

## 放射線照射による標的治療法の開発 (定量値を主体として)

原田 聡<sup>\*1</sup>、江原 茂<sup>\*1</sup>、世良耕一郎<sup>\*2</sup>、二ツ川章二<sup>\*3</sup>、伊藤じゅん<sup>\*4</sup>

<sup>\*1</sup>岩手医科大学放射線医学講座

020-8505 岩手県盛岡市内丸 19-1

<sup>\*2</sup>岩手医科大大学サイクロトンセンター

020-0173 岩手県滝沢村滝沢字留が森 348-58

<sup>\*3</sup>日本アイソトープ協会アイソトープ部

113-8491 東京都文京区本駒込 2-28-45

<sup>\*4</sup>日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトンセンター

020-0173 岩手県滝沢村滝沢字留が森 348-58

### 1 はじめに

放射線癌治療機の発展により、IMRT 等により、放射線を腫瘍部に集中させて照射する事が可能となって来ている。もし、1) 放射線により、薬剤取り込みが促進されたり<sup>1,2,3)</sup>、2) 放射線により、内様薬を放出するカプセル<sup>4,5)</sup>が開発されれば、薬剤を照射範囲内に限局する事ができ、副作用の軽減が期待できる。今回、我々は、白金系抗がん剤カルボプラチンに対し、1) 放射線による取り込み促進があるか否かを検討した。また、ヒアルロン酸が放射線により、その構造を容易に変化させる事<sup>4)</sup>、アルギン酸がカルシウム重合により、カプセルを形成しえる事<sup>5)</sup>を利用し、ヒアルロン酸とアルギン酸からなるカプセルを作成、カルボプラチンを封入し、その放射線による溶出を研究したので報告する。

### 2 材料と方法

#### 2.1 放射線照射によるカルボプラチンの細胞内取り込み促進に関して

10%子牛血清、25mMOL/LHEPES を添加した RPMI 1640 倍池中の人白病細胞 OCI/M2 に対し、カルボプラチン 4 $\mu$ g/ml を添加、1 時間後に<sup>60</sup>Co  $\gamma$ 線 0.5Gy、あるいは 2Gy を照射した。照射後 3、6、9、12、24 時間後に細胞を 1000rpm/5min の遠心にて採取、0.1mMOL THAM にて 3 回洗浄後、細胞数を計測、細胞を百万個/20 $\mu$ l となる様に細胞数を調整した。作成した細胞浮遊液に、硝酸銀水溶液を、細胞百万個あたりの銀含有量が 0.5 $\mu$ g となる様に硝酸銀水溶液を添加、マイラー膜上に滴下、自然乾燥後に PIXE 用のターゲットとした。カルボプラチンの細胞内への取り込みは、細胞中の白金を計測、定量する事により観察した。

#### 2.2 放射線可溶性マイクカプセルについて

乳鉢中で、アルギン酸 0.2 % (W/V)、ヒアルロン酸 0.3% (W/V)を混和後、アルギン酸 0.2 mMOL を添加し、マイ

クロアトマイザーを用いて、0.34 mMOL/l の CaCl<sub>2</sub> 中に噴霧しマイクロカプセルを作成した。マイクロカプセルを百万個を採取、0.1 mMOL THAM 10ml 中に浮遊し、<sup>60</sup>Co γ線 2、5、あるいは 10Gy を照射した。照射後、3、6、9、12、24 時間後に、光学的顕微鏡観察により、その崩壊率を測定した。放射線照射後の溶出率に関しては、PIXE を用いて、白金動態を観察し、照射前のカプセルの白金含有量、照射後、5、10、20 分後のカプセル外液と残存したカプセル内の白金量を算出し、その溶出率を測定した。

### 3 結果

#### 3.1 放射線照射によるカルボプラチンの細胞内取り込み促進に関して

放射線照射後のカルボプラチン動態を図-1 に示す。0.5 Gy 照射とカルボプラチン併用時では、照射 9 時間後から、2 Gy 照射とカルボプラチン併用時では照射 12 時間後から、コントロールとしての、カルボプラチン投与のみの群に比べ、有意な上昇が認められた。各処置群ともに、細胞内カルボプラチンのピークは照射 12 時間後に認められたが、0.5 Gy 照射とカルボプラチン併用時、2 Gy 照射とカルボプラチン併用時の間には、有意な差は指摘できなかった。

