脂溶性白金錯体のリピオドール動注療法への応用

—家兔肝癌モデルでの制癌効果—

岸本修一・福島昭二・林 良樹^{*1)}、丹野紀彦^{*2)}、中野眞汎^{*1)}

Application of Lipiodol containing liposoluble platinum complexes to intra-arterial chemotherapy: Anticancer effect on rabbit liver cancer model

Three liposoluble platinum complexes, chelate compounds of saturated fatty acids and Cyclohexane-1,2-diammineplatinum(II) (DACH), have been developed for intra-arterial chemotherapy of the hepatocellular carcinoma using Lipiodol.

We studied the anticancer effect of Lipiodol containing these platinum complexes after injection into the hepatic artery of rabbit bearing VX-2 tumor in the liver. The anticancer effect of trans-1-DACH(Myristic)₂ (DACH C14), leaving group of which was myristic acid, was stronger and more selective than those of the untreated group and the group given Lipiodol alone. The effect depended on content of DACH C14 in Lipiodol. The anticancer effects of trans-1-DACH(Lauric)₂ (DACH C12) and trans-1-DACH(Decanoic)₂ (DACH C10), leaving groups of which were lauric acid and decanoic acid, respectively, tended to be similar to that of DACH C14. Platinum concentrations in the tumor 7 days after injection into the hepatic artery of rabbits were selectively higher than those in other parts of the liver in all platinum complexes.

These results suggest that three liposoluble platinum complexes in Lipiodol are applicable to intra-arterial chemotherapy of hepatocellular carcinoma.

Shuichi Kishimoto・Shoji Fukushima・
Yoshiki Hayashi^{*1)}, Norihiko Tanno^{*2)},
Masahiro Nakano^{*1)}

key words : cisplatin, Lipiodol, liposoluble platinum complex, intra-arterial chemotherapy

現在の癌化学療法において、シスプラチンは各種固形癌に対して有効な薬物として高く評価され

ている¹⁾。また、その強い副作用の軽減および効果増強を目指してさまざまな抗腫瘍性白金錯体の開発研究も行われ、drug delivery system を利用したものも多数検討されている^{2,3)}。一方、油性造影剤であるリピオドールを担体とする動注療法⁴⁾は、targeting 療法として各種制癌薬を含有させたりリピオドール製剤が検討されている⁵⁻⁷⁾。

Cyclohexane-1,2-diammineplatinum(II) (DACH)に炭素数が14(myristic), 12(lauric), 10(decanoic)の飽和脂肪酸を導入した3種の脂溶性白金錯体 trans-1-DACH(Myristic)₂, trans-1-DACH(Lauric)₂, trans-1-DACH(Decanoic)₂, (以下それぞれ DACH C14, DACH C12, DACH C10)はリピオドールを担体とする動注療法への応用を目的として開発された薬物である⁸⁾。

筆者らは、VX-2 腫瘍肝移植家兔を用い、この脂溶性白金錯体を含有するリピオドールの肝動脈内投与による抗腫瘍効果および組織内白金濃度について検討した。

実験方法

(1) 白金錯体含有リピオドールの調製方法

3種の白金錯体(図1)を、それぞれリピオドールに加えたあと、超音波処理をするか、白金錯体をあらかじめ塩化メチレンに溶解し、リピオドールと混和したあと、水流エバポレーターにて塩化メチレンを留去して調製した。

(2) 動物実験⁶⁾

体重 2~3.5 kg のニュージーランド系白色雄性家兔を開腹し、肝内側左葉に約 1 mm³ 角の VX-2 腫瘍を移植した。移植後 14 日目に開腹し、腫瘍の長径と短径を測定後、左固有肝動脈より手製の注入装置を用い、白金錯体含有リピオドール 0.1 ml を注入した。注入後 7 日目に解剖し、腫瘍の長

