

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 4月24日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22300163

研究課題名（和文） 深部がん複合型低侵襲治療用多孔質セラミック微小球の創製

研究課題名（英文） Preparation of porous ceramic microspheres for multiple minimally invasive treatments of deep-seated cancer

研究代表者

川下 将一（KAWASHITA MASAKAZU）

東北大学・大学院医工学研究科・准教授

研究者番号：70314234

研究成果の概要（和文）：ゼラチン懸濁法を用いれば、体液環境下での化学的耐久性に優れる、直径 500  $\mu\text{m}$  程度の多孔性酸化イットリウム微粒子や直径 25  $\mu\text{m}$  程度のリン酸イットリウム微小球が得られることが分かった。また、噴霧乾燥法を用いれば、イットリウムやリンを多量に含む、直径 30  $\mu\text{m}$  程度の中空セラミック微小球が得られることが分かった。これら微小球は、深部がんの血管内複合型治療に有用であると期待される。

研究成果の概要（英文）：We revealed that chemically durable porous yttrium oxide microparticles 500  $\mu\text{m}$  in diameter or yttrium phosphate microspheres 25  $\mu\text{m}$  in diameter can be obtained by gelatin suspension method. Also, we found that hollow ceramic microspheres containing large amount of yttrium and phosphorus 30  $\mu\text{m}$  in diameter can be obtained by spray-dry method. It is believed that the present microspheres are useful for intra-arterial multiple treatment of deep-seated cancer.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	7,400,000	2,220,000	9,620,000
2011年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
2012年度	2,400,000	720,000	3,120,000
年度			
年度			
総計	14,000,000	4,200,000	18,200,000

研究分野：生体材料学

科研費の分科・細目：人間医工学・医用生体工学・生体材料学

キーワード：イットリウム、リン、マグネタイト、微小球、放射線治療、温熱治療

## 1. 研究開始当初の背景

がんを治療する最も一般的な手法は、手術により患部を取り去る外科療法であるが、手

術により患部を完全に取り去ることができない、あるいは手術困難な部位に腫瘍が発生する場合も多い。そこで近年、患部を切除す

ることなく、がん細胞だけを死滅させ、その後正常細胞の再生を促す「低侵襲機能温存療法」が注目されている。

直径約 25  $\mu\text{m}$  の放射性あるいは磁性多孔質セラミック微小球を生理食塩水等に懸濁させ、これをカテーテルによりがんのごく近傍の血管に送り込めば、局所的な放射線塞栓治療あるいは温熱塞栓治療が可能となる。さらに、微小球を多孔化し、そこに抗がん剤などの薬剤を保持させれば、薬剤徐放による治療効果も期待できる。

イットリウム (Y) は中性子線照射により半減期 64 時間の  $\beta$  線放射体となる。そこで、これまでに酸化イットリウム ( $\text{Y}_2\text{O}_3$ ) 含有ガラス微小球や Y 担持高分子微小球が、手術不可能な部位に生じた肝がんの放射線塞栓治療用材料として既に欧米等で実用化されている。しかし、これら微小球は緻密体であり、薬剤を担持・徐放させることはできない。薬剤徐放能を有する放射性あるいは磁性多孔質微小球は、国内外を問わず未だ報告されていない。

## 2. 研究の目的

直径約 25  $\mu\text{m}$  の放射性あるいは磁性多孔質セラミック微小球を生理食塩水等に懸濁させ、これをカテーテルによりがんのごく近傍の血管に送り込めば、局所的な放射線塞栓治療あるいは温熱塞栓治療が可能となる。さらに、微小球を多孔化し、そこに抗がん剤などの薬剤を保持させれば、薬剤徐放による治療効果も期待できる。

本研究は、そのような次世代の複合型低侵襲治療を実現する多孔質セラミック微小球を得る条件を追究することを目的とする。

## 3. 研究の方法

### (1) 多糖類のゲル化反応による $\text{Y}_2\text{O}_3$ 微小球の作製

0.5~2 wt% のアルギン酸アンモニウム水溶液の液滴を 0.01~2 M の塩化イットリウム ( $\text{YCl}_3$ ) 水溶液中にパスツールピペットを用いて滴下し、ゲル化させ、これを 500~1300°C 種々の温度で 1 時間加熱処理した。

