



PLGA ナノパーティクルテクノロジーの製剤技術への応用

Application of PLGA Nanoparticle Technology to Pharmaceutical Particles

鈴木 貴弘¹, 笹井 愛子¹, 辻本 広行²

¹ホソカワミクロン株式会社 マテリアル事業部 製薬・美容科学研究センター

²同 マテリアル事業本部長, 執行役員

Takahiro SUZUKI¹, Aiko SASAI¹, Hiroyuki TSUJIMOTO²

¹Pharmaceutical & Beauty Science Center (PBSC), Material Business Division, Hosokawa Micron Corporation, JAPAN

²Operating Officer, Division Director, Material Business Division, Hosokawa Micron Corporation, JAPAN

抄 録

ナノパーティクルテクノロジーとはナノサイズの超微粒子およびその集合体を高度に制御する技術である。ライフサイエンス・医薬領域ではナノ DDS (ドラッグデリバリーシステム) 技術として特定の細胞や組織を認識しうる抗ガン治療薬や遺伝子治療薬の研究開発にも応用されている。当社の製薬・美容科学研究センターではこれらの動向に関連して、生体適合・吸収性基剤である PLGA (乳酸・グリコール酸共重合体) に各種薬物を封入したナノ粒子製剤を作製、提案する受託研究を行っている。これまでに PLGA ナノ粒子の高い DDS 機能性に独自の粉体加工技術を加えた、医薬、化粧品用の機能性製剤の開発に成功している。本報ではそれらのいくつかを紹介する。

ABSTRACT

Nanoparticle technology involving nano DDS (drug delivery system) has shown remarkable progress in the life science and pharmaceutical fields. We are conducting the contract research based on customer requirements to prepare and offer the new PLGA (poly(D,L-lactide-co-glycolide)) nanoparticles for applying it to several medicinal preparation and many functional cosmetics. In this report, we introduce some of these examples.

1 ナノパーティクルテクノロジーについて

粉体技術とナノテクノロジーを掛け合わせた「ナノパーティクルテクノロジー」とはナノサイズの超微粒子およびその集合体を高度に制御する技術である。著者らの研究対象である DDS (ドラッグデリバリーシステム) の分野においても新たな治療技術の開発に活かされている。例えば遺伝子治療のための遺伝子関連物質の細胞核膜内への導入は生物学的

には遺伝子変異を避けようとする自助作用が働くため容易ではない。しかし細胞取り込み能に優れたナノサイズのキャリアを用いることで導入効率は改善^[1]する。またガン治療では腫瘍組織周辺の新生血管壁の間隙が拡大(数十~数百 nm)していくことを利用(EPR 効果)し、100 nm 以下の抗がん剤封入ナノ粒子をこの間隙を通し腫瘍周辺へとターゲットングさせて治療効果を高めうる^[2]。

著者らもナノ DDS 技術の分野では PLGA (乳酸・

グリコール酸共重合体) ナノ粒子に様々な有効成分を封入し医薬製剤や機能性化粧品製剤へと応用を進めてきた。以下にそれらの一端を紹介したい。

2 PLGA ナノ粒子の特徴および粒子設計

ナノ粒子の基剤である PLGA は乳酸とグリコール酸の共重合体ポリマーである。加水分解により構成モノマー (乳酸, グリコール酸) に戻り, 最終的に TCA 回路を経て水と二酸化炭素に代謝されるので体内蓄積性がない安心安全な材料として知られる。PLGA マイクロ粒子を使った長期徐放性製剤は前立腺・乳がん用の皮下注射製剤 (リュープリン[®], 武田薬品工業, 徐放期間 1 か月~6 か月) が 1989 年に実用化されている。

PLGA 粒子をナノサイズまで小さくしていけば比表面積が急増し生体膜や粘膜層への滞留・付着性, 浸透性が增強され徐放効果と相まって薬物吸収性が向上していくように生体内挙動はマイクロサイズの粒子挙動とは異なってくる。ナノ化によって細胞に取り込まれる能力も高まるため, 細胞内導入キャリアとしても利用される。

PLGA 粒子をナノ化していくにはいくつかの製法がある。著者らは「エマルション溶媒拡散法 (ESD 法; Emulsion Solvent Diffusion Method)」^[4] を用いている。本法は熱やせん断力の発生が無いため, それ

