



Title	化学塞栓材料としてのアルギン酸ゲルビーズの開発-第1報-
Author(s)	岸, 和史; 園村, 哲郎; 西田, 典史 他
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1995, 55(5), p. 230-304
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/19926
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

化学塞栓材料としてのアルギン酸ゲルビーズの開発 — 第1報 —

岸 和史^{1),2)} 園村 哲郎¹⁾ 西田 典史¹⁾ 佐藤 守男¹⁾
山田 龍作¹⁾ 山本 隆³⁾ 村田 克巳³⁾

1) 和歌山県立医科大学放射線医学教室 2) 済生会和歌山病院放射線科 3) 株式会社紀文フードケミファ

Alginate Gel Beads for Chemoembolization : Initial Report

Kazushi Kishi^{1),2)}, Tetsuo Sonomura¹⁾,
Norihumi Nishida¹⁾, Morio Satoh¹⁾, Ryusaku Yamada¹⁾,
Takashi Yamamoto³⁾ and Katsumi Murata³⁾

Alginate gel beads (AGB) were studied as a new material for chemoembolization therapy. AGB were quickly produced by dripping a sodium alginate solution through a cannula into a calcium chloride solution, with bead size controlled by cannular size. AGB containing adriamycin or contrast medium were produced from the corresponding mixture. Sixty percent of adriamycin was eluted from AGB within one hour and 90% within 24 hours, while 95% of iopamidol was eluted in 30 minutes. AGB released these contents slower than gelatin sponge particles. Four dogs underwent transcatheter hepatic arterial embolization with AGB. Normal daily activity was recorded until sacrifice on the fourteenth day. There was no hepatic infarction in those embolized with AGB of 0.5 to 1.0 mm in diameter. Partial liver infarction was found in one with compelled embolization and in two with fragile beads. These observations suggested that AGB constitute an instantly preparable embolic material with slow-release activity and flexible solidity.

Research Code No. : 514.9

Key words : Alginate gel beads, Hepatic artery embolization, Elution test, Drug delivery

Received Oct. 4, 1993 ; revision accepted Apr. 27, 1994

1) Department of Radiology, Wakayama Medical College/2) Department of Radiology, Saiseikai Wakayama Hospital/3) Kibun Food-chemifa Co., LTD

はじめに

化学塞栓療法¹⁾における抗腫瘍効果は腫瘍栄養動脈の阻血と塞栓物質に含まれた抗癌剤の両方が関与すると考えられている^{2),3)}。阻血効果は塞栓物質の性状と大きさに影響され^{3),4)}、また抗癌剤の作用は塞栓物質の徐放性や薬剤の状態に影響される⁴⁾⁻⁶⁾。実用的には塞栓物質に薬剤を含有させる方法や粒形の調節法は迅速簡便であることが望ましく、塞栓物質の薬剤徐放性は drug delivery の観点から重要である。アルギン酸水溶液⁷⁾はカルシウム溶液等に滴下すると架橋により直ちにゲル化する。溶液濃度や滴下条件でゲル強度や粒径が調節できる⁸⁾。この性質を利用し薬剤を含むアルギン酸溶液で希望する大きさのゲルビーズを作成できる。そこで薬剤の含有や粒形の調節法が簡便である徐放性のある化学塞栓物質としてアルギン酸ゲルビーズを検討した。

材料と方法

1. アルギン酸ゲルビーズの作成

Sodium alginate (Pronova BLVG, Protan Biopolymers, Drammen Norway ; viscosity 39 cps at 1% solution) 100mg を生理食塩水 6ml, イオパミロン 370mgI/ml (以下 IOP ; Iopamidol, Schering 社) 6ml, Adriamycin ; 以下 ADR (アドリアマイシン, 協和発酵) 10mg を溶解し、空中から 23G 注射針を通して 0.25M の CaCl₂ 溶液中に滴下してゲルビーズを作成した。得られたビーズを直に取り出しアルミステップを傍らに置き 45kv, 200mA で X 線撮影した。ついで上記溶液と Lipiodol 10 : 1 の白濁混合液を作成し同様に 22, 23 および 26G 注射針で滴下してできた粒子を比べた。滴下後 10 秒でゲル化液から上げ、よく水洗し架橋形成時間を短くしたものを軟らかいビーズとして作成して調べた。