### (2) ゼラチン懸濁法によるリン酸イットリウム ( $\text{YPO}_4$ ) 微小球の作製

硝酸イットリウムとリン酸の等モル水溶液に水酸化ナトリウム ( $\text{NaOH}$ ) 水溶液を加え、さらに塩酸を加えることにより  $\text{YPO}_4$  前駆体懸濁液を作製した。同懸濁液にゼラチンを加え、これを 30°C のオイル中に滴下、攪拌し、油中水型エマルジョンを得た。これを氷冷し、ゼラチンを固化させ試料を得た。得られた試料を 700~1500°C の種々の温度で 1 時間加熱処理した。

### (3) 噴霧乾燥法によるリン酸アルミニウム ( $\text{AlPO}_4$ ) あるいは $\text{Y}_2\text{O}_3$ 微小球の作製

硝酸アルミニウムとリン酸の等モル水溶液にアンモニア水を徐々に加え、得られた沈殿を  $\text{AlPO}_4$  前駆体とした。この  $\text{AlPO}_4$  前駆体濃度を 5 wt% とし、そこにポリビニールアルコール (PVA) を 2 wt% 添加した水溶液を噴霧乾燥させた。また、硝酸イットリウム濃度を 5 wt% とし、そこに PVA を 2 wt% 添加した  $\text{Y}_2\text{O}_3$  前駆体水溶液も噴霧乾燥した。得られた試料を 1100°C で加熱処理した。

### (4) 噴霧乾燥法による $\text{YPO}_4$ 微小球の作製

0.1 M リン酸と 0.1 M 硝酸イットリウム水溶液を混合した後、アンモニア水 ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) あるいは  $\text{NaOH}$  水溶液を添加して pH 7 に調整し、白色沈殿を得た。この溶液をよく攪拌し、これに PVA を 2 wt% になるよう添加し、これを出発溶液とした。この出発溶液を噴霧圧力 0.05 あるいは 0.1 MPa で噴霧乾燥した。このようにして得られた試料を 1100°C で 1 時間加熱処理した。表 1 に作製条件を記す。

表 1 試料の作製条件

試料	pH 調整剤	PVA	噴霧圧力/MPa
A	$\text{NH}_4\text{OH}$	+	0.1
B	$\text{NH}_4\text{OH}$	+	0.05
C	$\text{NaOH}$	+	0.05
D	-	+	0.05
E	-	-	0.05

+: 添加あり, -: 添加なし

### (5) 試料の構造解析

得られた試料の形状および構造を走査型電子顕微鏡 (SEM) および粉末 X 線回折法 (XRD) により調べた。

### (6) 試料の化学的耐久性評価

得られた試料 25 mg を pH 6 あるいは 7 の擬似体液 (SBF-6 あるいは SBF-7) 10 mL 中に 36.5°C で 21 日間浸漬し、試料から溶出したイットリウムの濃度を高周波誘導結合プラズマ発光分光法により調べた。

## 4. 研究成果

### (1) 多糖類のゲル化反応により作製した $\text{Y}_2\text{O}_3$ 微小球の構造および化学的耐久性

図 1 に 0.5 M- $\text{YCl}_3$  および 1.0 wt%-アルギン酸アンモニウム水溶液から作製し、乾燥後、種々の温度で加熱処理した試料の XRD パターンを示す。加熱処理前は非晶質であったが、700°C 以上で加熱処理すると立方晶  $\text{Y}_2\text{O}_3$  が析出した。

図 2 に 0.5 M- $\text{YCl}_3$  および 1.0 wt%-アルギン酸アンモニウム水溶液から作製し、乾燥後、種々の温度で加熱処理した試料の SEM 写真を示す。加熱処理前の試料の直径は 1 mm 程度

であったが、加熱処理により 500  $\mu\text{m}$  程度になった。また、1300 $^{\circ}\text{C}$ の加熱処理の場合は、試料表面に亀裂が生じた。さらに、試料の内部は加熱処理前には緻密であったが、加熱処理すると内部に 1  $\mu\text{m}$  以下のメソ気孔が形成された。このようなメソ気孔は、薬剤の担持徐放に有用であると期待される。

また、1100 $^{\circ}\text{C}$ で加熱処理した試料は、表 2(Porous  $\text{Y}_2\text{O}_3$  microparticles)に示すように、 $\text{Y}_2\text{O}_3\text{-Al}_2\text{O}_3\text{-SiO}_2$  (TheraSphere<sup>®</sup>-type) glass よりも優れた化学的耐久性を示すことが分かった。本研究により、メソ気孔を有する多孔性  $\text{Y}_2\text{O}_3$  微粒子を得るための基礎的指針が得られた。

