DDS としての hyperthermia

—熱感受性リポソームを用いた悪性 glioma に対する DDS—

柿沼健一・田中隆一^{*1)}, 加藤 仁^{*2)}*Hyperthermia enhancement by thermosensitive liposome as a drug delivery system for malignant glioma chemotherapy*

We described herein the effectiveness of hyperthermia as a promising drug delivery system, especially noticing malignant glioma thermo-chemotherapy. Previously the authors reported that the combination of thermosensitive liposome containing CDDP and localized hyperthermia using a radiofrequency antenna focused CDDP to the experimental brain tumor, providing a greater antitumor effect. Our hyperthermic treatment, above 42°C, can treat the entire tumor core of human malignant glioma for direct thermal killing. When heating, the 40°C area extended up to a wide portion, covering the area invaded by tumor cells. Therefore, a more effective thermosensitive liposome was developed for clinical use. It was designed to release adriamycin (ADR) at 40°C and above. As a result, this new thermosensitive liposome sharply released ADR at a temperature of 40°C as planned, bringing a significantly greater antitumor effect in rat tumor models. This procedure will 1) contribute to the synergistic effect of hyperthermia and antitumor drugs in regions heated above 42°C, 2) be effective in direct thermal killing, 3) help to deliver the antitumor drugs wider : to the tumor core, and also to the area invaded by tumor cells, both areas heated at 40°C and above, 4) permit application of ADR and other antitumor drugs regardless the blood-brain barrier problem. Our present hyperthermic treatment can be easily applied to the elder, and/or ill patients, even those with deep seated glioma. Taking all these advantages into consideration, we can suggest the wider effects achieved by the use of this drug delivery system.

Kenichi Kakinuma・Ryuichi Tanaka^{*1)},
Masashi Kato^{*2)}

key words : hyperthermia, thermosensitive liposome,
blood-brain barrier, adriamycin,
malignant glioma

多くの培養細胞や実験的動物細胞, その他を用いた研究によって腫瘍細胞は正常細胞よりも熱感受性が高いことが知られている¹⁾. 特に腫瘍の中心部は, 低酸素, 低栄養状態にあり, 腫瘍の活発な解糖作用と相まって pH は酸性に傾いている.

したがって腫瘍のこれらの部位の細胞は, 正常細胞が十分な栄養状態にあって正常 pH で存在するのにくらべて熱処理に対して感受性があることになる²⁾. さらに腫瘍血管は一般に正常血管にくらべて, その構築も粗造で神経支配もなく, 正常血管より低い温度で障害を受けやすく, それらの結果として腫瘍全体は血流による熱冷却効果が弱い. したがって腫瘍は温熱により正常組織よりも加温されやすい³⁾. これらの温熱による殺細胞効果は, 42 から 43°C を越えると著しく増大するのが

^{*1)} Department of Neurosurgery, Brain Research Institute, Niigata University 新潟大学脳研究所脳神経外科

^{*2)} Division of Pharmacy, Niigata University Medical Hospital 新潟大学医学部附属病院薬剤部
Offprint requests to : Kenichi Kakinuma, Department of Neurosurgery, Brain Research Institute, Niigata University, 755 Ichiban-chō Asahi-Dōri Niigata-shi, Niigata 951-8585

図1 Craniogram showing how we applied hyperthermic treatment on malignant gliomas. Radiofrequency antennas and thermocouple sensors were inserted into the tumor

特徴的である。これは、 42°C 以下では加温の過程で細胞が、温熱耐性を獲得するのに対して、 43°C 以上では、温熱耐性が獲得されないからとされている⁴⁾。したがって正常組織を含めた腫瘍全体が、しかるべき一定の power で均一に加温され、正常組織が 42°C 以下に、かつ腫瘍が 42°C から 43°C 以上に加温された場合には、hyperthermia の最大の効果が発揮され、腫瘍細胞のもつ選択的温熱感受性が増幅される結果、hyperthermia 単独の選択的殺細胞効果が期待される。これらが温熱療法の理論的根拠になっており、hyperthermia 自体が魅力ある DDS であるということが出来る。

また、DDS としての hyperthermia を増感させようとする報告も多い、hyperthermia は一般に抗癌剤の作用を増強することが知られており⁵⁾、各種抗癌剤との相加、相乗作用が報告されている。さらに腫瘍血管を選択的に破壊できる血管作動性物質を加温前に投与し、温熱増感を計る試みもなされている⁶⁻⁸⁾。

このような中で、hyperthermia と熱感受性リポソームを用いた DDS についても多くの報告がなされた。この概念は周知のように、リポソーム膜の構成成分であるリン脂質が、それぞれ固有の相転位温度を有していることから、これらのリン脂