2. 薬剤溶出試験

まず IOP と ADR の吸光スペクトルを分光光度計 (Ubest-30 型, 日本分光社) で観察し検量線を作成した。ついで 1ml 当たり IOP 0.5ml, または ADR を 0.167mg 含む 1% アルギン水溶液を作成した。(i) それらの溶液 2ml を 0.25M の CaCl_2 水溶液 60ml 中に 23G 針で滴下しそのまま薬剤の経時的溶出を観察した。(ii) それらの溶液 2ml をそれぞれ 0.25M, 0.10M, または 0.05M の CaCl_2 水溶液 60ml 中に滴下しそのまま溶出を見た。(iii) それらの溶液 2ml を 0.5M の CaCl_2 水溶液 2ml 中に滴下し得たゲルビーズを速やかに回収し生理食塩水 60ml 中に分散させ 120 stroke/min. の震盪下に溶出を見た。(iv) absorbable gelatin sponge (スポンゼル, 山の内) を 0.5mm-1.0mm 角にカットした細片 0.012g を IOP 1ml または ADR 0.33mg を含む 0.45% NaCl 水溶液 2ml に 5 分間浸漬し溶液 0.5g を吸収させ, 60ml の生理食塩水中に分散させて同様に溶出を見た。

3. 犬肝動脈塞栓試験

生食注入群 2 頭 (control 1, 2), 通常塞栓群 1 頭(a), 圧入塞栓群 1 頭(b), 軟らかいビーズ塞栓群 2 頭 (c1, c2) として各群に平均体重 10.2kg (9.7-10.8kg) の健康な雄の雑種成犬計 6 頭を無作為に割り当てた。

Pentobarbital 50mg/kg 静脈内投与で全身麻酔し左大腿動脈から 4F catheter を挿入し, 総肝動脈造影で固有肝動脈を確認し, そのうち最大の肝区域に還流する直径 1mm 前後の固有肝動脈枝に catheter を挿入した。造影して胃十二指腸動脈や左胃動脈が写らないことを確かめた。群構成に従い透視下で IOP 6ml, ADR 10mg, 生理食塩水 6ml の混合液を 0.25M CaCl_2 20ml に滴下して作成したゲルビーズまたは生理食塩水を緩徐に注入した。通常塞栓群と軟らかいビーズによる塞栓群ではビーズが血流を停滞させた時点で注入を止め, 圧入塞栓群では血流停滞後も wedge 状態で圧入し逆流し始めたときに注入を終了した。塞栓後は総肝動脈造影で塞栓動脈がうつらないことを確かめた。塞栓術の 2 週間後全麻下に頸動脈より脱血致死させ, 肝, 肺, 腎, 脾および脾を摘出し肉眼観察後ホルマリン液で固定し hematoxylin eosin (HE) 染色で観察した。

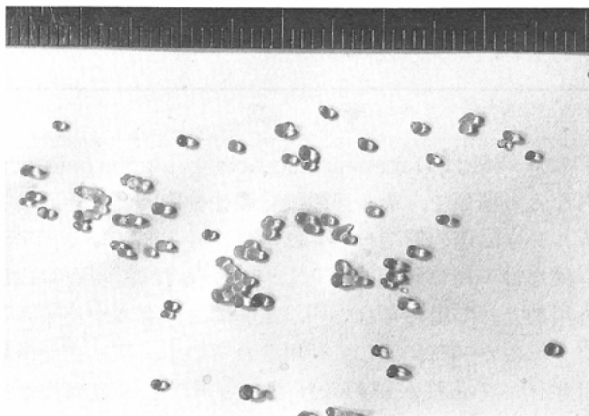


Fig. 1 Arginate gel beads containing adriamycin, vermillion and transparent glossy spheres