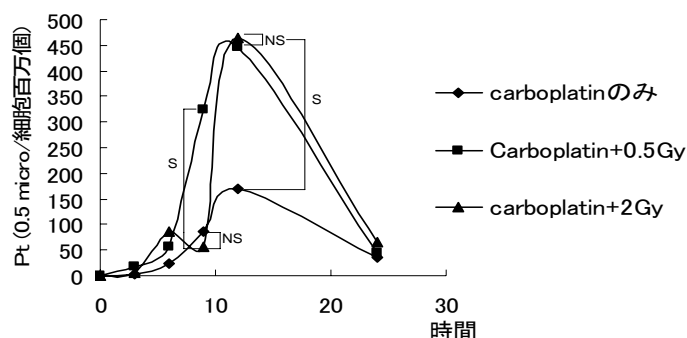


図-1 放射線照射によるカルボプラチンの取り込み増強

照射 12 時間後に認められたが、0.5 Gy 照射とカルボプラチン併用時、2 Gy 照射とカルボプラチン併用時の間には、有意な差は指摘できなかった。

#### 3.2 放射線可溶性マイクロカプセルについて

放射線可溶性カプセル (照射前) を図-2A、B に示す。

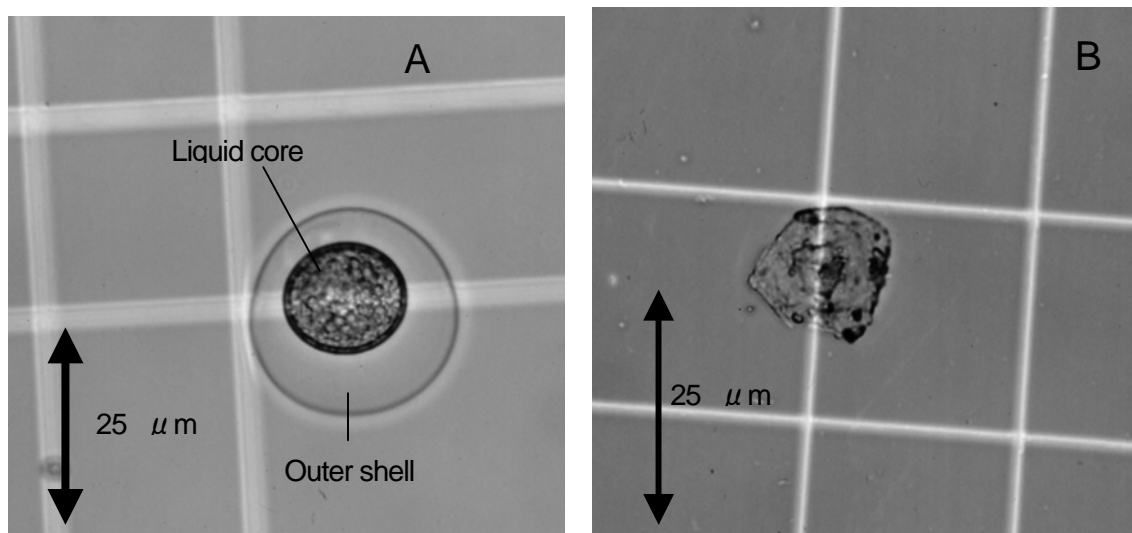


図-2 マイクロカプセル

A: 照射前のマイクロカプセル

B: 照射後、溶解せずに残存したカプセル

カプセルは円形を呈し、その内部に液体のコアが認められた。カプセルの直径は  $23.4 \pm 2.3 \mu\text{m}$  (平均±標準偏差)、コアの径は  $13.4 \pm 2.4 \mu\text{m}$  であった。照射後、カプセルは照射線量依存に溶解した。照射30分後では、2Gyで73.2%、5Gyで64.3%、10Gyでは56.4%のカプセルが残存し(図-3)、2-5Gy間、5-10Gy間では有意差が認められなかったが、2-10Gy間では有意差が認められた。その後の経時的観察点における変化は認められなかった。残存したカプセルには、壁不整、内部コアの縮小が認められ、内容物の放出が示唆された。PIXEによる、内部カルボプラチンの放出は照射3分後から有意に上昇、照射10分後以降では、2-5Gy間、5-10Gy間では有意差が認められなかったが、2-10Gy間では有意差が認められた(図-4)。

