

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5859552号  
(P5859552)

(45) 発行日 平成28年2月10日(2016.2.10)

(24) 登録日 平成27年12月25日(2015.12.25)

(51) Int.Cl.

F 1

<b>A61K 51/00</b>	<b>(2006.01)</b>	A 61 K	43/00	Z NM
<b>B82Y 5/00</b>	<b>(2011.01)</b>	B 82 Y	5/00	
<b>A61P 35/00</b>	<b>(2006.01)</b>	A 61 P	35/00	
<b>A61N 5/10</b>	<b>(2006.01)</b>	A 61 N	5/10	C
<b>A61B 6/03</b>	<b>(2006.01)</b>	A 61 B	6/03	3 7 7

請求項の数 14 (全 29 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2013-533690 (P2013-533690)  
 (86) (22) 出願日 平成24年9月12日 (2012.9.12)  
 (86) 国際出願番号 PCT/JP2012/073346  
 (87) 国際公開番号 WO2013/039111  
 (87) 国際公開日 平成25年3月21日 (2013.3.21)  
 審査請求日 平成26年4月2日 (2014.4.2)  
 (31) 優先権主張番号 特願2011-203725 (P2011-203725)  
 (32) 優先日 平成23年9月16日 (2011.9.16)  
 (33) 優先権主張国 日本国 (JP)

(73) 特許権者 000001993  
 株式会社島津製作所  
 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地  
 (73) 特許権者 504132272  
 国立大学法人京都大学  
 京都府京都市左京区吉田本町36番地1  
 (74) 代理人 100100561  
 弁理士 岡田 正広  
 (72) 発明者 竹内 恵理  
 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地  
 株式会社島津製作所内  
 (72) 発明者 原 功  
 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地  
 株式会社島津製作所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】病変部位の内照射治療用ナノ粒子及び治療システム

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

サルコシン単位を有する親水性ブロックと、乳酸単位を有する疎水性ブロックとを有する両親媒性ブロックポリマー、及び 線放出核種標識物質を含む、経皮的局所療法が行なわれた病変部位の内照射治療用ナノ粒子。

## 【請求項2】

前記 線放出核種が、ヨウ素131、イットリウム90及びルテチウム177からなる群から選ばれる、請求項1に記載のナノ粒子。

## 【請求項3】

前記両親媒性ブロックポリマーは、20個以上のサルコシン単位を有する親水性ブロックと、10個以上の乳酸単位を有する疎水性ブロックとを有する、請求項1又は2に記載のナノ粒子。

## 【請求項4】

前記ナノ粒子の粒子径が10~200nmである、請求項1~3のいずれか1項に記載のナノ粒子。

## 【請求項5】

前記 線放出核種標識物質が、線放出核種で標識されたポリ乳酸である、請求項1~4のいずれか1項に記載のナノ粒子。

## 【請求項6】

病変部位の位置を示す画像データを取得するための手段、及び前記画像データに基づい

10

20

て前記病変部位に穿刺すべき針の穿刺位置を病変部位に合わせる手段を備えた装置と、  
サルコシン単位を有する親水性プロックと、乳酸単位を有する疎水性プロックとを有する  
両親媒性プロックポリマー、及び 線放出核種標識物質を含む、経皮的局所療法が行な  
われた病変部位の内照射治療用ナノ粒子と  
を有する、病変部位の内照射治療システム。

## 【請求項 7】

前記針が、エタノールを供給すべき注射針、ガスを供給すべき注射針、ラジオ波電極針  
及びマイクロ波電極針からなる群から選ばれるものである、請求項 6 に記載のシステム。

## 【請求項 8】

前記 線放出核種が、ヨウ素 131、イットリウム 90 及びルテチウム 177 からなる  
群から選ばれる、請求項 6 又は 7 に記載のシステム。 10

## 【請求項 9】

前記両親媒性プロックポリマーは、20 個以上のサルコシン単位を有する親水性プロック  
と、10 個以上の乳酸単位を有する疎水性プロックとを有する、請求項 6 ~ 8 のいずれか  
1 項に記載のシステム。

## 【請求項 10】

前記ナノ粒子の粒子径が 10 ~ 200 nm である、請求項 6 ~ 9 のいずれか 1 項に記載  
のシステム。

## 【請求項 11】

前記 線放出核種標識物質が、 線放出核種で標識されたポリ乳酸である、請求項 6 ~  
10 のいずれか 1 項に記載のシステム。 20

## 【請求項 12】

サルコシン単位を有する親水性プロックと、乳酸単位を有する疎水性プロックとを有する  
両親媒性プロックポリマー、及び 線放出核種標識物質を含むナノ粒子をさらに含む、  
請求項 6 ~ 11 のいずれか 1 項に記載のシステム。

## 【請求項 13】

前記 線放出核種が单一光子放出核種である、請求項 12 に記載のシステム。

## 【請求項 14】

前記 線放出核種が陽電子放出核種である、請求項 12 に記載のシステム。

## 【発明の詳細な説明】

30

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、病変部位の内照射治療用ナノ粒子に関する。また、本発明は、経皮的局所療  
法と、ナノ粒子を用いた内照射療法とを併用する、癌等の新生血管を多く生じている病変  
部位の治療システムに関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

現在、がん等の悪性腫瘍の治療方法としては、化学療法、患部を切除する外科療法、患  
部に放射線を照射する放射線治療、及び経皮的局所療法（すなわち穿刺局所療法(ablation)）の他、 線を放出する放射性核種（<sup>131</sup>I, <sup>90</sup>Y, <sup>177</sup>Luなど）を含む化合物を用いた内  
照射療法治療が知られている。 40

## 【0003】

非特許文献 1（第 50 回日本核医学会学術総会抄録、2010 年、p. 316 - 321  
）に記載されているように、放射性ヨウ素 131（<sup>131</sup>I）による内照射療法は、65 年  
間に亘って使用され、今や甲状腺がん及びバセドウ病に不可欠な治療法となっている。中  
でも、ヨード代謝能を有する転移細胞のみを破壊する甲状腺がんの治療法は、標的医療の  
モデルである。

## 【0004】

1984 年からは、欧米で<sup>131</sup>IMIBG(Meta-iodobenzylguanidine)による内照射療法が  
使用されている。この方法は、褐色細胞腫、傍神経節腫、カルチノイド、甲状腺腫瘍がん 50

、及び紳経芽細胞腫などの悪性紳経内分泌腫瘍の治療に使用されており、外科的手術が不能な場合に生じる高血圧及び動悸などの諸症状や骨転移による疼痛などの臨床諸症状の緩和と腫瘍縮小とを目的に使用されている。

近年では、<sup>90</sup>Y 標識抗CD20抗体（イブリツモマブ）による放射免疫療法が悪性リンパ腫の治療に用いられている。

#### 【0005】

このように内照射治療件数は上昇傾向にあり、治療医療施設数も増加している。国内では、<sup>131</sup>I 外来使用量が 500 MBq となり、医療者側の対応も拡大している。また、甲状腺がんに関しては、2010年4月から放射線治療病室管理加算及び放射線同位元素内用療法管理料増点が施行されている。

10

#### 【0006】

国際公開第2009/148121号パンフレット（特許文献1）には、サルコシン単位を有する親水性ブロックと、乳酸単位を有する疎水性ブロックとを有する両親媒性ブロックポリマーから構成されるナノ粒子（ラクトソーム）が開示されている。

#### 【先行技術文献】

#### 【特許文献】

#### 【0007】

国際公開第2009/148121号パンフレット

#### 【非特許文献】

#### 【0008】

20

【非特許文献1】第50回日本核医学会学術総会抄録、2010年、p. 316-321

#### 【発明の概要】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0009】

化学療法、外科手術、局所療法及び放射線療法などのがん治療法のあり方としては、できるだけ狭い治療範囲で、患者への負担を軽減させる方向性に進んでいる。そのため、局所療法も多用されている。しかしながら、これらの方針によると、治療を行った腫瘍部位の辺縁部などに治療効果が及ばなかった腫瘍細胞が残存することで、再発や転移の原因となりやすい問題がある。

また、現在の内照射療法は、甲状腺がん及び悪性リンパ腫に限定されている標的治療法であり、それ以外の病変（特に固形がん）の治療に適用することはできないという問題がある。

30

さらに、放射免疫療法は、抗体を用いることから薬価の問題がある。

#### 【0010】

一方、本発明者らは、放射性ヨウ素<sup>131</sup>I 標識ポリ乳酸を内包したラクトソーム<sup>131</sup>I-Lactosome（ラクトソームは、ポリ乳酸ブロックを有する両親媒性物質を構成要素とした自己集合により形成された粒子である）を調製した。この<sup>131</sup>I-Lactosomeを内照射治療剤として用いた内照射療法により腫瘍の治療が可能であることが本発明者らによって確認されている。しかしながら、このような治療法においては、腫瘍体積が大きい場合、多量の放射能値を有するラクトソームを投与する必要がある。さらに、ラクトソームは血中滞留性が高いことから、投与された多量の放射能値を有するラクトソームが血中に滞留することによる正常組織への悪影響も増加しうる。この結果、放射線による副作用として骨髄抑制や体重減少等が生じうる。

40

#### 【0011】

そこで、本発明の目的は、固形がん全般に広く適用することができ、がん治療における副作用の軽減とがんの再発及び転移の抑制とを両立することができ、且つ、抗体などの高価な薬剤を必要としない治療システムを提供することにある。また、本発明の目的は、前記治療システムに用いられる内照射治療用ナノ粒子を提供することにある。

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0012】

50

本発明者らは、経皮的局所療法を予め行った後に 線放出核種標識物質を内包したラクソームを用いた内照射療法を行うことができる治療システムによって、上記本発明の目的が達成されることを見出し、本発明を完成するに至った。

本発明は以下の発明を含む。

【0013】

(1)

サルコシン単位を有する親水性ブロックと、乳酸単位を有する疎水性ブロックとを有する両親媒性ブロックポリマー、及び 線放出核種標識物質を含む、経皮的局所療法が行なわれた病変部位の内照射治療用ナノ粒子。

【0014】

10

(2)

前記 線放出核種が、ヨウ素131、イットリウム90及びルテチウム177からなる群から選ばれる、上記(1)に記載のナノ粒子。

【0015】

(3)

前記両親媒性ブロックポリマーは、20個以上のサルコシン単位を有する親水性ブロックと、10個以上の乳酸単位を有する疎水性ブロックとを有する、上記(1)又は(2)に記載のナノ粒子。

【0016】

(4)

20

前記ナノ粒子の粒子径が10~200nmである、上記(1)~(3)のいずれかに記載のナノ粒子。

【0017】

(5)

前記 線放出核種標識物質が、 線放出核種で標識されたポリ乳酸である、上記(1)~(4)のいずれかに記載のナノ粒子。

【0018】

(6)

病変部位の位置を示す画像データを取得するための手段、及び前記画像データに基づいて前記病変部位に穿刺すべき針の穿刺位置を病変部位に合わせる手段を備えた装置と、

30

サルコシン単位を有する親水性ブロックと、乳酸単位を有する疎水性ブロックとを有する両親媒性ブロックポリマー、及び 線放出核種標識物質を含む、経皮的局所療法が行なわれた病変部位の内照射治療用ナノ粒子と

を有する、病変部位の内照射治療システム。

上記(6)において、針は経皮的局所治療のために用いられ、ナノ粒子は内照射治療薬剤として用いられる。

【0019】

(7)

前記針が、エタノールを供給すべき注射針、ガスを供給すべき注射針、ラジオ波電極針及びマイクロ波電極針からなる群から選ばれるものである、上記(6)に記載のシステム。

40

上記(7)において、エタノールを供給すべき注射針は経皮的エタノール注入療法に用いられ、ガスを供給すべき注射針は凍結療法に用いられ、ラジオ波電極針はラジオ波凝固療法に用いられ、マイクロ波電極針はマイクロ波凝固療法に用いられる。

【0020】

(8)

前記 線放出核種が、ヨウ素131、イットリウム90及びルテチウム177からなる群から選ばれる、(6)又は(7)に記載のシステム。

【0021】

前記ナノ粒子は、マウスに対するシステム1回あたりの使用量として、10MBq/k

50

g ~ 6 0 0 M B q / k g の放射能値となるように用意されることができる。

【0022】

(9)

前記両親媒性ブロックポリマーは、20個以上のサルコシン単位を有する親水性ブロックと、10個以上の乳酸単位を有する疎水性ブロックとを有する、上記(6)~(8)のいずれかに記載のシステム。

【0023】

(10)

前記ナノ粒子の粒子径が10~200nmである、上記(6)~(9)のいずれかに記載のシステム。

10

【0024】

(11)

前記 線放出核種標識物質が、 線放出核種で標識されたポリ乳酸である、上記(6)~(10)のいずれかに記載のシステム。

【0025】

(12)

サルコシン単位を有する親水性ブロックと、乳酸単位を有する疎水性ブロックとを有する両親媒性ブロックポリマー、及び 線放出核種標識物質を含むナノ粒子をさらに含む、上記(6)~(11)のいずれかに記載のシステム。

上記(12)において、 線放出核種標識物質は、 線放出核種で標識されたポリ乳酸でありうる。

20

上記(12)において、前記両親媒性ブロックポリマーは、20個以上のサルコシン単位を有する親水性ブロックと、10個以上の乳酸単位を有する疎水性ブロックとを有してもよい。

【0026】

(13)

