paclitaxel, 第23回日本薬物動態学会年会（2008.11.1, 熊本）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大河原 賢一 (OGAWARA KENICHI)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：30291470