〔ノ ー ト〕

側鎖結晶性ブロック共重合体を用いた動脈血管塞栓機能を有する 熱レオロジー流体の創製と評価

平井 翔^{*1}・武田 誠^{*2}・新田 哲久^{*3}
中野 涼子^{*1}・関口 博史^{*1}・八尾 滋^{*1,*2,*4}

(受付 2017 年 9 月 1 日・審査終了 2017 年 11 月 2 日)

(早期公開 2017 年 12 月 11 日・DOI:10.1295/koron.2017-0066)

1 緒 言

近年の医療技術の発達によりわが国での肝臓がんによる死亡者数は 2000 年代前半を境に減少傾向に転じているが、依然として年間 3 万人を超えている¹⁾。肝臓がんの治療法としては、肝切除やラジオ波焼灼療法、肝移植などがあるが、これらの手法は身体への負担が大きいの課題である。そこで近年では、患者の心身の負担の軽減を目的とした低侵襲性治療が盛んに検討されている。中でも、カテーテルを用いて腫瘍に繋がる動脈に抗がん剤を注入し、血管塞栓剤で塞いで抗がん剤を局所的にかつ長期間患部へ残存させるとともに、動脈を詰まらせて血液を途絶えさせることによりがんを壊死させる肝動脈化学塞栓療法 (transcatheter arterial chemoembolization: TACE) が有用な治療法として注目を集めており、現在

積極的に施術されている。Table 1 はすでに保険適応されている塞栓剤の特徴をまとめたものであるが、塞栓剤にはゼラチンを主材料とするもの²⁾、ビーズを用いた球状塞栓物質³⁾、金属コイル⁴⁾や NBCA (n-butyl-2-cyanoacrylate)⁵⁾ などがある。とくにゼラチンを主材料とするものは安価で毒性も低いことから、塞栓剤が利用されるようになった初期から使用されている。しかし、ゼラチンは 2 週間程度で分解し体内に吸収される特徴を有しているため塞栓効果が短時間で消失し、短期間に何度も手術する必要が生じてしまうという欠点をもっている⁶⁾。また、ゼラチン自体が X 線で観察することができないために、目的の部位を確実に塞栓できたかどうかの確認が難しい点も課題である。他の塞栓剤も Table 1 に示すように、コスト面や安全面に課題が残されていることから、より安全で有用な塞栓剤の開発が望まれている。

一方、筆者らはポリエチレン (Polyethylene: PE) 微粒子分散系に対して側鎖結晶性ブロック共重合体 (Side Chain Crystalline Block Copolymer: SCCBC) を添加することにより、低温では低粘度流体、高温では固化する熱レオロジー流体 (Thermal Rheological Fluid: TR 流体) 効果が発現することを明らかにしてきた^{7)~9)}。SCCBC は長鎖アルカン鎖をもつ部位と溶媒親和性などの機能性を示す部位からなるブロック共重合体であり、長鎖アルカン鎖部位が PE と結晶化超分子間力により吸着し、その効果により機能性部位がブラシのように PE 表面を覆うために、PE 表面の特性を自在に改質することが可能である。したがって、機能性部位に親溶媒性の置換基を導入することにより、PE 微粒子が溶媒に非常に濡れやすくなるために、PE 微粒子分散系の分散剤として有意に作用し、粘度を大幅に低下させることが可能となる。一方温度が上昇すると、長鎖アルカン鎖部位の結晶化超分子間力が消失するために、SCCBC が PE 表面から離脱

^{*1} 福岡大学機能・構造マテリアル研究所 (〒814-0180 福岡市城南区七隈八丁目 19-1)

^{*2} 福岡大学大学院工学研究科 (〒814-0180 福岡市城南区七隈八丁目 19-1)

^{*3} 滋賀医科大学医学部放射線科 (〒520-2192 大津市瀬田月輪町)

^{*4} 福岡大学工学部 (〒814-0180 福岡市城南区七隈八丁目 19-1)

