

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 28 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23791423

研究課題名(和文) 高分子多糖類を用いた新たな塞栓物質の開発と薬剤溶出能の検討

研究課題名(英文) Development of new embolic material with high-molecular-weight polysaccharide and investigation for the degree of drug-eluting capability

研究代表者

東原 大樹 (Higashihara, Hiroki)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：90423186

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、高分子多糖類を用いた新たな塞栓物質の開発とその薬剤溶出能の程度および塞栓物質の塞栓能について検討した。アルギン酸ナトリウムと塩化カルシウムを架橋させる事により球状物質を作成した。この球状物質を作成するのにあたり、濃度を変えながら、球状物質の物性を計測することで、アルギン酸カルシウムビーズの最適な作成条件を検討した。また、抗がん剤の塩酸エピルピシンを含有させ、薬剤溶出能を検討した。その後、動物実験によりアルギン酸カルシウムビーズが、血管や臓器に与える塞栓能を評価した。

研究成果の概要(英文)：The main purpose of the present study was to develop the new embolic material with high-molecular-weight polysaccharide and investigate the ability of this embolic material and the degree of drug-eluting capability. As the embolic material, I have created a spherical material by cross-linking the calcium chloride and sodium alginate. Optimal preparation for the condition of the calcium alginate beads was examined by measuring the physical properties of the spherical material, while changing the concentration of sodium alginate and calcium chloride. Furthermore, epirubicin hydrochloride as an anticancer drug was contained in the calcium alginate beads and its drug eluting ability was investigated. Then, embolic ability of calcium alginate beads for the vessels and organs were also evaluated by animal experiments.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：インターベンショナルラジオロジー

## 1. 研究開始当初の背景

癌化学療法において抗癌剤の腫瘍選択性を高め、かつ副作用を軽減させるため、薬物療法の最適化を図るドラッグデリバリーシステム(DDS)の研究が盛んに行われていた。本邦では肝細胞癌に対する interventional radiology (IVR)の技術が発達しており、特に切除不能例では動脈塞栓術 (TACE : TransArterial Chemo Embolization)が治療の主体である。通常の TACE 自体、油性造影剤リピオドール(Lp)と抗癌剤の懸濁液と球状ゼラチン粒(商品名:ジェルパート)を組合せることによる、抗癌剤の腫瘍内停滞及び徐放効果を図った一種の DDS の応用である。しかし、Lp は抗癌剤の担体として重要だが、非癌部肝実質の胆管周囲叢(PBP)や類洞など微小循環をも塞栓するため肝硬変患者では肝障害が無視できず、Lipiodol からの徐放効果は 24 時間程度と報告されており、薬剤の徐放時間としては短い。また、ジェルパートの粒子系は約 1 mm ~ 2 mm 程度で、状況によっては塞栓材料としてはややサイズが大きいと考えられる場合も少なくない。おまけにジェルパートの粒子径にばらつきがあり、塞栓物質のサイズの均一性が塞栓術にとっては非常に重要であり、この点でジェルパートは塞栓物質としても理想的であると言いがたい。

現在、欧米では球状 1990 年代後半以降、アクリル系ポリマーのトリスアクリル・ゼラチン球状粒子、球状ポリビニルアルコール(PVA)、薬剤溶出能を持たせた球状 PVA、我々のグループが開発に関わってきた高吸水性ポリマー (SAP)、最近では特殊フッ素コーティングを施したアクリル系ハイドロゲルなど、いわゆる「球状ビーズ」が次々と登場し、塞栓物質の主流となってきている。不整形のゼラチンスポンジや PVA と比べて、均一な粒子径を持つ球形のビーズは、

より末梢側の均等なレベルで腫瘍に局限したいわば標的塞栓を叶えるものだが、一様にビーズといっても、それぞれの物性が異なっている。これらの塞栓物質は現時点では日本未承認である。さらに 2004 年以降、薬剤徐放性を備えた薬剤溶出ビーズ (drug-eluting beads, DEB)が欧米では実用化され大きな注目が集まっている。DEB は、球状ビーズとしての標的塞栓性に加えて、高用量薬剤を腫瘍内で持続的に放出することにより、抗腫瘍効果の向上と全身副作用の低減が期待でき、今後は薬剤溶出性ビーズが悪性疾患に対する塞栓術の中心的役割を担っていく可能性が十分に考えられる。

これら薬剤溶出性ビーズとしての最も理想的な塞栓形態は、塞栓された腫瘍が壊死するのに必要十分な時間のみ標的血管を塞栓し、かつその後は血管が再開通するという可溶性と十分な薬剤吸収量と確実な薬剤徐放にある。今回、われわれは DDS の担体として高分子多糖類であるアルギン酸ゲルに注目した。アルギン酸高分子は生体適合性がよく、食材(人工イクラ)や細胞のカプセル化などの用途の多い材料である。また、原材料が安価であるため医療経済的にも社会的な貢献度が高いと期待される。このアルギン酸ゲルを使用した新たな塞栓物質として薬剤溶出性ビーズが作成可能であるかを検討する。