質を組み合わせることで熱感受性リポソームを作製すると、あらかじめ設定した温度でリン脂質に相転位が起こり、封入されていた抗癌剤が加温部位で放出される。したがって抗癌剤を封入した熱感受性リポソームを全身投与したのち、腫瘍局所を相転位温度に加温すれば、リポソームが加温腫瘍組織を通過する際に抗癌剤を放出する結果、高濃度の抗癌剤を腫瘍局所に選択的に集積できるばかりでなく、hyperthermia との相乗効果をも得られることになる⁹⁻¹¹⁾。

しかしながら、以上のように hyperthermia が悪性腫瘍に対して理論的にはすぐれた DDS としても、近年その臨床上の意義や役割に対して再検討が余儀なくされており、その後の著しい発展が見られない最大の原因は、結局のところ腫瘍全体を均一に加温することが困難である加温方法に限界があるためである¹²⁾。この問題は、熱感受性リポソームにおいても同様である。これまでの報告の多くは加温の容易な皮下腫瘍に対して行われたものであり、この魅力ある DDS も実際の臨床の場で使用するには、現在の加温技術の限界から深部に発育する腫瘍には適応が困難であること、すでに行われた臨床第一相試験で多くの症例で発熱が抑制できなかったことなど、その後さまざまな問題点が明らかになったため、一時の隆盛はみられなくなったというのが現状である。さらに脳という臓器の解剖学的特徴から、これまで熱感受性リポソームを脳腫瘍に応用しようとする試みは報告されていない。悪性グリオーマに対してもこれまでさまざまな治療が試みられて来たが、その予後はほとんど改善されず今日にいたっている^{13,14)}。しかしながら、筆者らは悪性グリオーマの特性に合わせた加温技術の改良を進めながら、加温技術の特徴と限界に即した熱感受性リポソームの改良を行い、臨床に応用できる DDS として発展させてきた。ここでは、筆者らの考える hyperthermia のすぐれた DDS としての効果を、筆者らの熱感受性リポソームのデータと合わせながら述べる。

筆者らの温熱療法

筆者らの施設ではすでに 15 年以上にわたり、悪

性グリオーマに対する hyperthermia について、基礎的、臨床的検討を行って来た¹⁵⁾。そして近年、教室の高橋らにより radiofrequency (RF) 組織内加温法が考案され、実際に多くの症例においてその顕著な治療効果がすでに報告されている^{16~18)}。この方法は、直径 1.0 mm の加温用 RF アンテナと直径 0.8 mm の多点式温度計を定位的脳手術装置を用いて正確に脳腫瘍内に刺入し、加温操作を行うものである(図 1)。胸腹部の加温の場合には、組織密度、電導率、電流震度がそれぞれに著しく異なる臓器、脂肪筋肉組織、空気、骨などが複雑に介在しているため、RF の energy を局所に集中させることは難しい。これに対して脳および脳腫瘍組織は、組織自体の構成が均一な点から RF の energy を局所に集中させやすく、基本的に局所温熱療法の良い適応と考えられる¹⁹⁾。具体的には、まず局所麻酔下に少ない侵襲でアンテナと温度計を脳腫瘍内に挿入する。CT、MRI 上で造影される腫瘍の中心(CE lesion)の辺縁を 42 から 43°C になるように加温することで、脳腫瘍中心全体が 42°C 以上の hyperthermia による殺細胞効果がある温度に加温されることになる。通常 40 分から 60 分間の加温を数回施行する。この方法は、正確な測温下に、RF を低 power でかつ任意繊細に調節できるうえ、加温部位の温度を real time に monitoring することにより、事前に計画した範囲を計画した温度で加温できる画期的なシステムである。症例は、車椅子に座ったままでもなら苦痛や熱感を感じることなく安全に加温が施され、開頭操作や全身麻酔を必要としないため高齢者やさまざまな合併症を有する症例も良い対象となる(図 2)。またこの方法は定位脳手術装置によって、脳内のいかなる部位にも RF アンテナを正確に挿入することができるため、これまでの方法ではさらに治療が困難であった脳の深部に存在する腫瘍も良い治療の適応となる。

RF 組織内加温法と熱感受性リポソームによる DDS

一方、熱感受性リポソームについてはすでに本誌に報告しているように、筆者らもまず相転位温

図 2 Photograph showing how our hyperthermic treatment is applied to the patient

度を 42°C に設定し CDDP を封入した熱感受性リポソームを用いて検討を始めた(CDDP-liposome)。当時いくつかの施設でも検討された熱感受性リポソームとほぼ同様の熱感受性リポソームである。まずラット皮下腫瘍のモデルを用いて、41, 42, 43°C で温度の違いによる抗腫瘍効果を検討したところ、加温温度の上昇につれて抗腫瘍効果が増強された。また加温を 43°C で一定させ、2, 4, 6 mg/kg で封入された CDDP の投与量の違いによる抗腫瘍効果も同時に検討してみると、投与量に従って抗腫瘍効果が増強された。また血液中の CDDP 濃度はリポソーム化すると高濃度に維持され、腫瘍を加温し始めると CDDP が加温部位に集積して消費されるため、その後徐々に血液中から減少していった²⁰⁾。以上の顕著な抗腫瘍効果と理論的な体内薬理動態から、DDS としてのこの方法の有用性に確信がもたれた。しかし本法が臨床に応用できる真の DDS として効力を発揮するためには、目標とする部位のみが十分に加温されることが必要である。