Table 1. Properties of various embolic materials

Embolitic agent	Depth control	Duration term	Confirmation under X-ray fluoroscopy	Onset time as embolic agent	Price	Safety
Gelatin	Yes	Limited	No	Medium-long	Low	Medium-high
Spherical embolic material	Yes	Permanent	No	Medium-long	High	Medium-high
Metal coil	Yes	Permanent	Yes	Short	High	Medium
NBCA	No	Permanent	Yes	Very short	Low	Medium-low
TR fluid (This work)	Yes	Permanent	Yes	Short	Low	High

し、濡れ性が再び悪化するために粘度が増加する温度依存性の粘度変化 (TR) を示す。この TR 流体を利用すれば、液体状態で体内に注入後、体温で固化する新規な塞栓剤を、安価な PE 微粒子を使用することで作製することが可能となる。またその際、造影剤を分散溶媒として用いれば、カテーテルでの注入時に X 線で塞栓剤の所在を確認することができ、目的の部位のみを安全かつ永久に塞栓できると考えられる。そこで本研究では、TR 流体を用いた肝臓がん治療の新規な動脈血管塞栓剤を開発の検討と、さらに多くの症例への適用を目指した種々の造影剤の展開を図った。

2 実 験

2.1 試薬

SCCBC の重合に用いるモノマーには、アクリル酸ステアリル [東京化成工業 (株) 製]、アクリル酸 2-(2-エトキシエトキシ)エチル (Aldrich 社製) を使用した。リビングラジカル重合の開始剤としては BlocBuilder®MA (Alkema 社製) を用いた。重合時の溶媒や重合した SCCBC の再沈殿用溶媒、試料作成時の溶媒に用いた酢酸ブチル、イソプロピルアルコール、エタノールは [和光純薬工業 (株) 製] を使用した。

2.2 重合

窒素置換したセパラブルフラスコにアクリル酸ステアリル (5.0 g, 15.4 mmol)、酢酸ブチル (5.7 mL)、BlocBuilder®MA (0.38 g, 1.0 mmol) を加えた。その後、110°C に昇温しておいた湯浴に移し、毎分 90 回転で 1 日加熱かくはんさせた。1 日後、あらかじめ脱気しておいたアクリル酸 2-(2-エトキシエトキシ)エチル (5.0 g, 26.6 mmol) の酢酸ブチル (5.7 mL) 溶液を加え、110°C で 1 日加熱かくはんを行った。所定時間後、空气中に暴露させ、反応温度を急冷させることにより重合を停止させた。この重合物をイソプロピルアルコールに溶解させ、水による沈殿精製を 3 回行い、真空乾燥を行った。またモノマーを変更する際に採取した試料およびこの SCCBC の分子量をゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) により測定した。今回この GPC 測定には ECOSEC HLC-8320GPC [東ソー (株) 製] を使用した。その結果、アクリル酸ステアリル部位の重量平均分子量 (Mw) が

5,000 g/mol、アクリル酸 2-(2-エトキシエトキシ)エチル部位の重量平均分子量 (Mw) が 7,000 g/mol、全 SCCBC の分子量分布 (Mw/Mn) が 1.3 のブロック共重合体を白色粉末として得た。

2.3 TR 流体の作製

PE 微粒子は Ceridust®3620 を用い、溶媒として造影剤のイオメロン 350 とエタノールを用いた。それぞれの混合比は PE : イオメロン : エタノール = 35 : 40 : 25 の重量比で調製した。SCCBC は PE 粒子に対して 2 wt% 添加して TR 流体を作製した。

2.4 粘度測定

作成した TR 流体の粘度のせん断速度および温度依存性の測定にはコーンプレート型で溶媒蒸発を防ぐトラップ機能付きレオメーター Rheosol-G2000W [UBM (株) 製] を用いた。測定条件として定常流粘性測定では 0.01~100 (sec⁻¹) のせん断速度域で測定した。