らで変性・分解・失活しやすい薬物 (核酸, ペプチド等) のナノ粒子化に適している。ナノ粒子は一般に凝集性・付着性が強くハンドリング性が良くないので, 糖アルコールや乳糖などを複合化^[5] し, 再分散性に優れた流動性のよいマイクロサイズの PLGA ナノ粒子の凝集体を作製することが可能である。本複合化技術によって PLGA ナノ粒子を粉末吸入製剤や錠剤へ加工するなど, 固形製剤技術の適用が可能となる (図 1)。

3 医薬 DDS 製剤・デバイスへの応用

3.1 吸入製剤

糖尿病治療薬であるインスリンの皮下注射の代替法として PLGA ナノ粒子を用いた粉末吸入剤の開発^[5-8] が検討された。インスリンを ESD 法により PLGA ナノ粒子へ封入するとともに, マンニトールや乳糖等を用いた粒子複合化によってマイクロ顆粒 (数 10 μm) に製剤化された。この製剤は吸入デバイスへの装填可能な 2 号カプセルへの充填性に優れた流動性を保有すると共に, デバイス吸い込み時の気流分散によって肺深部へ到達可能な空気力学的径 (0.5~7 μm) にまで分散するものである。これらの粒子が肺内に沈着していくと肺内水分を吸水し PLGA ナノ粒子周りに複合化されていた水溶性賦形剤が即溶する結果, ナノサイズの PLGA 粒子 (数

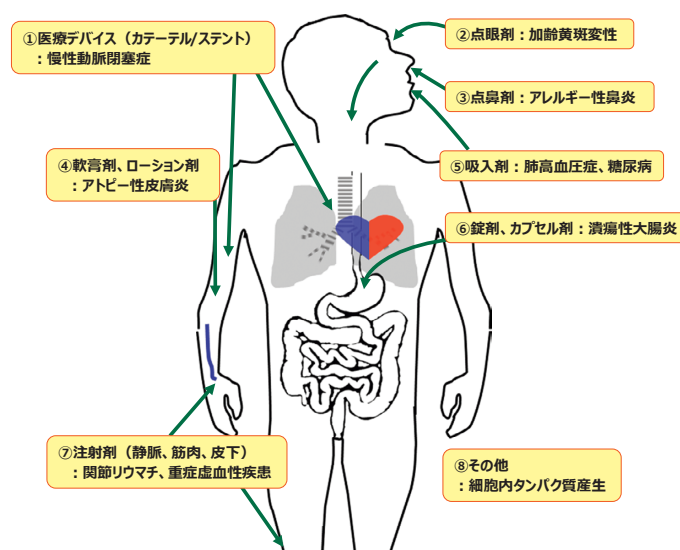


図 1 PLGA ナノ粒子の応用事例

Fig. 1 PLGA nanoparticles' applications.

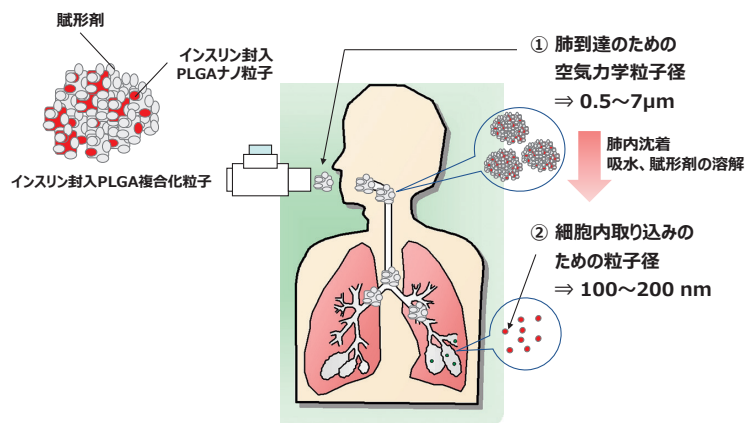


図2 PLGA ナノ粒子を用いた経肺投与スキーム

Fig. 2 Transpulmonary administration scheme using PLGA nanoparticles.

