

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：34417

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K16711

研究課題名(和文)大量ナノバブル存在下で増強したキャビテーションによる経皮吸収促進の評価

研究課題名(英文)Evaluation of enhanced percutaneous absorption by enhanced cavitation under the large amounts of nanobubbles

研究代表者

上野 裕 (UENO, Yutaka)

関西医科大学・医学部・助教

研究者番号：90716458

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：大量ナノバブルの存在下で増強したキャビテーションによる経皮吸収促進を証明するためにシスプラチン-大量ナノバブル含有液体の作成、それを用いた動物実験を実験を行った。動物実験は当初ラットを用いることを予定していたが、ラットでは対象が小さいため実験が困難であることが、事前の計画実験で分かった。このため、動物を豚に変更した。薬剤はシスプラチンを用いた。これにより実験は問題なく遂行できた。エコーゼリーに大量のナノバブルを生じさせる手技、それにシスプラチンを含有させシスプラチン-他のバブル含有液体作成方法の確立、薬剤投与の手技の確認が実験で実施できた。この手技により他の薬剤投与も可能となる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究結果では大量ナノバブルでキャビテーションを増強することで薬剤の経皮吸収を促進するための実験手技が確立された。研究成果の概要でも記載したが、研究期間内でシスプラチン ナノバブル含有液体作成が確立したため、他の薬剤でも同様の実験が可能となったと言える。これまで、細胞レベルでの実験や手術、カテーテルなど侵襲性の高い実験が行われてきたが、体表エコーと皮膚への薬剤塗布と言う比較的安全な実験が可能になった点は実験動物の苦痛低減も含めて社会的に意味のある成果と言える。また、さらなる展望としては皮下注射に次ぐ痛みを伴わない薬剤投与経路としても期待ができる。

研究成果の概要(英文)：To prove the promotion of transdermal absorption due to enhanced cavitation in the presence of large amounts of nanobubbles, we created a liquid containing cisplatin in large amounts of nanobubbles and conducted animal experiments using it. The animal experiments were initially planned to use rats, but pre-planned experiments revealed that it would be difficult to conduct experiments with rats due to their small size. Therefore, the animal was changed to a pig. We used cisplatin as the drug. This allowed the experiment to be performed without problems. Experiments confirmed the technique for creating a large number of nanobubbles in the echo jelly, establishing a method for creating a liquid containing cisplatin and other bubbles by adding cisplatin to it, and confirming the technique for administering the drug. This technique will also enable the administration of other drugs.

研究分野：インターベンショナルラジオロジー(IVR)

キーワード：インターベンショナルラジオロジー(IVR) キャビテーション ソノレーション エコー ナノバブル
マイクロバブル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

申請者の研究室ではマイクロ、ナノバブルが圧壊するときに生じるキャビテーション効果の物理的衝撃作用を増強し生体利用が可能なレベルに到達させ、ソノポレーションによる細胞内への薬剤の移行、細胞間接着装置タイトジャンクションの通過促進に利用してきた。本研究ではこれを皮下で生じさせ薬剤の経皮吸収促進として利用すべく計画した。

皮下組織内に多量のナノバブルを存在させキャビテーションを起こせば、増強された物理的衝撃作用により経皮吸収が促進されると予測した。皮下注射に次ぐ新たな薬剤投与経路としても期待し本研究の着想に至った。

液体に圧力差が生じることで液体中の微小な気泡に膨張と収縮が生じ、最終的に圧壊する。圧潰した気泡の周囲は強い物理的作用が生じ、温度や気圧が著しく上昇して数千度や数千気圧にまで上昇するといわれている。この反応はキャビテーション効果と称される。キャビテーション効果は工業分野で広く応用され、その実用例としては電子部品の洗浄や有害物質の除去などが挙げられる。生体ではキャビテーション効果による物理的衝撃作用はソノポレーションという細胞膜に一時的な穴をあける作用に利用されている。この穴から微小な物質を細胞内に導入することができる。申請者らの研究室では申請者が研究代表を務めた「平成 27 年度 若手研究 B ; 大量ナノバブルにより増強したキャビテーション効果を利用したソノポレーションの評価」によりキャビテーション効果の生体利用を研究してきた。家兎や豚の肝動脈に炭酸ガスナノバブルの注入と超音波照射を行い、肝臓で増強したキャビテーション効果を生産させることに成功し肝臓内への薬剤の取り込み促進に取り組んできた。さらに申請者らの研究では細胞膜通過だけでなく、細胞間接着装置タイトジャンクションの通過促進効果もあると予測した。そこで申請者の研究室で有するキャビテーション効果を生体利用できるまで増強させる技術が薬剤の経皮吸収促進に応用可能と考えた。経皮吸収の促進として超音波を照射するフォノフォレスिसという方法があり、これはキャビテーション効果の利用とされている。しかし、そこに存在するバブルの量は僅かでありバブルの利用効果は低く実用的ではないようであった。これらの学術的背景から、皮下組織にナノバブルを多量に発生させキャビテーションをきわめて高いレベルに増強すれば細胞膜通過、タイトジャンクション通過の亢進による吸収促進が得られるのではないかということ明らかにしようとしたことが当初の背景であった。

