中性子捕捉療法のためのガドリニウム キャリアーに関する製剤学的研究

宮本 雅仁

Masahito MIYAMOTO

1. 研究を始めた動機

近年、がん治療は早期発見及び治療技術の進歩に伴い、腫瘍を取り除く延命治療だけでなく、治療後の quality of life (QOL) の向上が重要視されるようになってきた。中性子捕捉療法 (NCT) は、非放射性元素である放射線増感剤と生体外照射した生体障害性の低い熱中性子が核反応 (中性子捕捉反応: NCR) を起こした結果、放出される放射線で治療を行うがん放射線療法である。NCT の最大の特徴は NCR により飛程 10~数 100 μm の放射線を放出するため、放射線の照射範囲を細胞レベルで制御可能な事である。従って、放射線障害を最小限にとどめると共に QOL 向上に有効である。すでに臨床応用されているホウ素 (B-10) を増感剤に用いたホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) の場合、飛程が細胞直径 (約 10 μm) に等しい α 線により腫瘍細胞を殺傷するため、B-10 を腫瘍細胞内に送達することが課題となる。一方、ガドリニウム (Gd-157) を増感剤に用いたガドリニウム中性子捕捉療法 (GdNCT) では、NCR により飛程 100 μm 以上の γ 線等を放出するため、Gd が腫瘍組織内に存在しても熱中性子照射により腫瘍細胞殺傷効果が期待できる。

2. 研究遂行上感じたこと

本研究は、細胞外に存在する Gd の NCT による腫

瘍細胞殺傷効果を証明することから研究が始まった。研究を遂行する過程において、Gd 誘導体合成と有機合成化学、マイクロカプセル (MC) とリピッドエマルジョン (LE) 調製と製剤化技術、さらには担癌動物を用いた体内動態評価と幅広い分野の知識と技術が必要とされた。広範囲に及ぶ研究課題に着手することに初め少なからぬ不安があったが、振り返ってみれば良い経験であったと思う。

3. 研究の主な成果

腹水癌 (V79) 細胞を用いた *in vitro* 試験より、GdNCT で治療効果を獲得するためには約 100ppm の腫瘍内 Gd-157 濃度が必要であると報告されていた。本研究では *in vivo* での腫瘍細胞殺傷効果を証明すると共に、100ppm の腫瘍内 Gd 濃度を達成するべく、気中懸濁被覆法 (ワースター法) による Gd のリザーバー型 MC 化製剤及び体循環經由腫瘍に Gd を蓄積させるための LE 製剤の開発について検討した。

3.1 *In vivo* 評価用高吸水性 Gd-DTPA-DM 含有マイクロカプセルの調製

腫瘍細胞近傍の Gd が NCR を起こしても腫瘍細胞殺傷効果が得られることを *in vivo* で証明するため、製剤投与後熱中性子照射終了まで Gd を MC 中に保持可能な製剤の調製を検討した。MRI 造影剤ガドペンテ酸ジメグルミン (Gd-DTPA-DM) を芯乳糖結晶 (53-63 μm) に固定後、Ethyl Cellulose-Cholesterol (1:1) 膜で溶出制御した。吸湿性が強い Gd-DTPA-DM 粒子を大量被覆したため造粒粒子の発生は避けられなかったが、最終製品の平均粒子径は 126 μm であった。HPLC を用いたカラム法による溶出試験の結果、110℃で30分加熱処理した MC (75-106 μm) からの Gd-DTPA-DM の積算溶出率は20分で9.3%に抑制できた。動物実験に要する時間が約20分であることから、90%以上のGdは試験中MC内に保持されていたと推察される。本MCとEhrlich

2000年4月26日受付

神戸薬科大学製剤学研究室

(〒658-8558 神戸市東灘区本山北町4-19-1) TEL 078-441-7531

< 著者紹介 >

1992年3月神戸学院大学薬学部卒業、1994年3月神戸学院大学大学院薬学研究科修士課程修了、1994年4月神戸学院大学大学院食品薬品総合科学研究科博士後期課程入学、1999年9月博士後期課程修了、1999年12月神戸薬科大学製剤学研究室博士研究員、博士(薬学)。
専門：製剤学、粉体工学。

Table 1 Pharmacokinetic Parameters after Intraperitoneal Injection of Standard-Gd-DTPA-SA and High-Gd-DTPA-SA Emulsions

Emulsions	Particle size (nm)	Dose (mg Gd/kg)	AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$)	MRT (h)	Vd_{ss} (ml/kg)	Cl_{tot} (l/(h/kg))	T/B ratio		T/Sk ratio		Sk/B ratio	
							24h	48h	24h	48h	24h	48h
Standard-Gd Plain	249.8 $\pm$ 36.0	30	503 $\pm$ 57	26.6 $\pm$ 2.7	1.6 $\pm$ 0.2	60.3 $\pm$ 7.3	1.9	2.9	3.5	3.4	0.5	0.9
Standard-Gd HCO-60	77.6 $\pm$ 6.5	30	2286 $\pm$ 395	15.2 $\pm$ 0.7	0.2 $\pm$ 0.04	13.5 $\pm$ 2.2	1.5	21.4	6.2	5.2	0.3	4.1
Standard-Gd Brij 700	76.4 $\pm$ 1.1	30	4332 $\pm$ 396	22.3 $\pm$ 0.6	0.2 $\pm$ 0.02	7.0 $\pm$ 0.7	0.4	2.8	8.3	6.1	0.05	0.5
High-Gd HCO-60	84.2 $\pm$ 11.3	60	4971 $\pm$ 976	16.0 $\pm$ 0.5	0.2 $\pm$ 0.04	12.5 $\pm$ 2.5	1.2	13.2	9.8	5.6	0.1	2.4

Data are shown by mean $\pm$ S.D. ($n=3-9$).

