

過酸化水素水を用いた、放射線によるマイクロカプセル破裂促進と、酸素効果による抗腫瘍効果増強

原田 聡、江原 茂、世良耕一郎¹、石井慶造²、斉藤義弘³

岩手医科大学医学部放射線医学講座

020-8505 岩手県盛岡市内丸 19-1

¹岩手医科大学サイクロtronセンター

020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

²東北大学工学部量子工学専攻

980-8578 仙台市青葉区荒巻字青葉

³日本アイソトープ協会仁科記念サイクロtronセンター (NMCC)

020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

1 はじめに

我々は放射線により抗がん剤を放出するマイクロカプセルの開発を試みてきた^{1,2}。同マイクロカプセルを放射線治療時に使用することにより、1) 放射線と放出された抗がん剤との相乗効果、2) 薬剤限局化作用による抗がん剤副作用の軽減、の2点が可能となる。これまで、放射線によるマイクロカプセルの薬剤放出としては、1) 放射線によるヒアルロン酸の分解、2) Fe^{2+} から Fe^{3+} 変化時の、アルギン酸のシート状重合から、立体的重合の変化、の2点を利用してきた。一方、過酸化水素水に放射線を照射すると酸素を発生することが知られているが、もし、マイクロカプセル内に過酸化水素水を封入して、放射線を照射すれば、照射時にカプセル内から酸素が発生し、内圧が高まることにより、カプセルがより効果的に破裂する可能性が考えられた。今回、我々は、これまでのカプセルに過酸化水素水を封入し、放射線によるカプセル破裂が促進するか否かを検討した。

2 材料、および方法

2.1 マイクロカプセル作成

ヒアルロン酸 0.1g, アルギン酸 0.2g を蒸留水 4cc、3%過酸化水素水 4cc に溶解し、カルボプラチン注射液 (白金系抗癌剤カルボプラチン 1mg/ml) 2cc を添加後、 $CaCl_2$ 0.1 mol+ $FeCl_2$ 0.1mol 中に噴霧した。重合液に含まれる Ca と Fe を Nalgene disposable filter kit (8-0301-84 DP591) を使用して THAM buffer により 3 回洗浄することにより、マイクロカプセル浮遊液を作成した。カプセル浮遊液に対して、放射線を 0.5Gy から 3.0Gy、0.5Gy 間隔で線量を増加しながら、softex MV 100 を用いて照射した。照射後、光学的顕微鏡下にて、その破裂率を、マイクロカプセル全体数に対する、破裂したマイクロカプセル数の

百分率であらわした。

2.2 動物実験

Meth-A-firrosarcoma 細胞百万個を左下腿に移植、12x7mm 大になった時点で、実験に使用した。上記2.1で作成したマイクロカプセル6百万個を腫瘍周囲皮下組織に注入した。 ^{60}Co γ 線を10、20Gy照射した後、腫瘍内カルボプラチン量を、PIXEによるPt量により、抗腫瘍効果増強を腫瘍径測定により、副作用の強さを、10%以上の体重減少、体毛の毛羽立ち、死により判定した。比較対照群は、カルボプラチン含有マイクロカプセル6百万個と同じ腫瘍内濃度を呈した、500 μg のカルボプラチンを0.1ml中に溶解し、皮下注射を施行した。

3 結果

3.1. マイクロカプセル (図-1) :

作成されたマイクロカプセルを図1-Aに、放射線照射後のマイクロカプセルを図1-Bに示す。マイクロカプセルの径は $23.4 \pm 7.8 \mu\text{m}$ であり、加算加水疎水添加による有意なサイズの変化は見られなかった。照射前は、マイクロカプセルの表面は平滑で円形を示しているが、照射後、マイクロカプセルの辺縁は不整となり、内部のコアは不明瞭化した。この形態変化を呈したカプセルを破裂したカプセルと定義した。