## 2. 研究の目的

(1) 高分子多糖類であるアルギン酸カルシウムによる球状ゲルを用いたマイクロビーズ(アルギン酸ゲルビーズ)の作成にあつたでの最適条件を検索することおよび可能な限り球状に近いビーズの開発およびビーズのサイズの開発することである。また、細径の球状ビーズの作成可能かを検討すること。

(2) アルギン酸ゲルビーズの薬剤吸収性

および溶出能を検討した後、動物実験により、動物肝腫瘍モデルにおいて、アルギン酸ゲルビーズを肝動脈より投与し、腫瘍組織及び非癌部肝組織の腫瘍壊死効果や薬剤溶出性ビーズを使用した場合の抗癌剤分布、体内薬物動態の検討を行うことである。

### 3. 研究の方法

(1) 高分子多糖類を用いた新たな塞栓物質の開発と薬剤溶出能として、検討対象物質のアルギン酸ナトリウムを塩化カルシウムと架橋させ、球状のアルギン酸ビーズ(以下、ビーズ)を作成した。濃度の異なるビーズを作成し、ビーズの物性(弾性特性)を定量的に評価することで、ビーズの最適化を図った。ビーズを1%、2%、3%濃度の3種類を作成した。顕微鏡下で各10個のビーズ直径を計測し、ビーズ粒子1個毎の弾性特性を圧縮試験により荷重と変位の関係を測定し、定量評価した。次に各種類の1個の粒子を配置し、初期直径の80%付近まで圧縮を行い、圧縮試験によって得られた荷重変位関係を用いて、ビーズ固有の弾性の値を示す縦弾性係数(ヤング率)を推定した。

次に細径ビーズの作成するため、1%、1.5%、2%濃度の3種類の濃度アルギン酸ナトリウムを用いて、インクジェット法にてビーズ粒子の作成を行った。顕微鏡で各500個のビーズ粒子を測定した。

(2) ビーズ粒子の抗がん剤の含有および溶出能について検討として、1%アルギン酸ゲル100ml中に塩酸エピルピシン10mgを混和した10ml溶液を用いて、アルギン酸ビーズ粒子を作成した。作成したビーズ粒子からのエピルピシンの薬剤溶出について、吸光光度計を用い、254nmの吸光波長を計測することにより、薬剤溶出を測定した。次に、塞栓物質の生体適合性および塞栓能についてビーグル犬を用いて腎動脈を塞栓して、評価した。

### 4. 研究成果

(1) 作成されたビーズはいずれも平滑で、球状であった。圧縮試験のビーズ初期直径は1%ビーズ(Mean ± SD(Median) mm) : 2.35 ± 0.13(2.38) mm、2%ビーズ : 2.09 ± 0.21(2.10)mm、3%ビーズ : 2.42 ± 0.20(2.50)mmであった。いずれも荷重が増加すると変位は非線形的に増加し、圧縮試験後に球形はつぶされ、円盤状となった。各ビーズのヤング率は、1%ビーズ : (Mean ± SD(Median)Pa) : 5545.1 ± 541.8(5451.1)Pa、2%ビーズ : 8954.4 ± 663.7(8887.3)Pa、3%ビーズ : 9526.0 ± 725.9(9426.6)Paであった。1%ビーズは他の2つのタイプのビーズと比較して有意にヤング率が低く、2%ビーズと3%ビーズのヤング率には有意差は無かった。また、インクジェット法にて作成されたビーズ粒子も顕微鏡上は表面平滑な形状であり、アルギン酸ナトリウム濃度が増加するに伴い、粒子の形状が球状から楕円状の形態に変化した。今回は粒子径300μmの粒子の作成を試みた。実際各濃度での粒子径は1%濃度 : 0.254 ± 0.007mm(mean ± S.D.)、1.5%濃度 : 0.265 ± 0.009mm、2%濃度 : 0.279 ± 0.012mmであり、2%濃度のアルギン酸ビーズの粒径が有意に大きかった。また、各濃度のアルギン酸ビーズの粒径はいずれも正規分布(尖度=0、歪度=0)に近く、粒度分布はほぼ正規分布を示していた。作成に用いたインクジェット方式により、目的とする粒子のサイズコントロールが可能であることを示すことができた。

(2) 塩酸エピルピシンの溶出はビーズ粒子より速やかに溶出し、5分後にはビーズ粒子の含有量の約60%程度の溶出を確認した。1時間後には約80%程度が溶出しており、約48時間後では粒子内に薬剤は含有していた。今回の作成した、塩酸エピルピシン含有のビーズ粒子は速やかな薬剤溶出が確認できたが、薬剤除放効果としてはやや低いと考えられた。

研究者番号：

(3) 連携研究者 ( )

研究者番号：

#### 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0件)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者: 東原 大樹

(Higashihara Hiroki)

大阪大学・大学院医学系研究科・

放射線医学講座・助教

研究者番号: 90423186

(2) 研究分担者

( )