2.5 接触角測定

各種造影剤と PE との親和性を評価するため、DropMaster DM-301 [協和界面化学 (株) 製] を使用し、接触角測定を行った。接触角測定はそれぞれのフィルムで 5 回ずつ行い、得られた結果の平均値を算出した。

2.6 腎動脈塞栓術

作成した TR 流体の塞栓機能を確認するための動物実験には、日本白色ウサギ 12 羽を使用した。右大腿動脈に 4Fr ショートシースを留置後、4Fr コブラ型カテーテルで左腎動脈を選択した。TR 流体が腎動脈起始部に鬱滞するまで注入し、6 羽を塞栓 7 日後に、残り 6 羽を 28 日後に再度左腎動脈を造影し塞栓効果を確認した。

3 結果と考察

3.1 極性溶媒中での TR 流体効果の確認

TR 流体を X 線透視下でも確認するためには、本塞栓剤において極性溶媒である造影剤を PE 微粒子分散溶媒として使用することが望まれる。しかしこれまでの研究では非極性溶媒のみで検討していたことから¹⁰⁾、まず TR 流体効果が極性溶媒中でも発現するか検討した。Figure 1 には定常流粘度測定の結果を示す。Figure 1(a) に示すように、通常の PE 微粒子は極性溶媒である造影剤には分散することができず凝集してしまい、いずれの

Figure 1. Temperature and shear rate dependence of shear viscosity: (a) without SCCBC. (b) 2 wt% SCCBC.

Figure 2. Temperature dependence of steady shear viscosity at 0.05 sec^{-1} .

せん断速度域でも高い粘度を示した。実際、この流体をカテーテルを用いて注入を試みたが、固いために極めて困難であった。一方、ポリエチレン微粒子に対して 2 wt% の SCCBC を添加した系では、Figure 1(b) で示すように、低温では PE 微粒子が造影剤中でも分散され、低粘度液体となった。これは SCCBC を添加することにより、PE 表面に側鎖結晶部位が結晶化超分子間力で疑似結晶を形成することにより吸着し、粒子表面が親水性部位で覆われるために、PE 微粒子が極性溶媒中でも良好に分散されたためと考えられる。またこの PE 微粒子分散系を昇温させると、粘度の増加が観測された。これは高温で疑似結晶が融解するに従い SCCBC が PE 微粒子表面から離脱し、溶媒親和性を失って微粒子どうしが凝集したために粘度が急激に上昇したと考えられる。以上の結果から、TR 流体効果は極性溶媒中でも発現することが明らかになった。また、Figure 2 にはせん断速度が $0.05 \text{ [s}^{-1}]$ の粘度と温度依存性についてプロットした

図を示す。この図から、 40°C 付近が転移温度であることがわかった。この温度は、体内に注入することを考えれば、注入後体温により粘度が大きく増加するため、塞栓剤として良好に使用できることが示唆された。

3.2 ウサギに対しての腎動脈塞栓術の結果

ウサギの肝動脈は 1 mm 以下とカテーテルが挿入しづらいだけでなく、その際に起こる攣縮のため塞栓物質がうまく注入できない。一方、腎動脈は 3 mm と比較的太く、腎臓は 2 つあるためウサギが死ぬことなく長期に経過観察ができる。したがって、動物愛護の面からも塞栓の実験には腎動脈が一般的に使用されている^{11)~13)}。本研究においても、作製した TR 流体がカテーテルを用いて目標とする血管部位のみに注入でき、さらに体温により固化後塞栓効果がどの程度持続するかを、ウサギの腎動脈への塞栓実験を行うことにより検討した。Figure 3 にはウサギの腎臓に対して TR 流体を注入する前後での造影結果を示す。Figure 3(a) が塞栓前、Figure 3(b) が塞栓直後の画像である。カテーテルから注入した TR 流体は透視下で視認可能であり的確に標的部位のみを塞栓することに成功した。さらに Figure 3(c) には塞栓してから 28 日経過した造影図を示しているが、本塞栓は 4 週間経過しても塞栓状態が良好に保持されていることが明らかになった。以上の結果から、TR 流体を利用した塞栓剤は従来では困難だった X 線透視下においても塞栓剤を確認しながら注入することが可能であり、また長期間の塞栓機能を保持することがわかった。