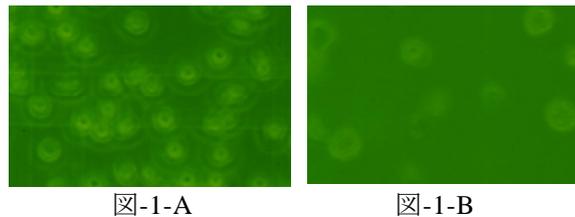


図-1 : マイクロカプセルの光学顕微鏡画像。
A:照射前、B: 照射後

3.2 過酸化水素水による裂の促進 (図-2) :

過酸化水素水添加による、放射線照射線量に対するマイクロカプセル破裂率の影響を図-2に示す。照射線量1.5 Gy以下では、過酸化水素水添加による有意な上昇は見られなかったが、照射線量2.0以上では、過酸化水素水添加によるマイクロカプセル破裂率は有意に上昇した。

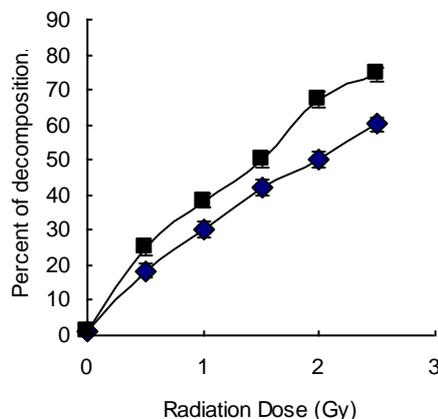


図-2 過酸化水素水添加によるマイクロカプセル破裂の変化：
(■) 過酸化水素水添加、(◆) 過酸化水素水無し

3.3 過酸化水素水添加による腫瘍内カルボプラチン量の変化 (図-3) :

上記マイクロカプセル 6 百万個を腫瘍表面に皮下注射し、照射後の腫瘍内カルボプラチン量を PIXE 法により測定、その変化を観察した。過酸化水素水添加により、有意な腫瘍内カルボプラチン濃度としての白金濃度上昇が、各照射線量において認められた。

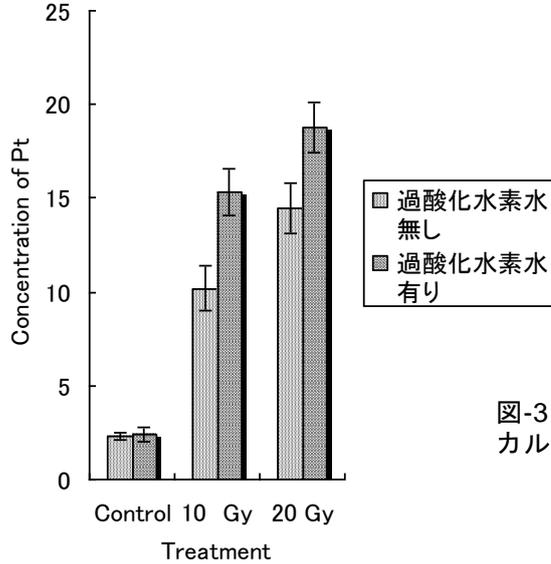


図-3 過酸化水添加による腫瘍内カルボプラチン量の変化

3.4 抗腫瘍効果増強 (図-4) :

腫瘍径測定による抗腫瘍効果の変化を図-4 に示す。放射線が照射されていない群では、過酸化水素水による抗腫瘍効果増強は認められなかったが、放射線が照射された群において、過酸化水素水による抗腫瘍効果が、過酸化水素水単独と、カルボプラチン併用群において認められた。