2. 研究の目的

本研究の目的はナノバブルを多量に含む液体を皮膚に塗布して超音波を照射することで経皮吸収が促進することを証明することである。キャビテーション効果の利用は工業分野で進んでいるが、生体への利用、特に医療分野での応用は進んでいない。この手法は新たな薬剤投与経路として有用となる可能性があり、今後の展望として最終的には皮下注射に次ぐ薬剤投与経路となる可能性がある。

3. 研究の方法

まず気体含有液生成装置を用いてナノバブルを多量に含む経皮吸収用液体を生成する。細胞間経路、細胞内経路には脂溶性液体、汗腺経路、毛嚢経路では水溶性液体が適合しているため、水溶性溶剤の生理食塩水を用いて高濃度ナノバブル液体を生成する。

上記で作成した高濃度ナノバブル液体の組成(ナノバブル含有量等)の計測とキャビテーションテストを行う。開発した高濃度ナノバブル液体にシスプラチンを標識する。

このシスプラチン-高濃度ナノバブル液体を用いて以下の動物実験を行った。

異なる 2 つの条件で行う。実験 1. バブルのみ、実験 2. バブルと高周波照射ありで比較実験を行い、個体差もあることを勘案して各 3 頭、計 6 頭の実験を計画した。

実験手順実験

1. バブルのみ：計 3 頭

ヘパリン化要、全身麻酔、モニター類設置。

胸腹部全体を剃毛する。左大腿静脈に 5F シースを留置する。

シースから血管造影用カテーテルを挿入し、下大静脈に先端を留置する。

それぞれ、Pre として静脈のカテーテルから処置前の採血を行う。

シスプラチン 200 mg を生理的食塩水 20ml に溶解、医療用のエコーゼリー 100ml と混合し、120ml のシスプラチン含有ゼリーを作成する。これにマイクロバブルを含有させる。

のゼリー 20ml にとりわけ、6 セット作成する。このうち 1 セットから 1 分ごとにゼリーを 1ml ずつ塗布、上から電源の入っていない超音波プローベを当てる。5 分後にゼリーをふき

取り、除去する。これを1回として、同様に4回(全5回、計20分)、処置を繰り返す。
全5回終了後にPostとして静脈のカテーテルから採血を行う。
各検体は各々に保存容器にいれ、採取後すぐに液体窒素で凍結、その後-80度で保存する。

実験2. バブルと高周波照射あり：計3頭

ヘパリン化要、全身麻酔、モニター類設置。

胸腹部全体を剃毛する。左大腿静脈に5Fシースを留置する。

シースから血管造影用カテーテルを挿入し、下大静脈に先端を留置する。

それぞれ、Preとして静脈のカテーテルから処置前の採血を行う。

剃毛した部位に実験1で作成したゼリー20ml、残3セットのうち1セットから1分ごとにゼリーを1mlずつ塗布、上から電源の入った超音波プローブを当てる。5分後にゼリーをふき取り、除去する。以下、同様に4回(全5回、20分)、処置を繰り返す。全5回終了後にPostとして静脈のカテーテルから採血を行う。

各検体は各々に保存容器にいれ、採取後すぐに液体窒素で凍結、組織に含有する白金の濃度を測定する。

4. 研究成果

大量ナノバブルの存在下で増強したキャビテーションによる経皮吸収促進を証明するためにシスプラチン-大量ナノバブル含有液体の作成、それを用いた動物実験を実験を行った。動物実験は当初ラットを用いることを予定していたが、ラットでは対象が小さいため実験が困難であることが、事前の計画実験で分かった。このため、動物を豚に変更した。薬剤はシスプラチンを用いた。これにより実験は問題なく遂行できた。エコーゼリーに大量のナノバブルを生じさせる手技、それにシスプラチンを含有させシスプラチン-他のバブル含有液体作成方法の確立、薬剤投与の手技の確認が実験で実施できた。この手技により他の薬剤投与も可能となる。

上記動物実験の測定結果を下記に添付する。

試料名 Pt 含有濃度 (ng/mL)

1-1 Pre <10
1-1 Post <10
1-2 Pre 170
1-2 Post 18
1-3 Pre <10
1-3 Post <10
2-1 Pre <10
2-1 Post <10
2-2 Pre <10
2-2 Post <10
2-3 Pre <10
2-3 Post <10

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〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------