3.3 種々の造影剤との親和性の評価

造影剤は観察部位や検査手法により種々のものが使用されていることから、筆者らが開発した塞栓剤が他の種造影剤でも適応できるのか検討した。造影剤には X 線検査によく使用される水溶性の非イオン性ヨード造影剤を用いた。そしてこの造影剤と PE フィルムにお

Figure 3. Application results for transcatheter arterial chemoembolization: (a) before injection. (b) just after injection. (c) after 28 days.

Figure 4. Results of contact angle measurements: (a) original PE film-Ioverin350 (sample 1). (b) SCCBC modified PE film-Ioverin350 (sample 2).

Table 2. Contact angle between contrast medium and original PE film and SCCBC modified PE film

Sample	Contrast medium	Surface of PE film ^{a)}	Contact angle (degree)
1	Ioverin350	O-PE	89.8
2	Ioverin350	SCCBC-PE	68.6
3	Ioverin300	O-PE	84.9
4	Ioverin300	SCCBC-PE	76.6
5	Iomeron350	O-PE	91.3
6	Iomeron350	SCCBC-PE	73.7
7	Optiray320	O-PE	90.8
8	Optiray320	SCCBC-PE	68.8
9	Bystage	O-PE	85.5
10	Bystage	SCCBC-PE	67.8

^{a)} O-PE: original PE film, SCCBC-PE: SCCBC modified PE film.

ける接触角を測定することにより、各種造影剤とPEとの親和性を評価した。Figure 4にはイオベリン350とPEとの接触角測定の結果を示す。Figure 4(a)が非改質、Figure 4(b)がSCCBCを表面修飾させたPEフィルムであり、PEフィルムを改質することにより造影剤に対しての親和性が向上していることがわかった。同様にほかの造影剤に対して接触角の結果をまとめたものをTable 2に示す。これらの結果から、PEフィルムをSCCBCにより表面改質することによりいずれの造影剤に対しても親和性を向上させることに成功し、種々の造影剤でもTR流体を用いた塞栓剤の作製が可能であると考えられる。

4 結 論

本研究では、側鎖結晶性ブロック共重合体を用いて作成したTR流体が種々の造影剤中でも効率よく機能が発現し、新規な血管塞栓剤として利用できることが明らかとなった。現時点ではSCCBCの構造や分子量がTR流体効果に及ぼす影響や、転移温度で塞栓剤の粘度が上昇する時間、さらにはTR流体の安全性について基礎的な検討を行っている段階である。今後、注入後すぐさま塞栓が可能なるものから腫瘍内部の血管まで浸透して塞栓するような増粘時間がコントロールされたTR流体の創製や、TR流体への抗がん剤徐放性の付与、さらには子宮筋腫や動脈瘤など他の血管塞栓術、消化管出血や外傷性出血をはじめとした各種止血術への適応を図る。

文 献

- 1) 日本肝臓学会編, “肝がん白書平成27年度”, 日本肝臓学会 (2015).
- 2) R. Yamada, M. Sato, M. Kawabata, H. Nakatsuka, K. Nakamura, and S. Takashima, *Radiology*, **148**, 397 (1983).
- 3) J. Lammer, K. Malagari, T. Vogl, F. Pilleul, A. Denys, A. Watkinson, M. Pitton, G. Sergeant, T. Pfammatter, S. Terraz, Y. Benhamou, Y. Avajon, T. Gruenberger, M. Pomoni, H. Langenberger, M. Schuchmann, J. Dumortier, C. Mueller, P. Chevallier, and R. Lencioni, *Cardiovasc. Interventional Radiology*, **33**, 41 (2010).