百 nm 以下) が再分散してくる仕組みである。この PLGA ナノ粒子は肺泡に沈着し肺泡上皮細胞に取り込まれ基底膜を通過していく過程で、内包のインスリンを即効かつ持続的に放出し全身作用させていくと考えられた。(図2)

動物実験では経肺投与した本インスリン封入 PLGA ナノ粒子複合化製剤は血糖値を即効的に降下させ、その血糖値レベルを長時間維持することでインスリン溶液を注射した場合よりも数倍高い AUC (Area under the blood concentration time curve: 血中濃度-時間曲線下面積) を示していた。

3.2 医療デバイス (バルーンカテーテル)

人工核酸「Nfk-B; デコイオリゴヌクレオチド (NDON)」は種々の炎症性サイトカインの遺伝子発現を司る転写因子 NF-κB の活性を抑制する働きを有し炎症性タンパクの発現を正常レベルに保持しうるオリゴ核酸である。

NDON は生体内で酵素分解しやすく、細胞内導入性も低いいため、実用化には DDS が必須であった。著者らはカチオン性キトサン (CS) 修飾型 PLGA ナノ粒子の製剤を開発した。本粒子はアニオン性である細胞膜表面への親和性に優れ、エンドサイトーシス経路で細胞内へ取り込まれる。そして CS のアミノ基がプロトンスポンジ効果を発揮してナノ粒子の細胞質内への移行がなされる。そこで PLGA の分解に伴い徐放される NDON が細胞内で薬理効果を発揮する。

この製剤 (NDON 封入 PLGA ナノ粒子) の応用例としてバルーンカテーテルがある。人工透析患者

や動脈硬化症患者の腕部に形成されたシャント血管の狭窄に使用される。通常のバルーンカテーテルでは治療後の再狭窄が課題であった。再狭窄はバルーン拡張時の血管内壁の損傷・炎症とそれに伴う細胞増殖にあった。これに対し本製剤をバルーン表面に塗布したデバイスではバルーン拡張時に PLGA ナノ粒子が血管内壁へ移行し、炎症組織・細胞へと取り込まれて PLGA ナノ粒子から溶出する NDON が炎症を抑止する。実際の動物試験では血管拡張施術後の再狭窄が抑制^[9]されていた (図3)。

3.3 経口製剤

経口製剤では NDON 封入 PLGA ナノ粒子製剤による「飲む核酸医薬^[10]」がある。患者への薬剤投与経路は投与の簡便さと患者 QOL の観点から経口投与が望ましい。しかし消化器官を通過する経口投与は課題も多く、胃 (強酸) や小腸 (核酸分解酵素) での生体内環境変化の考慮が必要である。NDON は化学的安定性に乏しく胃腸環境下では分解・失活する。そこで PLGA ナノ粒子に NDON を封入し生体内での安定性を高めるとともに、大腸の炎症細胞・組織への効率的なデリバリー可能な剤型を構築することで、NDON 単体の経口投与では全く改善しなかった病態モデルマウスの炎症性活動指数を有意に改善させている。(図4)

次世代薬として核酸医薬への期待は大きいものの 2021 年 5 月現在の世界で承認されている核酸医薬は 15 種類 (国立医薬品食品研究所の資料) に留まっている。核酸医薬の実用化が進まない背景には核酸

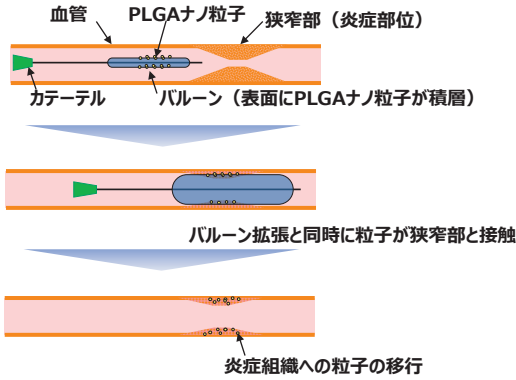


図3 PLGA ナノ粒子のバルーンカテーテルへの応用
Fig. 3 Balloon catheter using PLGA nanoparticles.