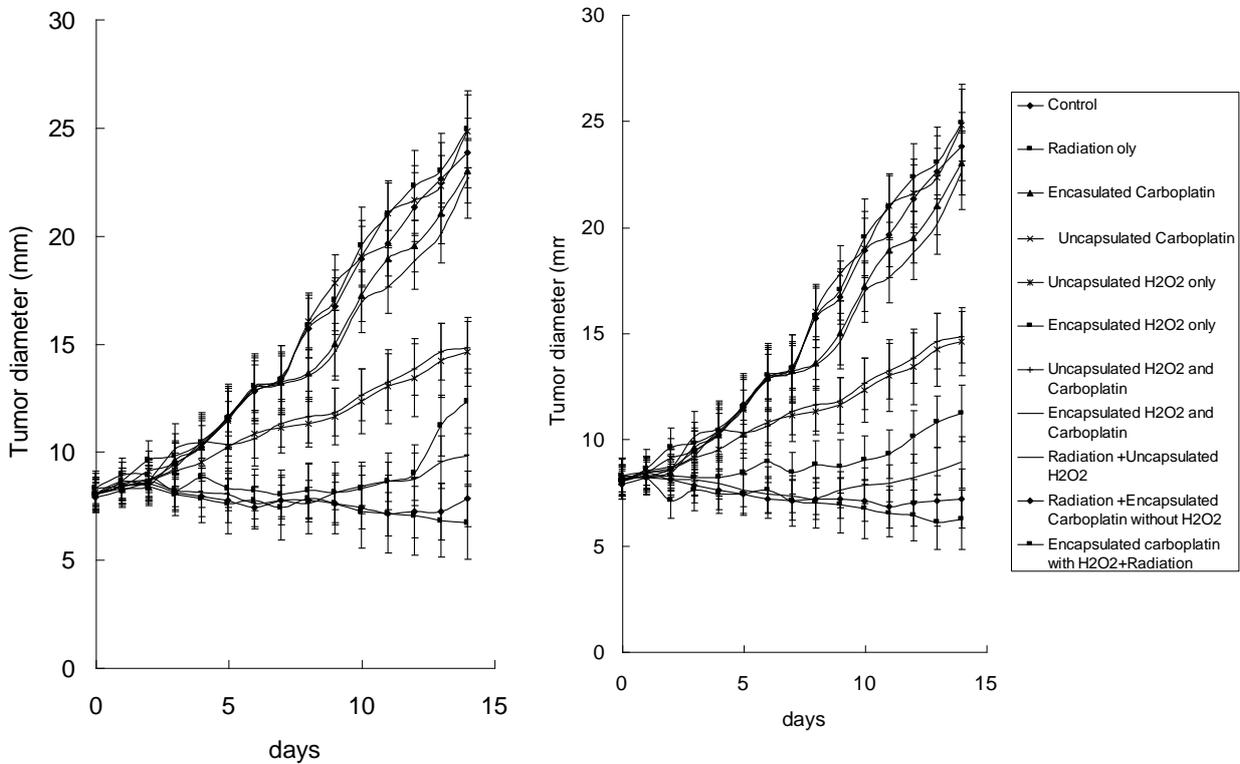


図-4 抗腫瘍効果

最も大きな抗腫瘍効果を示したのは、過酸化水素を混入したマイクロカプセルに、カルボプラチンを封入し、腫瘍周囲に皮下注射後、照射 20Gy を加えた群であった。その抗腫瘍効果は、カプセル化しなかった、過酸化水素水、カルボプラチン、放射線照射 20Gy の 3 者併用よりも効果が持続した。

3.5 副作用軽減 (表-1):

副作用の強さを、マウスの毛羽立ち (Fuzzy hair), 体重減少 (Body Weight Loss), 死亡 (Death) の 3 つのパラメーターを使用して測定した。カプセル化を行わなかったカルボプラチン投与群では、マウスの毛羽立ちが全例、体重減少が 5~8 匹に認められ、3~4 匹のマウスが治療により死亡したが、カプセル化によって、マウスの毛羽立ちと体重減少は著明に抑制され、特にマウスの固体死に関しては、完全に抑制された。また、過酸化水素水添加による副作用の変化は認められなかった。