- 4) C. Gianturco, J. H. Anderson, and S. Wallace, *Am. J. Roentgenol.*, **124**, 428 (1975).
- 5) H. J. Jae, J. W. Chung, A. Y. Jung, W. Lee, and J. H. Park, *Korean J. Radiology*, **8**, 48 (2007).
- 6) 平松京一, 内田日出夫, “IVR-放射線診断技術の治療的応用”, 金原出版, 東京 (1994).
- 7) R. Nakano, H. Sekiguchi, and S. Yao, *Macromol. Symp.*, **349**, 44 (2015).
- 8) S. Yao, M. Sakurai, H. Sekiguchi, H. Otsubo, T. Uto, Y. Yamachika, W. Ishino, S. Ichikawa, and D. Tatsumi, *Nihon Reorogi Gakkaishi*, **41**, 7 (2013).
- 9) S. Yao and S. Ichikawa, *Nihon Reorogi Gakkaishi*, **39**, 181 (2011).
- 10) S. Yao, *Kobunshi Ronbunshu*, **73**, 139 (2016).
- 11) X. Shi, H. Gao, F. Dai, X. Feng, and W. Liu, *Biomater. Sci.*, **4**, 1673 (2016).
- 12) Q. V. Nguyen, M. S. Lee, J. S. Lym, Y. I. Kim, H. J. Jae, and D. S. Lee, *J. Mater. Chem. B*, **4**, 6524 (2016).
- 13) S. Ohta, N. Nitta, M. Takahashi, K. Murata, and Y. Tabata, *Korean J. Radiology*, **8**, 418 (2007).

[Notes]

Novel Thermal Rheological Fluid with Arterial Embolic Function, Using Side Chain Crystalline Block Copolymer

Sho HIRAI^{*1}, Makoto TAKEDA^{*2}, Norihisa NITTA^{*3}, Ryoko NAKANO^{*1}, Hiroshi SEKIGUCHI^{*1}, and Sigeru YAO^{*1,*2,*4}

^{*1}*Institute for the Creation of Functional and Structural Materials, Fukuoka University (8-19-1 Nakamura, Jonan-ku, Fukuoka 814-0180, Japan)*

^{*2}*Graduate School of Energy and Environmental Systems Engineering, Fukuoka University (8-19-1 Nakamura, Jonan-ku, Fukuoka 814-0180, Japan)*

^{*3}*Department of Radiology, Shiga University of Medicinal Science (Seta Tsukinowa-cho, Otsu, 520-2192, Japan)*

^{*4}*Faculty of Engineering, Department of Chemical Engineering, Fukuoka University (8-19-1 Nakamura, Jonan-ku, Fukuoka 814-0180, Japan)*

We polymerized a hydrophilic side chain crystalline block copolymer (SCCBC) by nitroxide-mediated living radical polymerization. The polymerized SCCBC changed the surface of polyethylene (PE) to hydrophilic and enabled dispersing PE particles in a polar solution. In addition, the PE particle suspension behaved as thermal rheological fluid (TR fluid). By using the SCCBC, PE particle and contrast medium (as a solution), we prepared a new functional TR fluid as an artery embolization agent. This new functional TR fluid showed a transition temperature near the body temperature and changed to solid. Furthermore, this TR fluid could be injected into the renal artery of a rabbit under X-ray fluoroscopy and sustained embolization for 28 days. This result indicates that the TR fluid could be used as embolic or hemostatic agent.

KEY WORDS Thermal Rheological Fluid / Side Chain Crystalline Block Copolymer / Living Polymerization / Embolic Agent /

(Received September 1, 2017; Accepted November 2, 2017; Advance Publication December 11, 2017)

[*Kobunshi Ronbunshu*, **75**, 75—79 (2018)]

©2018, The Society of Polymer Science, Japan