

アクリルビシン封入 PLGA ナノスフェアの 門脈内投与によるラット転移性肝がんに対する治療効果

富山成章^{*a)}, 大河内秀昭, 中村千鶴子, 中野眞汎^{b)}

熊本大学附属病院薬剤部

Therapeutic Effect of Aclarubicin-containing Poly (lactic-co-glycolic) Acid (PLGA) Nanospheres on Hepatic Metastases in Rats Following Portal Vein Administration

Nariaki Tomiyama^{*a)}, Hideaki Okochi,

Chizuko Nakamura and Masahiro Nakano^{b)}

Department of Pharmacy, Kumamoto University Hospital

[Received August 13, 2007
Accepted November 1, 2007]

We investigated the therapeutic effect of poly (lactic-co-glycolic) acid (PLGA) nanospheres containing aclarubicin on hepatic metastases in rats following injection of the nanospheres via the portal vein. The aclarubicin-containing PLGA nanospheres were prepared by a solvent evaporation method. The PLGA nanospheres so obtained had a drug trapping efficiency of 18.4% and their mean particle size was 761 nm. The release profiles of aclarubicin from the PLGA nanospheres showed that 33.9% of the drug was released from the nanospheres on the first day and another 65.0% of the drug was gradually released over the following 7 days. After the intravenous administration of the PLGA nanospheres to the rats, the aclarubicin concentrations in the liver and spleen were significantly higher than those due to injection of aclarubicin solution, while the aclarubicin concentrations in the lungs and thymus were significantly lower. On evaluating the antitumor effect of the aclarubicin in the PLGA nanospheres on the hepatic metastases in the rats, the survival time was significantly longer than for rats treated with aclarubicin solution. A histological examination showed necrosis in the metastatic lesions only in the group treated with the PLGA nanospheres. These findings suggested that aclarubicin-containing PLGA nanospheres could be a more effective formulation for treating hepatic metastases.

Key words — nanospheres, poly (lactic-co-glycolic) acid (PLGA), aclarubicin, portal vein administration

緒 言

肝臓は他臓器からの転移を受けやすい臓器のひとつである。特に胃がんや大腸がんといった消化器がんからの肝転移は門脈経由の血行移行性と考えられており¹⁾, 臨床上問題となることも多い。そのため肝転移治療や予防の観点から, 肝臓に長期間滞留し, 抗がん薬を徐放化する drug delivery system (DDS) 製剤の門脈内投与の検討が報告されている。このような報告としては, ラット転移性肝がんモデルに対してカルボプラチン封入リポソームを用いた報告²⁾, アドリアマイシン封入アルブミンマイ

クロスフェアを門脈内投与した報告³⁾, さらに臨床においてドキソルビシン封入リポソームを投与した報告⁴⁾がある。また, ウサギ転移性肝がんの予防に対して SMANCS(styrene maleic acid conjugated neocarzinostatin) をリピオドールに溶解させて投与した報告⁵⁾がある。これらの報告はいずれも転移性肝がんに対する DDS 製剤の門脈内投与の有効性を示唆している。

DDS 製剤の中で, ポリ乳酸(poly lactic acid: PLA)および乳酸・グリコール酸共重合(poly(lactic-co-glycolic) acid: PLGA)を用いたマイクロクロスフェアやナノスフェアは多くの研究が行われている製剤のひとつである。PLA および PLGA は生体適合性, 生体内分解性に優れた高

* 熊本市本庄 1-1-1; 1-1-1, Honjo, Kumamoto-shi, 860-0556 Japan

現 a); 出水総合医療センター薬剤部(鹿児島県出水市明神町 520; 520, Myo-jin-cho, Izumi-shi, Kagoshima, 899-0131 Japan)

現 b); 静岡県立大学客員教授室(静岡市駿河区谷田 52-1; 52-1, Yada, Suruga-ku, Shizuoka-shi, 422-8526 Japan)

分子であり、生体内で水と二酸化炭素へ加水分解される⁹⁾ため、投与後に取り出す必要がない。PLA, PLGA の分解速度は分子量が小さいほど早く、また、PLGA は乳酸とグリコール酸の重合比が 1:1 の時にもっとも早い⁷⁾。このため、PLA や PLGA を薬物担体として用いることで、分子量や重合比の選択により薬物の放出をある程度制御することが可能である。このような特性から、PLA や PLGA は吸収糸や骨接合剤などとして使用されている⁸⁾ほか、市販されているマイクロスフェア製剤リユープリン[®](武田薬品工業(株))やサンドスタチン LAR[®](ノバルティス ファーマ(株))に使用されている。さらに冠動脈再狭窄予防のためにステント表面を遺伝子封入 PLGA ナノスフェアでコーティングする試み⁹⁾や、インスリン封入 PLGA ナノスフェアを用いた吸入製剤¹⁰⁾も検討されている。また、医薬品だけでなく、機能性スキンケア・スカルブケア化粧品¹¹⁾へと応用され、市販されている。

マイクロスフェアやナノスフェアは他の門脈内投与が可能な分散系微粒子 DDS 製剤と比較し、固体状態で保存が可能であるために長期保存の点で優れている。しかし、薬物封入率の高いナノスフェアの調製は困難であることから、ナノスフェア等の固体分散系製剤を用いた門脈内投与の報告は少ない。そこでわれわれはアクリルビシン封入マイクロスフェアがすでに臨床検討された報告^{12,13)}があること、また脂溶性薬物が液中乾燥法を用いたナノスフェアへの薬物封入に有利であり、製剤化しやすいことからアクリルビシンを封入薬物とし、生体適合性、生体内分解性であり、臨床応用が行われている PLGA を用いたナノスフェアを調製し、ラット転移性肝がんに対する治療効果について基礎的検討を行った。