前記 線放出核種が单一光子放出核種である、上記(12)に記載のシステム。

上記(13)において、 線放出核種標識物質を含むナノ粒子は、单一光子放射断層撮影用プローブとして用いられる。

【0027】

30

(14)

前記 線放出核種が陽電子放出核種である、上記(12)に記載のシステム。

上記(14)において、 線放出核種標識物質を含むナノ粒子は、ポジトロン断層撮影用プローブとして用いられる。

【発明の効果】

【0028】

本発明により、 固形がん全般に広く適用することができ、がん治療における副作用の軽減とがんの再発及び転移の抑制とを両立することができ、且つ、抗体などの高価な薬剤を必要としない安価な治療システム、及び内照射治療用ナノ粒子を提供することができる。

【0029】

40

本発明により、腫瘍に対し、経皮的局所療法(穿刺局所療法)によって腫瘍の大部分を壊死させると共に血管新生を誘導した後、内照射療法剤である131ヨウ素化合物含有ラクトソームを用い、経皮的局所療法の及ばなかった腫瘍辺縁部などの残存腫瘍組織を内照射療法により治療することができる。このような併用療法により、ナノ粒子の集積性を発揮させるEPR効果を最大限に利用することができる。且つ、内照射療法に先立って経皮的局所療法によって、内照射療法すべき腫瘍の大部分を処理することで、内照射療法剤である131ヨウ素化合物含有ラクトソームの放射能値を抑えることができ、放射線による副作用を抑えることができる。

【図面の簡単な説明】

【0030】

50

【図1】実験例1における $[^{131}\text{I}]$ -SIB精製時のHPLCチャートである。

【図2】実験例4における $^{131}\text{I}$ -BzPLLA<sub>30</sub>の精製時のHPLCチャートである。

【図3】実験例8におけるラクトソーム集積の確認結果を示す蛍光イメージング画像である。

【図4】実験例8において、蛍光イメージング画像から解析した蛍光強度の変化の結果を示したグラフである。

【図5】実験例9における $^{131}\text{I}$ -lactosomeの体内分布測定結果を示すグラフである。

【図6】実験例10における $^{131}\text{I}$ -lactosomeの抗癌作用試験結果を示すグラフである。

【図7】実施例1におけるマウス抗腫瘍試験による、相対腫瘍体積の変化を示したグラフである。

10

【図8】実施例1におけるマウス抗腫瘍試験による、体重変化を示したグラフである。

【図9】参考例1におけるマウス抗腫瘍試験(5MBq/body)による、相対腫瘍体積の変化を示したグラフである。

【図10】参考例1におけるマウス抗腫瘍試験(5MBq/body)による、体重変化を示したグラフである。

【図11】参考例2におけるマウス抗腫瘍試験(5MBq/body)による、相対腫瘍体積の変化を示したグラフである。

【図12】参考例3におけるマウス抗腫瘍試験(40MBq/body)による、相対腫瘍体積の変化を示したグラフである。

【図13】参考例3におけるマウス抗腫瘍試験(40MBq/body)による、体重変化を示したグラフである。

20

#### 【発明を実施するための形態】

##### 【0031】

###### 【1. 治療システムの適用対象】

本発明の治療システムは、経皮的局所療法を行うための装置と、内照射治療剤としてのナノ粒子とを含む。本発明における内照射治療剤としてのナノ粒子は、E P R (enhanced permeability and retention) 効果により新生血管を通して周辺組織に集積する特性を有する。本発明においては、新生血管が多く存在する生体内組織を、総じて血管病変と呼称する。すなわち、本発明の治療システムの適用対象となる病変部位は、血管病変部位である。

30

##### 【0032】

本発明におけるナノ粒子が有する、血管病変部位への特異的集積性のため、本発明の治療システムの適用対象となる血管病変は、その種類に依存することなく、その範囲は多岐に亘る。具体的には、血管病変には、腫瘍、炎症及び動脈硬化等が含まれる。腫瘍としては、悪性腫瘍すなわちがんであることが好ましい。なお、本発明においてがんは一般的に 固形がん(造血器がんを除く意)である。例えば、乳がん、皮下がん、肝臓がん、肺がん、脾臓がん、脳腫瘍、大腸がんなどが挙げられる。

##### 【0033】

血管病変を生じている生体としては特に限定されず、ヒト及び非ヒト動物でありうる。非ヒト動物としては特に限定されないが、ヒト以外の哺乳類、より具体的には、靈長類、齧歯類(マウス、ラットなど)、ウサギ、イヌ、ネコ、ブタ、ウシ、ヒツジ、及びウマなどが挙げられる。

40

##### 【0034】

###### 【2. 経皮的局所療法を行うための装置】

経皮的局所療法を行うための装置は、分子イメージング手段と穿刺制御手段とを有する。

分子イメージング手段は、すなわち、血管病変部位の位置を示す画像データを取得するための手段である。穿刺制御手段は、画像データに基づいて血管病変部位に穿刺を行うべき針の穿刺位置を血管病変部位に合わせる手段である。

##### 【0035】

50

## [ 2 - 1 . 血管病変部位の位置を示す画像データを取得するための手段 ]

分子イメージング手段すなわち血管病変部位の位置を示す画像データを取得するための手段としては、血管病変部位を含む組織についての画像データから導出された三次元形状又は二次元形状において、目視、画像自動処理又は造影剤の局在により血管病変部位を特定できる手段であればよい。

## 【 0 0 3 6 】

そのような手段としては、具体的には、超音波画像診断装置、核磁気共鳴撮像装置 (Magnetic resonance imaging; MRI) 及びコンピュータ断層撮影装置 (Computed tomography; CT) などの形態診断装置や、単一光子放射断層撮影装置 (Single photon emission computed tomography; SPECT) 及びポジトロン断層撮影装置 (positron emission tomography; PET) などのシンチグラム装置、さらには蛍光イメージング用装置が挙げられる。

10

## 【 0 0 3 7 】

本発明の治療システムの使用においては、血管病変部位に局所療法を施す前に画像データを取得してもよいし、局所療法を施した後且つ内照射療法を施す前に画像データを取得してもよい。いずれにしても、画像データ取得後には血管病変部位に対して施術を行うため、上記の手段はシンチグラム装置であることが好ましい。

## 【 0 0 3 8 】

なお、シンチグラム装置を使用する場合、分子イメージング用プローブとして、後述の内照射治療薬剤としてのナノ粒子と類似のナノ粒子を使用することが好ましい。具体的には、分子イメージング用プローブとしてのナノ粒子は、使用される放射性同位体が異なることを除いて、内照射治療剤としてのナノ粒子と同じ構成を有するものであることが好ましい。具体的には、そのようなナノ粒子は、キャリア剤として、内照射治療薬剤としてのナノ粒子と同じキャリア剤と、キャリア剤の内包物として、分子イメージング用放射性同位体（具体的にはガンマ線放出核種）で標識された物質とを含みうる。ガンマ線放出核種の具体例としては、単一光子放射断層撮影用プローブの場合は単一光子放出核種であり、ポジトロン断層撮影用プローブの場合は陽電子放出核種である。単一光子放出核種の具体例としては、ヨウ素 123、ヨウ素 125、ヨウ素 131、ガリウム 67、テクネチウム 99m、インジウム 111、及びルテチウム 177 等が挙げられる。陽電子放出核種の具体例としては、ヨウ素 124、炭素 11、窒素 13、酸素 15、フッ素 18、ガリウム 68、及び銅 64 が挙げられる。

20

## 【 0 0 3 9 】

上記の分子イメージング用プローブは、内照射治療薬剤としてのナノ粒子と同じキャリア剤を使用しているため、内照射治療薬剤としてのナノ粒子と同様に、血管病変部位へ特異的に集積する特性を有する。なお、血管病変部位への集積は、分子イメージング用プローブとしてのナノ粒子投与後 3 ~ 48 時間、好ましくは 6 ~ 24 時間で確認することができる。上記範囲を下回ると、病変部位と他の部位とを明確に分けることが困難な傾向にある。また、上記範囲を上回ると、分子イメージングプローブが病変部位から排泄されてしまう傾向にある。

30

## 【 0 0 4 0 】

このような特異的集積性のため、画像データ取得後に血管病変部位に局所療法を施す場合は、分子イメージング手段によって、局所療法を施すべき血管病変部位の範囲及びその外縁をより正確に確定することを可能にする。また、局所療法を施した後且つ内照射療法を施す前に画像データを取得する場合は、内照射治療薬剤としてのナノ粒子の集積性を事前に予測することができるため、内照射治療薬剤の投与量や投与時期の指針を得ることを可能にする。

40

## 【 0 0 4 1 】

## [ 2 - 2 . 画像データに基づいて針の穿刺位置を血管病変部位に合わせる手段 ]

穿刺制御手段すなわち画像データに基づいて血管病変部位に穿刺を行うべき針の穿刺位置を血管病変部位に合わせる手段としては、一般的に経皮的局所療法において用いられる手段であればよい。

50

経皮的局所療法は、処理すべき血管病変部位の少なくとも一部、好ましくは大部分を壊死させることができ、治療効果の及んだ壊死部分は炎症化する。つまり、経皮的局所療法は、新生血管の多い血管病変部位に、さらに炎症による新生血管を誘導するものである。一方、本発明における内照射治療剤としてのナノ粒子は、新生血管部位に特異的に集積する効果を有する。従って、血管病変部位に予め経皮的局所療法を施すことは血管病変部位の大きさを単に小さくするだけでなく、施さない場合に比べ、後に投与される内照射治療剤としてのナノ粒子の血管病変部位への集積性をさらに高め、内照射治療剤投与による放射能値を少なくすることを可能にする。

#### 【0042】

本発明における経皮的局所療法には、経皮的エタノール注入療法 (Percutaneous Ethanol Injection Therapy; PEIT)、凍結療法、ラジオ波凝固療法 (Radiofrequency Ablation; RFA) 及びマイクロ波凝固療法 (Microwave Coagulation Therapy; MCT) などが挙げられる。

従って、血管病変部位に穿刺を行うべき針は、中空又は中実であってよく、エタノールを供給すべき注射針 (PEITに使用するもの)、ガスを供給すべき注射針 (凍結療法に使用するもの)、ラジオ波電極針 (RFAに使用するもの) 及びマイクロ波電極針 (MCTに使用するもの) からなる群から選ばれうる。

なお、本発明の治療システムの使用においては、小動物を治療する場合はPEITを使用することが好ましく、大型動物を治療する場合はRFAを使用することが好ましい。

#### 【0043】

針を病変部位に合わせる手段には、上記の針の他、経皮的局所療法における針の動作状態をモニターするための画像取得装置を含んでよい。画像取得装置は、所定時間単位で、針及び針が穿刺された組織の画像を取得することができるものであればよい。具体的には、既に述べた、血管病変部位の位置を示す画像データを取得するための手段、好ましくは超音波画像診断装置やMRIなどを用いることができる。

針の動作状態をモニターするための画像によると、針の穿刺位置及び穿刺方向等の確認を行うことができる。これにより、例えば、針先端位置のズレの有無確認や、穿刺を回避すべき部位の確認を行うこともできる。

#### 【0044】

針を病変部位に合わせる手段には、さらに、針の動作を制御するための穿刺制御装置を含んでよい。穿刺制御装置は、針が血管病変部位に確実に到達できるよう、針の動作を制御するものであり、例えば、術者によって挿入された針の先端が所望の血管病変部位とは異なる方向へ進行した場合に、適切な方向へ修正できるものであります。

#### 【0045】

針の動作の制御態様としては、針の進路の決定 (すなわち針をどの方向に移動させるかの決定) 及び針の進行の決定 (すなわち針をどの程度移動させるかの決定) が挙げられる。それらの決定は、例えば、針に作用する外力検出のために設けられうる力感知手段によって取得される力情報から、上記の画像取得装置によって取得される視覚情報を必要に応じ組み合わせ、針の動作に適した力情報を導出することによってなされることがある。そのための具体的手段は、当業者によって適宜体現されるものである。

#### 【0046】

より具体的には、例えば、臨床的経験値として取得された、組織に関する一般情報 (例えば、ヒトの組織の大きさ、形状、弹性係数、摩擦係数、せん断係数、ポアソン比等) を情報記憶手段に記憶させておき；補正手段によって、前記の力感知手段によって取得された力情報を前記の一般情報と対比し、針の動作に適した力情報を導出し；駆動指示手段によって、前記の力情報を物理的な運動量に変換すべく、針に駆動指令 (進行指令、停止指定及び進行に対する抵抗負荷指令等) を行うことができる。

#### 【0047】

上記のように、針の穿刺位置を血管病変部位に合わせた後、針を通じて、血管病変部位に所定の経皮的局所療法を施すことができる。すなわち、PEITの場合はエタノールを注入

10

20

30

40

50

し、凍結療法の場合は液化ガス等を噴射し、RFAの場合はラジオ波を照射し、MCTの場合はマイクロ波を照射することができる。エタノールやガスの注入及び噴射量、及びラジオ波やマイクロ波の照射量は、当業者が適宜決定することができる。

【0048】

[3. ナノ粒子]

本発明における内照射治療剤としてのナノ粒子は、少なくとも両親媒性ブロックポリマーの凝集により、或いは自己集合的な配向会合により成り立つ分子集合体（ラクトソーム）をキャリア剤とし、且つ 線放出核種標識物質を有する構造体である。