そこで筆者らは RF 局所温熱療法によって、熱感受性リポソームが脳腫瘍内に理論どおり target されるかについて検討した^{21~23)}。加温は RF アンテナをラット脳腫瘍中央に刺入し、腫瘍内温度は腫瘍内にアンテナと平行に刺入した多点式温度計で、同時に、かつ real time に monitoringしながら RF generator を操作した(図 3)。Group 1(control), Group 2(free CDDP 静注のみ), Group 3(加温のみ), Group 4(free CDDP 静注と

図3 Graph depicting the temperature of tumor margin measured by a thermocouple sensor inserted parallel to the radiofrequency antenna. The temperature of surrounding brain tissue (3 mm deep from the tumor margin) was simultaneously monitored. The tumor was thus heated to the temperature for the release of liposomal CDDP and the surrounding brain tissue remained intact without thermal damages.

加温の併用), Group 5 (CDDP-liposome 静注のみ), Group 6 (CDDP-liposome 静注と加温の併用) の6治療群(各群 $n=10$ 匹)に分け生存期間をみた。平均生存期間(日)は, Group 1が 19.5 ± 2.5 , Group 2が 20.1 ± 3.0 , Group 3が 28.0 ± 3.7 , Group 4が 29.1 ± 6.2 , Group 5が 32.1 ± 3.5 , Group 6が 41.6 ± 9.5 であった。Group 1, 2に差はなく, free CDDPのみ投与は無効と考えられた。一方, Group 3はGroup 1に対し, Group 4はGroup 2に対して有意に生存期間が延長し, またGroup 5はGroup 2に対し, Group 6ではGroup 4に対し同様に生存期間が延長した。つまり hyperthermia, もしくはリポソームのいずれか

図4 Photograph showing the specimens stained with HE.
Left: the groups which received CDDP-liposome with heating. Right: control.
(from Kakinuma K.: J. Neurosurg: 84: 80-184, 1996)

を用いれば効果が増強され, 最終的に hyperthermia とリポソームの両者を用いた Group 6 では最大の抗腫瘍効果が得られた。同時に行った腫瘍内 CDDP 濃度も同様の結果で, Group 6 では最大の CDDP 濃度が得られた。また hyperthermia を併用せず CDDP-liposome 静注のみを行った Group 5 でも CDDP 濃度が上昇した。病理組織学的検討では, control 群では, 顕著な腫瘍の増大がみられたが, Group 6 では腫瘍のみが選択的に壊死に陥り, 周辺の正常脳組織にはなんら異常はみられず, 本理論の有効性が視覚的にも示された(図4)。これらの結果から臨床で使用している RF システムによって熱感受性リポソームの DDS がきわめて理論的に達成されたことが確認され, この DDS の実用化へ向けての端緒が拓かれたことになった。

血液脳関門に対する DDS としての hyperthermia とリポソーム

広く知られているようにこの血液脳関門の存在は脳腫瘍治療に限らず薬剤全般の問題であり, 第

図 5 a : CT scan showing the tumor core as a well enhanced lesion and the low density area surrounding the tumor core invaded by tumor cells.
b : Its thermal distribution during hyperthermic treatment demonstrated by a finite element method. The two small yellow circles show the radiofrequency antennas set in the center of the tumor. Green zone shows the area above 42°C, and blue zone between 40–42°C.

11 回の本学会のシンポジウムでも取り上げられた話題である^{24,25)}。悪性グリオーマの化学療法^{26,27)}においても、腫瘍中心部を除けば血液脳関門は存在していると考えられており、腫瘍内への抗癌剤の致達制限されていることが大きな問題点とされてきた。この点、hyperthermia は薬剤固有の血液脳関門透過性を亢進させることが知られており²⁸⁾、hyperthermia 自体が、血液脳関門の問題に対する DDS であるともいうことができる。一方、生体適合性にすぐれたリポソームの特性を生かして、血液脳関門の主役である内皮細胞の細胞膜とリポソームとの親和性を高め、血液脳関門の障壁を乗り越えようとする試みが報告されている^{29–34)}。前述の実験においても、通常では血液脳関門を透過しないとされる CDDP がリポソームに封入されたことにより、腫瘍内に移行し、抗腫瘍効果を発揮したことは、このような内皮細胞とのリポソーム独自の cell affinity の一端を示唆するものと考えられる。したがって筆者らは、薬剤固有の血液脳関門透過性は、薬剤が熱感受性リポソームに封入され、加温と併用すれば一層亢進するものと予測した。そこで成犬の大腦半球を加温しながら evans blue を封入した熱感受性リポ