方 法

1. 試薬

塩酸アクリルビシンは三楽オーシャン株式会社より供与された。PLGA は乳酸・グリコール酸重合比 75:25、分子量 20,000 を使用した。PLGA およびポリソルベート 80 は和光純薬工業株式会社の市販の特級品を使用した。Poly vinyl alcohol(PVA)(EG-40)は日本合成化学工業株式会社より供与された。ジクロロメタン、クロロホルム、酢酸エチル、アセトニトリルは市販の一級品を蒸留して使用した。精製水は Milli Q water purification system (ミリポア工業(株))で製造した純水を用いた。その他の試薬は市販の特級品を使用した。

2. アクリルビシン封入ナノスフェアの調製および保存

アクリルビシン封入ナノスフェアの調製法を Fig. 1 に示す。アクリルビシン 10 mg, PLGA 50 mg にジクロロメタン 1 mL, 次にアセトン 4 mL を加え溶解した。この

溶液を万能型ホモジナイザー(ヒスコトロン, 日音医理科器械製作所(株))で 15,400 rpm で攪拌下、アクリルビシンの pKa が 8.33 および 9.55 である¹⁴⁾ことから、アクリルビシンの水相へ移行を防ぐために pH を調整した 2% PVA 含有 0.1 mol/L リン酸緩衝液(pH 9) 10 mL を徐々に滴下し、5 分間攪拌することで、o/w エマルションを得た。調製した o/w エマルションを 400 rpm で攪拌下の 2% PVA 含有 0.1 mol/L リン酸緩衝液(pH 9) 40 mL へ滴下し、ジクロロメタンおよびアセトンを除去するために 4 時間攪拌した。得られたナノスフェア懸濁液を 40 分間遠心分離(8,000×g)し、上清を除去した。ナノスフェア化していないアクリルビシンを除去するために、得られたナノスフェアに精製水を加えて懸濁し、40 分間遠心分離(8,000×g)し、上清を除去した。得られたナノスフェアに精製水を加えて懸濁し、懸濁液の分散のために、ガラスフィルター(3μm)にてろ過した。-80℃, 10 分間の凍結後、2 日間凍結乾燥した。調製したナノスフェアは 4℃ で保存した。

3. ナノスフェア中アクリルビシン量の測定

アクリルビシン封入ナノスフェアをクロロホルム 2-5 mL を加えて溶解した後、精製水 2-5 mL を加えた。10 分間遠心分離(1,800×g)し、水相を除去した。得られたクロロホルム相中のアクリルビシンを分光光度計(UV-240, (株)島津製作所)にて 435 nm での吸光度を測定し、ナノスフェア中アクリルビシン量を求めた。測定限界は 781.3 ng/mL 以下であった。また、次の式により薬物封入率(%)を算出した。

薬物封入率＝

$$\frac{\text{実測ナノスフェア中アクリルビシン量}}{\text{処方したアクリルビシン量}} \times 100$$

4. アクリルビシン封入ナノスフェアの粒子径測定

アクリルビシン封入ナノスフェアの粒子径はサブミクロンアナライザー(BI-90 AT particle sizer ver. 7, 盟和商事(株))にて測定した。粒子径は測定機の算出する体積平均径を平均粒子径とした。

5. アクリルビシン封入ナノスフェアからの薬物放出挙動

アクリルビシン封入ナノスフェアを 0.01% ポリソルベート 80 含有生理食塩液に懸濁し、37℃ の振盪恒温槽中に放置した。経時的にサンプルを取り出し、5 分間遠心分離(5,200×g)し、上清を除去した。得られたナノスフェアを水 1.5 mL にて懸濁し、クロロホルム 1-4 mL を加え振盪し、5 分間遠心分離(5,200×g)した。上清を除去した後、クロロホルム相中のアクリルビシンを分光光度計にて 435 nm での吸光度を測定し、ナノスフェア内