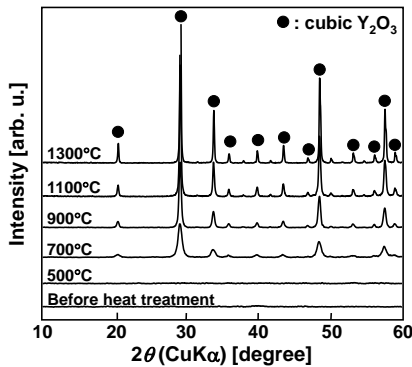


図1 0.5 M- $\text{YCl}_3$ および1.0 wt%-アルギン酸アンモニウム水溶液から作製し、乾燥後、種々の温度で加熱処理した試料のXRDパターン

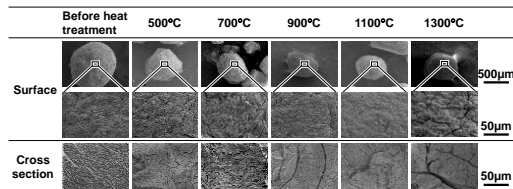


図2 0.5 M- $\text{YCl}_3$ および1.0 wt%-アルギン酸アンモニウム水溶液から作製し、乾燥後、種々の温度で加熱処理した試料のSEM写真

表 2 種々の微小球から pH 6 あるいは 7 の SBF あるいは生理食塩水中に溶出したイットリウムの割合

Sample	Immersion fluid	
	SBF-6	SBF-7
Present $\text{YPO}_4$ microspheres	$2.5 \times 10^{-5}$	$2.5 \times 10^{-5}$
Porous $\text{Y}_2\text{O}_3$ microparticles	$5.6 \times 10^{-3}$	$5.2 \times 10^{-3}$
Hollow $\text{Y}_2\text{O}_3$ microspheres	$1.8 \times 10^{-3}$	$1.3 \times 10^{-3}$
	Saline solutions buffered at pH = 6	Saline solutions buffered at pH = 7
Dense $\text{Y}_2\text{O}_3$ microspheres	$4 \times 10^{-3}$	$2 \times 10^{-3}$
$\text{YPO}_4\text{-Y}_2\text{O}_3$ microspheres	$2.5 \times 10^{-3}$	undetectable level
$\text{Y}_2\text{O}_3\text{-Al}_2\text{O}_3\text{-SiO}_2$ (TheraSphere <sup>®</sup> -type) glass	$9 \times 10^{-3}$	$3 \times 10^{-3}$

(2) ゼラチン懸濁法により作製した  $\text{YPO}_4$  微小球の構造および化学的耐久性

図3に種々の温度で加熱処理した試料のXRDパターンを示す。加熱処理前の試料は非晶質であったが、700 $^{\circ}\text{C}$ で加熱処理すると $\text{YPO}_4$ が析

出し、加熱処理温度が上昇するにつれて、その析出量を増した。

図4に種々の温度で加熱処理した試料のSEM写真を示す。本法により、直径25  $\mu\text{m}$ 程度の表面が滑らかな微小球が得られた。加熱処理温度が700 $^{\circ}\text{C}$ から1100 $^{\circ}\text{C}$ に上昇すると、表面の平滑さが増した。これは、 $\text{YPO}_4$ の焼結によるものと思われた。また、加熱処理温度が1500 $^{\circ}\text{C}$ の場合には、微小球の表面が粗くなり、微小球が一部凝集した。従って、目的の微小球を得るのに適切な加熱処理温度は1100 $^{\circ}\text{C}$ であることが分かった。

