

制癌剤内包マイクロスフィアに及ぼす γ 線照射の影響

吉澤 秀和*・山下 さおり**・上村 芳三***・島田 麻里緒****・
中村 和男****・愛甲 孝****・幡手 泰雄*

Effect of Gamma Irradiation on Microspheres Containing Anticancer Drug

Hidekazu YOSHIZAWA, Saori YAMASHITA, Yoshimitsu UEMURA, Mario SHIMADA,
Kazuo NAKAMURA, Takashi AIKO and Yasuo HATATE

Microspheres containing an anticancer drug (cisplatin, CDDP) were prepared by the reduced pressure-solvent evaporation method from an S/O/O emulsion system in which six kinds of polymers with different molecular weights were used.

To research the potential of a clinical application for microspheres, gamma-irradiation was carried out to investigate the effect on their decomposition and release characteristics.

The results were as follows:

- (1) The decomposition of DL-PLA-MS was observed even at low doses such as 10kGy. L-PLA-MS showed a gradual decomposition at more than 50kGy of irradiation.
- (2) At high doses such as 200kGy, an unusual release profile was found, that is, the initial burst was suppressed and an acceleration was observed in the latter part of the release behavior.

1. 緒言

現在、医薬品の滅菌は、高圧蒸気滅菌、乾燥滅菌などの熱による方法、及びガス滅菌などによって行われるが、熱によって変性あるいは分解を引き起こす物質には、前者は適用できない。一方、ガス滅菌は使用されるガスの毒性が問題になるうえに、DDSの基材として汎用される各種高分子との相互作用が指摘されているため、その適用の障害となっている。また製剤化の全行程を無菌管理するためには通常膨大な費用が必要となる。従って、それらの方法に代わるものとして、我々は、熱、水に敏感な物質のために最も良い方法である原子力を有効利用した Co^{60} 照射による放射線滅菌処理法を選択した。

これまで、本研究室ではCDDP担持生分解性高分子マイクロカプセルを液中乾燥法により調製し、そのin vitro徐放及びin vivo徐放の検討を行ってきた。その結果、初期バーストの無い理想的な徐放挙動を呈するマ

イクロカプセルを調製することができた。そこで、本研究ではマイクロカプセルの臨床実験を目指した研究として分解特性、徐放特性に及ぼす滅菌処理の影響について検討した。

2. 実験方法

2.1 ミクロスフィア (MS) の調製

Fig.1に実験装置図を示す。ポリマーには、ポリ乳酸(PLA)を用いた。MSは、S/O/Oエマルションの液中乾燥法により調製した。所定量のPLAを10mlのアセトニトリル(AcN)に溶かし、完全に溶解した後、芯物質としてCDDP20mgを加えた。この溶液を分散相とした。

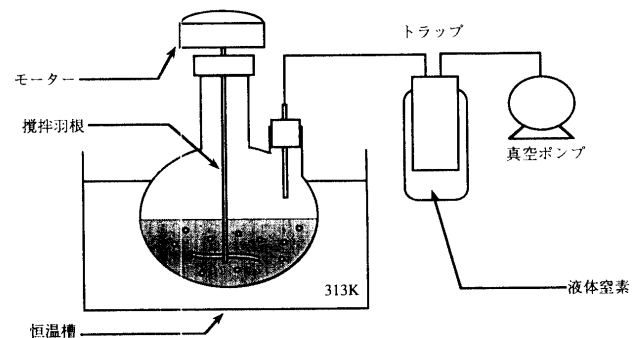


Fig.1 装置図

平成9年5月31日受理

*応用化学工学科

**博士前期課程応用化学工学専攻

***生体工学科

****鹿児島大学医学部

連続相であるシリコンオイルを丸底フラスコに入れ、攪拌羽根により攪拌させ、分散相を加えた。分散相が連続相で分散するまで(約3分間)待ち、液体窒素を用いたトラップを通して真空ポンプにより徐々に減圧した。調製温度313K、調製時間3時間の液中乾燥を行うことによりAcNを蒸発させてMSを調製した。調製したMSは、ガラスフィルターでろ過し、ろ過後の回収したMSは、液体窒素を用いて一昼夜凍結乾燥させた。その後、サンプルは光の当たらないようにアルミホイルで包み、乾燥剤と一緒に冷蔵庫に保管した。

2.2 γ 線照射によるポリマーの分解測定法

ゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)によるPLAの分子量分布の測定を行った。

また、PLAの末端カルボン酸の定量を行った。

0.1gのMSを10mlのジクロロメタン(DCM)に溶解し、さらに10mlのベンジルアルコール(BzOH)溶液を加えた。この溶液をサンプルとし、0.0025NのKOHのBzOH溶液を用いて、中和滴定法によりカルボン酸の定量を行った。