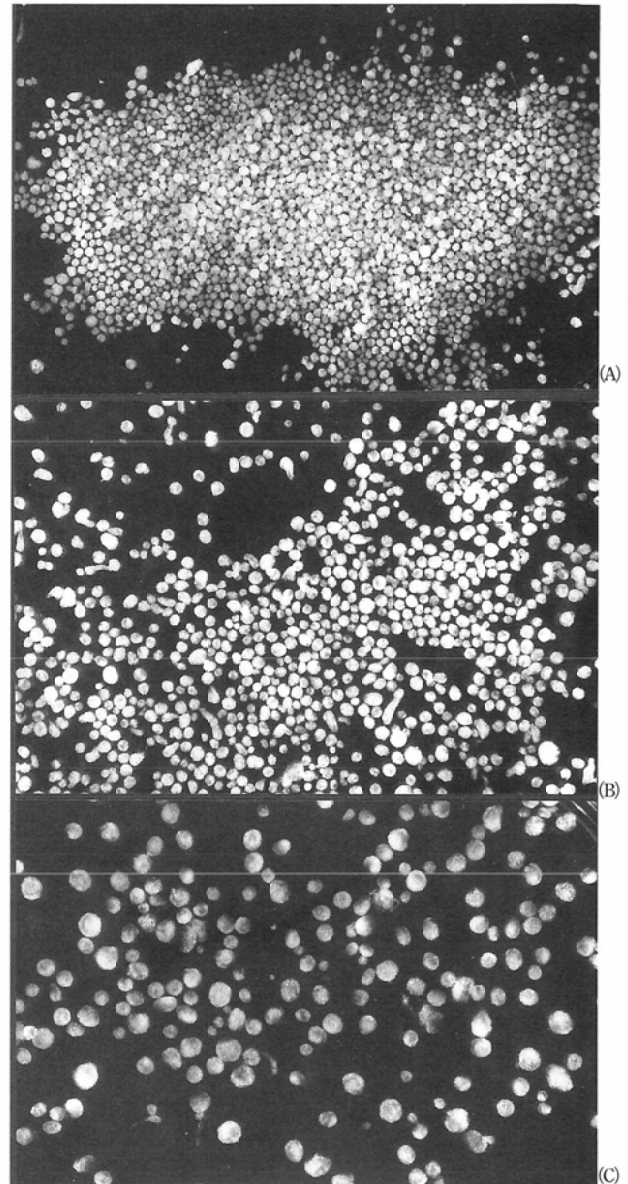


Fig. 2 Alginate gel beads containing lipiodol, prepared with various sizes of needle cannula which were 26G (upper), 23G (middle), and 22G (lower), without any sieving. The whitish opaque appearance of the beads is due to emulsification of lipiodol.

肝では外側左葉 2 カ所, 内側左葉 1 カ所, 外側右葉 1 カ所の計 5 カ所から各 2-3 切片を取り観察した。

結 果

1. アルギン酸ゲルビーズの作成と観察

(a) 外観と性状

23G 針で滴下したビーズは直径 0.5-1mm の紅色透明な弾力性のある球で指先で強く圧するとつぶれた (Fig. 1)。ビーズは radioopacity を保ち約 1mm のビーズの opacity はアルミステップの 2mm にほぼ相当した。22, 23, 26G 針の順に滴下で得たビーズ径は小さくなった (Fig. 2)。Lipiodol により白濁したビーズは 24 時間後も

