OK-432 溶解液とリピオドールとの
混合液のエマルジョン化の判定

利野 靖・小林 理・西連寺意勲・本橋久彦*

Investigations of emulsification of OK-432 solution and lipiodol mixture

We have been attempting local injection of OK-432 in a lymph node or its surrounding areas in patients with lymph node metastases when we confirmed that the patients had relapse. We mixed OK-432 solution and lipiodol. After injection of this mixture, we examined the extent of infiltration of this mixture with fluoroscopy. We checked whether this mixture was actually in the state of emulsion.

Immediately after mixing them, a single water phase was observed, and three hours later, two phases were already separated as determined by a visual inspection. However, at this stage, majority of the cases were in the state of emulsification. These findings may indicate that the mixture was in emulsion at the time of injection, and that it gradually degraded successively in the body. However, we speculate that it might be possible to achieve more stable emulsion by the use of surfactants or by adjusting differences in the specific gravities of two phases.

Yasushi Rino・Osamu Kobayashi・
Motonori Sairenji・Hisahiko Motohashi*
key words : OK-432, lipiodol, emulsion

OK-432 は、溶連菌の抗腫瘍効果に着目して開発されたものであり、ストレプトコックス・ピオゲネス(A群3型)Sn株を凍結乾燥した菌体制剤である。臨床では、化学療法との併用で胃癌(手術例)患者・原発性肺癌患者の生存期間延長、他の治療に奏効しなかった頭頸部癌・甲状腺癌に対する有効性などを持つ抗悪性腫瘍剤として使用されている。本製剤の投与は生理食塩水で懸濁溶解して腫瘍内または腫瘍辺縁部に注射する方法が取られている。

筆者らの施設では胃癌のリンパ節転移に対し、OK-432 をリンパ節に局注あるいは周囲組織への局注を行っているが、その際、OK-432 が除放効果を持つように、また、どの程度の範囲に拡がるかをみるためリピオドールとの混合液を作製している。この混合液がエマルジョン化しているか否かを検討したので報告する。

方 法

試薬として OK-432 注(5KE) Lot No. Z1A11 (中外製薬)、リピオドール、ウルトラフルイド(10 ml) Lot No. 91LU036(小玉)、大塚生理食塩水注(20 ml) Lot No. K1C88(大塚製薬)を用いた。エマルジョンの作製は、OK-432 注(5 KE)の凍結乾燥品バイアル2本にそれぞれ生理食塩水 0.5 ml ずつを注入し、十分に混和、懸濁させる。それが完了したあと2本の懸濁液を1本にまとめ、10 KE/1 ml 生食とした。つぎに3方括栓に上記の懸濁液 1 ml を吸った注射筒とリピオドール 3 ml を吸った注射筒2本を接着し、エマルジョンの状態が定常状態に十分に到達できるように30分間の混和、乳化を行った。この乳化したあとに試験管に混合液を移し観察した。

エマルジョンの状態観察は外観から観察される相分離の過程の観察と光学顕微鏡による状態の観察とを施行し、それぞれ写真に収めた。この観察はともに経時的に行い、その観察時間は混合直後、1, 3, 15 時間後、1, 7 日後として、静置の状態ですべて行った。

結 果

経時的变化を示す。

混合直後(図1): 外観の観察では均一な乳白色の状態をとっている。また、顕微鏡下の観察でも

* Third Department of Surgery, Kanagawa Prefectural Cancer Center 神奈川県立がんセンター外科第三科

図1 混合直後、外観と顕微鏡下

図2 混合1時間後、外観と顕微鏡下

エマルジョンの状態をとっていることが観察された。しかし水相の合一がいちじるしく視野に入るだけでも比較的粒子の大きいものが数個/秒という速さで合一することが観察され、このエマルジョンは比較的不安定であると考えられた。

1時間後(図2)：混合直後と同様に外観の観察では均一な乳白色の状態をとっている。また、顕微鏡下の観察でもエマルジョンの状態をとっていることが観察され、水相の合一も観察された。

3時間後(図3)：外観の観察で水相が分離を開始し、2相(エマルジョン保持のリピオドール相と水相)に分離している状態が観察された。また顕微鏡下の観察ではさらに水相の合一も観察された。

15時間後(図4)：外観の観察でリピオドール相からの水相の分離の度合いが進んでいることが明

らかであった。顕微鏡下では、この段階ではリピオドール相のエマルジョン濃度が低下していることも一つの要因となり、目に見えるエマルジョンの合一の度合いも比較的緩和され残留エマルジョンに関していえば安定化傾向にあることが観察された。また、この時点での特徴的な点は外観においていまだ2相(エマルジョン保持のリピオドール相と水相)にわかれていたものが3相にわかれたことである。写真ではわかりにくいので模式図で説明する(図5)。最上相には無色透明な水相、その下に固形相の集合体(OK-432と思われる)、最下相に残留エマルジョンを含有するリピオドール相という状態がみられた。

1日後(図6)：15時間後とほぼ同様の状態にあった。これ以後の変化はリピオドール相中の残

図 3 混合 3 時間後、外観と顕微鏡下

図 4 混合 15 時間後、外観と顕微鏡下

図 5 15 時間後の外観の模式図

留エマルジョンの相分離に主眼がおかれるものと判断した。この残留エマルジョンは既述のごとく比較的安定した状態を保っていることからつぎの

観察を 7 日後とした。

7 日後(図 7)：外観の観察で比較的安定化傾向にあった残留エマルジョンに変化がみられた。つまりリピドール相の下部がリピドール本来の淡黄色透明になってきており、水相、リピドール相の両相が完全分離の方向に向かっていることが観察された。