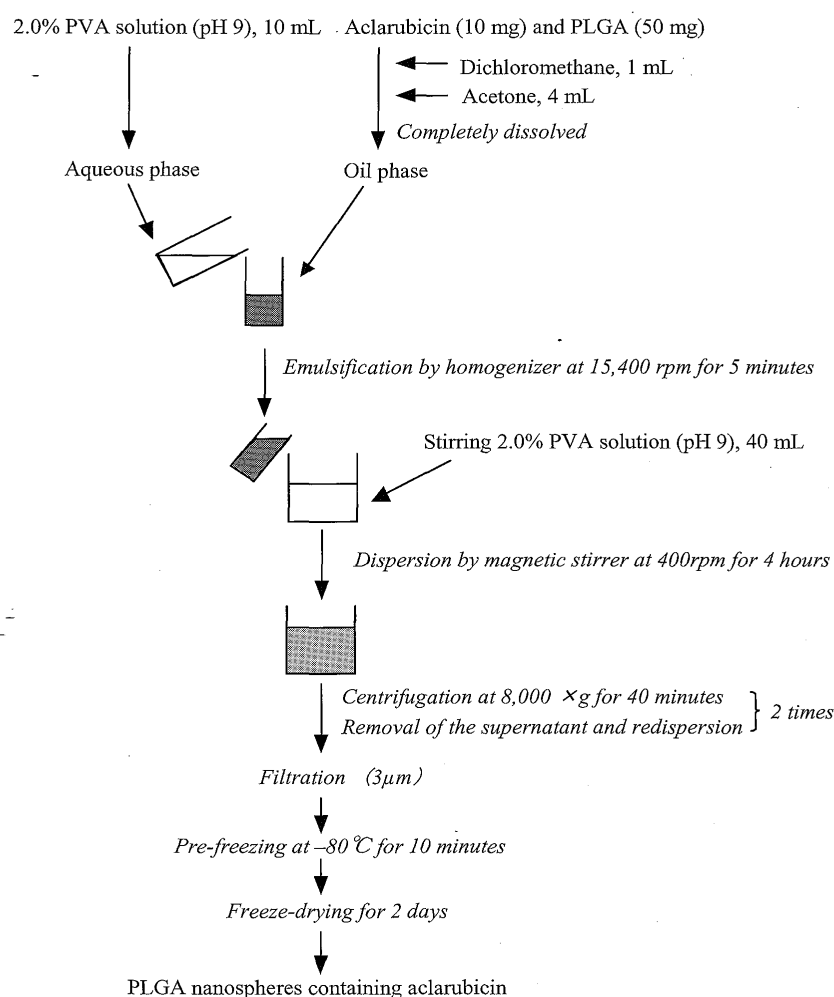


Fig. 1. Preparation of PLGA Nanospheres Containing Aclarubicin by a Solvent Evaporation Method.

アクリルビシン残存率を求めた。

また、同条件下におけるアクリルビシン溶液の安定性を検討した。

6. ラット大腿静脈内投与実験

Wistar 系雄性ラット(270–300 g)にウレタン麻酔下、アクリルビシン溶液またはアクリルビシン封入ナノスフェアを大腿静脈から投与した。各製剤はアクリルビシン量として 2 mg/mL に調製し、2 mg/kg を投与した。アクリルビシンを生理食塩液に溶解したものをアクリルビシン溶液とした。アクリルビシン封入ナノスフェアは 0.01 %ポリソルベート 80 添加生理食塩液に懸濁した。

投与終了 6 時間後に、大腿静脈より 0.55 mL を採血した。得られた血液は 5 分間遠心分離(5,200 × g)した後、血清を分取し、抽出操作まで -20°C で保存した。残存した血清を除去し、血球に精製水 300 μL を加えて振盪した。これに 0.2 mol/L リン酸緩衝液 500 μL を加え、抽出操作を行うまで -20°C で保存した。

採血終了後、ただちにラットを屠殺し、心臓、肺、胸腺、肝臓、脾臓および腎臓を摘出した。各臓器は生理食塩液で洗浄後、抽出操作を行うまで -20°C で保存した。

7. HPLC によるアクリルビシンの測定

血清中、血球中および各組織中アクリルビシン濃度測定は HPLC 法にて行った。測定条件は次のとおりであった。カラム：LiChrosphere®(メルク(株)) 100 RP-18(5 μm)、カラム温度：50°C、移動相：アセトニトリル：0.04 mol/L ギ酸-ギ酸アンモニウム緩衝液(pH 5.0)=50：50、検出波長：Ex=435 nm, Em=505 nm、流速：1 mL/min、サンプル量：50 μL。定量限界は 62.5 ng/mL 以下であった。

8. 血清中および血球成分中からのアクリルビシン抽出

得られた血清および血球に 0.2 mol/L リン酸緩衝液(pH 7.0) 0.5 mL を加えた。酢酸エチル 2 mL を加え、10 分間振盪し、5 分間遠心分離(1,800 × g)し、酢酸エチル相を得た。この抽出操作を 2 回行い、得られた酢酸エチル

相を40℃, 1時間蒸発乾固した。残渣にHPLCの移動相50 μ Lを加え溶解し, アクラルビシン濃度を測定した。

9. 各組織中からのアクラルビシン抽出

心臓, 肺, 胸腺, 肝臓, 脾臓および腎臓の各組織を細断し, 適量の生理食塩液を加えて臓器ホモジネートを作成した。各臓器ホモジネート1-2 mLに酢酸エチル4 mLを加えて振盪し, 10分間遠心分離(1,800 $\times$ g)し, 酢酸エチル相を分取した。この抽出操作を2回行い, 得られた酢酸エチル相を40℃, 1時間蒸発乾固し, 残渣にHPLCの移動相300 μ Lを加え振盪した。これを10分間遠心分離(5,200 $\times$ g)し, 上清を試料とし, HPLC法にてアクラルビシン濃度を測定した。抽出効率は85.3%であった。

10. ラット転移性肝がんモデルの作成と薬剤投与方法および組織学検討

Donryu系雄性ラット(約150 g)をネンブタール麻酔下で開腹し, 5 $\times$ 10⁶個/mLのAH 136 Bラット腹水肝がん細胞懸濁液0.2 mL(1 $\times$ 10⁶個)を上腸間膜静脈より移植した。各薬剤の投与を行う際は, アクラルビシン量として2 mg/mLに調製し, 2 mg/kgを移植に続いて同部位より投与した。投与後, 生存日数および体重変化を検討した。