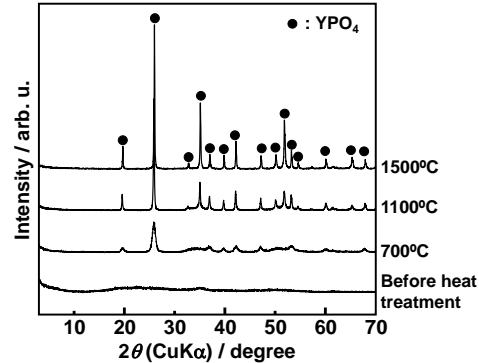


図3 種々の温度で加熱処理した試料のXRDパターン

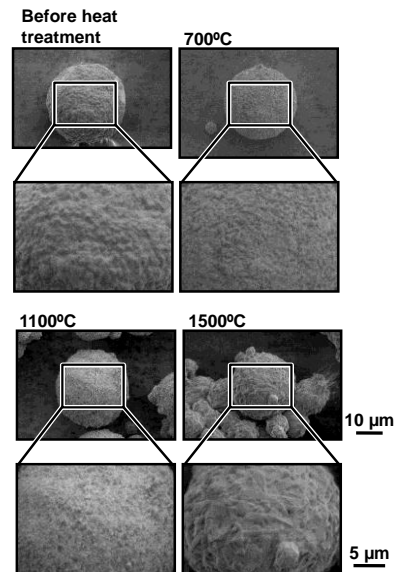


図4 種々の温度で加熱処理した試料のSEM写真

このようにして得られた $\text{YPO}_4$ 微小球は、表 2(Present  $\text{YPO}_4$  microspheres)に示すように、きわめて優れた化学的耐久性を示した。

以上より、ゼラチン懸濁法によれば、平滑な表面を有し、しかも化学的耐久性に優れた $\text{YPO}_4$ 微小球が得られることが明らかとなった。

(3) 噴霧乾燥法により作製した  $\text{AlPO}_4$  あるいは  $\text{Y}_2\text{O}_3$  微小球の構造

本法により、直径  $10\sim 30\ \mu\text{m}$  の  $\text{AlPO}_4$  微小球が得られた。また、 $\text{Y}_2\text{O}_3$  前駆体溶液からは中空の微小球が得られた。しかし、これを加熱処理すると、いずれの場合も微小球の形状は保持されなかった。これは、加熱処理時の窒素酸化物の蒸発によるものと推察された。

(4) 噴霧乾燥法により作製した  $\text{YPO}_4$  微小球の構造

図5に種々の条件で作製した試料の加熱処理前のSEM写真を示す。噴霧圧力  $0.1\ \text{MPa}$  の場合 (Sample A) は、噴霧乾燥機のサイクロン部分に試料が付着し、収率がきわめて低くなった。微小球は約  $5\sim 10\ \mu\text{m}$  程度と小さく、不定形のものや、凝集し球形を保っていないものも多く見られた。一方、噴霧圧力  $0.05\ \text{MPa}$  の場合 (Samples B-D) には、粒径に多少のばらつきがあったものの、粒径  $30\ \mu\text{m}$  程度の微小球が高い収率で得られた。さらに、PVAを添加しない場合 (Sample E) は、 $5\sim 15\ \mu\text{m}$  程度のやや小さい微小球が得られた。

これより、目的の大きさの微小球を得るには、噴霧圧力は  $0.05\ \text{MPa}$  が適していること、およびPVAの添加が有効であることが明らかとなった。

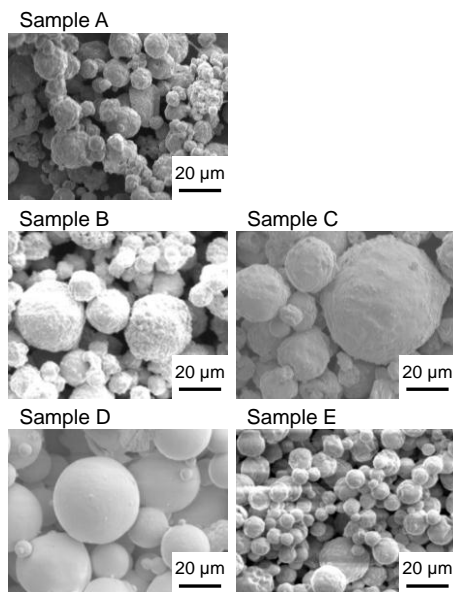


図5 種々の条件で作製した試料の加熱処理前のSEM写真

図6に種々の条件で作製した試料の加熱処理前のXRDパターンを示す。Sample Bでは硝酸アンモニウム ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) が析出し、Sample Cでは、硝酸ナトリウム ( $\text{NaNO}_3$ ) が析出していた。また、Sample Dでは、リン酸イットリウム2水和物 ( $\text{YPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) が析出し、Sample Eでは硝酸イットリウム水和物 ( $\text{Y}(\text{NO}_3)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) が析出していた。