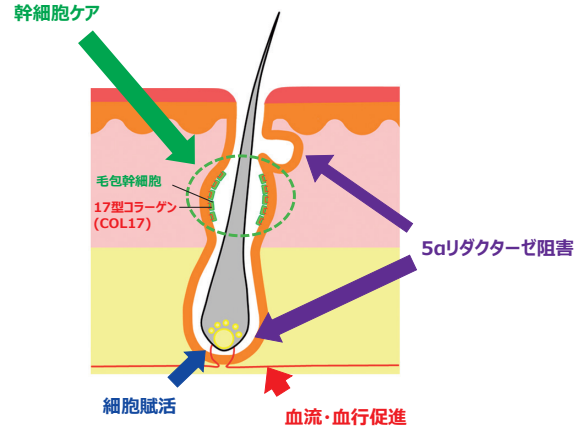


図5 育毛剤のターゲット部位および効果
Fig. 5 Target site and requirement effects for hair growth.

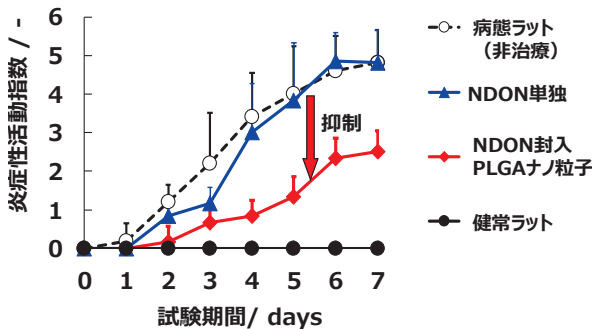


図4 NDON 封入 PLGA ナノ粒子による抗潰瘍性大腸炎効果
Fig. 4 Inhibiting effect of inflammatory bowel disease by NDON loaded PLGA nanoparticles.

が生体内で不安定であることや標的組織・細胞内への導入率が低いことが挙げられる。PLGA ナノ粒子技術はこれらの課題に対し有効な DDS である。

4 経皮吸収製剤 (育毛剤・化粧品)

PLGA ナノ粒子は経皮吸収製剤の観点からも特徴的な DDS である。PLGA ナノ粒子に有効成分 (育毛成分や美白成分等) を封入し、皮膚に塗布するとターゲット部位 (毛穴や角質層) へ有効成分が浸透し効果の持続ができてくる。

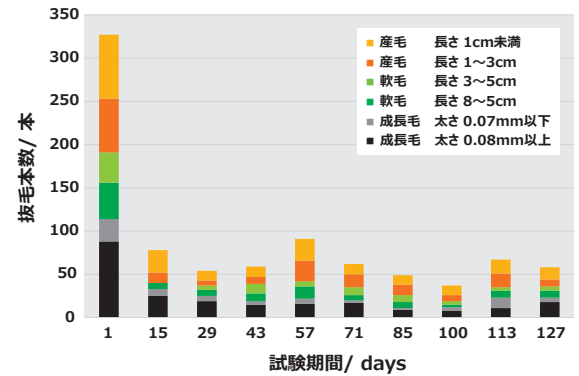


図6 育毛剤のヒトモニター評価結果 (著効例)
Fig. 6 Monitor's hair loss evaluation by hair growth tonic using PLGA nanoparticles.

4.1 育毛剤への応用

育毛には「血流・血行促進」, 「毛乳頭・毛母細胞賦活」, 「幹細胞賦活」, 「男性ホルモン抑制」などが必要であり、育毛剤にはこれらの作用をもたらす有効成分が配合される。図5のように有効成分のターゲット部位はいずれも毛穴深部に存在しており、育毛剤効果を高めるには有効成分を毛穴奥へ送達・滞留させていく必要がある。ヒト摘出皮膚片に塗布して浸透性を検証した PLGA 粒子封入成分は毛穴深部まで行き渡り、24 時間以上滞留^[11]し続けていた。この特徴を活かし育毛剤モニター試験 (男性 50 名規模) を実施している。ここでは有効成分封入 PLGA ナノ粒子を配合した育毛剤が数ヶ月連用され、頭皮環境の改善および育毛効果が確認された。図6では塗布開始から 15 日後 (約 2 週間) において抜け毛の本数が顕著に減少し、育毛効果^[12]が見いだ

