

水性ゲル被覆型バルーンカテーテルを用いた局所投与方法による Argatroban 血管壁内濃度

Change in Argatroban Concentration Within the Vessel Wall After Local Administration Using Hydrogel-Coated Balloon Catheter

今西 敏雄
有田 幹雄
椎崎 和弘
大森 久司
浜田 昌範
羽野 卓三
西尾 一郎
友淵 佳明*¹
中井 弘司*²

Toshio IMANISHI, MD
Mikio ARITA, MD
Kazuhiro SHIIZAKI, MD
Hisashi OHMORI, MD
Masanori HAMADA, MD
Takuzo HANO, MD
Ichiro NISHIO, MD, FJCC
Yoshiaki TOMOBUCHI, MD*¹
Kouji NAKAI, PhD*²

Abstract

Acute coronary occlusion after percutaneous transluminal coronary angioplasty is one of the major problems in coronary intervention. This study evaluated the hydrogel-coated balloon delivery of argatroban to the arterial wall and argatroban persistence after angioplasty in 17 rabbits. A hydrogel-coated balloon was immersed three times in argatroban/saline solution (1 mg/ml) and inflated at 6 atm pressure for 1 min in the common carotid artery. The transfer of argatroban to the vascular wall was measured by high-performance liquid chromatography. The concentrations of argatroban at 0, 5, and 15 min after deflation were 14.8, 4.2, and 3.9 nmole/g wet weight. The hydrogel-coated balloon catheter can deliver argatroban to the local arterial wall during balloon inflation.

Key Words

blood coagulation, anticoagulants, drug administration (local drug delivery), hydrogel-coated balloon catheter

はじめに

経皮的冠動脈形成術 (percutaneous transluminal coronary angioplasty: PTCA) 後の急性冠閉塞は、慢性期再狭窄などととも PTCA の合併症の中でも最も大きな問題の一つであり、不安定狭心症を含めた狭心症に対する PTCA の 2-10% にこのような冠閉塞が発生すると報告されている¹⁻³⁾。

冠動脈内血栓と PTCA 後の急性冠閉塞の関連については、PTCA 施行前に標的病変部位に血栓を認める例

で急性閉塞を起こしやすいとの報告がある⁴⁾。また不安定狭心症や急性心筋梗塞では、冠動脈内視鏡上、非常に高率に冠動脈内血栓を認めるという報告がある⁵⁾。これらの報告は、不安定狭心症や急性心筋梗塞などの急性虚血症候群 (acute ischemic syndrome)⁶⁾ の病態に対して PTCA を施行する際、血栓形成に対する予防処置を講ずることの重要性を示唆するものと考えられる。また、トロンピンはフィブリン形成、血小板活性化および第 XIII 因子活性化作用により、血栓形成において重要な役割を果たすことが知られている⁷⁾。

和歌山県立医科大学 循環器内科, *¹高度集中治療センター: 〒640 和歌山市七番丁 27; *²三菱化学株式会社
Department of Cardiology and *¹Critical Care Medical Center, Wakayama Medical College, Wakayama; *²Mitsubishi Chemical Industry
Address for reprints: IMANISHI T, MD, Department of Cardiology, Wakayama Medical College, Nanabancho 27, Wakayama 640
Manuscript received November 17, 1995; revised January 23, 1996; accepted February 21, 1996

一方、最近 PTCA 施行部位への局所投与方法として、水性ゲル被覆型バルーンカテーテルの有用性が指摘されている⁸⁾。このバルーンは表面が水性ゲルという特殊な膜で覆われており、そのゲルの中にスポンジが水分を吸収する機序と同様に、水溶性薬剤を捕捉し、バルーンを1-2分間血管壁に圧着することで中膜平滑筋層まで薬剤を投与することが可能であることが証明されている⁹⁾。本研究では特異的抗トロンビン阻害薬である argatroban をこのカテーテルを用いて血管壁へ局所投与し、血管壁の薬剤濃度を測定し、この方法の妥当性を検討した。