ソーム (evans blue-liposome) を静注し、evans blue の漏出範囲を free の evans blue とで比較した。両者とも、加温による血液脳関門の透過性の亢進で、RF antenna を中心に evans blue の青染がみられたが、free の evans blue の青染部位は、44°C 以上の加温域でのみみられた。一方、evans blue-liposome の青染部位は、44°C を越えてその外側の 41°C の低温域にまで拡大していた^{22,35)}。これらの結果から筆者らはリポソームと hyperthermia の併用で、これまで以上に DDS の効果をより低温域の広い範囲に及ぼすことができると考え、ついで実際の悪性グリオーマの温熱治療中に特に低温部の領域の広がりについて検討した。

悪性グリオーマの温度分布と DDS の戦略

筆者らは、悪性グリオーマに対してより有効な加温を行うために、治療前の planning を行ってきた。最近では、特に二次元有限要素解析法によって温度分布パターンのより正確な把握を試みている³⁶⁾。方法は、電界強度、生体内熱エネルギー密度、血流による冷却分、熱伝導率、血流量、血液温度などの各種パラメーターと組織ごとの熱物性値をハイパーサーミア用温度シミュレーションシステ

図 6 Time course of adriamycin (ADR) levels in blood. (from Kakinuma K.: Jpn. J. Hyperthermic Oncol. 14(2): 87-98, 1998.)

ムを用いて演算し、パーソナルコンピューター画面上に温度分布図を描く^{37,38)}。この結果は多点式温度計による実際の測温と良く相関し、治療前の planning に大変有用である。前述の evans blue-liposome の分布からの着想を得て、この二次元有限要素解析法を用いて悪性グリオーマの加温域のうち 40°C 近辺の低温部に着目して検討した。その結果を代表的な一例によって示す。症例は 66 歳の男性で、腫瘍中心部に RF アンテナを 2 本挿入し 10 W の出力で加温した際の温度分布である。当然ながら温度は RF アンテナの中心部から低下していくため、42°C 以上の加温が達成される領域は限られた。しかしその半面、低温になるに従って加温範囲は放射方向に拡大し、特に 40°C 以上の加温域は、CT 上での腫瘍中心部 (CE lesion) はもとより、その外側の低吸収域を包括して拡大していることが確認された (図 5)。CT 上の低吸収域は腫瘍細胞が正常脳組織に広く浸潤している領域 (invaded zone) であるが、通常強い浮腫を伴っているため、血流が低下しており温度が低下しにくいためと考えられた^{39,40)}。

ここで重要であるのは、悪性グリオーマの CE lesion を手術で摘出することは可能であっても、invaded zone においては腫瘍細胞のみを摘出す

図 7 Time course of adriamycin (ADR) levels in tumor. (from Kakinuma K.: Jpn. J. Hyperthermic Oncol. 14(2): 87-98, 1998.)

るのは不可能であるため、ほとんどの症例は CE lesion の摘出腔に隣接したこの invaded zone から腫瘍が再発し、この点が悪性グリオーマの予後を決定づける主因のひとつであるということである^{14,41)}。しかしながら、これまで invaded zone の治療に特に着目した検討は、あまり行われてこなかった。筆者らの hyperthermia においては、前述のように腫瘍の CE lesion の辺縁を 42 から 43°C になるように加温することで、脳腫瘍中心全体が温熱療法による殺細胞効果がある 42°C 以上に加温されることになるが、invaded zone においては、正常神経細胞保護のため、42°C 以上の加温は避けなければならない。その結果としてこの領域に広く浸潤している腫瘍細胞は、せいぜい 40 から 42°C の加温となるため、手術と同様この領域からの再発を抑えることは困難であった。

しかし、invaded zone が 40°C の加温域に一致していることが確認されたことから、熱感受性リポ

図 8 Tumor growth curves among the groups.
(from Kakinuma K.: Jpn. J. Hyperthermic
Oncol. 14(2): 87-98, 1998.)