されている。

加齢による頭髪の脱毛、白髪といった症状には毛包バルジ領域内の毛包幹細胞表面に発現する特殊なコラーゲン（17型コラーゲン：COL17）の減少が関与していることが近年分ってきた。このCOL17は膜貫通性タンパクのため生体外から摂取し補給することはできず、毛包幹細胞および周辺細胞自身に直接COL17を産生させていく必要がある。図5に示す様に毛包幹細胞の位置するバルジ領域は毛穴深部に存在するため、毛穴浸透性に優れたPLGAナノ粒子にCOL17産生促進成分を封入し頭皮に塗布することで、COL17産生促進を高めることができる。まず細胞試験としてCOL17産生促進成分であるクロロゲン酸（ChA）を封入したPLGAナノ粒

子（ChA/PLGA NP）の細胞内COL17産生促進効果をリアルタイムPCR法およびELISA法で評価するとChA単体と比較してCOL17遺伝子発現レベルおよびCOL17産生量がそれぞれ150%、120%向上^[13]していた（図7）。

続いて、被験者6名に対する頭髪での毛包幹細胞活性を評価している。本育毛剤（ChAを主成分とするゴボウエキス（株）テクノーブル製）を封入したPLGAナノ粒子配合とプラセボ製剤をそれぞれ頭皮の左と右に1日2回塗布し、一定期間後に外毛根鞘（バルジ領域含む）を採取した。抗体染色法を用い毛包に接着している毛包幹細胞に発現するCD34（幹細胞活性を示すマーカータンパク質）を蛍光顕微鏡（BZ-X800, (株)KEYENCE製、蛍光

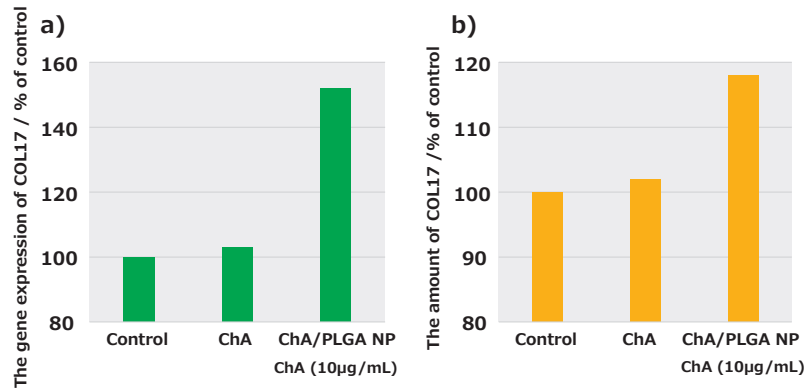


図7 PLGAナノ粒子による17型コラーゲン遺伝子発現、17型コラーゲン産生促進作用（a：17型コラーゲン遺伝子発現，b：17型コラーゲン産生促進）

Fig. 7 Promotion effect of COL17 production using PLGA nanoparticles.

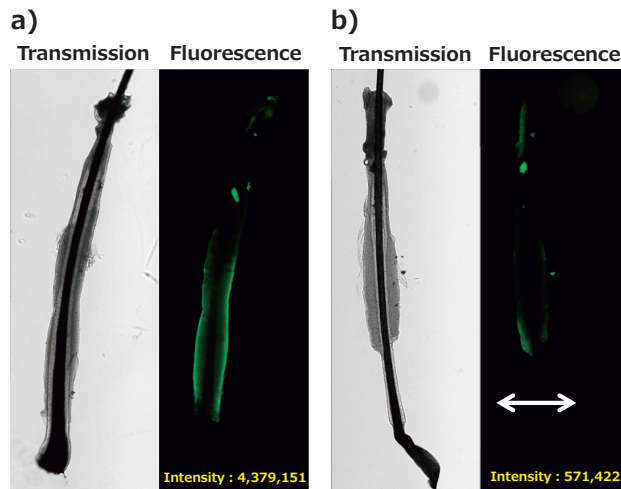


図8 PLGAナノ粒子配合育毛剤連用による毛包幹細胞活性化効果（a：PLGAナノ粒子配合育毛剤，b：プラセボ製剤）

Fig. 8 Activation of hair follicle stem cells using PLGA NP evaluated by fluorescence antibody technique.(a: hair growth tonic containing PLGA NP, b: placebo lotion)