アクラルビシンを生理食塩液に溶解したものをアクラルビシン溶液とした。ナノスフェアは0.01%のポリソルベート80を含む生理食塩液に懸濁した。

死亡したラットから肝臓を摘出し, 10%ホルマリンで固定後, 肝臓表面像および組織切片像を撮影し, 組織切片標本を作製した。

11. 延命率(increase in life span: ILS)の算出

平均生存期間を求め, 次の式によりILS(%)を算出した。ILS=(治療群の平均生存期間-未治療群の平均生存期間)/未治療群の平均生存期間 $\times$ 100。

12. 統計解析

2群間解析にはStudent's t-testを用いた。延命率の解析にはgeneralized Wilcoxon testを用いた。生存曲線はKaplan-Meier法にて算出し, log-rank検定を行った。 $p < 0.05$ にて有意差ありとした。

結 果

1. アクラルビシン封入ナノスフェアの製剤学的評価

調製したアクラルビシン封入ナノスフェアの薬物封入率は18.4%であった。調製したアクラルビシン封入ナノスフェアの粒度分布図をFig. 2に示す。平均粒子径は761 nm(粒度分布: 521-1096 nm)であり, 単分散を示した。アクラルビシン封入ナノスフェアのアクラルビシン

放出挙動をFig. 3に示す。1日間で封入されたアクラルビシンの33.9%を放出し, 7日間で65.0%を放出した。

放出試験の条件において, アクラルビシン溶液中のアクラルビシン残存量は経時的に低下し, 7日間で85.0%の残存率であった。

2. アクラルビシン封入PLGA ナノスフェアの静脈内投与後のアクラルビシン体内分布

アクラルビシン溶液およびアクラルビシン封入ナノスフェアをラット大腿静脈内投与6時間後における各組織内濃度をFig. 4に示す。

アクラルビシン溶液投与群における肺中濃度および胸腺中濃度はそれぞれ7.4 $\pm$ 2.9 μ g/mL, 3.7 $\pm$ 1.8 μ g/mLであり, アクラルビシン封入ナノスフェア投与群ではそれぞれ2.2 $\pm$ 0.4 μ g/mL, 1.1 $\pm$ 0.065 μ g/mLであった。いずれにおいてもアクラルビシン封入ナノスフェア投与群が

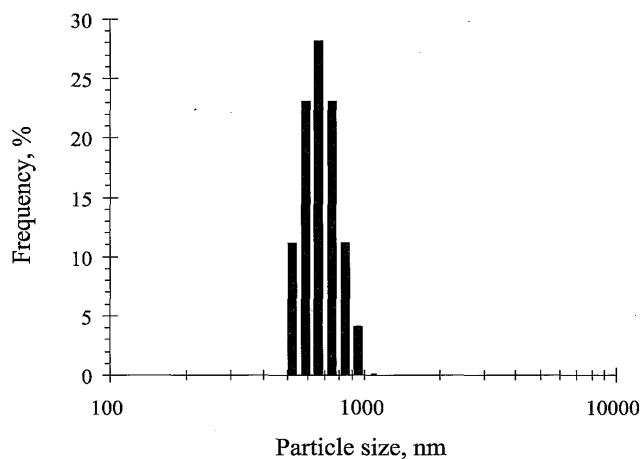


Fig. 2. Particle Size Distribution of PLGA Nanospheres Containing Aclarubicin.

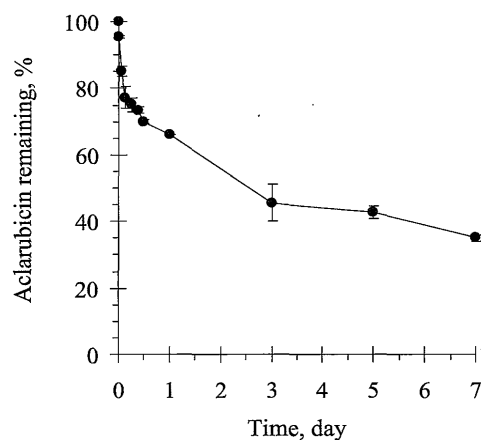


Fig. 3. Release Profiles of Aclarubicin from PLGA Nanospheres in a Saline Containing 0.01% Polysorbate 80. Each point represents the mean $\pm$ S.D. of 3 experiments.

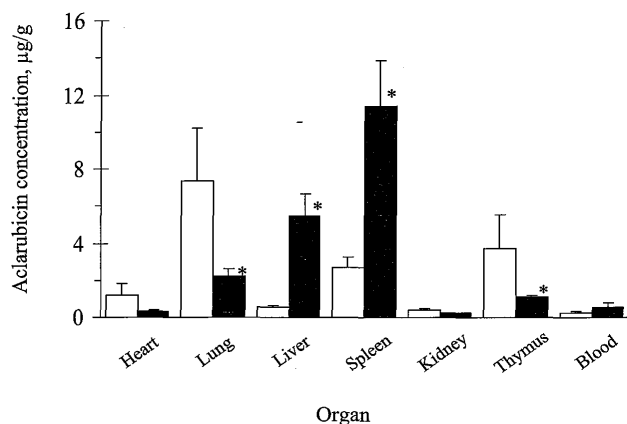


Fig. 4. Distributions of Aclarubicin 6 hours after Intravenous Administration of 2 Different Aclarubicin (2 mk/kg) Formulations to Rats.