ソームの相転位温度を下げるという筆者らの新しい着眼点が生まれた。つまり、これまで hyperthermia との相乗効果を期待して 42°C 以上に設定されていたリポソームの相転位温度を 40°C に設定できれば、従来どおり 42°C 以上となる脳腫瘍中心では、hyperthermia による殺細胞効果と化学療法との相乗効果が得られ、さらに 40°C の領域となる invaded zone にまで広く抗癌剤が target できるようになるものと考えられた。この計画の端緒についてはすでに本誌に報告しているが⁴²⁾、このような観点から、相転位温度を 40°C とした新たな熱感受性リポソームを作製した。

相転位温度 40°C-熱感受性リポソームによる新しい DDS

調整は、phosphatidylcholine, dipalmitoyl phosphatidylcholine, dipalmitoyl phosphatidylg-

lycerol, cholesterol を 10.5:4.5:15:20 のモル比で chloroform と methanol の混合溶媒に溶解したあと、45°C から 50°C で 30 分間の evaporation を行った。このあとアドリアミシン (ADR) を加えて sodium chloride solution で攪拌し、20 分間の sonication を行い、改良型熱感受性リポソーム (ADR-liposome) を作製した。封入する抗癌剤として ADR を選んだ理由については次項で述べる。この ADR-liposome は理論上相転位温度が 40°C 近辺にあるものと考えられたが、その確認のため、均一な 40°C の加温が温浴によって得られる皮下腫瘍を意図的に選んで検討した。RSV 誘発グリオーマ細胞を fisher ラットの大腿皮下に移植し、10 日目に Group A (control), Group B (free ADR 静注), Group C (40°C の加温), Group D (free ADR 静注と 40°C の加温の併用), Group E (ADR-liposome 静注), Group F (ADR-liposome 静注と 40°C の加温の併用) の 6 治療群 (各群 n=5 匹) を設けた。free ADR, あるいは ADR-liposome は、ADR に換算して 5 mg/kg で 15 分間の温浴のあと、尾静脈から静注し、さらに 60 分間の温浴を行ったが、加温のみの Group C は 75 分間の温浴を行った。挿入された温度計で腫瘍が 40°C に均一に加温されていることを確認した。血液中および腫瘍組織内の ADR 濃度の推移と抗腫瘍効果について検討した。血液中の ADR 濃度は、薬剤注入後、0.5 時間、1 時間、1.5 時間、24 時間に心臓穿刺で採血し、Group B と Group E 間で比較した。腫瘍組織内の ADR 濃度は、治療直後腫瘍を摘出して測定した。抗腫瘍効果の判定は長径×短径×高さ× $\pi/6$ で近似した腫瘍体積 (cm³) の比較で行った。その結果、血液中 ADR 濃度については、free ADR は静注後すぐに血液中から消失してしまうのに対して、ADR-liposome は有意に血液中での滞留性にすぐれ、加温部位を通過する度に繰り返し ADR を放出することが示された (図 6)。腫瘍組織内 ADR 濃度については、Group F では 40°C の加温でも他群の 4~5 倍の腫瘍内 ADR 濃度が得られた (vs Group D; $p < 0.01$, vs Group B, Group E; $p < 0.001$: unpaired Student's t-test) (図 7)。これら結果を反映して、ADR-

図 9 Photograph showing the specimens from the dog taken 7 days after intraarterial injection of ADR-liposome via the vertebral artery and stained with HE. ADR-liposome was safely injected without embolism.

liposome と 40°C の加温の両者を併用した Group F のみに有意な抗腫瘍効果がみられた ($p < 0.01$: friedman test) (図 8). したがって、この新しい ADR-liposome は、これまで問題視されながらも有効な治療法の無かった invaded zone へ、40°C の加温によって抗癌剤を target できる DDS となりうるものと考えられる。DDS を用いた invaded zone の化学療法としては、抗癌剤を封入した徐放性の生体非分離型のポリマーを脳内に設置する Valtonen⁴³⁾ や Kubo⁴⁴⁾ らの興味深い報告があるが、筆者らは、温熱療法においては腫瘍全体が均一に加温できなければ意味がないとする前述のような概念から脱却し、RF 組織内加温法の限界を逆に利点として生かした hyperthermia による DDS として発展させたことになる。

悪性グリオーマに対する DDS としての ADR-liposome の意義

さて、これまで悪性グリオーマの化学療法において、薬剤の選択にあたってもっとも重要と考えられた点は、その薬剤の血液脳関門に対する透過性であった。そのためニトロソウレア系の抗癌剤が主に用いられてきたが、それらの有効性は満足すべきものではないのが現状である。ADR は、他領域の癌治療には広く用いられている抗癌剤であるが、こと脳腫瘍治療においては脳血液関門を通

過しないとされ使用されてこなかったものである⁴⁴⁾。しかし *in vitro* では悪性グリオーマ細胞に対して強力な抗腫瘍効果を示すことが知られていた。この点、リポソームには、脂溶性、水溶性、いずれの抗癌剤も封入することが可能であり^{45,46)}、この特性を生かして、今回の検討で熱感受性リポソームに封入される抗癌剤として ADR が選択され、顕著な抗腫瘍効果を示したことの意義は大きく、この方法によって、今後このような抗癌剤が脳腫瘍治療に使用できるものと思われる。また ADR は、通常の場合においても ACNU や CDDP と比較して温熱相乗効果の点ですぐれている⁴⁷⁾ばかりでなく、きわめて増殖の速い悪性グリオーマに数多く存在する低酸素細胞に対しては、特に強力な温熱増感作用を発揮することをすでに筆者らは報告しており⁴⁸⁾、hyperthermia と ADR-liposome の組み合わせは悪性グリオーマに対する新しく有効な DDS として期待できる。