【0049】

本発明におけるナノ粒子の具体的態様の一つは、両親媒性ブロックポリマーが、 線放出核種標識物質とともに分子集合体を形成したものである。 10

本発明における分子集合体はミセルを構成する。両親媒性ブロックポリマーは、自己組織化によって、疎水性ブロック鎖がコア部を形成する。一方、 線放出核種標識物質は、疎水コア部に位置しうる。

【0050】

[3-1. 両親媒性ブロックポリマー]

本発明の両親媒性ブロックポリマーは、以下の親水性ブロック及び疎水性ブロックを有する。両親媒性ブロックポリマーは、ナノ粒子のキャリア剤となる分子集合体の基本的要素である。両親媒性ブロックポリマーは、下記の1種又は複数種を組み合わせて用いることができる。以下、本発明において、用語「アミノ酸」は、天然アミノ酸、非天然アミノ酸、及びそれらの修飾及び/又は化学的変更による誘導体を含む概念で用いる。さらに、本明細書において、アミノ酸は、 - 、 - 、 - アミノ酸を含む。好ましくは、アミノ酸である。 20

【0051】

[3-1-1. 親水性ブロック鎖]

本発明において、親水性ブロック鎖が有する「親水性」という物性の具体的な程度としては、特に限定されるものではないが、少なくとも、親水性ブロック鎖が、後述の特定の疎水性ブロック鎖に対して、相対的に親水性が強い領域であり、当該親水性ブロック鎖が当該疎水性ブロック鎖とコポリマーを形成することによって、コポリマー分子全体として両親媒性を実現することが可能となる程度の親水性を有していれば良い。或いは、当該両親媒性ブロックポリマーが溶媒中で自己組織化して、自己集合体、好ましくは粒子状の自己集合体を形成することが可能となる程度の親水性を有していれば良い。 30

【0052】

親水性ブロック鎖は、サルコシンに由来する単位を親水性必須構成単位として含み、且つ前記親水性必須構成単位を例えば20個以上有する親水性分子鎖である。具体的には、親水性分子鎖は、サルコシン単位を20個、好ましくは30個以上有する親水性ポリペプチド鎖が含まれる。

【0053】

サルコシンとはすなわちN-メチルグリシンである。

サルコシン単位以外の構成単位を有する場合、そのような構成単位としては特に限定されないが、例えばサルコシン単位以外のアミノ酸（親水性アミノ酸及びその他のアミノ酸を含む）単位やアルキレンオキシド単位が挙げられる。そのようなアミノ酸単位の例としては、好ましくは、アミノ酸である。例えば、セリン、スレオニン、リシン、アスパラギン酸、グルタミン酸などが挙げられる。アルキレンオキシド単位の例としては、具体的には、エチレンオキシド単位（ポリエチレングリコール単位）、プロピレンオキシド単位（プロピレングリコール）などが挙げられる。また、アルキレンオキシド単位においては、水素が置換されていてもよい。 40

【0054】

親水性ブロック鎖において、その鎖を構成する構成単位の種類・比率は、ブロック鎖全体が上述したような親水性となるように、当業者によって適宜決定される。 50

## 【0055】

親水性ブロック鎖は、例えば構成単位数500程度を上限として設計することができる。本発明においては、しばしば、30~300、より好ましくは50~200程度の構成単位数を有する親水性ブロック鎖が合成されうる。構成単位数が500程度を超えると、分子集合体を形成した場合に、当該形成された分子集合体の安定性を欠く傾向にある。構成単位数が30を下回ると、分子集合体の形成自体が困難となる傾向にある。

## 【0056】

親水性ブロック鎖においては、同じ構成単位のすべてが連続してもよいし、非連続であってもかまわない。親水性ブロック鎖において、上記特定の単位以外の他の構成単位を含む場合、他の構成単位の種類・比率は、ブロック鎖全体が上述したような親水性となるように、当業者によって適宜決定される。またその場合、後述の基本特性を損なわないように分子設計されることが好ましい。

10

## 【0057】

サルコシン（すなわちN-メチルグリシン）は水溶性が高く、また、サルコシンのポリマーはN置換アミドを有することから通常のアミド基に比べてシス-トランス異性化が可能であり、さらに、C炭素まわりの立体障害が少ないことから、高い柔軟性を有するものである。このようなポリペプチドを構成ブロック鎖として用いることは、当該ブロック鎖に高い親水性と高い柔軟性とを併せ持つという基本特性が備わる点で非常に有用である。

## 【0058】

20

## [3-1-2. 疎水性ブロック鎖]

本発明において、疎水性ブロック鎖が有する「疎水性」という物性の具体的な程度としては、特に限定されるものではないが、少なくとも、疎水性ブロック鎖が、上記の親水性ブロック鎖に対して、相対的に疎水性が強い領域であり、当該親水性ブロック鎖とコポリマーを形成することによって、コポリマー分子全体として両親媒性を実現することが可能となる程度の疎水性を有していれば良い。或いは、当該両親媒性ブロックポリマーが溶媒中で自己組織化して、自己集合体、好ましくは粒子状の自己集合体を形成することが可能となる程度の疎水性を有していれば良い。

## 【0059】

30

本発明において、疎水性ブロック鎖は、例えば10個以上の乳酸単位を有するものである（本明細書においては、乳酸単位を基本単位とするこの疎水性ブロック鎖を、単にポリ乳酸と記載することがある）。好ましくは、疎水性ブロック鎖は、20個以上の乳酸単位を有する。この疎水性ブロック鎖においては、乳酸単位のすべてが連続してもよいし、非連続であってもかまわない。疎水性分子鎖において、乳酸単位以外の構成単位の種類・比率は、ブロック鎖全体が上述したような疎水性となるように、当業者によって適宜決定される。

## 【0060】

40

この疎水性ブロック鎖において、乳酸単位以外の構成単位を有する場合、そのような構成単位の種類・比率は、ブロック鎖全体が上述したような疎水性であることを満たせば特に限定されるものではないが、後述の諸特性を有するように分子設計されたものであることが好ましい。

## 【0061】

疎水性ブロック鎖において、乳酸単位以外の構成単位を有する場合、そのような構成単位は、乳酸以外のヒドロキシル酸及びアミノ酸（疎水性アミノ酸及びその他のアミノ酸を含む）からなる群から選択することができる。ヒドロキシル酸としては、特に限定されないが、グリコール酸、ヒドロキシイソ酪酸などが挙げられる。疎水性アミノ酸は、その多くが、脂肪族側鎖、芳香族側鎖などを有する。天然アミノ酸では、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、メチオニン、チロシン、及びトリプトファンなどが挙げられる。非天然アミノ酸では、特に限定されないが、グルタミン酸メチルエステル、グルタミン酸ベンジルエステル、アスパラギン酸メチルエステル、アスパラギン

50

酸エチルエステル、アスパラギン酸ベンジルエステルなどのアミノ酸誘導体が挙げられる。

【0062】

疎水性ブロック鎖の構成単位数の上限としては特に限定されないが、100程度である。本発明においては、しばしば、10~80、好ましくは20~50程度の構成単位数を有する疎水性ブロック鎖が合成されうる。構成単位数が100程度を超えると、分子集合体を形成した場合に、当該形成された分子集合体の安定性を欠く傾向にある。構成単位数が10を下回ると、分子集合体の形成自体が困難となる傾向にある。

【0063】

ポリ乳酸は、優れた生体適合性及び安定性を有するものである。このため、このようなポリ乳酸を構成ブロックとした両親媒性物質から得られる分子集合体は、生体、特に人体への応用性という点で非常に有用である。 10

また、ポリ乳酸は、優れた生分解性を有することから代謝が早く、生体内において血管病変部位以外への組織への集積性が低い。このため、このようなポリ乳酸を構成ブロックとした両親媒性物質から得られる分子集合体は、血管病変部位への特異的な集積性という点で非常に有用である。

そして、ポリ乳酸は、低沸点溶媒への溶解性に優れるものであることから、このようなポリ乳酸を構成ブロックとした両親媒性物質から分子集合体を得る際に、有害な高沸点溶媒の使用を回避することが可能である。このため、このような分子集合体は、生体への安全性という点で非常に有用である。 20

さらに、ポリ乳酸の鎖長を調整することは、このようなポリ乳酸を構成ブロックとした両親媒性物質から得られる分子集合体の形状制御及び大きさ制御の一要因として寄与する点で好ましい。このため、このような構成ブロックを用いることは、得られる分子集合体形状の用途性に優れるという点で非常に有用である。

疎水性ブロック鎖において、乳酸単位以外の構成単位を有する場合も、これらの優れた諸特性を有するように分子設計することが好ましい。

【0064】

疎水性ブロック鎖は、光学純度の観点から、さらに以下のバリエーションを有することができる。

例えば、疎水性ブロック鎖における当該乳酸単位が、L-乳酸単位のみで構成されてもよいし、D-乳酸単位のみで構成されてもよいし、L-乳酸単位とD-乳酸単位との両者から構成されてもよい。疎水性ブロック鎖は、上記例示のものから選ばれた1種が単独で使用されてもよいし、複数種が組み合わされて使用されてもよい。 30

【0065】

当該乳酸単位がL-乳酸単位とD-乳酸単位との両者から構成される場合、L-乳酸単位とD-乳酸単位との重合順番は限定されない。L-乳酸単位とD-乳酸単位とが1個又は2個ずつ交互に重合されていてもよいし、ランダムに重合されていてもよいし、ブロック重合されていてもよい。

【0066】

従って、当該乳酸単位がL-乳酸単位とD-乳酸単位との両者から構成される場合、それぞれの乳酸単位の含有量は特に限定されない。すなわち、L-乳酸単位とD-乳酸単位とが異なる量で含有されていてもよいし、L-乳酸単位とD-乳酸単位とが同量含有されていてもよい。後者の場合、当該10個以上の乳酸単位が全体として光学純度0%のラセミ体であり得る。 40

【0067】

[3-2. 線放出核種標識物質]

線放出核種標識物質は、ヨウ素131標識物質、イットリウム90標識物質及びルテチウム177標識物質からなる群から選ばれうる。

線放出核種標識物質は、キャリア剤に内包される要素であってもよいし、キャリア剤の一部を構成する要素であってもよい。 50

## 【0068】

線放出核種標識物質は、キャリア剤に内包される要素である場合、具体的には、ポリマーに 線放出核種含有基が結合した態様を有するもの（線放出核種標識ポリマー）、及び疎水性化合物に 線放出核種含有基が結合した態様を有するもの（線放出核種標識化合物）から選ばれる。

線放出核種標識物質は、キャリア剤の一部を構成する要素である場合、具体的には、上述の両親媒性ブロックポリマーに 線放出核種含有基が結合した態様を有するものであつてよい。結合箇所としては特に限定されないが、好ましくは親水性ブロック鎖側の末端でありうる。

## 【0069】

10

線放出核種含有基における 線放出核種は、本発明のナノ粒子における内照射治療用線源である。 線放出核種は、細胞や組織を破壊するという生物学的作用を奏する。

線放出核種有基は、 線放出核種標識物質がキャリア剤に内包される要素である場合、 線放出核種標識物質が全体として上記定義された「疎水性」の範疇を越えないよう分子設計上化学的又は生化学的に許容される基であればよく、特に限定されるものではない。また、 線放出核種標識物質がキャリア剤の一部を構成する場合は、両親媒性ブロックポリマーの自己集合性を妨げないよう分子設計上化学的又は生化学的に許容される基であればよく、特に限定されるものではない。従って、 線放出核種含有基の具体的構造は当業者によって適宜決定される。

## 【0070】

20

線放出核種標識ポリマーは、 線放出核種標識ポリ乳酸であることが好ましい。

線放出核種標識ポリ乳酸におけるポリ乳酸基は、乳酸単位を主たる構成成分とする基である。乳酸単位のすべてが連続していてもよいし、非連続であってもかまわない。基本的に、ポリ乳酸基の構造や鎖長は、上述の両親媒性ブロックポリマーを構成する疎水性ブロック鎖の分子設計における場合と同様の観点で決定することができる。このようにすることによって、ナノ粒子において、 線放出核種標識ポリ乳酸と、両親媒性ブロックポリマーの疎水性ブロック鎖との親和性に優れるという効果が得られる。

## 【0071】

ポリ乳酸基の乳酸単位数は、5～50、好ましくは15～35である。この範囲内で、ポリ乳酸結合化合物全体の長さが上述の両親媒性ブロックポリマーの長さを超えないように分子設計される。好ましくは、両親媒性ブロックポリマーにおける疎水性ブロックの2倍の長さを超えないように分子設計される。構成単位数が上記範囲を上回ると、分子集合体を形成した場合に、当該形成された分子集合体の安定性を欠く傾向にある。構成単位数が上記範囲を下回ると、粒子径が制御しにくくなる傾向にある。

30

## 【0072】

ポリ乳酸基は、光学純度の観点から、さらに以下のバリエーションを有することができる。

例えば、ポリ乳酸基における乳酸単位が、L-乳酸単位のみで構成されてもよいし、D-乳酸単位のみで構成されてもよいし、L-乳酸単位とD-乳酸単位との両者から構成されてもよい。ポリ乳酸基は、上記例示のものから選ばれた1種が単独で使用されてもよいし、複数種が組み合わされて使用されてもよい。