□ : Solution

■ : PLGA nanospheres suspension containing 0.01% polysorbate 80

Significantly different : * $p < 0.05$

Each value represents the mean $\pm$ S.E.M. of 6 experiments.

有意に低かった。

アクリルビシン溶液投与群における肝臓中濃度および脾臓中濃度はそれぞれ $0.5 \pm 0.074 \mu\text{g/mL}$, $2.7 \pm 0.59 \mu\text{g/mL}$ であり, アクリルビシン封入ナノスフェア投与群ではそれぞれ $5.5 \pm 1.1 \mu\text{g/mL}$, $11.4 \pm 2.4 \mu\text{g/mL}$ であり, アクリルビシン封入ナノスフェア投与群が有意に高かった。

心臓中濃度, 腎臓中濃度, 血中濃度では, 両製剤間に有意な差はみられなかった。

3. ラット転移性肝がんモデルに対するアクリルビシン封入 PLGA ナノスフェアの門脈内投与による延命効果および体重変化

コントロール群, アクリルビシン溶液投与群およびアクリルビシン封入ナノスフェア投与群の生存曲線および治療効果をそれぞれ Fig. 5 および Table 1 に示す。アクリルビシン封入ナノスフェア投与群では, コントロール群およびアクリルビシン溶液群に比較して生存期間の有意な延長が認められた。また, アクリルビシン溶液群およびアクリルビシン封入ナノスフェア群の ILS はそれぞれ 26.1%, 95.7% であり, アクリルビシン封入ナノスフェア群の有意な生存期間の延長が認められた。

体重変化について Fig. 6 に示す。移植および投与後に, すべての群において一過性の体重減少がみられた。その後の経過では, アクリルビシン封入ナノスフェア群, アクリルビシン溶液群, コントロール群の順に体重増加を示した。

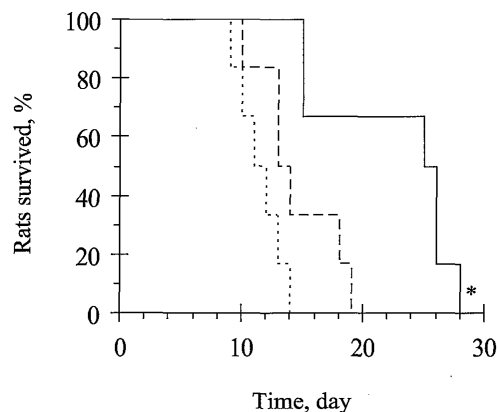


Fig. 5. Effect of PLGA Nanospheres Containing Aclarubicin on Survival of Rats after Intraportal Vein Injection of AH 136 B.

----- : Control : Aclarubicin solution

———— : PLGA nanospheres containing aclarubicin

Significantly different : * $p < 0.01$

Each value represents the mean $\pm$ S.E.M. of 6 rats.

Table 1. Therapeutic Effect of PLGA Nanospheres Containing Aclarubicin on Metastases of AH 136 B to Liver.

Formulation	Survival time, day	ILS *, %
Control	11.5 ± 0.76	-
Aclarubicin solution	14.5 ± 1.4	26.1
PLGA nanospheres containing aclarubicin	$22.5 \pm 2.4^{**}$	95.7**

Each value represents the mean $\pm$ S.E.M of 6 rats.

* Percent of increase in life span.

Significantly different from aclarubicin solution : ** $p < 0.05$

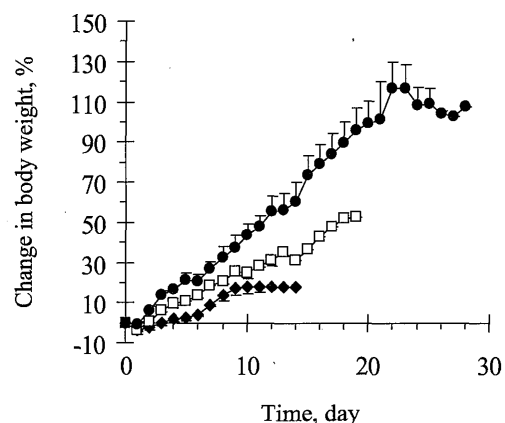


Fig. 6. Effect of PLGA Nanospheres Containing Aclarubicin on Percentage Body Weight Change in Rats after Intraportal Vein Injection of AH 136 B.

◆ : Control ; □ : Aclarubicin solution

● : PLGA nanospheres containing aclarubicin

Each value represents the mean $\pm$ S.E.M. of 6 rats.

4. 肝臓の組織学的検討

肝臓表面像および組織切片像を **Fig. 7** に示す。コントロール群では、肝臓の肥大と肝臓全体にびまん性の腫瘍を認めた。アクリルビシン封入ナノスフェア投与群およびアクリルビシン溶液投与群では、肝臓の肥大は認められず、コントロール群に比較して腫瘍部分も少なく、製剤による抗腫瘍効果が認められた。アクリルビシン封

入ナノスフェア投与群およびアクリルビシン溶液投与群の比較において、明確な違いは認められなかった。

組織切片顕微鏡像を **Fig. 8** に示す。アクリルビシン封入ナノスフェア投与群では出血箇所および壊死部分が認められたが、アクリルビシン溶液投与群では認められなかった。