対象と方法

日本在来白色種家兎 17羽 (平均体重 2.2 kg) を対象とした。

1. Argatroban 吸着量の測定

水性ゲル被覆型バルーンカテーテル (6本) への argatroban 吸着は、バルーンを 10 mg/10 ml の argatroban 濃縮溶液に 60 秒間浸し、5 分間自然乾燥させるという操作を 3 回繰り返して行った。Argatroban 吸着量の測定は生理食塩水 2 ml を含むガラスチューブ内でインフレーションし、その溶液をメタノール 5 ml に調整し、その 100 μ l を高速液体クロマトグラフィーに注入、UV 260 nm で測定した。各水性ゲル被覆型バルーンカテーテルで argatroban 吸着量の測定を 3 回行った。

2. 血管壁 argatroban 濃度の測定

上記方法により argatroban を吸着させた水性ゲル被覆型バルーンカテーテルを用いて、外頸動脈アプローチにより総頸動脈を 6 気圧、60 秒間インフレーションし、血管壁障害を加えた。バルーン接触部位の血管を動脈拡張終了直後 ($n=9$)、5 分後 ($n=4$)、15 分後 ($n=4$) に摘出し、クロマトグラフィー蛍光法を用い血管壁 argatroban 濃度を測定した。すなわち、血管付着物を除去し、血管壁を均質化し、80% メタノールで除蛋白化し、3,000 回転、10 分間遠心分離した。上清を 50°C で窒素気流下に乾固、フィルター濾過し、高速クロマトグラフィーに 100 μ l 注入し、EX (excitation) 330 nm に対する Em (emission) 400 nm で検出した。クロマトグラフィーの測定限界は 0.03 μ g であった。

結 果

1. Argatroban 吸着量

水性ゲル被覆型バルーンカテーテルへの argatroban 吸着量は $6.85 \pm 2.82 \mu\text{g}$ (平均 \pm 標準偏差) であった (Fig. 1)。2 回目以降の溶液中には argatroban は検出されず、カテーテルに吸着した argatroban は 1 回のインフレーションでほぼ完全に放出されることが示された。

2. 血管壁への移行度および時間的变化

バルーンへの argatroban 吸着量 6.85 μ g に対し、動脈拡張直後の血管壁 argatroban 量が 0.10 μ g であったことより、argatroban 局所投与の血管壁への移行度は $1.47 \pm 1.28\%$ と計算された (Table 1)。また、動脈拡張終了直後、5 分後、15 分後の血管壁 argatroban 濃度はおのおの 14.8 ± 10.9 , 4.2 ± 3.1 , $3.9 \pm 4.0 \text{ nmole/g} \cdot \text{wet weight}$ であった (Fig. 2)。

考 察

PTCA 後の急性冠閉塞は臨床上重要な問題となっている¹⁻³⁾。PTCA による血管壁障害は凝固系を活性化し、血管壁障害部位にトロンビンが蓄積する。トロンビンは第 V および第 VIII 因子に対する正のフィードバック機序を有し、血管壁障害部位に大量のトロンビンが蓄積することとなる。こうして血管壁障害部位に大量に蓄積されたトロンビンは、フィブリノーゲンを切断してフィブリン血栓の形成を促進する作用、血小板活性化および第 XIII 因子活性化作用などにより、血栓形成の中心的役割を果たす。今回、我々が用いた argatroban は選択的トロンビン阻害薬で、トロンビンの活性部位に競合的に作用する⁹⁾。

この argatroban は天然阻止物質がなく、また分子量も小さいのでフィブリン結合トロンビンにも作用し、確実に抗トロンビン作用が働いて血栓の成長を阻止しうる。また、heparin では予防できない血小板の豊富な血栓を argatroban が抑制したとの報告¹⁰⁾もある。実際、特異的トロンビン阻害薬の全身投与により、バルーン障害後の血栓形成が抑制されることは、種々の動物実験で証明されている^{11,12)}。しかしながら、全身投与の場合、出血などの副作用が報告され^{13,14)}、臨床上大きな問題となっている。したがって、血管壁局所に高濃度の薬物を作用させ、全身への影響がほとんどない血