40

## 【0073】

当該乳酸単位がL-乳酸単位とD-乳酸単位との両者から構成される場合、L-乳酸単位とD-乳酸単位との重合順番は限定されない。L-乳酸単位とD-乳酸単位とが1個又は2個ずつ交互に重合されていてもよいし、ランダムに重合されていてもよいし、ブロック重合されていてもよい。

## 【0074】

従って、乳酸単位がL-乳酸単位とD-乳酸単位との両者から構成される場合、それぞれの乳酸単位の含有量は特に限定されない。すなわち、L-乳酸単位とD-乳酸単位とが異なる量で含有されていてもよいし、L-乳酸単位とD-乳酸単位とが同量含有されてい

50

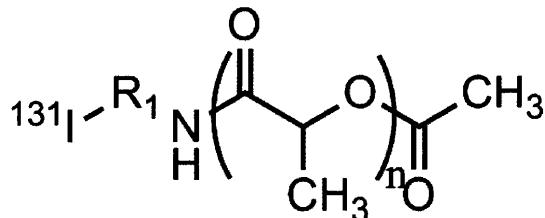
てもよい。後者の場合、当該10個以上の乳酸単位が全体として光学純度0%のラセミ体であり得る。

## 【0075】

線放出核種標識ポリ乳酸の例として、ヨウ素131標識ポリ乳酸の構造の一例を下記式に示す。当業者であれば、ヨウ素131以外の線放出核種に適宜変更することができる。下記式に示すヨウ素131標識ポリ乳酸においては、ヨウ素131含有基がアミド結合を介してポリ乳酸に導入されている。下記式中、R<sub>1</sub>は2価の有機基を表す。2価の有機基R<sub>1</sub>は、2価の炭化水素基及びアミド基からなる群から選ばれることができる。2価の炭化水素基は、炭素数3～20の置換されていてもよいアルキレン基及び置換されていてもよいアリーレン基からなる群から選ばれることができる。例えば、2価の有機基R<sub>1</sub>は、アルキレン基とアリーレン基とがアミド基で連結された基でありうる。アリーレン基は、好ましくはフェニレン基である。nは、5～50、好ましくは15～35の整数を表す。

## 【0076】

## 【化1】



10

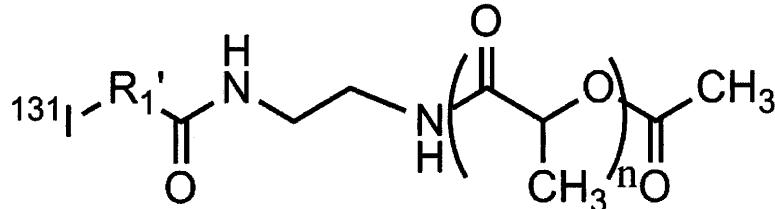
20

## 【0077】

上記のヨウ素131標識ポリ乳酸は、ヨウ素131含有基を有する活性エステルと、一方の端がアミノ化されたポリ乳酸とを反応させることによって合成することができる。なお、ヨウ素131含有基を有する活性エステルは、スズ含有カルボン酸をNa<sup>131</sup>I等のヨウ素化試薬によるスズヨウ素交換反応に供してヨウ素131標識し、さらに活性エステル化剤で活性エステル化することによって得ることができる。

上述の方法で合成可能なヨウ素131標識物質の構造のより具体的な例を下記式に示す。下記式中、上記の2価の有機基R<sub>1</sub>は-R<sub>1'</sub>C(=O)NH-C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>-で表されている。R<sub>1'</sub>は有機基を表す。2価の有機基R<sub>1'</sub>は、2価の炭化水素基でありうる。2価の炭化水素は、炭素数3～20の置換されていてもよいアルキレン基及び置換されていてもよいアリーレン基からなる群から選ばれることができる。アリーレン基は、好ましくはフェニレン基である。nは、5～50、好ましくは15～35の整数を表す。

## 【化2】



30

40

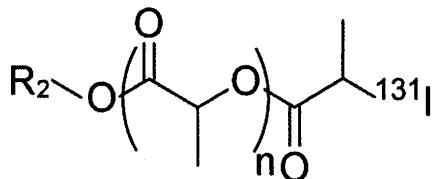
## 【0078】

また、ヨウ素131標識ポリ乳酸の構造の他の一例を下記式に示す。下記式中、R<sub>2</sub>は有機基を表す。有機基R<sub>2</sub>は、炭素数1～18の炭化水素でありうる。好ましくは、炭素数3～6の置換されていてもよいアルキル基及び置換されていてもよいアリール基からなる群から選ばれることができる。アリール基は、好ましくはフェニル基である。nは、5～50、好ましくは15～35の整数を表す。

50

【0079】

【化3】



10

【0080】

上記のヨウ素131標識ポリ乳酸は、一方の端がR<sub>2</sub>で保護されたポリ乳酸の他方の端をスルホン酸エステル（例えば、トリフルオロメタンスルホン酸エステルやパラトルエンスルホン酸エステル等）に変換し、Na<sup>131</sup>I等のヨウ素化試薬により131ヨウ素化反応を行うことによって合成することができる。

【0081】

[3-3. 線放出核種標識物質含有量]

本発明のシステムにおけるナノ粒子（線放出核種標識物質を有するナノ粒子）は、線放出核種標識物質を有しないナノ粒子との混合物の状態で調製される。本発明におけるナノ粒子（線放出核種標識物質を有するナノ粒子）の量は、線放出核種標識物質を有しないナノ粒子の量に比べてごくわずかである。

20

ナノ粒子混合物の調製にヨウ素131標識ポリ乳酸と両新媒性ブロックポリマーとが用いられる場合を挙げると、ヨウ素131標識ポリ乳酸と両新媒性ブロックポリマーとのモル比は、およそ1:10,000である。また、1個のナノ粒子は通常200分子程度の両新媒性ブロックポリマーから構成され、且つナノ粒子1個に対し通常1分子の線放出核種標識物質が内包される。従って、本発明におけるナノ粒子（線放出核種標識物質を有するナノ粒子）は、線放出核種標識物質を有しないナノ粒子およそ50個に対して1個存在しうる。

【0082】

[3-4. ナノ粒子の大きさ]

30

本発明におけるナノ粒子の大きさは、例えば粒子径10~500nm、好ましくは20~200nmである。ここで「粒子径」とは、粒子分布で最も出現頻度の高い粒径、すなわち中心粒径をいう。粒子径が10nmより小さいものは作成が難しく或いは血管病変部位への集積性が低くなる傾向にあり、500nmより大きいものは、生体内へ注射により投与する場合に注射剤として好ましくない場合がある。

【0083】

本発明におけるナノ粒子の大きさを測定するための方法は特に限定されるものではなく、当業者によって適宜選択されるものである。例えば、透過型電子顕微鏡（Transmission Electron Microscope; TEM）又は原子間力顕微鏡（Atomic Force Microscope; AFM）による観察法や、動的光散乱（Dynamic Light Scattering; DLS）法などが挙げられる。DLS法においては、溶液中でブラウン運動している粒子の移動拡散係数を測定する。

40

【0084】

ナノ粒子の大きさの制御方法の一例としては、両親媒性ブロックポリマーの長さを調節する方法が挙げられる。また、他の一例として、線放出核種標識物質が線放出核種標識ポリマーである場合、ポリマー基の長さを調節する方法が挙げられる。

【0085】

[3-5. ナノ粒子の形成]

ナノ粒子の作成法は特に限定されず、所望するナノ粒子の大きさ、特性、内包させる線放出核種標識物質の種類、性質、含有量などに応じて、当業者が適宜選択することがで

50

きる。必要に応じ、下記のようにナノ粒子を形成した後に、得られたナノ粒子に対して、公知の方法によって表面修飾を行っても良い。

なお、粒子が形成されたことの確認は、電子顕微鏡観察によって行うと良い。

【0086】

[3-5-1. フィルム法]

フィルム法は、リポソームの調製に用いられていた方法である。本発明における両親媒性ブロックポリマーは低沸点溶媒への溶解性を有するため、この方法を用いたナノ粒子の調製が可能である。

フィルム法は、次の工程を含む。すなわち、容器（例えばガラス容器）中に、両親媒性ブロックポリマーと 線放出核種標識物質とを有機溶媒中に含む溶液を用意する工程；前記溶液から前記有機溶媒を除去し、前記容器の内壁に両親媒性ブロックポリマーと 線放出核種標識物質とを含むフィルムを得る工程；及び、前記容器中に水又は水溶液を加え、超音波処理、加温処理、又はその両方の処理を行い、前記フィルム状物質を、 線放出核種標識物質を有する分子集合体に変換してナノ粒子の分散液を得る工程、を含む。さらに、フィルム法は、前記のナノ粒子の分散液を凍結乾燥処理に供する工程を含んでも良い。

【0087】

両親媒性ブロックポリマーと 線放出核種標識物質とを有機溶媒中に含む溶液は、両親媒性ブロックポリマーをあらかじめフィルムの状態でストックしておき、ナノ粒子調製時に、 線放出核種標識物質を含む溶液を加えてフィルムを溶解することによって調製してもよい。

【0088】

フィルム法に用いる有機溶媒としては、低沸点溶媒を用いることが好ましい。本発明における低沸点溶媒とは、1気圧における沸点が100以下、好ましくは90以下のものをいう。具体的には、クロロホルム、ジエチルエーテル、アセトニトリル、メタノール、エタノール、アセトン、ジクロロメタン、テトラヒドロフラン、ヘキサンなどが挙げられる。

両親媒性ブロックポリマー及び 線放出核種標識物質の溶解にこのような低沸点溶媒を使用することによって、溶媒の除去が非常に簡単になる。溶媒の除去の方法としては特に限定されることなく、使用する有機溶媒の沸点などに応じ、当業者が適宜決定すればよい。例えば、減圧下における溶媒除去を行ってもよいし、自然乾燥による溶媒除去を行ってもよい。

【0089】

有機溶媒が除去された後は、容器内壁に両親媒性ブロックポリマーと 線放出核種標識物質とを含むフィルムが形成される。このフィルムが張り付いた容器中に、水又は水溶液を加える。水又は水溶液としては特に限定されることなく、生化学的、薬学的に許容することができるものを当業者が適宜選択すればよい。例えば、注射用蒸留水、生理食塩水、緩衝液などが挙げられる。

【0090】

水又は水溶液が加えられた後、加温処理を行う。加温によりフィルムが容器内壁から剥がれる過程で分子集合体を形成する。加温処理は、例えば70～100、2～60分の条件下で行うことができる。加温処理終了時には、 線放出核種標識物質が内包された分子集合体（ナノ粒子）が前記の水又は水溶液中に分散された分散液が容器中に調製される。

【0091】

得られた分散液は、直接生体に投与されることが可能である。すなわち、無溶媒のナノ粒子そのものの状態で保存されなくてもよい。

一方、得られた分散液を凍結乾燥処理しても良い。凍結乾燥処理の方法としては公知の方法を特に限定されることなく用いることができる。たとえば、上記のようにして得られたナノ粒子の分散液を液体窒素などによって凍結させ、減圧下で昇華させることによって行うことができる。これにより、ナノ粒子の凍結乾燥処理物が得られる。すなわち、ナノ

10

20

30

40

50

粒子を凍結乾燥処理物として保存することが可能になる。必要に応じ、この凍結乾燥物に水又は水溶液を加えて、ナノ粒子の分散液を得ることによって、ナノ粒子を使用に供することができる。水又は水溶液としては特に限定されることなく、生化学的、薬学的に許容することができるものを当業者が適宜選択すればよい。例えば、注射用蒸留水、生理食塩水、緩衝液などが挙げられる。

【0092】

ここで、凍結乾燥処理前の分散液中には、両親媒性ブロックポリマーと 線放出核種標識物質とから形成された本発明のナノ粒子以外にも、そのようなナノ粒子の形成に寄与しなかった両親媒性ブロックポリマー及び／又は 線放出核種標識物質が各々それ自体として残存しうる。このような分散液を凍結乾燥処理に供すると、溶媒が濃縮される過程で、本発明のナノ粒子を形成せず残存していた両親媒性ブロックポリマーと 線放出核種標識物質とから、さらにナノ粒子を形成することが可能になる。従って、本発明のナノ粒子の調製を効率的に行うことが可能になる。

10

【0093】

[3-5-2. インジェクション法]

インジェクション法は、本発明のナノ粒子に限らず、他の多くのナノ粒子の調製に用いられる方法である。この方法においては、有機溶媒、例えばトリフルオロエタノール、メタノール、エタノール、ヘキサフルオロイソプロパノール、ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミドなどに、両親媒性ブロックポリマーと 線放出核種標識物質とを溶解し、得られた溶液を、注射用蒸留水、生理食塩水、緩衝液などの水系溶媒に分散させ、精製処理、例えばゲルろ過クロマトグラフィー、フィルタリング、超遠心などの処理を行った後、有機溶媒を除去することによってナノ粒子を調製することができる。このようにして得られたナノ粒子を生体内へ投与する場合であって、有機溶媒に生体に有害なものを用いた場合は、この有機溶媒の除去を厳密に行う必要がある。

20

【0094】

[3-6. ナノ粒子の投与]

本発明の治療システムの使用において、生体内へのナノ粒子の投与方法としては特に限定されず、当業者が適宜決定することができる。従って、投与方法としては、全身投与及び局所投与とを問わない。すなわち、ナノ粒子の投与は、注射（針有型、針無型）、点滴、内服、外用のいずれの方法によっても行うことができる。