臨床応用への実際と今後の展望

さて、従来から問題視されているリポソームの網内系による捕捉⁴⁹⁾については、ラットに体重減少などの異常所見はなかったものの、今回改良した ADR-liposome も肝臓、脾臓には高濃度の集積を示した。これは、いわばリポソームの宿命ともいえるものであるが、そこで筆者らは、この問題

の解決とさらなる治療効果の向上を計るため、次の strategy としてリポソームを動注する必要性を考えた。その場合、リポソームが脳血管内で塞栓源とならないことが最低条件である。そのためにこの ADR-liposome を小型化して 180 nm にほぼ均一に sizing し、成犬の椎骨動脈から注入したところ、ADR-liposome は血中での凝集もなく、塞栓源ともならなかった(図 9)。また発熱もみられなかった。動注 1 週間後の採血上でも、肝機能障害は出現しなかった。これらの結果から具体的な臨床応用への道が、さらに拓かれたものと考えられる。

結 論

さてどれほど理論的にすぐれた DDS であっても、実際の臨床治療に応用できなければ意味がない。以上述べてきたように、本法は、① 熱感受性リポソームと併用することで、DDS としての hyperthermia の魅力を増強させた温熱化学療法であること、② 温熱療法は腫瘍全体が均一に加温できなければ意味がないとする概念から脱却し、RF 組織内加温法の臨床例の温度分布を念頭においた新しい発想の DDS であること、具体的には、③ 腫瘍中心を 42°C 以上に設定することで、hyperthermia と化学療法の相乗効果が期待できること、④ これまで有効な治療法のなかった辺縁の腫瘍浸潤領域にも、熱感受性リポソームの相転位温度を 40°C に設定して抗癌剤を deliver できること、また一方で脳腫瘍治療上問題視されてきた血液脳関門についても、⑤ hyperthermia の強力な血液脳関門 opening 作用とリポソームと内皮細胞との親和性によって、血液脳関門の問題を軽減できる可能性があること、⑥ 本法により、強力な抗腫瘍効果がありながら、脳血液関門を通過しないとされ使用されてこなかった ADR などの抗癌剤も使用できること、また⑦ ADR は特に低酸素下にある腫瘍細胞に対し強力な温熱増感作用を発揮すること、さらに実際の臨床応用へ向けて、⑧ 網内系による捕捉量の軽減を計り、治療効果の向上を計るため動注も可能であることなど、多彩な魅力をもち、hyperthermia の効果を十分に考慮

した DDS であると考えられる。今後はこのリポソームの細かな体内動態、実際の注入のための至適 ADR 量の決定などを検討しつつ、さらに筆者らの hyperthermia の改良を行い、臨床に応用しうる真の DDS へと発展させていきたいと考えている。

本研究に貴重なご助言を下さいました F. Zywiets 教授(Institute of Biophysics and Radiology, University of Hamburg)に感謝いたします。また実験にご協力下さった新潟大学脳研究所脳神経外科の諸先生、特に、高橋英明先生、高橋祥先生、須田剛先生、斉藤明彦先生、本山浩先生、宇塚岳夫先生、森田幸太郎先生、並びに教室の上杉清枝官、木山信子さん、関川和代さんに感謝いたします。本研究の一部は、文部省科学研究費ならびに財団法人テルモ科学技術振興財団の補助により行われたものである。

文 献

- 1) Field SB, Morris CC: The relationship between heating time and temperature: Its relevance to clinical hyperthermia. *Radiother Oncol.* 1: 179-186, 1983.
- 2) Gerweck LE: Modification of cell lethality at elevated temperatures: The pH effect. *Radiat Res.* 70: 224-235, 1977.
- 3) Song CW: Effect of hyperthermia on vascular functions of normal tissues and experimental tumors: Brief Communication, *J. Natl. Cancer Inst.* 60: 711-713, 1987.
- 4) Dewey WC, Hopwood LE, Sapareto SA, Gerweck LE: Cellular responses to combinations of hyperthermia and radiation. *Radiology* 123: 463-474, 1977.
- 5) Hahn GM: *Hyperthermia and Cancer*. New York: Plenum Press; 1982.
- 6) Watanabe N, Niitsu Y, Umeno H et al.: Synergistic cytotoxic and antitumor effects of recombinant human tumor necrosis factor and hyperthermia. *Cancer Res.* 48: 650-653, 1988.
- 7) Sakaguchi Y, Maehara Y, Baba H et al.: Flavonoacetic acid increases the antitumor effect of hyperthermia in mice. *Cancer Res.* 52: 3306-3309, 1992.
- 8) 西村恭昌, 石垣孝, 村田るみ, 平岡真寛, 阿部光幸: 温熱療法のターゲットとしての腫瘍血管. *Jpn. J. Hyperthermic Oncol.* 11(1): 13-20, 1995.
- 9) Weinstein JN, Magin RL, Cysyk RL: Treatment of solid L 1210 Murine tumors with local hyperthermia and temperature-sensitive liposomes contain-