^{*1)} Department of Pharmacy, Kumamoto University Hospital 熊本大学医学部付属病院薬剤部

^{*2)} Research Laboratories, Sumitomo Pharmaceuticals Co., Ltd. 住友製薬研究所

trans-1-DACH (Myr)₂ trans-1-DACH (Lau)₂ trans-1-DACH (Dec)₂

図1 脂溶性白金錯体の構造式

径と短径を測定したあと、正常肝とともに摘出した。

術中の麻酔は、ペントバルビタールを用いた。対照群として、未治療群、リピオドール単独投与群について検討した。

(3) 抗腫瘍効果の検討

長径と短径の積を指標とした腫瘍増殖挙動により抗腫瘍効果を検討した。増殖率は次式より算出した。有意差検定は、t検定および一元分散分析により行った。

$$\text{増殖率(\%)} = \frac{A' \times B' - A \times B}{A \times B} \times 100$$

A: 投与前の長径 A': 投与後7日目の長径

B: 投与前の短径 B': 投与後7日目の短径

(4) 組織内白金濃度測定

白金錯体含有リピオドール投与後7日目に摘出した肝における癌部、癌近位非癌部、癌遠位非癌部および右葉非癌部(図2)について以下の方法により白金濃度を測定した。

0.5 g 前後の組織を磁性的るつばにとり、0.6% 過塩素酸 0.5 ml を添加し、12 時間放置したあと 50°C で乾燥した。その後、250°C で炭化し、550°C で灰化した。灰分を 0.1 N 塩酸で溶解し、原子吸

図2 VX-2 腫瘍移植部位、白金錯体含有リピオドール投与部位および白金濃度測定部位

図3 VX-2 腫瘍肝移植家兎における未治療群、リピオドール単独投与群および trans-1-DACH (Myr)₂ 含有リピオドール投与群の腫瘍増殖抑制効果

光光度計で測定した。有意差検定は t 検定により行った。

結果

(1) 白金錯体含有リピオドールの性状

3 種の白金錯体はいずれもリピオドール中に一部は溶解し、一部はコロイド状に懸濁し分散性はきわめて良好であった。

(2) 抗腫瘍効果

図3に家兎肝癌モデルにおける DACH C14 含有リピオドール肝動脈内投与群の VX-2 腫瘍の増殖率を示す。未治療群において腫瘍は著明に増殖し、増殖率は 654% であった。リピオドール単独投与群では、増殖率 436% であり、未治療群に対して VX-2 腫瘍の増殖は抑制傾向にあったが、有意差はなかった。DACH C14 に関しては、1, 5, 10, 20, 40 mg/ml と 5 種の含有量で検討し、それぞれの投与群の増殖率は、201, 171, 103, 79.8, 41.3%

表 1 trans-1-DACH(My₂) 含有リピオドール肝動脈内注入後 7 日目の組織内白金濃度

含有量	組織内白金濃度($\mu\text{g/g}$), mean $\pm$ SEM			
	癌部	癌近位非癌部	癌遠位非癌部	右葉非癌部
1 mg/ml	0.14 $\pm$ 0.03	—*	—*	0.11 $\pm$ 0.02
5 mg/ml	1.16 $\pm$ 0.38	0.43 $\pm$ 0.12	0.37 $\pm$ 0.11	—*
10 mg/ml	10.46 $\pm$ 5.01	1.37 $\pm$ 0.71	0.68 $\pm$ 0.20	—*
20 mg/ml	4.90 $\pm$ 1.70	0.34 $\pm$ 0.06	0.30 $\pm$ 0.03	0.52 $\pm$ 0.14
40 mg/ml	6.10 $\pm$ 1.95	0.27 $\pm$ 0.05	0.30 $\pm$ 0.06	—*

*not measured. n=4~6

図 4 VX-2 腫瘍肝移植家兎における未治療群, リピオドール単独投与群および trans-1-DACH(Lau)₂ 含有リピオドール投与群の腫瘍増殖抑制効果 図 5 VX-2 腫瘍肝移植家兎における未治療群, リピオドール単独投与群および trans-1-DACH(Dec)₂ 含有リピオドール投与群の腫瘍増殖抑制効果

であり, 5 mg/ml 以上の濃度では, 未治療群およびリピオドール単独投与群にくらべ有意な(t検定, $P < 0.05$)増殖抑制効果を示した。

肉眼のおよび病理学的観察によると, 含有量増加により腫瘍の壊死部は拡大したが, 40 mg/ml でも腫瘍の壊死が完全でなく, 壊死部周囲に viable な癌細胞が観察されるものがあった。