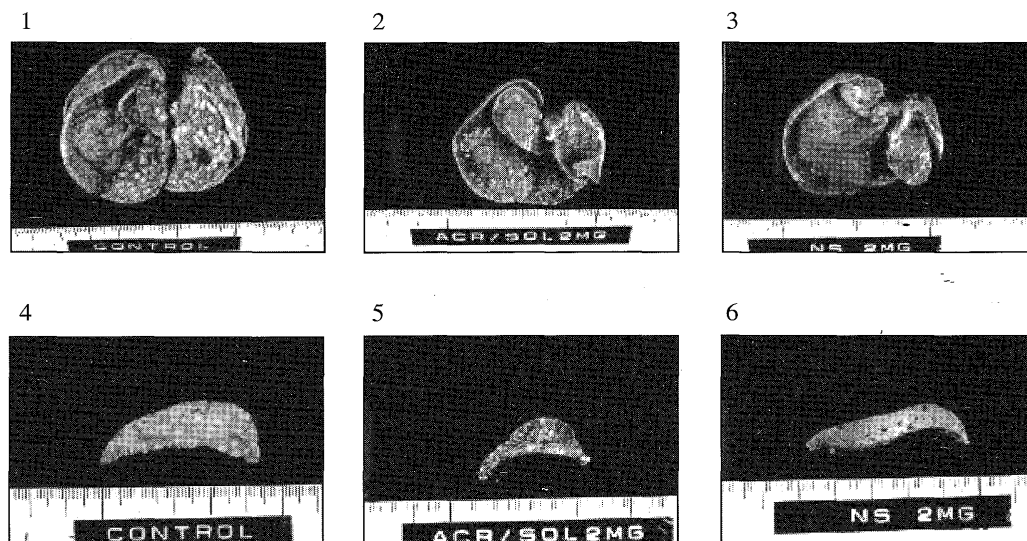


Fig. 7. Photograph of Rat Liver Section at Autopsy after Inoculation with AH 136 B Cells Via the Portal Vein.

1, 4. Control 2, 5. Aclarubicin solution
3, 6. PLGA nanospheres containing aclarubicin

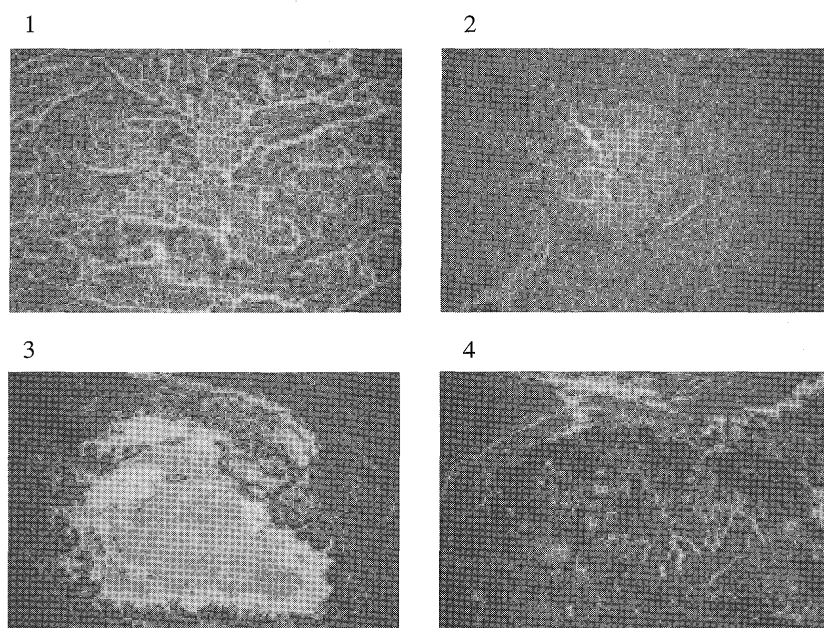


Fig. 8. Microphotograph of a Section of Rat Liver at Autopsy after Inoculation with AH 136 B Cells Via the Portal Vein (Original magnification $\times 250$).

1. Control 2. Aclarubicin solution
3, 4. PLGA nanospheres containing aclarubicin

考 察

今回われわれはアクリルビシン封入ナノスフェアを調製し、ラット転移性肝がんモデルに対するアクリルビシン封入ナノスフェアの治療効果について検討した。

調製したアクリルビシン封入ナノスフェアの粒度分布は単分散を示した。これはアセトンがPVA溶液へ急速に拡散する¹⁵⁾こと、転相法による乳化法を用いたためと考えられた。アクリルビシン封入ナノスフェアの薬物封入率は18.4%であった。アセトンのPVA溶液へ急激な拡散は粒子径の均一化には有効であるが、薬剤の水相への拡散を増大させると考えられる。Hyon¹⁶⁾は有機溶媒としてジクロロメタンのみを用い、乳化法に超音波照射を用いることで、粒子径1 μ m前後のアクリルビシン封入マイクロスフェアを90%と高い薬物封入率で調製できることを報告している。このことから、薬物封入率を改善するには、アセトン処方量を減量し、超音波照射による乳化法により薬物封入率を向上できると考えられるが、この点については、さらなる検討が必要である。

アクリルビシン封入ナノスフェアからの薬物放出挙動の検討において、ナノスフェア内の薬物残存量から薬物放出率を算出した。これは放出試験の条件におけるアクリルビシン溶液の安定性を検討した結果、経時的に残存量の低下が認められたためである。