- ing methotrexate. *Cancer Res.* 40 : 1388-1395, 1980.
- 10) Yatvin MB, Mühlensiepen H, Porchen W : Selective delivery of liposome-associated cis-Dichlorodiamineplatinum(II) by heat and its influence on tumor drug uptake and growth. *Cancer Research* 41 : 1602-1607, 1981.
 - 11) Iga K, Hamaguchi N, Igari Y : Enhanced antitumor activity in mice after administration of thermosensitive liposome encapsulating cisplatin with hyperthermia. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 257 : 1203-1207, 1991.
 - 12) 不破信和 : 臨床サイドから見た望まれる加温機器. *Jpn. J. Hyperthermic Oncol.* 12(2) : 117-123, 1996.
 - 13) Chang CH : Comparison of postoperative radiotherapy and combined postoperative radiotherapy and chemotherapy in the multidisciplinary management of malignant gliomas. A Joint Radiation Therapy Oncology Group and Eastern Cooperative Oncology Group Study. *Cancer* 52 : 977-1007, 1983.
 - 14) Kito A, Yoshida J, Kageyama N : Liposomes coupled with monoclonal antibodies against glioma-associated antigen for targeting chemotherapy of glioma. *J. Neurosurg.* 71 : 382-387, 1989.
 - 15) Tanaka R, Kim CH, Yamada N : Radiofrequency hyperthermia for malignant brain tumors. *Neurosurgery* 21 : 478-483, 1987.
 - 16) 高橋英明, 田中隆一, 本道洋昭, 中島拓, 渡辺正人 : 悪性脳腫瘍に対する RF 温熱療法の臨床治験. *Neurosurgery* 12 : 245-255, 1993.
 - 17) 高橋英明, 田中隆一, 渡辺正人, 柿沼健一, 須田剛 : 悪性脳腫瘍の組織内温熱療法—RF 加温による臨床成績—. *Jpn. J. Hyperthermic Oncol.* 11(1) : 61-67, 1995.
 - 18) Tanaka R, Takahashi H, Nakajima T et al. : Clinical Trials of RF Interstitial Hyperthermia for Malignant Gliomas. *Hyperthermic Oncology Proceedings of the 7th ICHO, Rome, 1996*, p 158-160.
 - 19) 松本健五, 中川実, 大本亮史 : 脳腫瘍のマイクロウェーブ組織内加温 *Jpn. J. Hyperthermic Oncol.* 11(1) : 42-51, 1995.
 - 20) 柿沼健一, 田中隆一, 高橋英明, 須田 剛, 加藤 仁 : 悪性脳腫瘍に対する熱感受性リポソームと脳組織内加温による化学療法. *Drug Delivery System* 11 : 183-189, 1996.
 - 21) Kakinuma K, Tanaka R, Takahashi H, Watanabe M, Nakagawa T : Targeting chemotherapy for malignant brain tumor using thermosensitive liposome and localized hyperthermia. *J. Neurosurg.* 84 : 80-184, 1996.
 - 22) Kakinuma K, Tanaka R, Takahashi H : Targeting therapy for malignant brain tumor using thermosensitive liposome. *Hyperthermic Oncology in Japan'91*, 393-394, 1993.
 - 23) Kakinuma K, Tanaka R, Watanabe M, Takahashi H, Nakagawa T : Antitumor effect of CDDP-entrapping thermosensitive liposome combined with local hyperthermia against rat malignant glioma. *Hyperthermic Oncology in Japan'93*, 197-198, 1995.
 - 24) 磯部一郎, 祖父江和哉, 小谷野貴文・他 : 血液・脳関門機能とアストロサイト. *Drug Delivery System* 11 : 375-383, 1996.
 - 25) 辻 彰 : ダイナミックインターフェースとしての薬物脳移行相関. *Drug Delivery System* 11 : 299-308, 1996.
 - 26) Ushio Y, Hayakawa T, Hasegawa H : Chemotherapy of malignant gliomas. *Neurosurg. Rev.* 7 : 3-12, 1984.
 - 27) Takakura K, Abe H, Tanaka R : Effects of ACNU and radiochemotherapy on malignant gliomas. *J. Neurosurg.* 64 : 53-57, 1986.
 - 28) Lin JC, Lin MF : Microwave hyperthermia-induced blood-brain barrier alternations. *Radiat Res.* 89 : 77-87, 1982.
 - 29) Naoi M, Yagi K : Incorporation of enzyme through blood-brain barrier into the brain by means of liposomes. *Biochem. International* 1 : 591-596, 1980.
 - 30) Pardridge WM : Recent developments in peptide drug delivery to the brain. *Pharmacol. Toxicol.* 71 : 3-10, 1992.
 - 31) Shibata S, Ochi A, Mori K : Liposome as carriers of cisplatin into the central system—experiments with 9L gliomas in rat—. *Neurol. Med. Chir.* 30 : 242-245, 1990.
 - 32) Yagi K, Naoi M, Sakai H et al. : Incorporation of enzyme into the brain by means of liposomes of novel composition. *J. Appl. Biochem.* 4 : 121-125, 1982.
 - 33) Siegal T, Horowitz A, Gabizon A : Doxorubicin encapsulated in sterically stabilized liposomes for the treatment of a brain tumor model : biodistribution and therapeutic efficacy. *J. Neurosurg.* 83 : 1029-1037, 1995.
 - 34) Umezawa F, Eto Y : Liposome targeting to mouse brain : Mannose as a recognition marker. *Biochem Biophys. Res. Commun.* 153 : 1038-1044, 1988.
 - 35) Kakinuma K, Tanaka R, Takahashi H, Sekihara Y, Watanabe M : Drug delivery to the brain using thermosensitive liposome and local hyperthermia. *Int. J. Hyperthermia* 2 : 157-165, 1996.
 - 36) 高橋英明, 田中隆一, 渡辺正人, 中島拓, 柿沼健一 : 脳腫瘍に対する温熱治療のための温度分布シュミレーション—二次元有限要素解析による computer simulation—. *Jpn. J. Hyperthermic Oncol.* 11(4) : 356-363, 1996.
 - 37) Bowman HF : Thermodynamics of tissue heating : modeling and measurements for temperature distributions. *Physical Aspects of Hyperthermia*, edited by Nussbaum GH (New York : American Institute of Physics), p 511-548
 - 38) Kato K, Matsuda J, Yamashita T et al. : Simultaneous estimation of blood flow rate and tissue temperature. *Frontiers Med. Biol. Engng.* 4(2) : 135-143, 1992.
 - 39) Weise RJS, Thomas DGT, Lammertsma AA et al. : PET scanning of human brain tumors. *Prog. exp. Tumor Res.* vol. 27, Karger, Basel, 1984, p 154-169
 - 40) Tyler JL, Diksic JV, Evans AC et al : Metabolic and hemodynamic evaluation of gliomas using