これより、出発溶液に  $\text{NH}_4\text{OH}$  や  $\text{NaOH}$  が含まれ

ていると、噴霧乾燥により得られた微小球に  $\text{NH}_4^+$  イオンや  $\text{Na}^+$  イオンが残存することが分かった。

図7に種々の条件で作製した試料の加熱処理後のSEM写真を示す。PVAを添加して作製したSample B-Dでは、加熱処理によって微小球が崩壊したが、PVAを添加せずに作製したSample Eでは、加熱処理後も微小球の形状は保たれていた。これは、加熱処理時のPVAの熱分解が微小球の崩壊の原因と考えられた。また、Samples B-Dでは、中空微小球が一部生成していることが確認された。

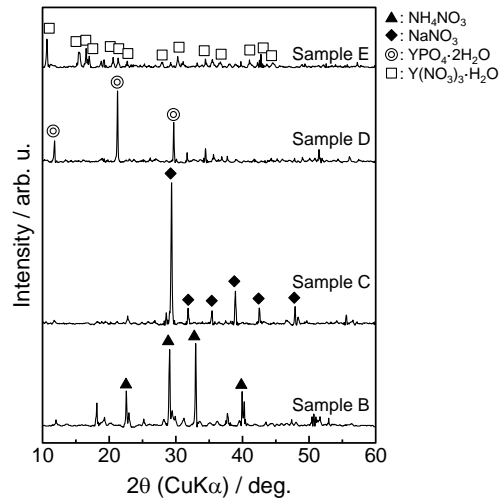


図6 種々の条件で作製した試料の加熱処理前のXRDパターン

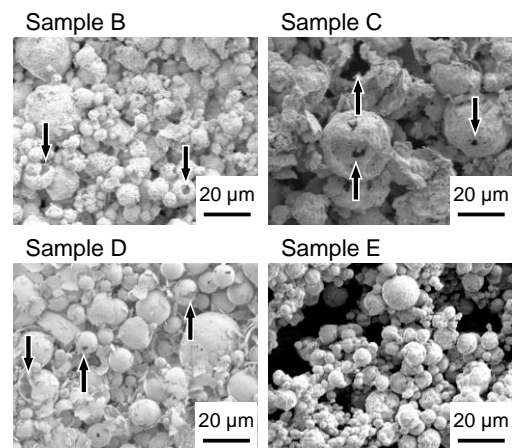


図7 種々の条件で作製した試料の加熱処理後のSEM写真

図8に種々の条件で作製した試料の加熱処理後のXRDパターンを示す。Sample Cは  $\text{Y}_2\text{O}_3$  とリン酸ナトリウム ( $\text{Na}_3\text{PO}_4$ ) からなり、その他の試料は主に三リン酸イットリウム ( $\text{Y}(\text{PO}_3)_3$ ) と  $\text{YPO}_4$  からなっていた。

以上より、噴霧乾燥条件を適切に制御すれば、目的の  $\text{YPO}_4$  微小球が得られる可能性があることが分かった。特に、噴霧圧力を  $0.05\ \text{MPa}$

と低くすれば、粒径30 μm程度の微小球が高収率で得られ、その一部は中空構造を取ることが分かった。また、PVAを添加した場合は、その後の加熱処理によって微小球は崩壊した。これは、加熱処理時のPVAの熱分解によるものと考えられた。

