

徐放性抗癌剤（リポソーム化シスプラチン）の 食虫目スunksにおける体内動態

安藤禎紀¹、杉山育美²、佐塚泰之²、森弓里子¹、細川貴子³、後藤祥子³、世良耕一郎⁴、
藤村 朗¹

¹岩手医科大学解剖学講座機能形態学分野
028-3694 岩手県紫波郡矢巾町西徳田 2-1-1

²岩手医科大学薬学部創剤学講座
028-3694 岩手県紫波郡矢巾町大字西徳田 2-1-1

³日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトンセンター
020-0603 岩手県滝沢市留が森 348-58

⁴岩手医科大学サイクロトンセンター
020-0603 岩手県滝沢市留が森 348-58

1 はじめに

我々は過去にマウスを用いて徐放性抗癌剤の投与経路としてのリンパ管応用を体内動態の観点から検索し、その結果をすでに本報告集に記載してきた¹⁻⁸。本研究の目的は腫瘍周囲に直接抗癌剤を投与することで投与量全体を減らし、その結果として副作用が発症しないこと、しかも領域リンパ節に転移したがん細胞をも叩くことができることを証明することにあった。しかしながら、マウスでの検索では投与量を減らしたからと言って副作用が起きないことは証明できていなかった。あくまで推測にすぎなかった。そこで今回我々は抗癌剤として使用しているシスプラチン（白金製剤）投与により副作用として嘔吐反応を示すことが証明されているスunksを用いて、過去のマウスでの結果を検証することとした。

2 実験方法

実験動物には岡山理科大学より譲り受けたスunksを岩手医科大学動物実験センター内で飼育繁殖しているものを用いた。

実験に用いた抗癌剤はヒトの体内には自然界において 100%存在しない白金を含む製剤シスプラチン（日

本化薬株式会社より提供。以下、CDDP)を0.5mg/ml(生食水)に溶かし、右側舌辺縁部筋肉内に直接注入する群と、CDDPをリポソーム化(徐放製剤化)したものを同じく右側舌辺縁部筋肉内に直接注入する群を各3匹ずつ計6匹に対して行った。

作成したCDDP注入液の白金含有量はそれぞれPIXEにより計測した。その平均は生殖に溶かしたものは314.7 µg/ml、リポソーム化したものは316.1 µg/mlであった。ともに白金量に差がなかったため、それぞれの溶液10 µl(白金量としては3 µg)を右側舌辺縁部の筋肉内に吸入麻酔下で注射した。1時間後にCO₂により屠殺した。舌および領域リンパ節である左右の顎下リンパ節を採取し、ただちに乾熱乾燥(120°C、24時間)し、舌は硝酸灰化法により、顎下リンパ節は世良等による無標準法によりPIXEにて白金量を測定した。

3 結果

作成したCDDP溶液およびリポソーム化CDDP液のPIXEによる測定結果を示す(図1)。白金含有量はそれぞれ300 µg/mlであり、5回の測定でほとんど誤差は出なかった。