30

【0095】

内照射治療薬としてのナノ粒子投与のタイミングは、経皮的局所療法によって新生血管が十分に誘導された後であることが好ましく、例えば、経皮的局所療法施術終了後1～168時間、又は12～72時間、例えば24時間とすることができます。

【0096】

内照射治療薬としてのナノ粒子の投与量は、分子イメージング用プローブを用いて、内照射治療を施すべき病変におけるナノ粒子の集積性を確認したうえで、当業者が適宜決定することができる。ナノ粒子の集積性の確認において好ましく用いられる分子イメージング用プローブは、項目2-1で述べたように、キャリア剤として、内照射治療薬剤としてのナノ粒子と同じキャリア剤と、キャリア剤の内包物として、分子イメージング用放射性同位体で標識された物質とを含むナノ粒子である。この場合における分子イメージング用プローブとしてのナノ粒子と、内照射治療薬としてのナノ粒子とはキャリア剤が同じであることから、集積性は同じとみなしてよい。

40

【0097】

本発明のシステムにおいて、内照射治療薬としてのナノ粒子は、投与対象となる個体種に応じ、病変における細胞や組織が破壊されるために十分であり且つその個体種が許容可能な放射線濃度で調製される。

本発明におけるナノ粒子は、例えば、従来の甲状腺がんやバセドウ病の治療に用いられる放射性ヨウ素131含有治療薬や、従来の悪性リンパ腫の治療に用いられるイットリウム90標識抗CD20抗体と同等の投与量とすることができます。

50

## 【0098】

本発明におけるナノ粒子は、病変部位に約0.25 MBq集積することで腫瘍増殖抑制効果が得られると考えられる。一方、マウス1匹(25g)当たり、15 MBqを超えて投与した場合は、放射線による副作用が大きくなり、マウスが死亡する場合がある。以上を含めて考慮すると、本発明のシステムをマウスに適用する場合、一回の使用量を10 MBq/kg～600 MBq/kgの放射能値となるようにナノ粒子を用意することができる。

## 【0099】

本発明におけるナノ粒子は、投与にあたり、製薬上許容しうる緩衝液、例えば注射用殺菌水(BWFⅠ)、リン酸塩緩衝食塩水、リソゲル液およびデキストロース溶液などにナノ粒子が溶解又は分散された注射液として調製されうる。注射液には、本発明におけるナノ粒子(線放出核種標識物質を有するナノ粒子)が、線放出核種標識物質を有しないナノ粒子およそ50個に対して1個の割合で含まれうる。

## 【実施例】

## 【0100】

以下に実施例を示し、本発明を具体的に説明するが、本発明は下記の実施例に制限されるものではない。

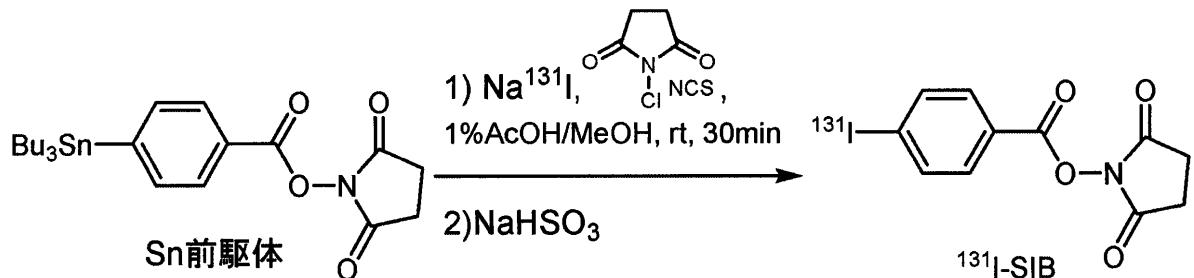
## 【0101】

[実験例1： $^{131}\text{I}$ -SIBの合成]

この実験例においては、スズ前駆体から $^{131}\text{I}$ -SIB(N-succinimidyl 4-[ $^{131}\text{I}$ ]iodobenzoate)の合成を行なった。

## 【0102】

## 【化4】



## 【0103】

4-Tributyltin benzoate succinimidyl ester(スズ前駆体)を、1(v/v)%酢酸を含むメタノール溶液に予め溶解しておき、 $\text{Na}^{131}\text{I}$ 水溶液(354.1 MBq)と混合した。混合直後は僅かに白濁状態になったが、攪拌するとすぐに無色透明溶液に戻った。ここにN-クロロスルシンイミド(NCS)のメタノール溶液を加えて室温下で反応させた。反応開始30分後、反応溶液に亜硫酸水素ナトリウムを加えてクエンチした後、得られた反応混合溶液の全量を逆相HPLCにインジェクションし、目的物の精製・回収を行った。この際のHPLCチャートを図1に示す。図1(a)には放射性同位体(すなわち $^{131}\text{I}$ )の溶出チャート(横軸:溶出時間(分)、縦軸:検出強度(mV))を、図1(b)には波長254 nmの物質(すなわちSIB)の溶出チャート(横軸:溶出時間(分)、縦軸:検出強度(mV))を示す。図1(a)において10.0～13.5分(網掛け表示部分)に、(b)において9.5～12.5分に溶出してきた物質が $^{131}\text{I}$ -SIBであり、この時間帯の溶出液を回収した。回収した溶液は水で10倍以上希釈してSep-Pak C18に供し、固相抽出のため約300  $\mu\text{L}$ のアセトニトリル溶液に溶出した。回収した $^{131}\text{I}$ -SIBの線量は163.5 MBq、すなわち収率は46.2%であった。

## 【0104】

## [実験例2：アミノ化ポリL-乳酸の合成]

本実験例では、L-ラクチド(化合物1)とN-カルボベンゾキシ-1,2-ジアミノ

10

20

30

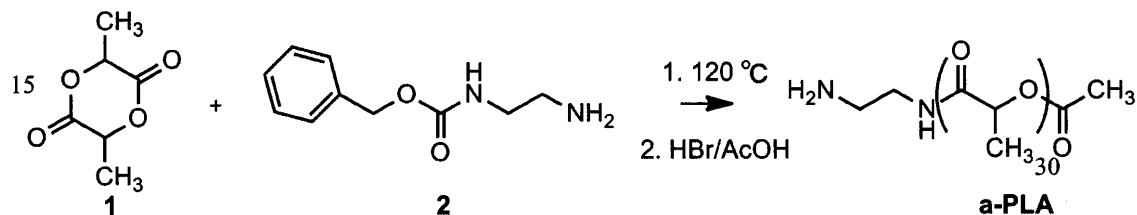
40

50

エタン塩酸塩（化合物2）とを用いて、アミノ化ポリL-乳酸（a-PLLA）を合成した。

【0105】

【化5】



【0106】

重合開始剤であるN-カルボベンゾキシ-1,2-ジアミノエタン塩酸塩（化合物2）（310 mg, 1.60 mmol）に、オクタン酸スズ（6.91 mg）をトルエン（1.0 mL）に拡散させたものを加えた。トルエンを減圧留去した後、L-ラクチド（化合物1）（3.45 g, 24 mol）を加え、Ar雰囲気下、120 °Cにて重合反応を行った。12時間後、反応容器を室温に空冷した。得られた黄白色固体を少量のクロロホルム（10 mL程度）に溶解させた。クロロホルムを冷メタノール（100 mL）に滴下することにより白色沈殿を得た。得られた白色沈殿は遠心分離により回収し、減圧乾燥した。

【0107】

得られた白色沈殿（500 mg）のジクロロメタン（1 mL）溶液に25v/v%臭化水素／酢酸（2.0 mL）を加え、遮光、乾燥空気下にて2時間攪拌した。反応終了後、反応溶液を冷メタノール（100 mL）に滴下し、析出してきた沈殿を遠心分離にて回収した。得られた白色沈殿はクロロホルムに溶解させた後、飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液にて洗浄し、無水MgSO<sub>4</sub>にて脱水操作を行った。セライト（R）濾過によりMgSO<sub>4</sub>を除去した後、真空乾燥することにより、白色のアモルファス状粉末のアミノ化ポリL-乳酸a-PLLA（440 mg）を得た。

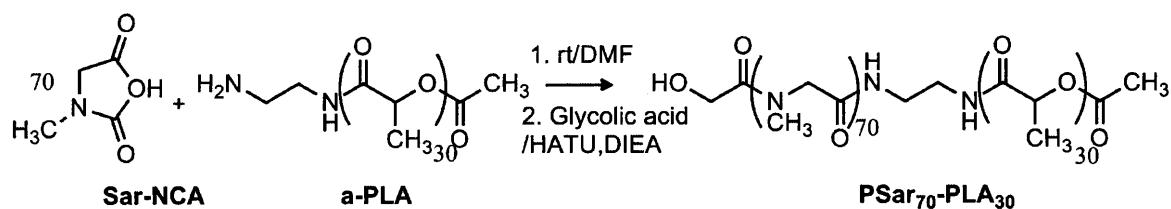
【0108】

【実験例3：ポリサルコシン-ポリ乳酸両親媒性ブロックポリマー（PSar<sub>70</sub>-PLA<sub>30</sub>）の合成】

本実験例では、サルコシン-NCA（Sar-NCA）とアミノ化ポリL-乳酸（a-PLLA）とから、ポリサルコシン-ポリ乳酸両親媒性ブロックポリマー（PSar<sub>70</sub>-PLA<sub>30</sub>）を合成した。

【0109】

【化6】



【0110】

a-PLLA（383 mg, 0.17 mmol）とサルコシン-NCA（Sar-NCA）（3.21 g, 27.9 mmol）に、Ar雰囲気下、ジメチルホルムアミド（DMF）（140 mL）を加え、室温にて12時間攪拌した。反応溶液を0 °Cに冷却した後、グリコール酸（72 mg, 0.95 mmol）、O-（ベンゾトリアゾル-1-イル）-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロリノ酸塩（HATU）（357 mg, 0.94 mmol）、及びN,N-ジイソプロピルエチルアミン（DIEA）（245 μL, 1.4 mmol）を加え、室温にて18時間反応させた。

10

20

30

40

50

ロータリーエバポレーターによりDMFを減圧溜去した後、LH20カラムにて精製を行った。UV270 nmにてピークが検出されたフラクションを回収・濃縮した。得られた濃縮溶液を0℃にてジエチルエーテル中に滴下し、再沈澱することにより、目的物であるPSar<sub>70</sub>-PLLA<sub>30</sub>(1.7 g)を得た。

## 【0111】

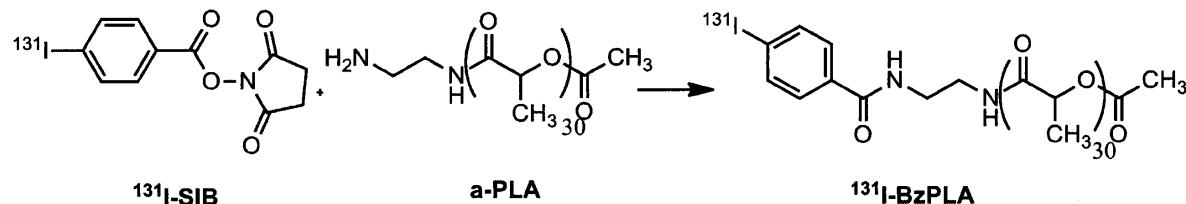
[実験例4: [<sup>131</sup>I]-PLLA<sub>30</sub>の合成]

この実験例においては、<sup>131</sup>I-SIBとアミノ化ポリL-乳酸a-PLLA<sub>30</sub>との縮合反応を行った。

## 【0112】

## 【化7】

10



## 【0113】

<sup>131</sup>I-SIBのアセトニトリル溶液300 μL (163.5MBq)に対し、a-PLLA<sub>30</sub> 1.5mgのDMSO溶液100~150 μLを加え、100℃で20分間加熱した。

20

縮合反応が終了した後、反応混合溶液をHPLCによるゲル浸透クロマトグラフィーに供し、目的物をHPLC分離・精製した。図2に、RIシグナルのチャート(横軸:溶出時間(分)、縦軸:検出強度(mV))を示す。7.5分~11.5分(網掛け表示部分)の領域に<sup>131</sup>I-BzPLLA<sub>30</sub>と帰属できる大きな溶出ピークが現れ、この領域の溶出液を回収した。得られた<sup>131</sup>I-BzPLLA<sub>30</sub>の線量は107.7 MBq、すなわち収率は30.4%であった。

## 【0114】

[実験例5: <sup>131</sup>I-lactosomeの粒子化]

実験例4で得た<sup>131</sup>I-BzPLLA<sub>30</sub>のアセトニトリル溶液を、9 mgのPSar<sub>70</sub>-PLLA<sub>30</sub>を使用したポリマーフィルムに混合し、80℃に加熱しながら空気を吹き付けることにより乾燥させ、<sup>131</sup>I-BzPLLA<sub>30</sub>とPSar<sub>70</sub>-PLLA<sub>30</sub>とを含むフィルムを調製した。得られたフィルムに生理食塩水を加え、85℃で2分間超音波処理し、<sup>131</sup>I標識ラクトソーム(<sup>131</sup>I-lactosome)の分散液を得た。

