S1-12

単離腫瘍灌流実験系を用いた腫瘍内直接注入後の
薬物移行動態解析

○野村 武彦、高倉 喜信、橋田 充
京都大学大学院薬学研究科薬品動態制御学分野

PHARMACOKINETIC ANALYSIS OF DRUG DISPOSITION AFTER
INTRATUMORAL INJECTION IN TISSUE-ISOLATED
TUMOR PERFUSION SYSTEM

Takehiko NOMURA, Yoshinobu TAKAKURA, and Mitsuru HASHIDA
Department of Drug Delivery Research, Graduate School of Pharmaceutical Sciences,
Kyoto University, Kyoto 606-01

【目的】 癌化学療法あるいは遺伝子治療において、薬物の腫瘍内直接投与は腫瘍ターゲティングの有用な方法の一つと考えられるが、注入された薬物の腫瘍内動態に関する情報は極めて乏しい。そこで我々は、腫瘍内のみの薬物動態が評価可能な単離腫瘍灌流実験系を用い、まず抗癌剤や遺伝子医薬品を投与した際の動態について検討した。さらに腫瘍内滞留性を改善するため、抗癌剤に対しては高分子化および微粒子化した場合、また遺伝子医薬品に対しては、カチオン性リポソームをキャリアとして用いた場合の腫瘍内動態に与える影響についても調べ、抗癌剤に代表される低分子に始まり遺伝子のような巨大高分子にいたる薬物の、腫瘍内直接投与後の移行動態に及ぼす分子サイズ、電荷といった物理化学的性質の影響について整理した。

【実験方法】 対象薬物およびキャリアー：低分子抗癌剤として mitomycin C (MMC) を選択し、その高分子化プロドラッグとして MMC-dextran 結合体 (分子量約7万、MMC-Dcat, -Dan) を合成した。微粒子性製剤には、粒子径と電荷の異なる4種の liposome および emulsion を調製した。さらに、遺伝子医薬品としてモデルプラスミド DNA (pCAT) を用い、遺伝子導入用キャリアーである cationic liposome (Lipofectin) との複合体についても検討した。ラット単離腫瘍灌流実験：単離腫瘍標本および灌流実験は、既報¹⁾の方法に従って行った。薬液注入後、静脈側流出液を2時間まで経時的にサンプリングし流出量を定量した。また、灌流中に腫瘍表面から漏出する液をシャーレ上に採取し漏出液中の量と、実験終了時における腫瘍内残存量も併せて

測定した。速度論的腫瘍内動態解析：腫瘍内直接注入後の薬物の静脈側流出曲線を速度論的に解析し、組織内での移行速度を表す各パラメータを誘導した。解析に当たっては、腫瘍組織を大きく2つのコンパートメントに分けたモデル (Fig. 1) を構築し、これに基づいて理論式を得た上で、非線形最小二乗法プログラム MULTI を用い、静脈側流出パターンに対してあてはめを行うことで各パラメータを算出した。

Fig. 1 Pharmacokinetic model for analysis of drug disposition after intratumoral injection.

【結果及び考察】

低分子薬物の高分子化の影響²⁾：MMC 単独では、投与後2時間までに投与量の約80%が静脈側に回収され、腫瘍内残存はほとんど認められなかった。これに対して、MMC-Dを投与した場合、2時間までの腫瘍内滞留性はMMCに比べ有意に向上したことから、高分子化により腫瘍組織側から血管側への移行が抑制されていることが示唆された。また、その割合は、正電荷をもつMMC-Dcatの方がMMC-Danよりも高かったことから、薬物と腫瘍組織との静電的相互作用の関与が示された (Fig. 2)。微粒子性製剤：平均粒子径約85 nmのsmall emulsionでは投与量の約40%、粒子径約120 nmのneutral

liposome では約 10 % 程度の腫瘍内残存量であったのに対し、粒子径約 250 nm の large emulsion では、2 時間後においても約 70 % 近く

Fig. 2 Recovery ratio of various drugs and carriers 2 hr after intratumoral injection into perfused tissue-isolated tumors. Results are expressed as the mean $\pm$ S. E. of at least three experiments. Remaining in the tumor tissue (closed bar), leakage from the tumor surface (grey bar), recovery in venous outflow (hatched bar).

が腫瘍内に滞留した。また、cationic liposome では、粒子径が neutral liposome と同程度にもかかわらず、投与量の約 60 % 近くが腫瘍内に残存した (Fig. 2)。遺伝子医薬品³⁾: pCAT 単独の腫瘍内残存量は投与量の約 50 % であったのに対し、Lipofectin との複合体では約 90 % となり静脈側流出量も僅かであった。これらの結果から、カチオン性リポソームによってプラスミド DNA 自身の腫瘍内滞留性が改善されることが明らかとなった (Fig. 2)。速度論的解析: 以上、

分子 (粒子) サイズや電荷といった物理化学的性質の異なる物質の局所投与後の静脈側流出パターンをモデル解析した結果、数 nm から数百 nm の物質の腫瘍組織側から血管側への移行速度 (k_2) は低分子のそれと大きな違いはなく、電荷の影響も小さいことが示された。これに対し、投与部位から血管近傍への腫瘍組織内移行過程 (k_1) においては、サイズや電荷の影響を大きく受け、特にサイズの増大 (> 250 nm) あるいは正電荷を付与することにより移行が抑制され、腫瘍内滞留性が向上することが明らかとなった (Fig. 3)。

Fig. 3 Effect of size and charge on intratumoral behavior of various drugs and carriers after intratumoral injection into tissue-isolated tumors.

【ABSTRACT】 In cancer therapy, intratumoral injection is an effective way to maximize the action of injected substances at the tumor site, however there is little information on the disposition characteristics of the injected materials after intratumoral injection. To clarify the effect of molecular size and surface charge of various drugs and carriers in the tumor at an organ level, their pharmacokinetic properties after intratumoral injection were studied in the perfusion experiments employing the tissue-isolated tumor preparation. Pharmacokinetic analysis of their venous outflow patterns revealed that alteration of the physicochemical properties of drugs and carriers dominantly changed the rate of transfer from the poorly-perfused region to the well-perfused region, suggesting that this process is the determinant factor which alters the intratumoral behavior of drugs and carriers after direct injection.

【REFERENCES】

- 1) A. Saikawa, T. Nomura, F. Yamashita *et al.* *Pharm. Res.* **13**: 1438-1444 (1996).
- 2) T. Nomura, A. Saikawa, S. Morita *et al.* *J. Control. Rel.* submitted.
- 3) T. Nomura, S. Nakajima, K. Kawabata *et al.* *Cancer Res.* **57**: 2681-2686 (1997).