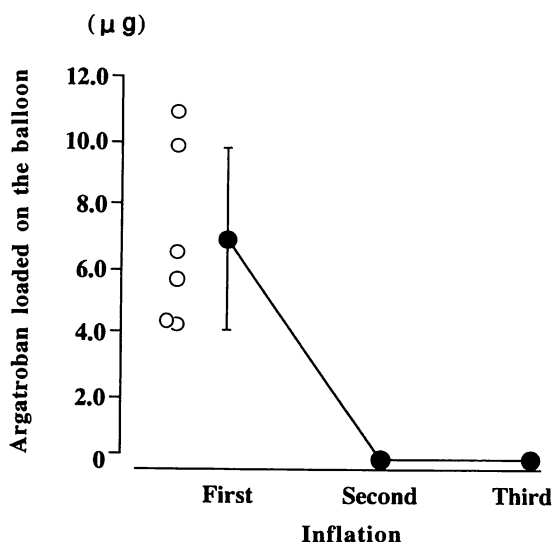


Fig. 1 Argatroban loaded on the hydrogel-coated balloons

Argatroban loaded on the hydrogel-coated balloon catheters was determined by high-performance liquid chromatography by inflating the balloons three times in a glass tube. The lower limit of detection of argatroban in the high-performance liquid chromatography system was 0.03 μg. Data are shown as mean ± standard deviation (SD).

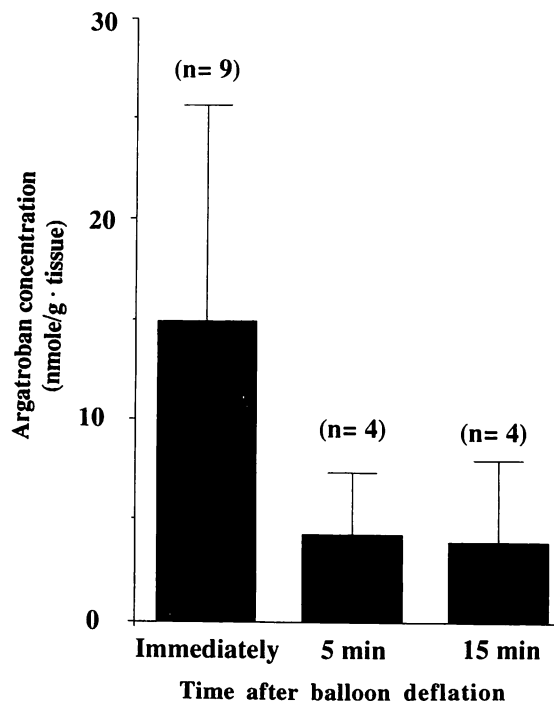


Fig. 2 Argatroban transfer and persistence on the arterial wall

Data are shown as mean ± SD. Abbreviation as in Fig. 1.

Table 1 Transfer of argatroban to the vascular wall

Cases	Concentration (nmole/g·tissue)	Transfer of argatroban (%)
1	4.4	0.54
2	6.4	0.67
3	25.8	2.16
4	6.8	0.50
5	9.5	0.79
6	9.3	0.86
7	32.6	3.18
8	10.0	0.64
9	28.8	3.85
Mean ± SD	14.8 ± 10.9	1.47 ± 1.28

Abbreviation as in Fig. 1.

管壁局所投与法を確立することの臨床的意義は大きいと考えられる。

これまで動物実験で薬物局所投与の有効性が確認されているカテーテルは、二重バルーンカテーテル (double balloon catheter)¹⁴⁾、多孔性バルーン注入カテーテル (porous balloon infusion catheter)^{15,16)}、および本研究に用いた水性ゲル被覆型バルーンカテーテルの3種類である。二重バルーンカテーテルは2つのバルーンの間閉鎖空間を作り、そこに100–400 mmHgの圧をかけて水溶性薬剤を注入する。低圧で施行するため血

管壁を障害することは少ないが、薬物は中膜深層まで到達しない。また約30分間血流を遮断して注入する必要があり、このままの型では臨床応用に適さない。第2の多孔性バルーン注入カテーテルは2–5気圧、8–60秒で水溶性薬剤を血管壁に注入することが可能で、中膜全層に薬物を注入することができる。比較的短時間で薬物を注入できるため臨床応用が可能と思われるが、高い圧をかけて溶液を注入すると、中膜壊死など、血管壁の構築が破壊される恐れがあり¹⁷⁾、カテーテル操作に熟練を要する。