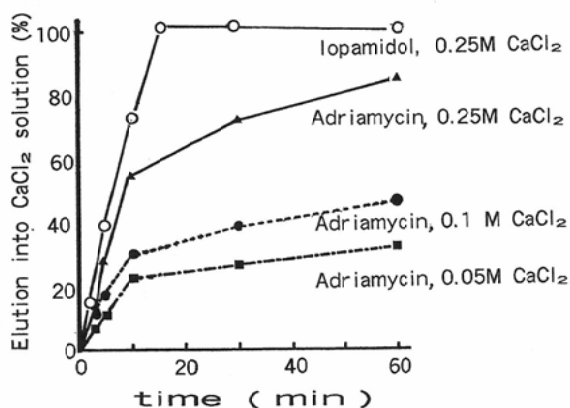
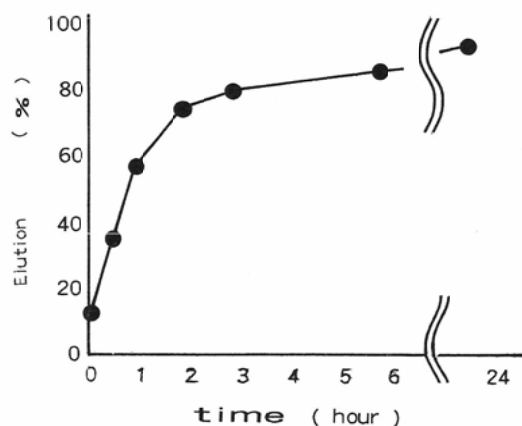
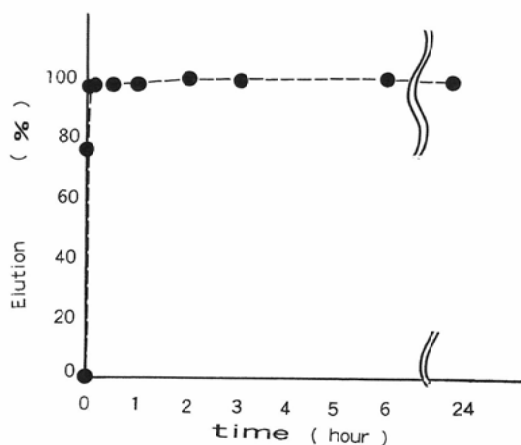


Fig. 3 Time course of drug elution from alginate gel bead in calcium chloride solution, after dripping the drug containing mixture of sodium arginate solution.



(A) Elution of Adriamycin from alginate gel beads



(B) Elution of Adriamycin from gelatine sponge particles.

Fig. 4 Time course of drug elution into saline, after dispersing drug containing alginate gel bead (A) or gelatin sponge soaked in drug solution (B) into the saline.

外観に変化なく Lipiodol はビーズ内に残留していた。ゲル化液に浸す時間を短くしたビーズは指で圧するとより容易につぶれた。

2. ゲル化液と生理食塩水中への薬剤溶出

IOP は 243nm, ADR は 480nm で吸光度のピークを持ち、直線的な検量線を得た。

(a) ビーズの工程でのゲル化液への溶出

(1) IOP か ADR を含むビーズの工程では CaCl_2 液中に滴下後 15 分で IOP のほぼ全量が溶出し、ADR は 40 % が溶出した (Fig. 3)。

(2) ADR 含有アルギン酸液を濃度の異なる CaCl_2 液に滴下したとき、Ca 濃度が低いほど ADR の溶出が少なかった。

(b) ビーズまたはスポンゼルからの生理食塩水中への溶出

(1) 滴下 10 分後、すなわちゲル化液中に IOP の 40 % と ADR の 13 % が溶出した時点でビーズを取り出し生理食塩水中に移した後、IOP のほぼ全量が 30 分以内に溶出し、ADR は 1 時間目で約 60 %、24 時間目には約 90 % が溶出した (Fig. 4 (A))。

(2) IOP または ADR を吸収させたスポンゼを生理食塩水中に分散させた直後に IOP または ADR はほぼすべて溶出した (Fig. 4 (B))。

3. 犬肝動脈塞栓試験

動脈塞栓直後の総肝動脈造影では塞栓した動脈は造影されなかった (Fig. 5)。すべての犬が HAI 2 週後に犠牲となるまで生存した。一般状態に異常はなかった。犬 a および control 2 頭に肝に肉眼的異常はなかった。犬 b および c1, c2 では塞栓した領域に一致してその一部に硬塞所見を認めた (Fig. 6 (A))。これらの犬 b, c1, c2 では肝の肉眼的硬塞部に一致して凝固壊死または液化壊死および肝細胞変性の所見を認めた。また犬 a, b の肝内の 0.2-1.0mm 径の動脈の中にビーズと考えられる hematoxylin 好性の無構造な物体を認め、周囲の血管壁に炎症反応や肉芽の形成は見られなかった (Fig. 6 (B))。c1 では肝動脈内において血管内皮細胞が被覆ないし浸潤して小さな血管内腔を形成した血栓を認めた。対照群の 2 例では肝組織に異常を認めなかった。肺、腎、脾、脾には肉眼的組織学的に異常を認めなかった。