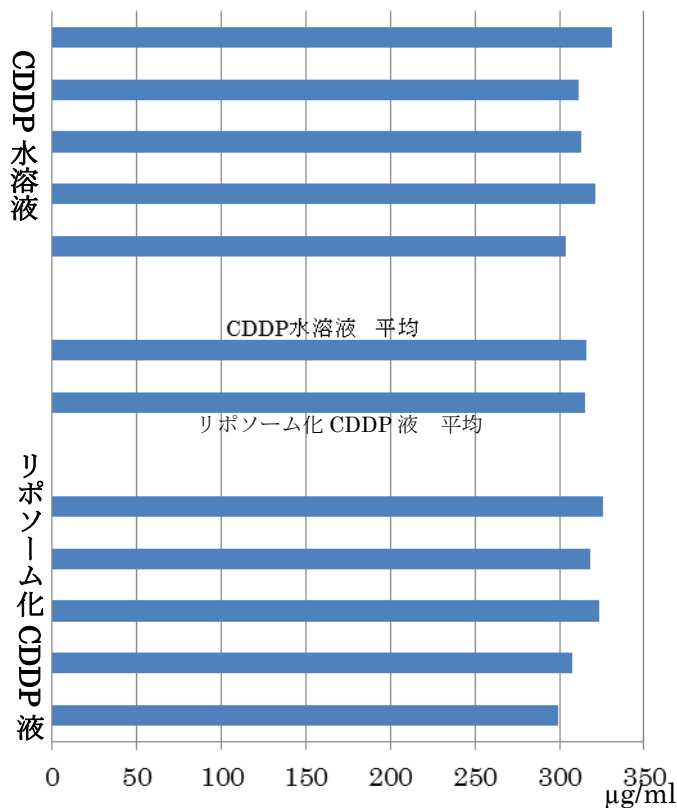


図1 CDDP溶液およびリポソーム化CDDP液の白金含有量

この白金含有量の2種類のCDDPを右側舌辺縁部に注射後1時間で屠殺し、舌と顎下リンパ節の測定をPIXEにて行った。その結果を示す(図2)。2種類のCDDP溶液を右側舌辺縁部に注射した結果はばらつきが非常に大きく、平均値を取っての統計処理は不可能であったため、全データを示す。いずれのデータもマウスの時の結果と大きく変わるところはなく、また、ウサギの結果から我々の研究の基準としている組織1g

あたり 4 μg の CDDP(=2.6 μg 白金)を超えた量が組織に移行到達していることから徐放化 CDDP の局所直接投与は注射局所に加えて、注射部位の領域リンパ節への抗癌剤の移行が明らかとなった。