今回使用した水性ゲル被覆型バルーンカテーテルは、バルーン表面の水性ゲルの中に水溶性薬剤が捕捉され、バルーンを膨張させて1–5分間、血管壁に圧着することにより、内皮細胞だけでなく、中膜平滑筋層まで薬剤を注入することが可能である。8気圧程度のインフレーション圧では中膜平滑筋層に組織構築の変化は認められない。更にこの方法は、通常のPTCA操作と平行して水溶性薬剤を注入できるという利点がある。したがって臨床応用を考慮した場合、血管壁局所投与法として本法が適していると考えられる。

今回我々は、このカテーテルを用いて argatroban の血管壁への移行度を検討したが、その結果は約1.5%

と低率であった。これはこのカテーテルを血管拡張部位へ進める際、その表面に吸着された argatroban が血流により洗い流されたためと推察された。したがって、本法を臨床応用するためには、保護鞘 (protective sheath) を併用し、カテーテルを血管壁局所に適用するまで血流を遮断する必要があると思われた。また、argatroban 濃度の血管壁での滞留量を検討した結果、動脈拡張終了直後、5 分後、15 分後の血管壁 argatroban 濃度はおのおの平均 14.8, 4.2, 3.9 nmole/g·wet weight であった。血管の比重を 1 と仮定した場合、nmole/g は μM で置換される。したがって argatroban の *in vitro* のトロンビン活性に対する K_i 値は 0.019–0.039 μM である^{9,18)} ことより、15 分後でも高濃度の argatroban が

血管壁に滞留していることが示唆され、本法は血管壁局所に高濃度の argatroban を作用させる上で、有効な投与方法であると考えられた。

結 論

水性ゲル被覆型バルーンカテーテルを用いた argatroban 投与法は、血管壁局所に薬剤を高濃度作用させる点で有効であった。また、このカテーテルを用いた局所投与法は、その抗トロンビン作用により、冠動脈内血栓がその成因に深く関与する不安定狭心症や急性心筋梗塞に対して PTCA を施行する場合、補助手段となる可能性が示唆された。

要 約

トロンビンの特異的阻害薬である argatroban を水性ゲル被覆型バルーンカテーテルを用いて血管内に局所投与し、血管壁 argatroban 濃度を検討した。対象は家兎 17 羽で、argatroban 濃縮溶液 (1 mg/ml) に水性ゲル被覆型バルーンカテーテルを 60 秒間浸し、5 分間自然乾燥する操作を 3 回繰り返して、argatroban を吸着させた。このバルーンカテーテルを用い、外頸動脈アプローチにより、総頸動脈内で動脈拡張 (6 atm, 60 sec) を行った。その後、バルーン接触部位の血管を摘出し、血管壁 argatroban 濃度を高速液体クロマトグラフィー蛍光法で測定した結果、動脈拡張終了直後 ($n=9$)、5 分後 ($n=4$)、15 分後 ($n=4$) における濃度はおのおの平均 14.8, 4.2, 3.9 nmole/g·wet weight であった。血管内において argatroban を高濃度作用させるためには、水性ゲル被覆型バルーンカテーテルを用いた局所投与法が有効であり、不安定狭心症や急性心筋梗塞に対して経皮的冠動脈形成術を施行する際、補助手段となる可能性が示唆された。