ナノスフェアに用いる高分子として、乳酸・グリコール酸重合比75:25、分子量20,000のPLGAを選択した。Juniらの報告¹⁷⁾によると、分子量35,000のPLAを用いたアクリルビシン封入マイクロスフェアからの*in vitro*における薬物放出は5日間で25%以下である。そこで、PLAより分解速度の早いPLGAを選択し、また、分子量も20,000と小さいPLGAを選択した。これにより7日間で、封入薬物の65.0%を放出することが可能であった。

調製したナノスフェアにおいて、残留溶媒については詳細な検討を行っていない。Niwaらの報告¹⁸⁾によると、高分子としてPLGA、有機溶媒としてジクロロメタン、アセトンを用い、液中乾燥法にて調製したPLGAナノスフェアにおいて、残留溶媒は検出限界以下であったと報告している。このことから、同様の調製法を用いて調製したアクリルビシン封入ナノスフェアにおいても、残留溶媒は極めて少ないと考えられるが、残留溶媒については検討の余地があると考えられた。

ラット大腿静脈内投与6時間後の組織分布の検討において、アクリルビシン封入ナノスフェア投与群はアクリルビシン溶液投与群と比較し、肺と胸腺中の濃度が有意に低く、また肝臓と脾臓の濃度が有意に高かった。ナノスフェアなどの微粒子製剤を血管内投与した場合、細網内皮系組織に貪食される¹⁹⁾が、その体内分布は粒子径、

粒子表面の親水性および電荷により異なる。粒子径が直径100 nmから3 μ mの微粒子製剤は細網内皮系組織により捕捉される^{20,21)}。粒子表面が親水性である場合や弱くマイナスの荷電している場合には細網内皮系組織の認識を受けにくい^{22,23)}。さらに*in vitro*の検討において、堀沢ら²⁴⁾はPLGAナノスフェアが細胞内へ取り込まれることを報告しており、Rejmanら²⁵⁾は細胞へのエンドサイトーシスの機序は粒子径により異なることを報告している。今回調製したナノスフェアの平均粒子径は761 nmであったことから、細網内皮系組織である肝臓と脾臓へナノスフェアが捕捉されたことにより、肝臓と脾臓の濃度が高くなり、相対的に肺臓と胸腺の濃度が低くなったと考えられた。これら大腿静脈内投与後の体内動態の検討から、門脈内投与後においても肝臓、脾臓への蓄積が高いことが考えられるが、粒子表面の特性の検討を含め、門脈内投与後の体内動態についてはさらなる検討が必要であると考えられる。

ラット転移性肝がんモデルでの延命率はアクリルビシン封入ナノスフェア投与群が有意に延長した。また、組織切片顕微鏡像の検討において、アクリルビシン封入ナノスフェア投与群にのみ壊死部分を認めた。これらのことからアクリルビシン封入ナノスフェアはアクリルビシン溶液と比較して優れた治療効果を持つことが示された。

アクリルビシン封入ナノスフェアの抗腫瘍効果は門脈内投与されたナノスフェアが肝臓中に多く滞留し、徐々にアクリルビシンが放出されることにより、抗腫瘍効果を発揮するためと考えられた。すなわち肝臓中に存在するナノスフェアからのアクリルビシンの徐放化により、細胞着床前の細胞殺傷効果だけでなく転移成立巣に対しても組織学的に明らかな抗腫瘍効果、腫瘍壊死がみられたと考えられた。

山村らは抗がん薬の門脈内投与に関して、再発予防を目的とした有用性を報告^{26,27)}しており、門脈内投与が大腸がん肝転移再発予防効果を示すためには投与プロトコルの完全施行が重要であることを示している。このことから、薬物を持続的に放出できる製剤を用いることで薬剤投与回数を減らすことが可能となり、投与プロトコルの完遂に寄与できると考えられる。すなわち薬物を徐放化するアクリルビシン封入ナノスフェアは肝転移再発予防を目的とした門脈内投与に適した製剤であり、門脈内投与も検討しうる投与経路と考えられた。