30

## 【0115】

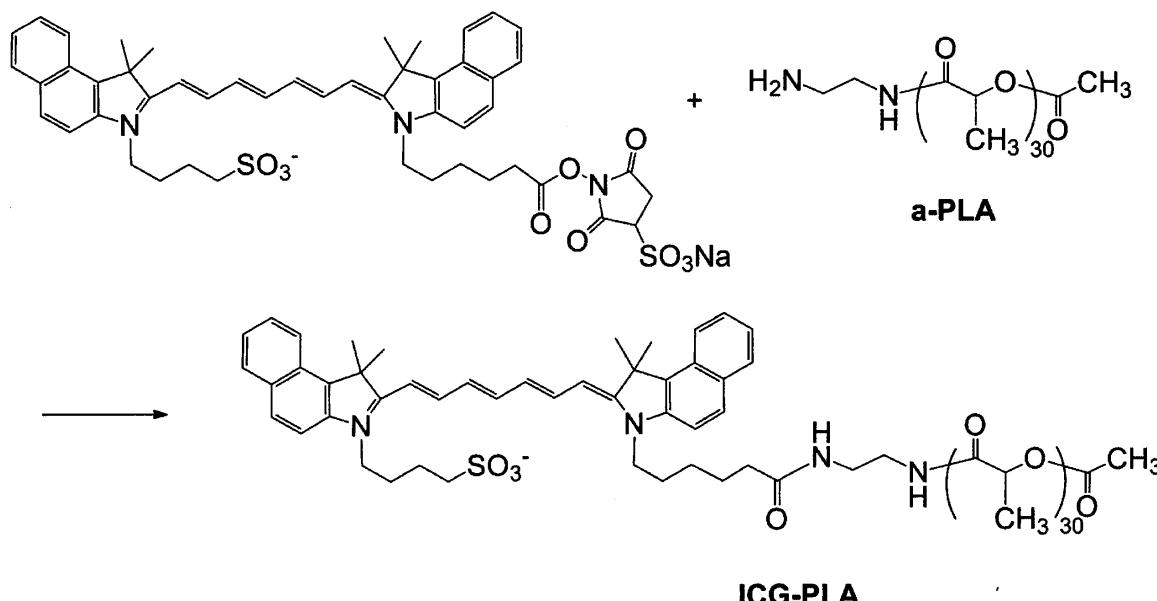
## [実験例6: ICG標識ポリ乳酸の合成]

アミノ化ポリL-乳酸(a-PLA)に蛍光色素ICG標識を行い、ICG標識ポリL-乳酸(ICG-PLLA<sub>30</sub>)を得た。具体的には、a-PLAを1.9 mg (1.0 eq)含むDMF溶液に、インドシアニングリーン誘導体(ICG-sulfo-OSu)1mg (1.3 eq)を溶かしたDMF溶液を加え、室温で約20時間攪拌した。その後、溶媒を減圧留去し、LH20カラムにて精製を行い、化合物ICG-PLLA<sub>30</sub>を得た。

40

## 【0116】

## 【化 8】



## 【0117】

20

## [実験例7：ICG標識ポリ乳酸内包ラクトソームの粒子化]

実験例3で得られたキャリア剤であるポリ乳酸-ポリサルコシン両親媒性ブロックポリマー (PSar<sub>70</sub>-PLLA<sub>30</sub> · 26H<sub>2</sub>O, MW=7767) のクロロホルム溶液 (0.2 mM) を調製した。また、実験例6で得られたICG標識ポリ乳酸 (PLA-ICG) のクロロホルム溶液 (0.2 mM) を調製した。蛍光色素ICGのモル濃度が20 mol%となるように、ガラス容器内で両溶液の混合液を調製した。その後、フィルム法に従ってラクトソームを作製した。なお、フィルム法は以下の通り行った。混合液から溶媒を減圧留去しガラス容器の壁面にキャリア剤及び蛍光色素を含むフィルムを形成させた。さらに、フィルムを形成したガラス容器内に、水または緩衝液を加え、温度82 °Cで20分間湯せんした後、室温で30分間放置し、0.2 μmのフィルターでろ過し凍結乾燥した。

30

## 【0118】

## [実験例8：ICG標識ポリ乳酸内包ラクトソームを用いた皮下がんの蛍光造影試験]

マウスがん細胞の皮下移植による担がんマウスを、次のように作成した。

動物は、Hairless SCID mice (オリエンタルバイオサービス) 7週齢を用い、ソムノペンチルにより麻酔した。マウス乳癌細胞株 (4T1) を、Gel trexマトリクスゲルに混合し、マウスの左胸乳腺に  $5 \times 10^5$  個 / 0.02 ml 皮下移植した。6日後にがん組織が 5 mm に成長した時点で吸入麻酔し、腫瘍部分に直接、無水エタノールを 0.05 ml 投与した。移植7日後に、マウスを下記造影試験に供した。

## 【0119】

40

上記担がんマウスをイソフルランにより麻酔し、その尾静脈から、分子プローブとして、内包量が20 mol%のICG-PLLA<sub>30</sub>内包ラクトソームの分散液を 0.05 ml (0.1 nmol/body) 投与した。ラクトソーム分散液の投与後、マウス全身の蛍光画像を経時的に撮影した。撮影は、全身を5方向、すなわち、マウスの左腹、左体側、背中、右体側及び右腹の全ての方向から行った。蛍光剤は785nmで励起して、845nm付近の蛍光を経時的に測定した。

## 【0120】

得られた画像を、Control群 (P E I Tしていない群；比較用) と比較して図3に示す。図3においては、上から、ラクトソームを尾静脈投与前 (before)、投与後15分、1時間、3時間、6時間、9時間、24時間及び48時間経過後のマウスを測定した結果を示す。図3においては、蛍光強度の高 (High) 低 (Low) を、色調を変化させることによって示している。

50

## 【0121】

図4に、画像から解析した蛍光強度の変化の結果を示す。具体的には、図4においては、Control群3匹及びP E I T群4匹について、腫瘍(tumor)、肝臓(liver)、腫瘍移植した乳腺の反対側(Background(breast))及び背中(Background(back))における光強度の変化(横軸:時間(time(h))、縦軸:光強度(Total Flux))が示される。

図4が示すように、Control群におけるラクトソームの腫瘍集積ピークは投与後9時間である一方、P E I T群におけるラクトソームの腫瘍集積ピークは投与後4.8時間であり、P E I T群においては腫瘍に集積したラクトソームがcontrol群に比べて2倍程度残っていることが分かった。

## 【0122】

10

[実験例9:  $^{131}\text{I}$ -lactosomeの体内分布測定結果]

マウスがん細胞の皮下移植による担がんマウスを、次のように作成した。

動物は、Hairless SCID mice(オリエンタルバイオサービス)7週齢を用い、ソムノペンチルにより麻酔した。マウス乳癌細胞株(4T1)を、Gel trexマトリクスゲルに混合し、マウスの左胸乳腺に $5 \times 10^5$ 個/0.02ml皮下移植した。6日後にがん組織が5mmに成長した時点で、P E I T群をソムノペンチルにより麻酔し、腫瘍部分に直接、無水エタノールを0.05ml投与した。移植7日後から剖検に供した。

## 【0123】

上記担がんマウスの尾静脈から、control群、P E I T群に $^{131}\text{I}$ -Lactosomeを7.5 kBq/0.1ml/body投与した。各群3匹ずつ用意した。投与後24時間、48時間、72時間、168時間後に剖検を行い、各臓器[臍臓(pancreas)、脾臓(spleen)、胃(stomach)、小腸(small intestine)、大腸(colon)、肝臓(liver)、腎臓(kidney)、肺(lung)、心臓(heart)、筋肉(muscle)、甲状腺(thyroid)、腫瘍(tumor)、骨(bone)、脳(brain)、血液(blood)]を試験管に回収し、カウンターにてI-131由来の放射能を測定した。各臓器の% ID/g(すなわち、% Injected dose/g)を図5に示す。ただし、胃と甲状腺については、重さで割っていない値を示す。図5の棒グラフにおいて、各臓器のcontrol群、及びP E I T群それぞれにおいて、左側から、投与後24時間、48時間、72時間、168時間後の結果を示している。

20

## 【0124】

図5から各臓器のI-131集積量には変化がないが、腫瘍(tumor)部分のみ、P E I T群では、投与後48時間、72時間でcontrol群の約3倍のI-131の集積が確認された。また、投与後168時間では、腫瘍部分の集積がcontrol群では0.04% Injected dose/gだったが、P E I T群では0.98% Injected dose/gとなり、I-131の集積量が高かった。

30

## 【0125】

[実験例10: マウス乳癌細胞株4T1細胞を用いた $^{131}\text{I}$ -lactosomeの抗癌作用試験]  
 $^{131}\text{I}$ -Lactosomeについて、抗がん作用試験をマウス乳癌細胞株の4T1細胞を用いて次のように行った。

## 【0126】

40

96 wellプレートに4T1細胞 $5 \times 10^2$  cell/0.1mlを、5% FBS-Dulbecco's modified Eagle mediumを用いて37℃で24時間培養し、 $^{131}\text{I}$ -Lactosomeをそれぞれ終濃度15.6~500 kBq/wellとなるように各Lactosome分散液を10μl加え、培養した。

## 【0127】

上記Lactosome分散液は、所定の各終濃度の $^{131}\text{I}$ -Lactosomeと、 $^{131}\text{I}$ -BzPLLA<sub>30</sub>を含まないPSar<sub>70</sub>-PLLA<sub>30</sub>のみからなる未標識Lactosomeとを含むものであり、 $^{131}\text{I}$ -Lactosomeと未標識Lactosomeとの合計量は、0.19 mg/wellであった。

## 【0128】

別途、5% FBS-Dulbecco's modified Eagle medium 90μlと細胞数測定試薬SF(ナカライトスク社製)10μlとを混合し、混合液を調製した。

## 【0129】

50

培養開始後 24、48、72 時間経過時に、各wellの上清を取除き、各wellに上記混合液 0.1 mlを加え、37℃で2時間放置した。その後、450 nmの吸収を測定し、薬剤を含まないコントロールと比較した。その結果を図6に示す。図6において、横軸は<sup>131</sup>I-Lactosome添加後の時間 (H)を表し、縦軸は生細胞数に依存した吸光度OD at 450nmを示す。<sup>131</sup>I-Lactosomeの濃度250kBq/well以上では、有意に、細胞増殖抑制作用があることが分かった。

#### 【0130】

なお、図6において、Lactosomeとは、未標識Lactosomeのみが添加されたものである。すなわち、0 kBq/wellであった。

#### 【0131】

#### [実施例1：<sup>131</sup>I-Lactosome投与 / P E I T併用によるマウスの抗腫瘍試験]

マウスがん細胞の皮下移植による担がんマウスを、次のように作成した。

動物は、Hairless SCID mice (オリエンタルバイオサービス) 6 - 7週齢を用い、ソムノペンチルにより麻酔し、マウス乳癌細胞株 (4T1) を、Gel trexマトリクスゲルに混合し、マウスの左胸乳腺に  $5 \times 10^5$  個/0.02 ml皮下移植した。6日後にがん組織が5 mmに成長した時点で、P E I T群をエーテル麻酔し、腫瘍部分に直接、無水エタノールを0.05 ml投与した。移植7日後から抗腫瘍試験に供した。

#### 【0132】

上記担がんマウスを、control群(比較用)、P E I T群(比較用)、P E I T + Lactosome群(比較用)、P E I T + NaI群(比較用)、及びP E I T + <sup>131</sup>I-Lactosome群に分けた。それぞれの群において、担がんマウスは5匹ずつ用意された。

上記担がんマウスの尾静脈から、control群(比較用)及びP E I T群(比較用)には生理食塩水を0.1 ml/body投与し、P E I T + Lactosome群(比較用)にはLactosomeを0.1 ml/body投与し、P E I T + NaI群(比較用)にはNaIを5MBq/0.1 ml/body投与し、P E I T + <sup>131</sup>I-Lactosome群には上記<sup>131</sup>I-Lactosomeを5MBq/0.1 ml/body投与した。上記P E I T + Lactosome群(比較用)におけるLactosomeは、<sup>131</sup>I-BzPLLA<sub>30</sub>を含まないものであり、PSar<sub>70</sub>-PLLA<sub>30</sub>のみからなるLactosomeであった。

#### 【0133】

投与後16日まで2~3日ごとに、腫瘍体積および体重を測定した。腫瘍体積の変化を図7に、体重変化を図8に示す。

#### 【0134】

なお、図7においては、腫瘍の大きさはノギスでの測定により、

$$\text{腫瘍体積} (\text{mm}^3) = \text{長径} \times (\text{短径})^2 \div 2$$

として算出し、

相対腫瘍体積(Relative Tumor Volume)は、投与日の腫瘍体積を1とし、

$$\text{相対腫瘍体積} = \text{腫瘍体積} (\text{測定日}) \div \text{腫瘍体積} (\text{投与日})$$

として示した。

#### 【0135】

また、図8においては、体重変化は投与日からの増減(g)を示し、

$$\text{体重増加} (\text{Body Weight Gain}) = \text{体重} (\text{測定日}) - \text{体重} (\text{投与日})$$

として示した。

#### 【0136】

統計は、J U M P の繰り返し計測(分散分析)を用い有意差検定を行った。図7の相対腫瘍体積において、P E I T群に比べ<sup>131</sup>I-Lactosomeを投与した群は有意に抗腫瘍効果が認められた。さらに、J U M P の繰り返し計測(分散分析)より、P E I T群とP E I T + <sup>131</sup>I-Lactosome群の有意差は、p < 0.0001であることが確認された。また、図8の体重増加から、<sup>131</sup>I-Lactosome投与による体重減少は見られなかった。