考 察

アルギン酸は D-mannuronic acid と L-guluronic acid からなる多糖類で、褐藻類の細胞膜や細胞間物質として主にカルシウム塩の形で自然界に多量に存在している。アルギン酸塩は一時は代用血漿として用いられ⁷⁾、現在も内服や外用剤として用いられ⁹⁾⁻¹¹⁾、工業的にはゲルがバイオリアクターのカプセルとして利用されている。アルギン酸塩には生体への毒性が認められておらず、生体親和性が高い。セルロース⁸⁾と同様にヒト体内には分解酵素が見つからないので代謝されないと考えられる。アルギン酸ナ

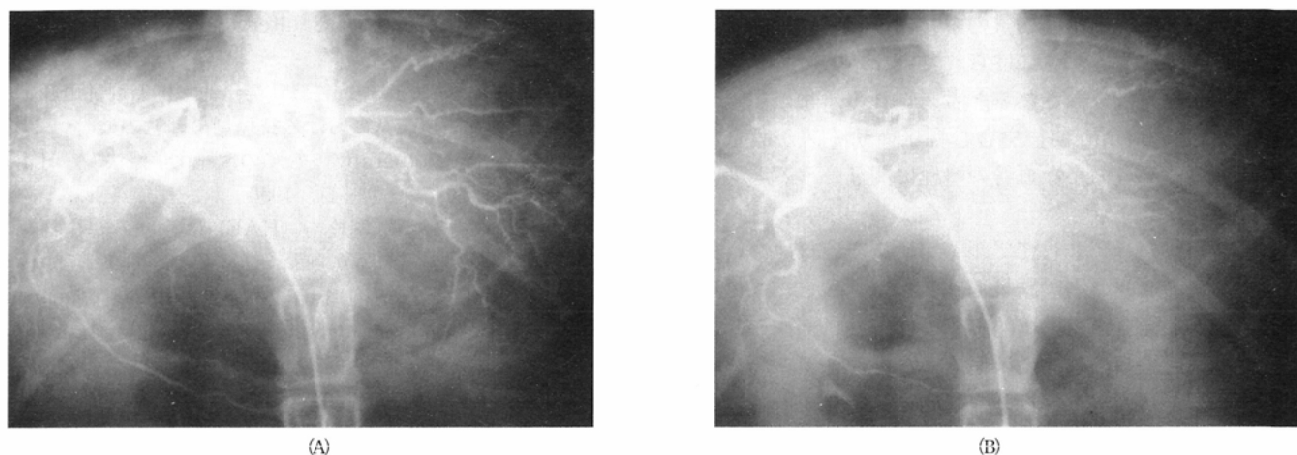


Fig. 5 Common hepatic arteriography before (A) and after (B) the embolization with the bead in dog a.