DACH C12, DACH C10 投与群(図 4, 5)においても, DACH C14 と同様に含有量依存的な増殖抑制効果を示した。

10, 20, 40 mg/ml の含有量での 3 種の白金錯体の増殖率の比較では, いずれにおいても有意差は得られなかった(一元分散分析)。

(3) 組織内白金濃度

表 1 に DACH C14 含有リピオドール肝動注後 7 日目の組織内白金濃度を示す。いずれの投与群においても, 癌部の組織内白金濃度は, 非癌部の

数倍から数十倍有意に($P < 0.05$)高い値を示した。また, 癌部の組織内白金濃度は 10 mg/ml 以上の含有量においてほぼ一定のレベルに達していた。

DACH C12(表 2)では, 10, 20 mg/ml においては, 癌部, 非癌部ともに同等レベルであるが, 40 mg/ml においては, 癌部, 非癌部ともに 10, 20 mg/ml に比較し増大した。

DACH C10(表 3)では, 非癌部はいずれの含有量でも同等レベルであったが, 癌部は 10 mg/ml に比較し, 20, 40 mg/ml でばらつきはあるが 2 倍以上に増大した。

考 察

油性造影剤であるリピオドールを担体とした肝癌に対する肝動注療法は, 現在もっとも強力とされている制癌薬であるシスプラチンでも検討さ

表 2 trans-1-DACH(Lau)₂ 含有リピオドール肝動脈内注入後 7 日目の組織内白金濃度

含有量	組織内白金濃度 ($\mu\text{g/g}$), mean $\pm$ SEM			
	癌部	癌近位非癌部	癌遠位非癌部	右葉非癌部
10 mg/ml	8.43 $\pm$ 0.85	0.46 $\pm$ 0.35	0.12 $\pm$ 0.02	0.65 $\pm$ 0.20
20 mg/ml	9.56 $\pm$ 3.18	0.32 $\pm$ 0.07	0.31 $\pm$ 0.07	0.44 $\pm$ 0.12
40 mg/ml	23.12 $\pm$ 11.94	0.65 $\pm$ 0.26	0.59 $\pm$ 0.15	2.54 $\pm$ 1.60

n=5~6

表 3 trans-1-DACH(Dec)₂ 含有リピオドール肝動脈内注入後 7 日目の組織内白金濃度

含有量	組織内白金濃度 ($\mu\text{g/g}$), mean $\pm$ SEM			
	癌部	癌近位非癌部	癌遠位非癌部	右葉非癌部
10 mg/ml	7.96 $\pm$ 3.73	0.17 $\pm$ 0.08	0.08 $\pm$ 0.03	0.47 $\pm$ 0.06
20 mg/ml	41.40 $\pm$ 16.77	0.23 $\pm$ 0.07	0.22 $\pm$ 0.07	0.52 $\pm$ 0.15
40 mg/ml	22.25 $\pm$ 7.49	0.35 $\pm$ 0.05	0.26 $\pm$ 0.05	0.40 $\pm$ 0.07

n=4~6

れ^{9,10)}, 福島, 柴田ら¹¹⁻¹³⁾は, リピオドール中シスプラチン懸濁液(LPS)によるすぐれた臨床効果を得ている. この場合, シスプラチンはリピオドールにはほとんど溶解せず, 水に対する溶解度も 1 mg/ml 程度であるため, シスプラチンをリピオドール中に含有させるには懸濁液を調製することが唯一の方法である. しかし, 製剤的な安定性, およびよりすぐれた targeting を得るためには, 制癌薬がリピオドールに溶解していることが望ましいと考えられることから, 脂溶性白金錯体が開発され, 筆者らは家兎癌モデルにおいてその抗腫瘍効果を検討した.