J Cardiol 1996; 27: 267–271

文 献

- 1) Detre KM, Holmes DR, Holubkov R, Cowley MJ, Bourassa MG, Faxon DD, Dorros GP, Bentivoglio LB, Kent KM, Myler RK, Coinvestigators of the NHLBI PTCA Registry: Incidence and consequences of periprocedural occlusion. *Circulation* 1990; **82**: 739–749
- 2) Hollman J, Gruentzig AR, Douglas JS Jr, King SB III, Ischinger T, Meier B: Acute occlusion after percutaneous transluminal coronary angioplasty: A new approach. *Circulation* 1983; **68**: 725–732
- 3) Simpfendorfer C, Belardi J, Bellamy G, Galan K, Franco I, Hollman J: Frequency, management, and follow-up of patients with acute coronary occlusion after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Am J Cardiol* 1989; **59**: 267–269
- 4) Ellis SG, Roubin GS, King SB III, Douglas JS, Weintraub WS, Thomas RG, Cox WR: Angiographic and clinical predictors of acute closure after native vessel coronary angioplasty. *Circulation* 1988; **77**: 372–379
- 5) Mizuno K, Satomura K, Miyamoto A, Arakawa K, Shibuya T, Arai T, Kurita A, Nakamura H, Ambrose JA: Angioscopic evaluation of coronary-artery thrombi in acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 1992; **326**: 287–291
- 6) Fuster V, Badimon L, Badimon J, Chesebro JH: Mechanism of disease: I. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 1992; **326**: 242–250
- 7) Hemker HC, Kessels H: Feedback mechanism in coagulation. *Haemostasis* 1992; **21**: 189–196
- 8) Riessen R, Rahimideh H, Blessing E, Takeshita S, Barry JJ, Isner JM: Arterial gene transfer using pure DNA applied directly to a hydrogel-coated angioplasty balloon. *Hum Gene Ther* 1993; **4**: 749–758
- 9) Okamoto S, Hijikata A, Kikumoto R, Tonomura S, Hara H, Ninomiya K, Maruyama A, Sugano M, Tamao Y: Potent inhibition of thrombin by the newly synthesized derivative No. 805: The importance of stereostructure of its hydrophobic carboxamide portion. *Biochem Biophys Res Commun* 1981; **101**: 440–446

- 10) Jang I-K, Gold HK, Ziskind AA, Leinbach RC, Fallon JT, Collen D : Prevention of platelet-rich arterial thrombosis by selective thrombin inhibition. *Circulation* 1990; **81** : 219–225
- 11) Heras M, Chesebro JH, Webster MWI, Mruk JS, Grill DE, Penny WJ, Bowie EJW, Badimon L, Fuster V : Hirudin, heparin, and placebo during deep arterial injury in the pig : The in vivo role of thrombin in platelet-mediated thrombosis. *Circulation* 1990; **82** : 1476–1484
- 12) Heras M, Chesebro JH, Penny WJ, Bailey KR, Badimon L, Fuster V : Effects of thrombin inhibition on the development of acute platelet-thrombus deposition during angioplasty in pigs : Heparin versus recombinant hirudin, a specific thrombin inhibitor. *Circulation* 1989; **79** : 657–665
- 13) Serruys PW, Herrman JPR, Simon R, Rutsch W, Bode C, Laarman GJ, van Dijk R, van den Bos AA, Umans VAWM, Fox KAA, Close P, Deckers JW : A comparison of hirudin with heparin in the prevention of restenosis after coronary angioplasty. *N Engl J Med* 1995; **333** : 757–763
- 14) Bitll JA, Stony J, Brinker JA, Ahmed WH, Meckel CR, Chaitman BR, Maraganore J, Deutsch E, Adelman B : Treatment with bivalirudin (hirulog) as compared with heparin during coronary angioplasty for unstable or postinfarction angina. *N Engl J Med* 1995; **333** : 764–769
- 15) Goldman B, Blanke H, Wolinsky H : Influence of pressure on permeability of normal and diseased muscular arteries to horseradish peroxidase. *Atherosclerosis* 1987; **65** : 215–225
- 16) Wolinsky H, Thung SN : Use of a perforated balloon catheter to deliver concentrated heparin into the wall of the normal canine artery. *J Am Coll Cardiol* 1990; **15** : 475–481
- 17) Lambert CR, Leone JE, Rowland SM : Local delivery catheters : Functional comparison of porous and microporous designs. *Coron Artery Dis* 1993; **4** : 469–495
- 18) Kikumoto R, Tamao Y, Tezuka T, Tonomura S, Hara H, Ninomiya K, Hijikata A, Okamoto S : Selective inhibition by (2R, 4R)-4-methyl-1-[N²-[(3-methyl-1, 2, 3, 4-tetrahydro-8-quinoliny) sulfonyl] arginyl]-2-piperidinecarboxylic acid. *Biochemistry* 1984; **23** : 85–90