Fig. 1 Biodistribution of Gd-DTPA-SA Emulsions after Intraperitoneal Injection
 Symbols : □, standard-Gd plain emulsion ; △, standard-Gd Brij 700 emulsion ;
 ○, standard-Gd HCO-60 emulsion ; ●, high-Gd HCO-60 emulsion. D_1-179
 melanoma-bearing hamsters were used. Dose : 2.0ml (3.0mg Gd for the
 standard-Gd formulation and 6.0mg Gd for high-Gd formulation)/hamster.
 Data are represented as the average $\pm$ S.D. of 3-6 hamsters.

腹水癌細胞を腹腔内に同時投与し、熱中性子を照射した群のマウスは、コントロール群と比べて優位な延命効果が観察され、秋根らにより報告された。この結果より、GdNCTでは腫瘍細胞近傍に存在するGdに熱中性子を照射しても、理論通り細胞殺傷効果が得られることが明らかとなった。

3.2 Gdリザーバー型マイクロカプセルの調製

Gdを腫瘍組織内に長期間とどめることができれば、腫瘍消失まで複数回熱中性子照射を行う治療スケジュールを確立できる。本治療法実現のため、Gdを数週間～数ヶ月間保持できるGdリザーバーMCの調製を検討した。芯粒子には比重2.93の重質炭酸カルシウム(20-30 μm)、Gdソースにはガドペンテ酸(Gd-DTPA)及びGd-DTPAにステアリルアミンを導入した誘導体ガドペンテ酸ジステアリルアミド(Gd-DTPA-SA)を用いた。乳化重合法により合成したアクリル系3元共重合体ラテックス中、溶出傾向が低い9:9:4ポリ(アクリル酸エチル/メタクリル酸メチル/メタクリル酸2-ヒドロキシエチル)を溶

出抑止膜とした。Gdソースに関係無く粒度分布幅が狭く、平均粒子径が約50 μm のMCが調製できた。日本薬局方のパドル法に従い等張リン酸緩衝液(pH 7.4)中で溶出試験を行った結果、水溶性Gd-DTPAの溶出は、浸透圧による膜破壊のため約3時間で完了した。一方、水不溶性Gd-DTPA-SAを用いることで、平均粒子径が52 μm 、Gd-DTPA-SA含量が38%、Gd漏出率が60日で0.2%以下のGdリザーバーMCが調製できた。

3.3 Gd含有エマルジョンの調製とその体内動態評価

Gdを腫瘍組織に体循環経路で集積させ腫瘍内Gd濃度100ppmを達成するため、粒子径100nm以下でGd含量の高いLE製剤の調製を検討した。さらに腹腔内投与後の体内動態を悪性黒色腫細胞(D_1-179)担癌ハムスターを用いて検討した。大豆油、水素添加卵黄ホスファチジルコリン(HEPC)とGd-DTPA-SAの3成分を基本処方とし、薄膜法と水浴式超音波法を組み合わせ、LEを調製した。大豆油、水、HEPC、

Gd-DTPA-SA の重量比が7.36:92:2:1の基本処方 (Plain LE) に補助界面活性剤 (co-surfactant) として静脈内投与可能な HCO-60 あるいはポリオキシエチレン 100-ステアリルエーテル (Brij 700) を補助界面活性剤重量比 (co-surfactant / HEPC + Gd-DTPA-SA) 0.67 以上添加することで、粒子径を100 nm 以下に減少できた (Table 1)。さらに HCO-60 の場合、HEPC と Gd-DTPA-SA の重量比を基本 (標準 Gd) 処方の2:1 から高 Gd 処方の1:2 へ Gd 含量を高めても粒子径は78.7nm とどまった (Table 1)。標準 Gd 含量 HCO-60 および Brij 700 LE 投与群の血中、腫瘍内 Gd 濃度は Plain LE 投与群より有意に高く、Brij 700 LE 投与群では高い血中 Gd 濃度が長期にわたり維持された (Fig. 1)。高 Gd 含量 HCO-60 LE 投与群で、腫瘍内 Gd 濃度 107ppm と目標の腫瘍内 Gd 濃度が達成できた。この結果は、本 LE を用いることで *in vivo* で抗腫瘍効果が期待できることを示唆するものである。

4. 研究を終えて

本研究では、Gd-DTPA-DM MC を用いた *in vivo* 試験より、腫瘍細胞近傍のみに存在する Gd が NCR を起こしても腫瘍細胞殺傷効果が得られることを明らかにした。この知見を基に、Gd リザーバー MC と Gd 含有 LE 製剤の開発を試みた。これら Gd 製剤を用いることで、GdNCT の *in vivo* での抗腫瘍効果 (特に固形癌における)、さらに臨床応用へつながることが期待される。

最後に本研究を遂行するにあたり、終始暖かい激励と示唆に富む討議を通してご指導下さいました神戸学院大学・薬学部福森義信教授並びに市川秀喜助手、また本研究を始める機会を与えて下さいました、筑波大学臨床医学系秋根康之教授 (元国立がんセンター中央病院放射線科) に深く感謝の意を表します。

(学位取得は1999年9月、神戸学院大学)

四分法原稿

募 集 中

会誌がお手元に届くと、まず「四分法」という方が多いようです。
この人気ある四分法に気軽にご投稿されませんか！
文字数 500 ～ 550 字以内で、内容はできるかぎり“粉”に関連したものが望ましいのですが、限定はいたしません。
ご投稿を心よりお待ちしております。