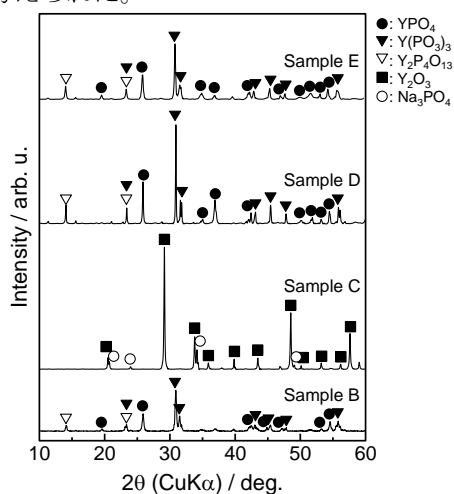


図8 種々の条件で作製した試料の加熱処理後のXRDパターン

#### 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6件)

- ① M. Kawashita, K. Nakamura, T. Miyazaki and H. Kanetaka, Structure of yttrium and phosphorus-containing microspheres prepared by spray dry method, *Int. J. Mater. Chem.*, 査読有, Vol. 3, 16-20 (2013). DOI: 10.5923/s.ijmc.201303.03
- ② Z. Li, M. Kawashita, T. Kudo and H. Kanetaka, Sol-gel synthesis, characterization and in vitro compatibility evaluation of iron nanoparticle encapsulating-silica microspheres for hyperthermia of cancer, *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, 査読有, Vol. 23, 2461-2469 (2012). DOI: 10.1007/s10856-012-4735-y
- ③ T. Miyazaki, A. Miyaoka, E. Ishida, Z. Li, M. Kawashita and M. Hiraoka, Preparation of ferromagnetic microcapsules for hyperthermia using water/oil emulsion as a reaction field, *Mater. Sci. Engin. C*, 査読有, Vol. 32, 692-696 (2012). DOI: 10.1016/j.msec.2012.01.010
- ④ M. Kawashita, N. Matsui, Z. Li, T. Miyazaki, H. Kanetaka, Preparation, structure, and in vitro chemical

durability of yttrium phosphate microspheres for intra-arterial radiotherapy, *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.*, 査読有, Vol. 99B, 45-50 (2011). DOI: 10.1002/jbm.b.31870

- ⑤ M. Kawashita, N. Matsui, Z. Li, T. Miyazaki, Preparation of porous yttrium oxide microparticles by gelation of ammonium alginate in aqueous solution containing yttrium ions, *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, 査読有, Vol. 21, 1837-1843 (2010). DOI: 10.1007/s10856-010-4050-4
- ⑥ T. Miyazaki, T. Kai, E. Ishida, M. Kawashita and M. Hiraoka, Fabrication of yttria microcapsules for radiotherapy from water/oil emulsion, *J. Ceram. Soc. Japan*, 査読有, Vol. 118, 479-482 (2010). [https://www.jstage.jst.go.jp/article/jcersj2/118/1378/118\\_1378\\_479/pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jcersj2/118/1378/118_1378_479/pdf)

[学会発表] (計7件)

- ① 中村梢、川下将一、宮崎敏樹、金高弘恭、噴霧乾燥法による深部癌血管内放射線治療用リン酸イットリウム微小球の作製、日本バイオマテリアル学会シンポジウム2012、2012年11月26~27日、仙台
- ② K. Nakamura, M. Kawashita, T. Miyazaki and H. Kanetaka, Preparation of YPO<sub>4</sub> microspheres for embolic radiotherapy of cancer by spray drying method, 12th Asian BioCeramics (ABC2012) Symposium, Nov. 18-21, 2012, Tainan, Taiwan.
- ③ T. Miyazaki, T. Suda, M. Kawashita, YPO<sub>4</sub> microcapsules as a beta-emitter for cancer radiotherapy, 12th Asian BioCeramics (ABC2012) Symposium, Nov. 18-21, 2012, Tainan, Taiwan.
- ④ K. Nakamura, Z. Li, M. Kawashita, T. Miyazaki and H. Kanetaka, Preparation of microspheres for embolic radiotherapy of cancer by a spray-drying method, 11th Asian BioCeramics (ABC2011) Symposium, Nov. 30-Dec. 2, 2011, Tsukuba, Japan.
- ⑤ 中村梢、李志霞、川下将一、宮崎敏樹、金高弘恭、噴霧乾燥法による深部癌血管内放射線治療用微小球の作製、第33回日本バイオマテリアル学会大会、2011年11月21~22日、京都
- ⑥ M. Kawashita, Ceramic microspheres for arterial embolization therapy, Composites at Lake Louise2011, Oct.

- 30-Nov. 4, 2011, Lake Louise, Canada.
- ⑦ M. Kawashita, Deign of ceramic beads for intra-arterial therapy, The 27th International Korea-Japan Seminar on Ceramics, Nov. 24, 2010, Incheon, Korea.

〔図書〕（計2件）

- ① 川下将一, 李志霞, 深部がん血管内治療用セラミック微小球, 先端バイオマテリアルハンドブック, エヌ・ティー・エス, pp. 395-398 (2012).
- ② 川下将一, 李志霞, 放射線治療に用いられるセラミック材料, セラミック機能化ハンドブック, エヌ・ティー・エス, pp. 405-411 (2011).

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

川下 将一 (KAWASHITA MASAKAZU)  
東北大学・大学院医工学研究科・准教授  
研究者番号：70314234

### (2) 研究分担者

金高 弘恭 (KANETAKA HIROYASU)  
東北大学・大学院歯学研究科・准教授  
研究者番号：50292222

### (3) 連携研究者

光森 通英 (MITSUMORI MICHIHIDE)  
京都大学・大学院医学研究科・准教授  
研究者番号：10263089