#### 4 考察

現在まで、多種類の抗がん剤が開発され、実用化に至っている。白金系抗がん剤は抗がん剤でも主役を担う薬剤として使用されて来たが、腎毒性等の副作用の多さから患者に多くの負担

をかけ、薬剤投与量の上限がそれに基いて決定されている<sup>1)</sup>。したがって、化学療法剤を腫瘍に限局化すれば、患者副作用の軽減のみならず、抗がん剤投与量を増加させる事が可能になり、抗がん剤の効果増強につながる。一方、放射線も癌治療の一つの大きな柱であり、白金系抗がん剤とは相乗効果を示す事が知られている。もし、放射線により白金系抗がん剤の薬剤分布を限局化できれば、限局化された白金系抗がん剤と放射線による相乗効果も期待でき、さらなる抗がん作用の増強効果が期待できる。本研究は、放射線による薬剤取り込み促進<sup>2)</sup>、放射線により溶解、あるいは内容を放出するマイクロカプセル<sup>4)</sup>による薬剤分布限局化が可能か否かを IN VITRO の段階で研究した。結果、放射線照射により、白金系抗がん剤、カルボプラチンの薬剤取り込み促進、放射線照射によるマイクロカプセルからの白金系抗がん剤、カルボプラチンの放出が認められた。これにより、放射線による、白金系抗がん剤、カルボプラチンの限局化が可能な事が示唆された。今後、IN VIVO における研究に発展されるつもりである。

#### 参考文献

- 1) Loehera, P. J. et al. 100 (1984)713-716.
- 2) Seiko Ishid et. al. PNAS 99 (22) (2002)14298-14302.
- 3) Yakovlev AG. et.al. Nucleic Acids Research 27(9) (1999) 1999-2005.
- 4) Molteni A. et al. Advances in Experimental Medicine & Biology 258 (1989) 273-85.
- 5) A. Wyss et al. Biotech. Bioenge. 87(6) (2004) 734-742.

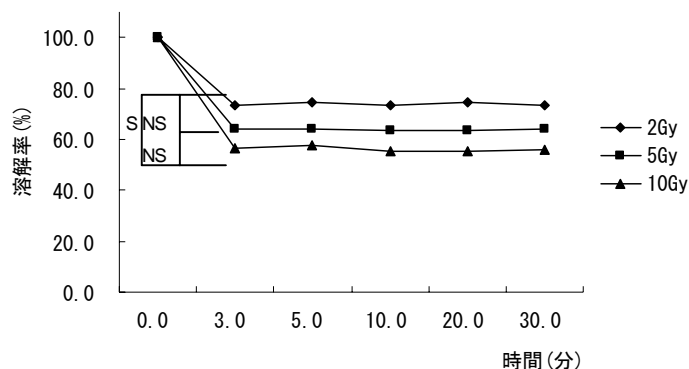


図-3 放射線照射後残存したカプセルの割合

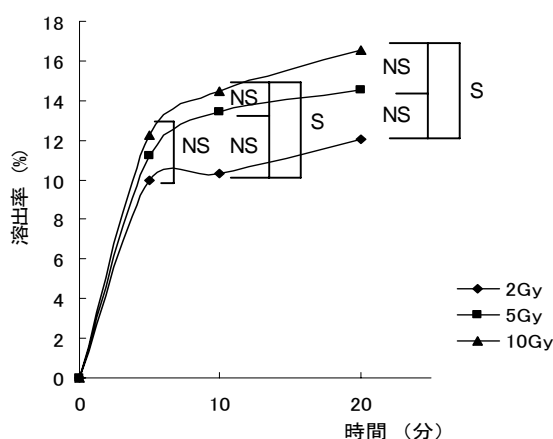


図-4 カプセルからのカルボプラチン放出量