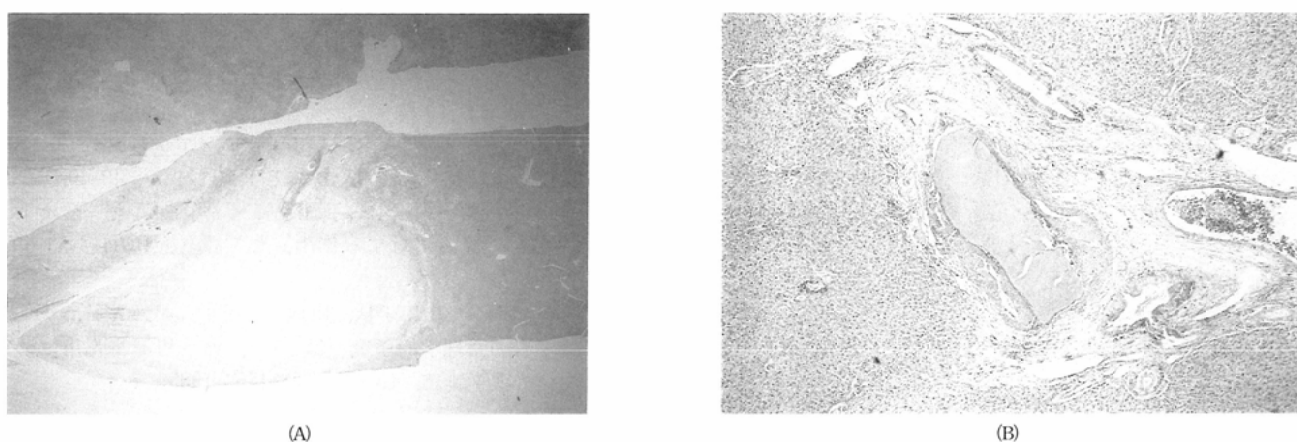


Fig. 6 Liver infarction in dog c 1 (A) and an amorphous substance embolizing an intrahepatic artery branch in dog a (B).

トリウム塩などの水溶性塩をカルシウムイオン、鉄イオン等の適当な多価金属イオンを含む溶液に接触させると不溶性アルギン酸塩ゲルが得られる。ゲル粒の製法にはゲルカプセル法とアクアカプセル法があり、この製造条件を変えれば種々の大きさと性質のビーズが得られる⁸⁾。ビーズの大きさは溶液滴の大きさで決まり、それはノズル直径と射出の速さで調整できる⁸⁾。今回のビーズ作成でも以上の性質を確認した。アルギン酸溶液中に混和あるいは溶解した物質ごとゲル化できるので、さまざまな物質をゲルビーズに封入することができる。今回は ADR、水溶性造影剤、Lipiodol を封入した。さらにさまざまな物質、たとえば気体、難溶性結晶や粉体、油脂、脂溶性物質、細胞などを封入することが理論的に可能である。また種々の塞栓物質作成後には滅菌が必要なことも多い^{6), 12)}が滅菌済みのアルギン酸を用いれば、ゲルビーズ作成後に滅菌する必要がない利点もある。

今回の溶出試験ではアルギン酸ビーズはゲル化液中に放置すると 15 分ではほぼすべての IOP を溶出してしまったが、ゲル化液から約 1 分で引き上げたときは写真で示したごとく IOP をよく保持していた。一方 ADR は 15 分たってもビーズ内に約 90 % 保持された。IOP と ADR を浸漬したスポンゼは生理食塩水中に分散後すぐにほぼすべて

の薬剤を溶出してしまった。一方ゲルビーズは ADR をより長時間保持し、6 時間かけて約 90 % を溶出した。ビーズはまた IOP についてもスポンゼより長く保持した。ゲルビーズからの IOP と ADR の溶出の速さの違いは分子量や溶解度を反映したものと推測された。また分子量の大きな物質や溶解度の低い物質はより緩徐な溶出が期待できると考えられた。ゲル化液の Ca 濃度が低いとゲル化液中への ADR の溶出が少なかったことは、低濃度のゲル化液を用いれば ADR はいっそう効率よくビーズ中に保持せられることを示唆した。これらよりアルギン酸ゲルビーズは薬剤徐放性担体としての特徴を持つと考えられた。

塞栓物質としての必要条件の一つは塞栓を一定時間維持することである。アルギン酸ゲルビーズが犬肝動脈を塞栓していたことが組織学的に確認された。通常塞栓群ではビーズによる動脈閉塞があっても梗塞は認められなかった。しかし塞栓時に圧入された場合、あるいは十分架橋されていない状態の軟らかいビーズを注入したときには塞栓部分の肝壊死が見られた。圧入や軟らかなビーズでは破片などでサイズの小さい塞栓物質となり⁴⁾、それにより門脈域や類洞域の塞栓や胆管周囲動脈の塞栓が生じ、そのために肝壊死が生じたと推測された。すなわちビーズは製造条件、使用条件によって微小な血管の塞栓にも用いることが示