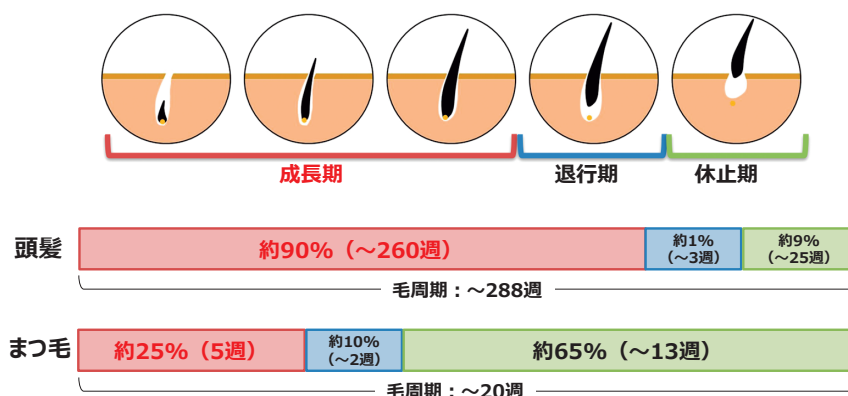


図9 頭髮およびまつ毛のヘアサイクル

Fig. 9 Hair cycle for hair and eyelashes.

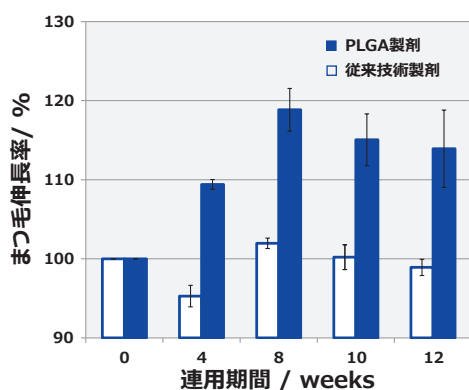


図10 PLGA ナノ粒子によるまつ毛育毛促進効果

Fig. 10 Eyelash elongation by PLGA nanoparticles.

写真)により定量評価した。著効例では1か月の連用でプラセボに比べ7倍のCD34反応が認められ(図8), PLGA ナノ粒子の毛穴浸透・作用持続性によるゴボウエキスの毛包幹細胞内への送達とそれに伴うCOL17産生, 幹細胞の活性が促された結果^[14]と考える。

4.2 まつ毛美容液

まつ毛の毛周期は頭髮(約290週間)と比べ1/10以下で, 成長期は毛周期全体の25%程度(頭髮の成長期は毛周期全体の90%程度)と非常に短い。つまり, まつ毛育毛では非常に短い成長期の間どれだけ毛を育てることができるかがポイントとなる。有効成分を毛穴に効率的に届け, その効果を持続させること重要である。(図9)

ミノキシジルの類縁体であるピディオキシジル((株)ホルス製)を封入したPLGAナノ粒子を配

合したまつ毛美容液を用いてモニター試験をハーフアイ法(被験者5名)で行っている。本製剤とピディオキシジル配合ローション製剤(従来技術製剤)をそれぞれ左と右のまつ毛に1日2回塗布し, PLGAナノ粒子の有無による育毛効果の差を皮膚測定器(VISIA®, Canfield Scientific社製)にて評価した結果, 3か月の連用を通じて従来技術では試験開始時のまつ毛長さほとんど変わらなかったが, PLGA製剤群では最大19%まで伸長し, PLGAナノ粒子の有効性が示される結果となった。(図10)

5 おわりに

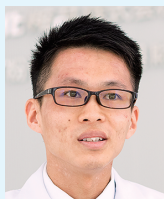
本稿ではPLGAナノ粒子の製剤への応用例を紹介した。PLGAナノ粒子のDDS機能を高めていくことで今後も多様な応用例が考えられる。

References

- [1] Zheng L.A., Lairson B.M., Barrera E.V., Shull R.D., Formation of nanomagnetic thin films by dispersed fullerenes, *Applied Physics Letters*, 77 (2000) 3242–3244. <https://doi.org/10.1063/1.1326040>
- [2] Zhao M., Sun L., Crooks R.M., Preparation of Cu nanoclusters within dendrimer templates, *Journal of the American Chemical Society*, 120 (1998) 4877–4878. <https://doi.org/10.1021/ja980438n>
- [3] Toguchi H., Ogawa Y., Okada H., Yamamoto M., Once-a-month injectable microcapsules of leuprorelin acetate, *Yakugaku Zasshi*, 111 (1991) 397–409. https://doi.org/10.1248/yakushi1947.111.8_397
- [4] Kawashima Y., Yamamoto H., Takeuchi H., Hino T., Niwa T., Properties of a peptide containing DL-lactide/glycolide copolymer nanospheres prepared by novel emulsion solvent diffusion methods, *European Journal of Pharmaceutics and*