#### 【0137】

[参考例1：<sup>131</sup>I-Lactosome単独投与(5MBq/body)によるマウスの抗腫瘍試験 / P E I Tなし]

10

20

30

40

50

マウスがん細胞の皮下移植による担がんマウスを、次のように作成した。

動物は、Hairless SCID mice (オリエンタルバイオサービス) 6 - 7 週齢を用い、ソムノペンチルにより麻酔し、マウス乳癌細胞株 (4T1) を、Gel trex マトリクスゲルに混合し、マウスの左胸乳腺に $5 \times 10^5$  個/0.02 ml 皮下移植した。6日後にがん組織が5 mmに成長し、移植7日後から抗腫瘍試験に供した。

【0138】

上記担がんマウスを、control群、Lactosome群、NaI群、及び $^{131}\text{I}$  - Lactosome群に分けた。それぞれの群において、担がんマウスは5匹ずつ用意された。

上記担がんマウスの尾静脈から、control群には生理食塩水を0.1 ml /body投与し、Lactosome群にはLactosomeを0.1 ml /body投与し、NaI群にはNaIを5 MBq/0.1 ml /body投与し、 $^{131}\text{I}$  - Lactosome群には上記 $^{131}\text{I}$  - Lactosomeを5 MBq/0.1 ml /body投与した。上記Lactosome群におけるLactosomeは、 $^{131}\text{I}$ -BzPLLA<sub>30</sub>を含まないものであり、PSar<sub>70</sub>-PLLA<sub>30</sub>のみからなるLactosomeであった。

【0139】

実施例1と同様にして、投与後16日まで2~3日ごとに、腫瘍体積および体重を測定した。腫瘍体積の変化を図9に、体重変化を図10に示す。

相対腫瘍体積(Relative Tumor Volume)、及び体重増加 (Body Weight Gain)についても、実施例1と同様である。

【0140】

図9の相対腫瘍体積において、control群に比べ $^{131}\text{I}$ -Lactosomeを投与した群について抗腫瘍効果はやや見られたが、PET併用した実施例1と比べると、効果は弱いものであった。図10の体重増加から、 $^{131}\text{I}$ -Lactosome投与による体重減少は見られなかった。

【0141】

[参考例2： $^{131}\text{I}$  - Lactosome単独投与 (5MBq/body) によるマウスの抗腫瘍試験 / PETなし]

ヒトがん細胞の皮下移植による担がんマウスを、次のように作成した。

動物は、BALB/c nu/nu mice (SLC) 7週齢を用い、ソムノペンチルにより麻酔し、ヒトすい臓癌細胞 (Suit2) を、Gel trex マトリクスゲルに混合し、マウスの右腕皮下に $1 \times 10^6$  個/0.04 ml 皮下移植した。14日後にがん組織が5 mmに成長した時点で、抗腫瘍試験に供した。

【0142】

上記担がんマウスを、control群、Lactosome群、NaI群、 $^{131}\text{I}$  - Lactosome群にわけた。それぞれの群において、担がんマウスは8匹ずつ用意された。

上記担がんマウスの尾静脈から、control群には生理食塩水を0.1 ml /body投与し、Lactosome群にはLactosome分散液を0.1 ml /body投与し、NaI群にはNa $^{131}\text{I}$ 水溶液を5 MBq/0.1 ml /body投与し、 $^{131}\text{I}$  - Lactosome群には $^{131}\text{I}$  - Lactosome分散液を5 MBq/0.1 ml /body投与した。上記Lactosome群におけるLactosomeは、 $^{131}\text{I}$ -BzPLLA<sub>30</sub>を含まないものであり、PSar<sub>70</sub>-PLLA<sub>30</sub>のみからなるLactosomeであった。

【0143】

投与後13日まで2~3日ごとに、腫瘍体積を測定した。腫瘍体積の変化を図11に示す。なお、図11においては、腫瘍の大きさはノギスで測定し、

$$\text{腫瘍体積 (mm}^3\text{)} = \text{長径} \times (\text{短径})^2 \div 2$$

として算出し、

相対腫瘍体積(Relative Tumor Volume)は、群分け日の腫瘍体積を1とし、

$$\text{相対腫瘍体積} = \text{腫瘍体積 (測定日)} \div \text{腫瘍体積 (群分け日)}$$

として示した。また、腫瘍体積が $2,000\text{ mm}^3$ を超えるマウスが出てくる前の投与後13日までについてグラフ化を行った。図11において5 MBq/bodyの $^{131}\text{I}$  - Lactosomeの単独投与では抗腫瘍効果は弱いことが分かった。

【0144】

[参考例3： $^{131}\text{I}$  - Lactosome単独投与 (40MBq/body) によるマウスの抗腫瘍試験 / PET]

10

20

30

40

50

## 【Tなし】

ヒトがん細胞の皮下移植による担がんマウスを、次のように作成した。

動物は、B A L B /c nu/nu mice (S L C) 7週齢を用い、ソムノペンチルにより麻酔し、ヒトすい臓癌細胞 (Suit2) を、G e l t r e xマトリクスゲルに混合し、マウスの右腕皮下に $1 \times 10^6$ 個/0.04ml皮下移植した。13日後にがん組織が5 mmに成長した時点で、抗腫瘍試験に供した。

## 【0145】

上記担がんマウスを、control群、Lactosome群、NaI群、 $^{131}\text{I}$ -Lactosome群にわけた。それぞれの群において、担がんマウスは3匹ずつ用意された。

上記担がんマウスの尾静脈から、control群には生理食塩水を0.2ml/body投与し、Lactosome群はLactosome分散液を0.2ml/body投与し、NaI群にはNa $^{131}\text{I}$ 水溶液を40MBq/0.2ml/bodyを $^{131}\text{I}$ -Lactosome群は $^{131}\text{I}$ -Lactosome分散液を40MBq/0.2ml/body投与した。上記Lactosome群におけるLactosomeは、 $^{131}\text{I}$ -BzPLLA<sub>30</sub>を含まないものであり、PSar<sub>7</sub>-PLLA<sub>30</sub>のみからなるLactosomeであった。

## 【0146】

投与後15日まで2~3日ごとに、腫瘍体積及び体重を測定した。腫瘍体積の変化を図12に、体重変化を図13に示す。

## 【0147】

なお、図12においては、腫瘍の大きさはノギスで測定し、  
腫瘍体積 (mm<sup>3</sup>) = 長径 × (短径)<sup>2</sup> ÷ 2

として算出し、

相対腫瘍体積 (Relative Tumor Volume) は、投与日の腫瘍体積を1とし、  
相対腫瘍体積 = 腫瘍体積 (測定日) ÷ 腫瘍体積 (投与日)  
として示し、投与後15日までについてグラフ化を行った。

## 【0148】

また、図13においては、体重変化は投与日からの増減(g)を示し、  
体重増加 (Body Weight Gain) = 体重 (測定日) - 体重 (投与日)  
として示した。

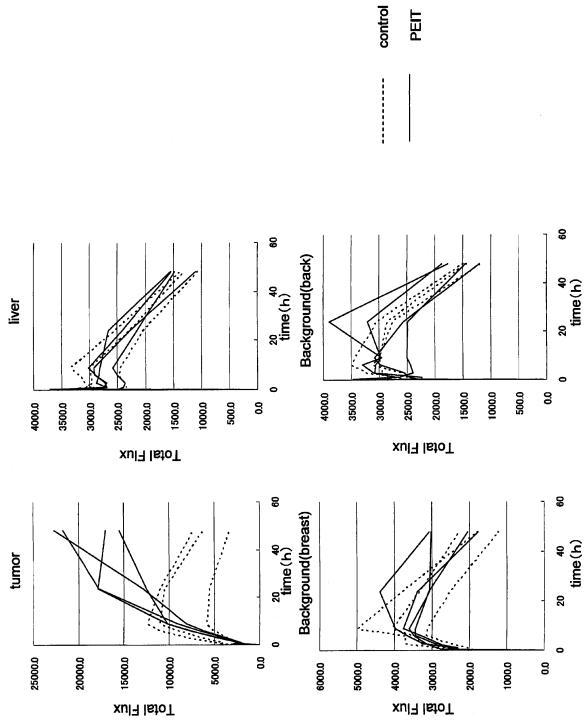
## 【0149】

統計は、J U M P の繰り返し計測 (分散分析) を用い有意差検定を行った。図12より、control群に比べ $^{131}\text{I}$ -Lactosome群において抗腫瘍効果が確認された。J U M P の繰り返し計測 (分散分析) より、有意差も確認できた。しかしながら、図13より $^{131}\text{I}$ -Lactosome投与による体重減少が見られたため、放射線による副作用が生じたことが考えられる。

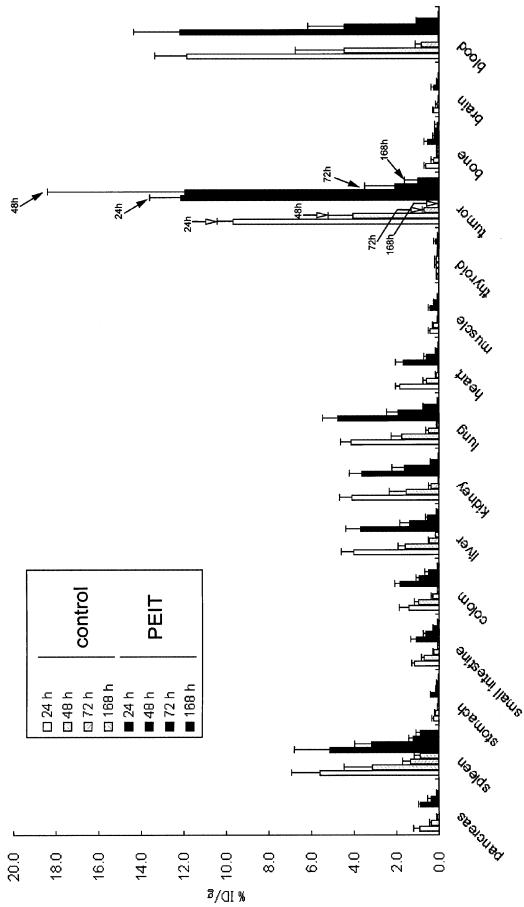
## 【0150】

以上の実施形態では、直鎖構造の両親媒性ブロックポリマーから構成されたラクトソームナノ粒子の例を示した。両親媒性ブロックポリマーの親水性ブロックを分岐した構造としてもよい。親水性ブロックを直鎖構造に代えて分岐構造とすれば、コア/シェル構造の親水性シェル部の稠密度が増すので、より少ないサルコシン単位の数でも、ナノ粒子を構成することができる。また、より小さな粒径のラクトソームナノ粒子が得られやすい。