以上のことから、アクリルビシン封入ナノスフェア門脈内投与は転移性肝がんに対して優れた治療効果を持つものと考えられた。

謝辞 本稿をまとめるにあたり、ご助言を賜りました熊本大学附属病院薬剤部濱田哲暢先生、ならびに九州大学病院薬剤部池末裕明先生に深謝いたします。

なお、本研究は熊本大学大学院薬学研究科在籍時に行ったものである。

引用文献

- 1) 國土典宏, 幕内雅敏, “新臨床腫瘍学”, 日本臨床腫瘍学会編, 南江堂, 2006, p.681.
- 2) 寺田順二, 水野勇, 真辺忠夫, 四ツ柳智久, 毛利紀章, Liposome-carboplatin による転移性肝癌の防止と治療—特に経門脈的投与による基礎的検討—, *Drug Delivery System*, **11**, 21–25 (1996).
- 3) Y. Morimoto, K. Sugibayashi, Y. Kato, Drug-carrier property of albumin microspheres in chemotherapy. V. Antitumor effect of microsphere-entrapped adriamycin on Liver metastasis of AH 7974 cells in rats, *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 1433–1438 (1981).
- 4) 水野勇, 市野達夫, 四ツ柳智久, 赤毛義実, 山本哲也, 安井保, 板橋雄二, 斎藤高明, 倉橋伸吾, 谷本典隆, 宇佐見詩津夫, 由良二郎, 切除不能転移性肝癌に対する Liposome-adriamycin の経門脈投与の臨床応用, 癌と化学療法, **18**, 1878–1883 (1991).
- 5) K. Yamasaki, T. Konno, Y. Miyauchi, H. Maeda, Reduction of hepatic metastases in rabbits by administration of an oily anticancer agent into the portal vein, *Cancer Res.*, **47**, 852–855 (1987).
- 6) 筏義人, “生分解性プラスチックハンドブック”, 土井義治編, エヌ・ティー・エス, 1995, pp.279–291.
- 7) R.A. Miller, J.M. Brady, D.E. Cutright, Degradation rates of oral resorbable implants (polylactates and polyglycolates): rate modification with changes in PLA/PGA copolymer ratios, *J. Biomed. Mater. Res.*, **11**, 711–719 (1977).
- 8) 松末吉隆, 生体内吸収性ポリ乳酸製材料, 骨・関節・靱帯, **17**, 1243–1251 (2004).
- 9) 船越公太, 江頭健輔, ステント内再狭窄の分子機構と生体吸収性ナノ粒子電着による遺伝子溶出ステントがもたらす新たな治療戦略, 日本薬理学雑誌, **129**, 171–176 (2007).
- 10) 尾関哲也, 岡田弘晃, ナノ薬物粒子含有マイクロスフェアによる経肺投与 DDS, エアロゾル研究, **21**, 10–15 (2006).
- 11) 辻本広行, DDS を応用した機能性スキンケア・スカルプケア化粧品の開発, *Drug Delivery System*, **21**, 405–415 (2006).
- 12) T. Ichihara, K. Sakamoto, K. Mori, M. Akagi, Transcatheter arterial chemoembolization therapy for hepatocellular carcinoma using polylactic acid microspheres containing aclerubicin hydrochloride, *Cancer Res.*, **49**, 4357–4362 (1989).
- 13) 市原知文, 赤木正信, 守且孝, 別府透, 中野真汎, 児島強, “動注がん化学療法—基礎と臨床—”, 田口鐵男, 中村仁信編, 癌と化学療法社, 1986, pp.334–341.
- 14) アクラシノンインタビューフォーム第5版, アステラス製薬, 2007年6月, p.3.
- 15) H. Fessi, F. Puisieux, J.P. Devissaguet, N. Ammoury, S. Benita, Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement, *Int. J. Pharm.*, **55**, R 1–R 4 (1989).
- 16) S.H. Hyon, Biodegradable poly (lactic acid) microspheres for drug delivery systems, *Yonsei Med. J.*, **41**, 720–734 (2000).
- 17) K. Juni, J. Ogata, N. Matsui, M. Kubota, M. Nakano, Modification of the release rate of aclerubicin from polylactic acid microspheres by using additives, *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 1734–1738 (1985).
- 18) T. Niwa, H. Takeuchi, T. Hino, N. Kunou, Y. Kawashima, In vitro drug release behavior of D,L-lactide/glycolide copolymer (PLGA) nanospheres with nafarelin acetate prepared by a novel spontaneous emulsification solvent diffusion method, *J. Pharm. Sci.*, **83**, 727–732 (1994).
- 19) 松村保広, がん治療における Drug Delivery System, 医療, **57**, 289–298 (2003).
- 20) 橋田充, “ターゲティング療法”, 水島裕, 谷内昭, 瀬崎仁編, 医薬ジャーナル社, 1985, pp.66–67.
- 21) K. Ciftci, H. Suheyla Kas, A.A. Hincal, T.M. Ercan, O. Guven, S. Ruacan, In vitro and in vivo evaluation of PLGA(50/50) microspheres containing 5-fluorouracil by a solvent evaporation method, *J. Pharm. Sci.*, **131**, 73–82 (1996).
- 22) 大西啓, 町田良治, PLA 誘導体によるナノ粒子, 日本臨床, **64**, 225–230 (2006).
- 23) 高倉喜信, 高分子薬物のデリバリーシステムの開発に関する研究, 薬学雑誌, **116**, 519–532 (1996).
- 24) 堀沢栄次郎, 岩崎勝秀, 肘黒恒志, 竹井宏, 山本浩充, 竹内洋文, 川島嘉明, 局所投与を目的とした PLGA 微粒子キャリアーの細胞毒性と貧食作用に及ぼす粒子径の影響および薬理効果に関する研究, 薬剤学, **62**, 189–202 (2002).
- 25) J. Rejman, V. Oberle, I.S. Zuhorn, D. Hoekstra, Size-dependent internalization of particles via the pathways of clathrin- and caveolae-mediated endocytosis, *Biochem. J.*, **377**, 159–169 (2004).
- 26) 山村卓也, 矢部清寿, 岡嘉士, 上妻達也, 川原英之, 若山達郎, 杉浦有重, 萩原優, 大館敬一, 宮島伸宜, 前田長生, 岡村隆一郎, 宮原透, 森山雄吉, 山口晋, 郡司篤晃, 大腸癌術後肝転移再発予防を目的とした持続門注療法の有効性に関する臨床比較対照試験, 癌と化学療法, **29**, 1765–1771 (2002).
- 27) 山村卓也, 赤石治, 月川賢, 山口晋, 矢部清寿, 大腸癌肝転移再発予防のための門注療法は無効か, 癌と化学療法, **26**, 1756–1758 (1999).