2.3 徐放実験法

調製したCDDP-MS0.1gをサンプル瓶に取り、トリス緩衝溶液(TBS)を20mlに加え、310K、150r.p.m.の振盪恒温槽にて徐放実験を行った。この時、サンプル瓶にはCDDP溶液回収時におけるMSのロスを防ぐために400メッシュをかぶせておいた。所定時間毎にCDDP溶液を回収し、その後、新しいTBSを加え、再び恒温槽に戻した。この実験を1週間行った。得られたCDDP溶液は、原子吸光フレイム分光光度計AA-625-11により分析した。

3. 結果と考察

DL-PLA-MSは、 γ 線照射線量の増大に伴い平均分子量の減少がみられた。またカルボン酸量は、 γ 線照射線量の増大に伴い増加した。これに対してL-PLA-MSは、25kGyまでは変化がみられなかったが、照射量が50kGy以上になると平均分子量は徐々に低下した。また、末端カルボン酸量についても、50kGy以上の照射で徐々に増加した。

L-PLA-MSにおいて平均分子量の減少に伴うカルボン酸量の増加割合から考えると、PLAのエステル結合が加水分解により分解したためだと思われる。一方、DL-PLAにおいて平均分子量の減少に伴うカルボン酸量の相対的な増加割合が異なるのは、エステル結合部位での加水分解の他に、 γ 線照射における特異的な分解が生じていることを示唆している。DL体とL体で γ 線照

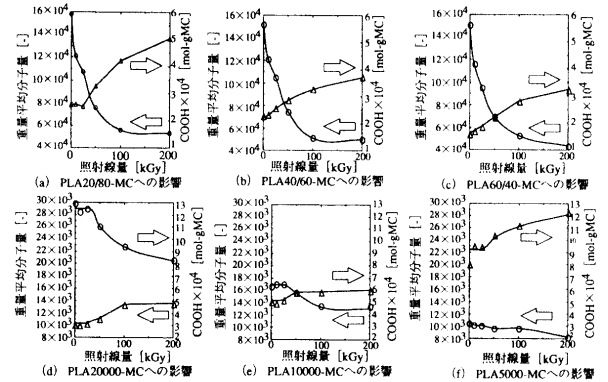


Fig.2 PLAの平均分子量及び末端カルボン酸量に及ぼす γ 線照射の影響

[(a)~(c): DL-PLA, (d)~(f): L-PLA]

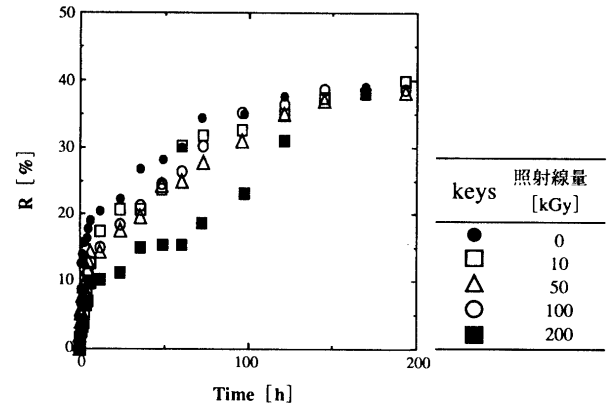


Fig.3 PLA 40/60-MSへの γ 線照射の影響

Table 1 PLAに及ぼす γ 線照射の影響

	L-PLA	DL-PLA
分解	分子量依存性 Mw/Mn=上昇	無依存 Mw/Mn=一定
分解形式	加水分解 (エステル結合)	加水分解+ γ 線照射分解 (エステル結合+?)
パターン	高線量で変化 (結晶質)	直下型 (アモルファス)

射による影響が異なるのは、DL体はアモルファス、L体は結晶質といった高次構造の違いから生じたものだと考えられる。DL-PLAとL-PLAについてまとめた結果をTable1に示す。

また、徐放実験において100kGy以下の γ 線照射では、徐放挙動はその影響を受けなかったが、200kGyではCDDPの初期バーストが抑えられ、また加速効果が認められるという特異的な徐放挙動を示した。

4. 結 言

CDDP-PLA-MS を S/O/O エマルジョンの液中乾燥により調製し、その MS へ及ぼす ^{60}Co γ 線照射による放射線滅菌の影響について分解特性と徐放特性から検討した結果、以下の事柄が明らかとなった。

1. DL-PLA-MS の分解特性は、少ない線量でも γ 線照射の影響を示した。一方、L-PLA-MS は、50kGy 以上の照射により徐々にその影響を示した。

2. 高線量の γ 線照射において、PLA-MS からの CDDP 徐放において初期バーストが抑えられ、加速効果が認められる特異的な徐放挙動を示した。

引用文献

- 永井洋行：鹿児島大学工学部卒業論文（1994）
永井洋行：鹿児島大学工学部修士論文（1996）
S.Yoshioka, Y.Aso, S.Kojima：Journal of Controlled Release, 37, 263-267（1995）