考 察

近年各種の biological response modifier (BRM) について、DDS の概念を導入した新しい投与の試みが行われており、OK-432 においても中鎖脂肪によるエマルジョンの経口投与^{1,2)}、fibrinogen の混合投与による局所免疫療法に関する検討^{3,4)}などが行われている。また OK-432 の腫

図 6 混合 1 日後、外観と顕微鏡下

図 7 混合 7 日後、外観と顕微鏡下

瘍への局注が有効であるとの報告^{5,6)}もある。

また、油性造影剤であるリピオドールは、その本来の目的とは別に、それ自身が持つ粘性の高さなどから、① 血流阻害作用、すなわちより末梢レベルでの塞栓作用の増大、② 制癌剤の徐放剤、すなわち制癌剤がリピオドールとの懸濁液として腫瘍内に停滞し、徐放効果を発現するといった性質を持ち、その特性を利用した製剤としての使用も行われている。

その一例として、肝臓癌に対する肝動脈塞栓療法があげられる。この方法の治療成績向上のためリピオドールが併用されている⁷⁻⁹⁾。このようにリピオドールをキャリアとして併用した研究が基礎的¹⁰⁻¹⁴⁾にも臨床的^{9,15)}にも行われている。

以上の点に注目して、筆者らは後腹膜リンパ節

転移に対し、OK-432 を局注し、局注した範囲を透視下で知ると同時に徐放性をもたせることを検討している。そこで OK-432 とリピオドールとの混合液の外観と顕微鏡下での相分離の過程とエマルジョンの状態の観察を行った。その結果、混合直後から水相の合一が観察され、3 時間後にはすでに相分離を起こしていることが外観の観察から確認された。またこの系でのエマルジョンにおいては経時的な崩壊が観察された。このことから OK-432 とリピオドールとの混合液を体内に注入する時点ではエマルジョンの状態を保持しており、X線検査でリピオドールが確認された範囲に OK-432 が拡がっていると考えられる。

しかし体内貯留時にその安定性は崩壊することは容易に予想される。したがって、本処方におけ

る OK-432 のエマルジョン製剤としての評価という点では、なお問題が残っていると考えられる。しかし、W/O 型界面活性剤の使用、油相と水相の比重差の軽減、油相と水相の体積比の調整、油相の増粘化などを考慮し、処方改善すれば安定化したエマルジョンの生成が可能となると考えられる。さらに、それによって製剤としての可能性が期待されると考えられた。

文 献

- 1) 藤巻雅夫, 笠木徳三, 田沢賢次・他: BRM (OK-432 medium chain triglyceride-emulsion) の経口投与と肝転移抑制. DDS 4: 276-280, 1989.
- 2) 仁尾義則, 白石隆祐, 戸部隆吉: 腸管の免疫能と BRM 経口投与. DDS 4: 281-289, 1989.
- 3) 門田卓士, 森元秀起, 室谷昌弘・他: OK-432 と fibrinogen の混合投与による大腸癌局所免疫療法の検討. 日外会誌 92: 31-36, 1991.
- 4) 門田卓士, 森元秀起, 室谷昌弘・他: Fibrinogen による OK-432 の抗腫瘍効果増強: 大腸癌局所療法への応用. Biotherapy 5: 289-293, 1991.
- 5) 佐伯俊昭, 国延浩史, 新本 稔・他: OK-432 腫瘍内局注が著効を示した胃がん腹壁再発の 1 例. 癌の臨床 33: 417-420, 1987.
- 6) 上野和寿, 柴田邦隆, 斉藤眞文・他: OK-432 の腫瘍内投与により著効を示した胃癌術後腹壁再発の 1 例. Biotherapy 3: 1640-1643, 1989.
- 7) 中村仁信, 橋本 勉, 田口鉄男・他: Transcatheter oily chemoembolization による切除不能肝細胞癌の治療. 医学のあゆみ 137: 491-492, 1986.
- 8) Ohishi, H., Uchida, H., Yoshimura, H. et al.: Hepatocellular carcinoma detected by iodized oil. Use of anticancer agents. Radiology 154: 25-29, 1985.
- 9) 佐々木洋, 今岡真義, 中森正二・他: 動脈塞栓を併用したリピドール・アドリアマイシン懸濁液動注による肝細胞癌の治療. 日癌治 20: 1357-1365, 1985.
- 10) 加治家芳樹, 小林尚志, 日高 仁・他: 動注用油性抗癌剤 MMC-Oil suspension (MOC) の試作について. 日本医放会誌 44: 624-627, 1984.
- 11) 谷口弘毅, 山口俊晴, 高橋俊雄: 抗癌剤 (5-FU, ADM, MMC) 懸濁油性造影剤リピドールからの薬物徐放性に関する基礎的検討. 癌と化学療法 13: 255-260, 1986.
- 12) 中村仁信, 橋本 勉, 田口鉄男・他: Adriamycin-in-oil Emulsion の安定性に関する検討: 肝動脈塞栓化学療法における意義. 癌と化学療法 13: 3276-3279, 1986.
- 13) 上野雅晴, 若松伸子, 吉松清信・他: アドリアマイシン/リピドールエマルジョンからの薬物放出の制御および放出速度測定に関するコメント. 癌と化学療法 13: 3291-3293, 1986.
- 14) 中村仁信, 橋本 勉, 田口鉄男・他: Adriamycin, Lipiodol, Gelform を用いた肝癌の塞栓化学療法 (Transcatheter oily chemoembolization)-Adriamycin の血中濃度からみた Lipiodol の意義. 癌と化学療法 13: 623-625, 1986.
- 15) 前田 浩, 今野俊光: 油性造影剤をキャリアーとした Tumor Targeting Chemotherapy. 癌と化学療法 12: 773-782, 1985.