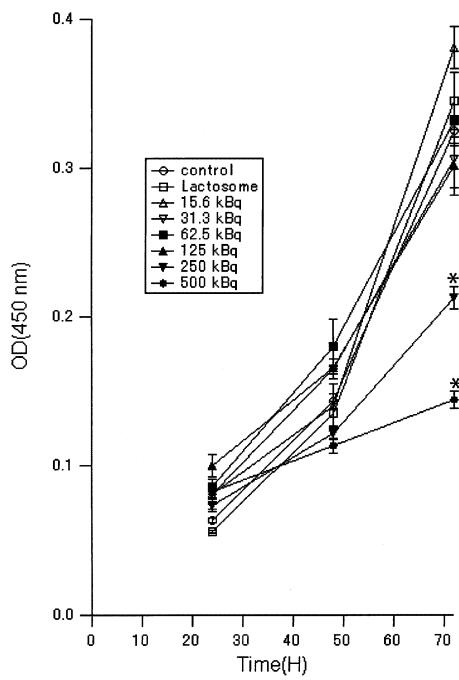
【図4】



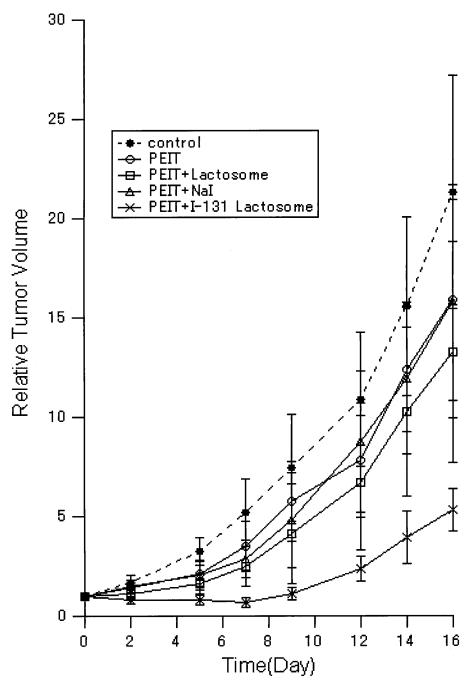
【図5】



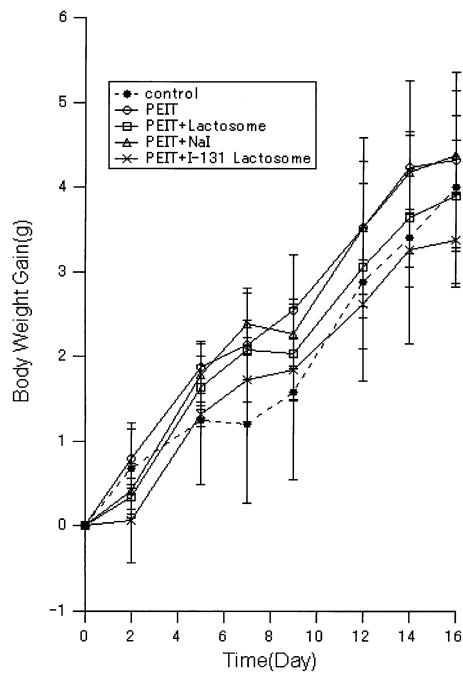
【図6】



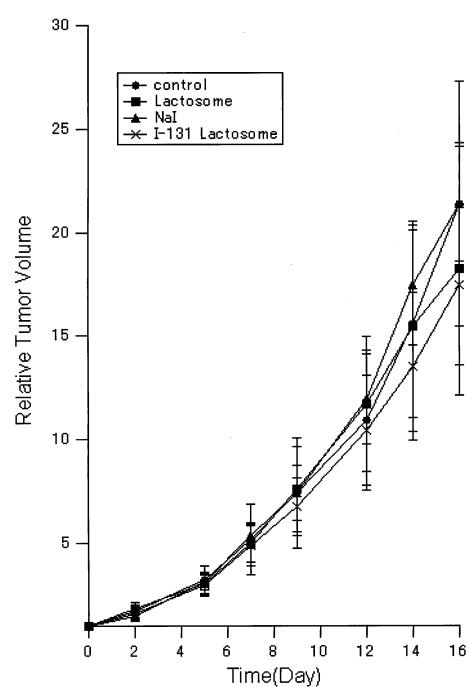
【図7】



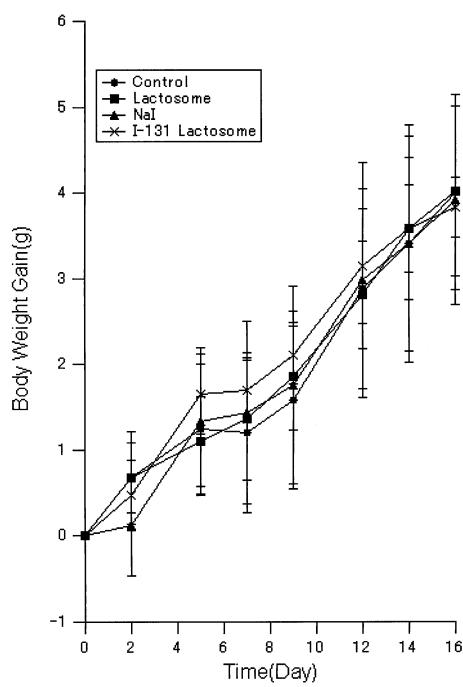
【図8】



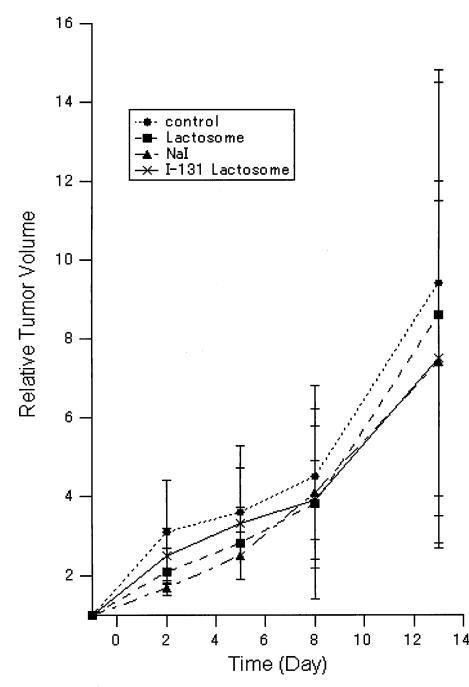
【図9】



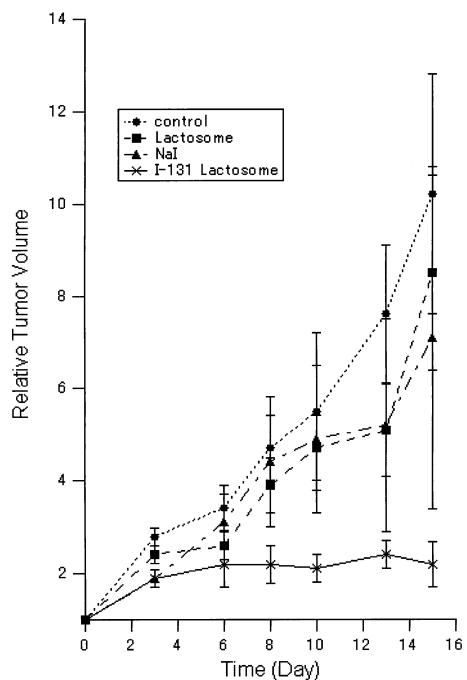
【図10】



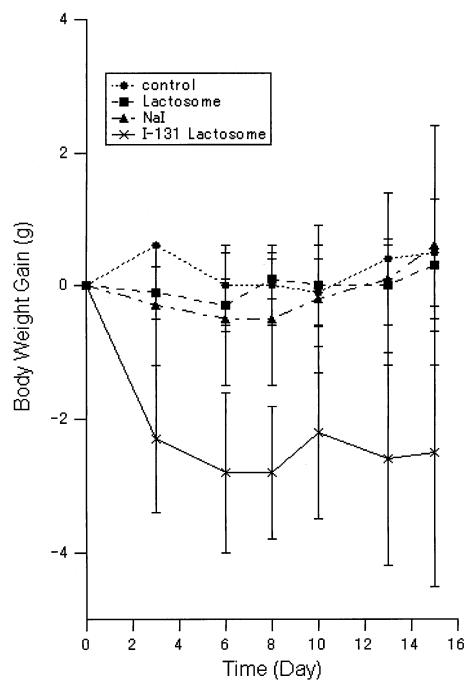
【図11】



【図1-2】

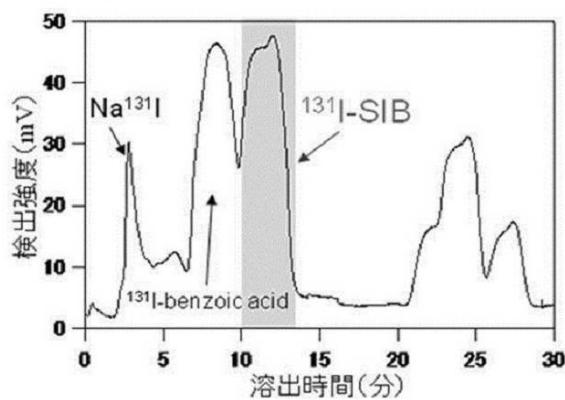


【図1-3】

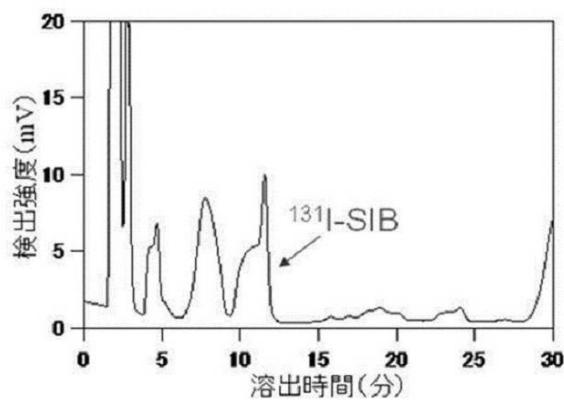


【図1】

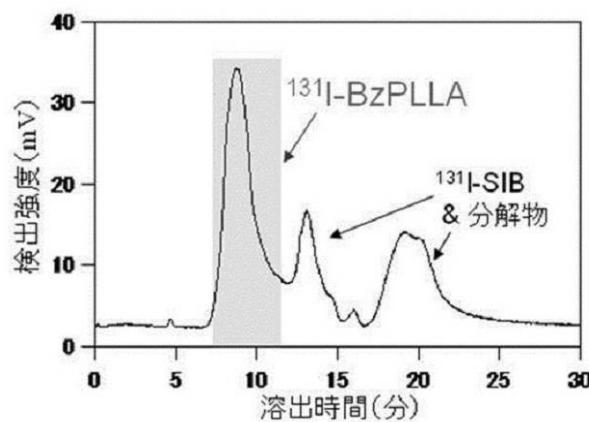
(a) Radioactivity



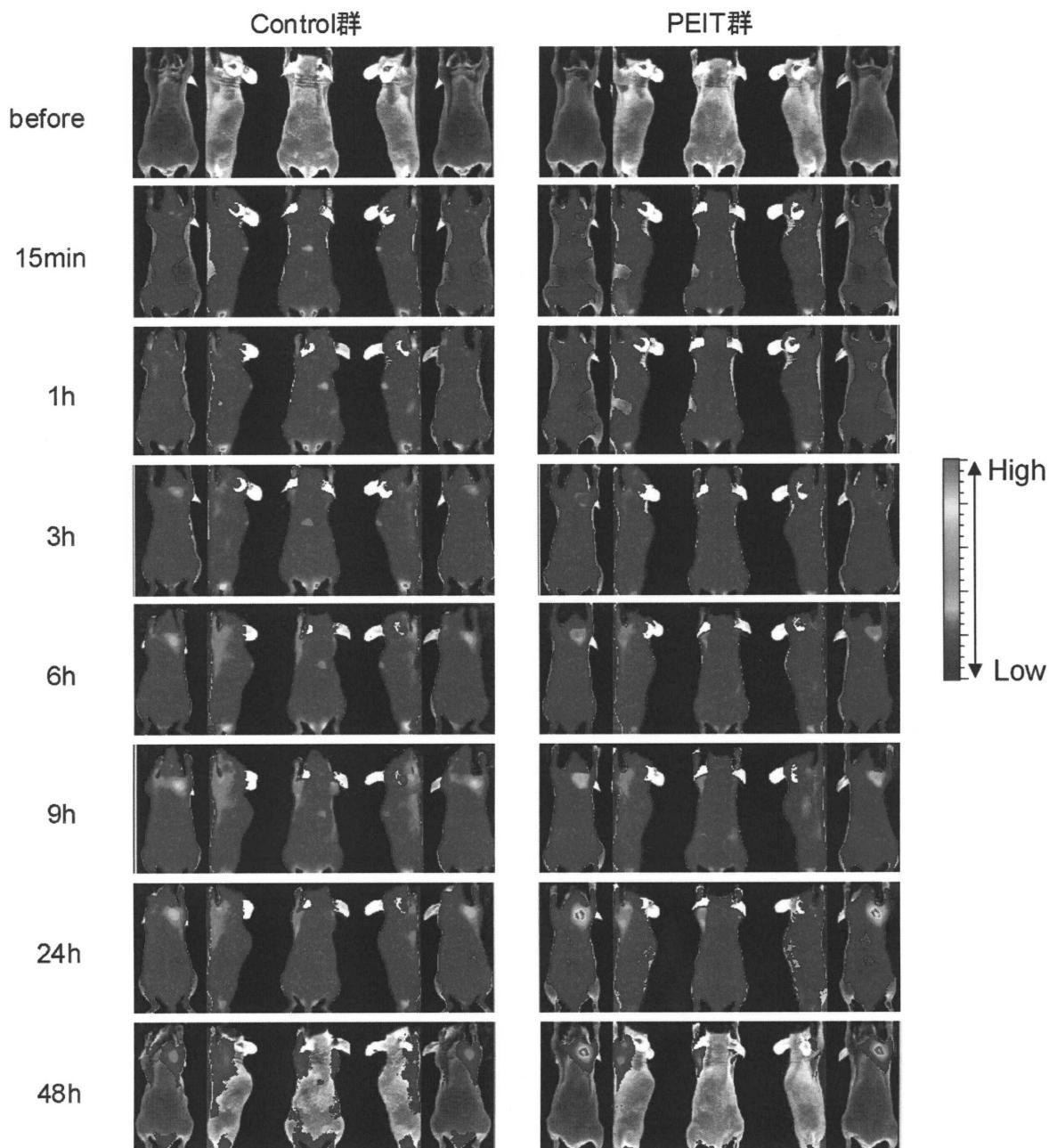
(b) UV (254 nm)



【図2】



【図3】



---

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		
A 6 1 K	31/765	(2006.01)	A 6 1 B	6/03 3 6 0 J
A 6 1 K	31/785	(2006.01)	A 6 1 K	31/765
			A 6 1 K	31/785

(72)発明者 山原 亮  
京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所内

(72)発明者 小関 英一  
京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所内

(72)発明者 木村 俊作  
京都府京都市西京区京都大学桂 国立大学法人京都大学大学院工学研究科内

(72)発明者 栗原 研輔  
京都府京都市左京区聖護院川原町54 国立大学法人京都大学医学部附属病院内

審査官 深草 亜子

(56)参考文献 国際公開第2009/148121 (WO, A1)  
特表2011-506343 (JP, A)  
国際公開第2011/099524 (WO, A1)  
特開2009-045251 (JP, A)  
特開2008-253585 (JP, A)  
栗原研輔他, 新規ナノキャリア、ラクトソームを用いた脳腫瘍同所移植モデルマウスにおける経口イメージングおよび病理組, Drug Delivery System, 2010年, Vol.25, No.3, p.315 2-D-1  
9  
Reactive and Functional Polymers, 2011年 3月, Vol.71, p.272-279

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 51 / 0 0