表-1: 各処置と副作用

Treatment	Radiation Dose	Adverse Effect		
		Fuzzy hair	Body Weight Loss	Death
Control		10	5	2
Radiation only				
	10 Gy	0	0	0
	20 Gy	0	0	0
Encapsulated Carboplatin		4	1	0
Uncapsulated Carboplatin		10	5	2
Uncapsulated H ₂ O ₂ only		0	0	0
Encapsulated H ₂ O ₂ only		0	0	0
Uncapsulated H ₂ O ₂ and Carboplatin		10	6	3
Encapsulated H ₂ O ₂ and Carboplatin		4	1	1
Radiation +Uncapsulated H ₂ O ₂	10 Gy	0	0	0
	20 Gy	0	0	0
Radiation + Uncapsulated Carboplatin without H ₂ O ₂				
	10 Gy	5	1	0
	20 Gy	4	2	0
Radiation +Uncapsulated Carboplatin without H ₂ O ₂				
	10 Gy	10	7	3
	20 Gy	10	8	3
Radiation +Uncapsulated Carboplatin without H ₂ O ₂				
	10 Gy	10	8	3
	20 Gy	10	8	4
RadiationEncapsulated carboplatin with H ₂ O ₂				
	10 Gy	3	2	0
	20 Gy	4	2	0

4 考察

がん患者の高齢化と共に、抗がん剤治療に対する副作用に耐えられず、治療中止となり、結果的にがん患者の寿命が短くなるケースが多くなって来ている。本研究は、放射線治療と抗がん剤の相乗効果による抗腫瘍効果増強とともに、このような副作用による治療中止による、がん患者の短命化を防ぐために考案された。今回は、過酸化水素水が放射線照射により酸素を発生することを利用して、放射線照射時の内圧を高め、カプセルの破裂を促進することを考えた。過酸化水素水添加によりカプセル破裂は増加したが、抗腫瘍効果はわずかに増強したのにとどまり、有意な差はでなかった。今後、マイクロカプセルを改良し、破裂率の上昇が、抗腫瘍効果に結びつく工夫が必要と考えられる。また、現時点でのマイクロカプセルでは、皮下注射により、腫瘍表面にマイクロカプセルを注入する投与方法をとっているた

め、体表の皮下組織に発生した腫瘍のみが治療対象となっている。深部臓器に出来た癌に治療対象を広げるため、体内への注入に移行する必要があるが、そのために、カプセルサイズの検討、カプセル素材の毒性の検討が必要と思われる。

参考文献

- 1) Harada S, Ehara S, Ishii K, Yamazaki H, *et al.* *Nucl Instrum Methods B* **260** (1) (2007) 164.
- 2). Harada S, Ehara S, Ishii K, *et al.*. *Int J PIXE* **17** (2007) 33.

Antitumor effect of radiosensitive microcapsules under subcutaneous injection

S. Harada, S. Ehara, K. Sera¹, K Ishii² and Y. Saitoh³

Department of Radiology, Iwate Medical University
Morioka, Iwate, 020-8505, Japan.

¹Cyclotron Research Center, Iwate Medical University
348-1 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

²Department of Quantum Science and Energy Engineering, Tohoku University
Sendai, Miyagi, 980-8579 Japan.

³Nishina Memorial Cyclotron Center (NMCC), Japan Radioisotope Association
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

Abstract

Since 2004, we reported the use of liquid-core microcapsules for anticancer drug targeting. However, rupturing of microcapsules via radiation was lower than we expected. The more efficient rupturing of microcapsules by radiation was needed. In this study, we tested whether radiation-induced O₂ from H₂O₂ facilitate the rupturing of microcapsules, or not.

The capsules were generated by spraying a mixture of 2.0% hyaluronic acid, 2.0% alginate, supplemented with 0.2 mmol carboplatin and 3 % H₂O₂ on mixture of 0.5 mol/L CaCl₂ and FeCl₂. Resulting microcapsules were irradiated by ⁶⁰Co γ ray at doses ranging from 0.5 to 2.5Gy. The released carboplatin was detected and quantified by particle-induced X-ray emission.

The antitumor effect was measured by growth delay. The strength of adverse effect was measured basing on fuzzy hair, loss of body weight and death.

The radiation-induced O₂ from H₂O₂ significantly increased rupturing of microcapsules. Those increased the intratumoral concentration and antitumor effect of carboplatin; however they were not significant.

Our microcapsules should be more improved to increase radiation-induced rupturing.