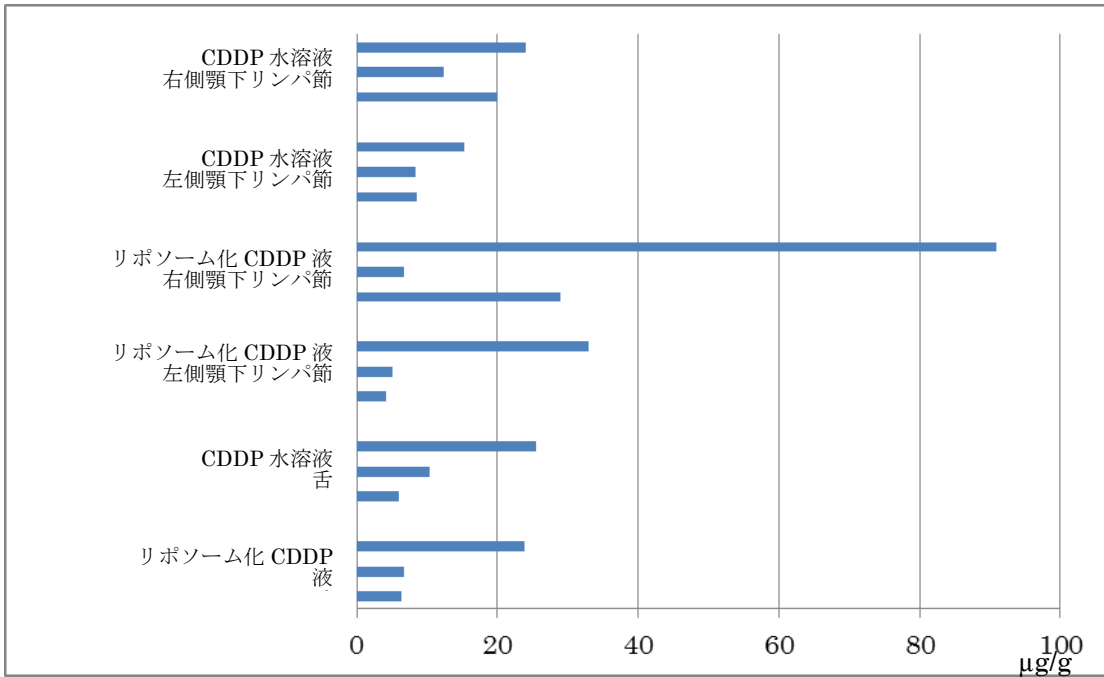


図 2 顎下リンパ節内と舌における白金量

4 考察

我々は過去にマウスを用いて舌に直接投与した白金製剤である CDDP の体内動態として、舌から領域リンパ節である顎下リンパ節への移行および移行量を PIXE を用いて検索し、さらに投与回数を減らすための方策として薬剤の徐放化に着手し、その製剤化を目指して、濃度、投与量を検索してきた。本投与方法の目的は投与薬剤量の少量化による副作用の抑制にある。しかしながら、マウスでの検索は副作用の発症を抑制できたかどうかの判定はできなかった。そこで我々は CDDP 投与により、嘔吐反応を示すunks に注目した。

実験動物は岡山理科大学理学部動物学科動物種・保全学研究室城ヶ原貴通先生（平成 22 年当時は織田銑一先生）より譲り受け、岩手医科大学実験動物センターにて飼育繁殖しているものを使用している。飼育条件は室温 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、じゃ香腺による臭い対策も含めて全新鮮空気による換気回数は 10–15 回/時、照明時間は 12 時間サイクルで 8–20 時である。実験に用いたunks (NAG) は体重が 50–70g、妊娠期間は 30 日、平均産仔数は 3 匹、哺育期間は 20 日である。

マウス、ラット、モルモットなどは嘔吐を起ささない。肉食動物として用いられているのはネコ、イヌ、フェレットであるが、ネコ、イヌは学習能力が高いため、嘔吐条件がそろえば、制吐薬を使っても嘔吐するといわれているため、一般的にはフェレットが使われている。フェレットの場合、シスプラチン 5 mg/kg では嘔吐しないが、7 mg/kg で 66%、10 mg/kg で 100%が嘔吐または嘔吐反応が認められるという⁹。嘔吐反応に関する実験動物として様々な動物が用いられているが、unks での報告は 10 mg/kg で 5 匹中 2 匹が、20 mg/kg で 5 匹中 5 匹が嘔吐を引き起こしたことが報告されている¹⁰。5 mg/kg では嘔吐のそぶりも見られないとされている。予備実験では我々が CDDP 投与量の基準としている 4 mg/kg では嘔吐反応は認められな

かった。文献と同様で 10-20 mg/kg で嘔吐反応を示した。この濃度は全身に対する抗癌作用を示す濃度の 2.5-5 倍量となる。一方、スunksにおける PIXE 計測の結果は白金量が 10-20 $\mu\text{g/g}$ が領域リンパ節に到達しており、この量は CDDP に換算すると 6-13 mg/kg となり、全身投与であれば嘔吐反応が出る量であるが、実際には全身に対しての量はスunks 1 匹に 3 μg の CDDP である。すなわち、3 $\mu\text{g}/50\text{g}$ (=60 $\mu\text{g}/\text{kg}$) である。この量は副作用を引き起こす量ではないが、局所においては抗癌作用を示すに十分な量となっていることが明らかである。ただし、過去のマウスにしても、今回のスunksにしてもデータのばらつきが大きく、統計処理をするには無理がある。その理由は動物の種に関係なく、リンパ節の構造にあるものと推測している。ゴールドンハムスターのリンパ節での研究で、リンパはリンパ節に輸入リンパ管から入り、輸出リンパ管から出ていくが、流入したリンパがリンパ節を出るまでに 30 分以上のタイムラグの可能性が示唆されている¹¹⁾。このタイムラグを統一させることは現時点では無理であるが、将来的には統一させてリンパ流量の計測を行いたいと考えている。