3 種の白金錯体は, 今回の調製法によりいずれもリピオドール中に一部は溶解し, 一部はコロイド状に懸濁し, 分散性はきわめて良好であった. VX-2 腫瘍肝移植家兎の肝動脈内投与による 3 種の白金錯体含有リピオドールの抗腫瘍効果は, 未治療群, リピオドール単独投与群に比較して顕著であり, その効果はいずれも含有量依存的であった. また, 白金錯体間の抗腫瘍効果を比較すると, 含有量の増加による抗腫瘍効果の変動の仕方に若干の差はみられるが, 抗腫瘍効果そのものには大きな差はみられず, 遊離基として考えられる飽和脂肪酸の種類に関して, 炭素数 14, 12, 10 のもの

では, その活性化に差はほとんど生じないものと考えられる. 一方, 組織内白金濃度において, いずれの投与群にも癌部の白金濃度は非癌部と比較して数倍から数十倍の高い値を示し, リピオドールの特性が活かされていることが示唆された.

以上の結果より, 検討した 3 種の脂溶性白金錯体は, リピオドール動注療法において有効な薬物であることが示唆された.

文 献

- 1) 加藤 俊, 太田和男, 新島端夫・編: シスプラチン—その臨床応用—, 協和企画通信, 1983.
- 2) Perez-Soler, R., Yang, L. Y., Drewinko, B. et al.: Increased cytotoxicity and reversal of resistance to cis-diamminedichloroplatinum(II) with entrapment of cis-bis-neodecanoato-trans-R,R-1,2-diaminocyclohexaneplatinum(II) in multilamellar lipid vesicles. *Cancer Res.* 48: 4509-4512, 1988.
- 3) Khokhar, A. R., Wright, K., Siddik, Z. H. et al.: Organ distribution and tumor uptake of liposome entrapped cis-bis-neodecanoato-trans-R, R-1, 2-diaminocyclohexane platinum(II) administered intravenously and into the proper hepatic artery. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 22: 223-227, 1988.
- 4) Konno, T., Maeda, H., Iwai, K. et al.: Selective targeting of anticancer drug and simultaneous image enhancement in solid tumors by arterially administered lipid contrast medium. *Cancer* 54:

- 2367-2374, 1984.
- 5) 山下康行, 中川伸生, 宮脇正行・他: 各種剤型の抗癌剤—Lipiodol による肝動脈塞栓療法の実験的研究. 日医放会誌 45: 1313-1321, 1985.
 - 6) Fukushima, S., Kawaguchi, T., Nishida, M. et al.: Selective anticancer effect of 3',5'-dioctanoyl-5-fluoro-2'-deoxyuridine, a lipophilic prodrug of 5-fluoro-2'-deoxyuridine, dissolved in an oily lymphographic agent on hepatic cancer of rabbits bearing VX-2 tumor. Cancer Res. 47: 1930-1934, 1987.
 - 7) 今野俊光: 油性抗癌剤動注療法—基礎と臨床—, 癌と化学療法 14: 373-380, 1987.
 - 8) Maeda, M., Uchida, N. A., Sasaki, T.: Liposoluble platinum(II) complexes with antitumor activity. Jpn. J. Cancer Res. 77: 523-525, 1986.
 - 9) 佐々木 洋, 今岡真義, 岩水 剛・他: 肝細胞癌に対する新しい動注化学療法—シンチプラスチンサンドウィッチ療法—, 日癌治 21: 647-654, 1986.
 - 10) Nakashima, M., Nakano, M., Ishii, Y. et al.: Tissue distribution of cisplatin after hepatic arterial injection of a cisplatin-Lipiodol suspension containing phosphatidylcholine to rabbits carrying VX-2 hepatic carcinoma. Pharm. Res. 6: 342-345, 1989.
 - 11) 福島昭二, 岸本修一, 林 良樹・他: リピオドール中シスプラチン懸濁液(LPS)による肝細胞癌の動注化学療法. そのI. LPSの調製と家兎肝癌モデルにおける肝動脈内投与による抗癌効果. 日癌治 23: 2743-2749, 1988.
 - 12) 柴田淳治, 木村俊一, 近沢秀人・他: リピオドール中シスプラチン懸濁液(LPS)による肝細胞癌の動注化学療法. そのII. 臨床的検討. 日癌治 23: 2750-2759, 1988.
 - 13) Shibata, J., Fujiyama, S., Sato, T. et al.: Hepatic arterial injection chemotherapy with cisplatin suspended in an oily lymphographic agent for hepatocellular carcinoma. Cancer 64: 1586-1594, 1989.