された。アルギン酸の塞栓物質の中での位置付けは、人体にアルギン酸分解酵素が見つけられていないので、ひとまずは永久塞栓物質に分類されると考えられる。また粒のサイズの面からは0.5mm前後を含む幅広いサイズが設定できるので、近位から微小な血管の塞栓に関与しうると考えられる。

化学塞栓物質の基質としてアルギン酸研究は緒についたばかりである。今回の実験結果ではアルギン酸ビーズの薬剤の含有能力、徐放性、実用的な塞栓能力の一面を確認した。今後の検討の中のひとつは他の剤形、他の薬剤との組合せである。たとえばアルギン酸溶液に、水に難溶性の mitomycin C や cisplatinum の粉末、あるいは ADR 粉末の 継粉状態を混ぜると ADR の溶液と混ぜるよりも緩徐な溶出が期待される。また Lipiodol SMANCS など油を封入することも造影能や徐放性の向上の点から興味がある。また止血剤や fibrin を封入して止血能力を高める工夫も検討に値する。アルギン酸ゲルビーズの塞栓物質としての一般的な実用化に向けてはノズルの直径や先端の形状、アルギン酸溶液やゲル化液の濃度、ノズルから押し出す速度、^{ふるい}篩の使用、適合カテーテルなどの検討が必要である。

謝辞：この研究に多大の協力を下さった紀文フードケミファ山岸俊一氏に感謝します。

文 献

- 1) Yamada R, Sato M, Kawabata M, Nakatsuka H, Nakamura K, Takashima S: Hepatic artery embolization in 120 patients with unresectable hepatoma: Radiology; 148; 397-401, 1983
- 2) Yamada R, Kishi K, Sonomura T, et al: Transcatheter arterial embolization in unresectable hepatocellular

- carcinoma. Cardiovasc Interv Radiol 13, 135-139, 1990
- 3) 津田正洋, 山田龍作, 佐藤守男, 他. 抗癌剤併用肝動脈塞栓療法 (TAE) における抗癌剤の動態の検討 —targeting chemotherapy としての塞栓化学療法—. 日本医放会誌, 50(5): 504-511, 1990
- 4) 園村哲郎. 肝動脈塞栓術 (HAE) における塞栓物質の最適サイズ. 日本医放会誌, 54(6): 489-499, 1994
- 5) Konno T, Maeda H, Iwai K, et al: Effect of arterial administration of high molecular weight anticancer agent SMANCS with lipid lymphographic agent on hepatoma: a preliminary report. Eur J Cancer Clin Oncol: 19 (8): 1053-1065, 1983
- 6) Kato T, Nemoto R, Mori H, et al: Arterial chemoembolization with microencapsulated anticancer drug. an approach to selective cancer chemotherapy with sustained effects. JAMA 245: 1123-1127, 1981
- 7) 井口潔. 血漿増量剤アルギン酸輸液の研究. 299pp. 1966 (著者発行本)
- 8) 塩谷敏明. アルギン酸カルシウムゲルから成るカプセル体および粒子の性質, 粉体と工業, 21(7): 43-49, 1989
- 9) 山田千秋, 中桐信夫, 醍醐皓二, 他. アルギン酸ナトリウムの線溶に対する作用. 薬学雑誌, 107(1): 53-59, 1987
- 10) 醍醐皓二, 山田千秋, 山地 学, 他. アルギン酸ナトリウムの薬理学的研究 (第5報). 血小板凝集作用について. 薬学雑誌, 105(2): 171-185, 1985
- 11) Attwood AJ. Calcium alginate dressing accelerates split skin graft donor site healing. British Journal of Plastic Surgery. 42: 373-379, 1989
- 12) 堀 信一, 姚 家琪, 南谷かおり, 他. 高吸水性ポリマーの塞栓効果および組織反応の研究. 第17回関西IVR研究会. コミュニティプラザ大阪, 1994. 2.25. 大阪