- positron emission tomography. *J. Nucl. Med.* 28 : 1123-1133, 1987.
- 41) Watanabe M, Tanaka R, Takeda N et al. : Magnetic resonance imaging and histopathology of cerebral gliomas. *Neuroradiology* 34 : 463-469, 1992.
- 42) 柿沼健一, 田中隆一, 加藤 仁, 高橋英明, 須田 剛・他 : 相転位 40°C-adriamycin 封入 liposome を用いた悪性脳腫瘍に対する新しい DDS. *Drug Delivery System* 11 : 351-354, 1996.
- 43) Valtanen S, Timonen U, Toivanen P, Kalimo H, Kivipelto L et al. : Interstitial chemotherapy with carmustine-loaded polymers for high-grade gliomas : a randomized double-blind study. *Neurosurgery* 41 : 44-49, 1997.
- 44) Kubo O, Tajika Y, Muragaki Y, Hiyama H, Takakura K et al. : Local chemotherapy with slowly-releasing anticancer drug-polymers for malignant brain tumors. *Journal of Controlled Release* 32 : 1-8, 1994.
- 45) Hassenbusch SJ : Rabbit brain concentrations of doxorubicin during intraarterial infusion. *Neuro-Oncology*. (P. Paletti et al. eds.) Kluwer Academic Publishers. : 209-211, 1991.
- 46) Poste G : Liposome targeting in vivo : problems and opportunities. *Biol. Cell* 47 : 19-38, 1983.
- 47) Urano M, Begley J, Reynolds R et al. : Interaction between adriamycin cytotoxicity and hyperthermia : growth-phase-dependent thermal sensitization. *Int. J. Hyperthermia* 10 : 817-826, 1994.
- 48) Watanabe M, Tanaka R, Hondo H : Effect of antineoplastic agents and hyperthermia on cytotoxicity toward chronically hypoxic glioma cells. *Int. J. Hyperthermia* 8 : 131-138, 1992.
- 49) Frise J, Mueller WH, Magerstedt P : Pharmacokinetics of liposome encapsulated cisplatin in rats. *Arch Int. Pharmacodyn.* 258 : 180-192, 1982.