参考文献

- 1) 藤村 朗、小野寺政雄、野坂洋一郎、斎藤恒夫、太田敏博、世良耕一郎、二ツ川章二：薬剤輸送経路としてのリンパ管の利用, NMCC 共同利用研究成果報文集 11 : 231-234, 2003
- 2) 藤村 朗、小野寺政雄、野坂洋一郎、太田敏博、齊藤恒夫、二ツ川章二、世良耕一郎：薬剤輸送経路としてのリンパ管の検証, NMCC 共同利用研究成果報文集 12 : 51-57, 2004
- 3) 藤村 朗、佐藤 大、庄司美樹子、西村智尚、小野寺政雄、伊藤じゅん、世良耕一郎、野坂洋一郎：頬粘膜下リンパ管の薬剤吸収能—バツカル錠を想定して—, NMCC 共同利用研究成果報文集 13 :71-76, 2005
- 4) 藤村 朗、野坂洋一郎、世良耕一郎：頬粘膜下および口蓋粘膜経由の抗癌剤投与リンパ管の薬剤吸収能, NMCC 共同利用研究成果報文集 14 :150-154, 2006-2007
- 5) 藤村 朗、古城慎太郎、香木千尋、安藤禎紀、小野寺政雄、野坂洋一郎、高橋千衣子、後藤祥子、世良耕一郎：生体からの PIXE 試料採取法の改善, NMCC 共同利用研究成果報文集 15 :172-177, 2008
- 6) 藤村 朗、安藤禎紀、鍵谷忠慶、杉山育美、佐塚泰之、高橋千衣子、後藤祥子、世良耕一郎：リポソーム化抗癌剤の動態, NMCC 共同利用研究成果報文集 16 :218-224, 2009
- 7) 藤村 朗、安藤禎紀、鍵谷忠慶、杉山育美、佐塚泰之、高橋千衣子、後藤祥子、世良耕一郎：改良型徐放製剤（リポソーム化抗癌剤）の体内動態, NMCC 共同利用研究成果報文集 17 :126-131, 2010
- 8) 安藤禎紀、藤村 朗、杉山育美、佐塚泰之、高橋千衣子、後藤祥子、世良耕一郎：外郭改良型徐放製剤（リポソーム化抗癌剤）の動態, NMCC 共同利用研究成果報文集 18 :205-210, 2011
- 9) Endo, T., Minami, M., Monma, Y., Yoshioka, M., Saitoh, H., Kinami, j., Toshimitsu, Y. and Parvez, H.: Emesis-related biochemical and histopathological changes induced by cisplatin in the ferret., J Toxicol Sci., 15: 235-244, 1990
- 10) Mutoh, M., Imanishi, H., Torii, Y., Tamura, M., Saito, H., Matsuki, N.: Cisplatin-induced emesis in Suncus Murinus. Japan J. Pharmacol. 58: 321-324, 1992
- 11) 謝 雪峻、藤村 朗：舌のリンパ管による巨大分子クリアランスに関する研究 岩手歯誌、25(3) : 273-282, 2000

Dynamics of the release anti-tumor agent (liposomal cisplatin) - Suncus murinus -

Y. Ando¹, I. Sugiyama², Y. Sadzuka², Y. Mori¹, T. Hosokawa³, S. Goto³, K. Sera⁴ and
A. Fujimura¹

¹Division of Functional Morphology, Department of Anatomy, Iwate Medical University
2-1-1 Nishitokuta, Yahaba, Iwate 028-3694, Japan

²Department of Advanced Pharmaceutics, School of Pharmacy, Iwate Medical University
2-1-1 Nishitokuta, Yahaba-cho, Shiwa-gun, Iwate 028-3694, Japan

³Takizawa Institute, Japan Radioisotope Association
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0603, Japan

⁴Cyclotron Research Center, Iwate Medical University
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0603, Japan

Abstract

Previously, we searched for the lymphatic applicability as the route of administration of a controlled-release anti-tumor drug using a mouse. The purpose of this research reduced the whole dosage by administering directly anticancer drug around the tumor, as a result, it was to prove that a side effect doesn't appear and moreover that it was also able to effect the metastasis cancer cell into a regional lymph node. However, even though the dose was reduced, it couldn't be proved that a side effect doesn't occur in a mouse. We inspected a result by a mouse in the past and got a result like a mouse using the Suncus murinus by which it's proved to indicate a vomit reaction as a side effect by the Cisplatin which is being used as an anti-tumor drug this time. Moreover, the dosage without causing vomiting in the body, and the enough amount which also indicates anti-tumor action in the local site was detected.