- Biopharmaceutics, 45 (1998) 41–48.
[https://doi.org/10.1016/s0939-6411\(97\)00121-5](https://doi.org/10.1016/s0939-6411(97)00121-5)
- [5] Yamamoto H., Hoshina W., Kurashima H., Takeuchi H., Kawashima Y., Yokoyama T., Tsujimoto H., Engineering of poly(DL-lactic-co-glycolic acid) nanocomposite particles for dry powder inhalation dosage forms of insulin with the spray-fluidized bed granulating system, *Advanced Powder Technology*, 18 (2007) 215–228.
<https://doi.org/10.1163/156855207780208592>
- [6] Yamamoto H., Kurashima H., Katagiri D., Yang M., Takeuchi H., Kawashima Y., Yokoyama T., Tsujimoto H., Poly (lactic-co-glycolic acid) nanosphere composite prepared with Mechanofusion® dry powder composition system for improving pulmonary insulin delivery with dry powder inhalation, *Journal of Pharmaceutical Science and Technology, Japan*, 64 (2004) 245–253.
<https://doi.org/10.14843/jpstj.64.245>
- [7] Tsujimoto H., Hara K., Tsukada Y., Kawashima Y., Hatano S., Use of spouted bed type binderless granulation to design PLGA nano-composite granules for dry powder inhalation, *Journal of the Society of Powder Technology, Japan*, 44 (2007) 459–464. <https://doi.org/10.4164/sptj.44.459>
- [8] Tsujimoto H., Hara K., Kawashima Y., Evaluation of glycaemia control in beagle dogs by the administration of insulin encapsulated PLGA nano-composite preparations, *Journal of the Society of Powder Technology, Japan*, 42 (2005) 765–772. <https://doi.org/10.4164/sptj.42.765>
- [9] Miyake T., Ihara S., Miyake T., Tsukada Y., Watanabe H., Matsuda H., Kiguchi H., Tsujimoto H., Nakagami H., Morishita R., Prevention of neointimal formation after angioplasty using nuclear factor- κ B decoy oligodeoxynucleotide-coated balloon catheter in rabbit model, *Circulation: Cardiovascular Interventions*, 7 (2014) 787–796.
<https://doi.org/10.1161/circinterventions.114.001522>
- [10] Tahara K., Samura S., Tsuji K., Yamamoto H., Tsukada Y., Bando Y., Tsujimoto H., Morishita R., Kawashima Y., Oral nuclear factor- κ B decoy oligonucleotides delivery system with chitosan modified poly (D, L-lactide-coglycolide) nanospheres for inflammatory bowel disease, *Biomaterials*, 32 (2011) 870–878.
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.09.034>
- [11] Tsujimoto H., Hara K., Tsukada Y., Huang C. C., Kawashima Y., Arakaki M., Okayasu H., Mimurae H., Miwa N., Evaluation of the permeability of hair growing ingredient encapsulated PLGA nanospheres to hair follicles and their hair growing effects, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 17 (2007) 4771–4777.
<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.06.057>
- [12] Tsujimoto H., Hara K., Application of PLGA nano particles to hair growing technology, *The Micromeritics*, 52 (2009) 67–72. <https://doi.org/10.24611/micromeritics.2009016>
- [13] Suzuki T., Sasai A., Tsujimoto H., Yasunaga T., Ogawa N., Yamamoto H., Promoting effect of type 17 collagen production by chlorogenic acid using PLGA nanoparticles in the human epidermal keratinocyte cell, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 58 (2020) 101624.
<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101624>
- [14] Suzuki T., Sasai A., Tsujimoto H., Yasunaga T., Ogawa N., Yamamoto H., New hair growth application of the PLGA NP processing accelerated production of type xvii collagen, *The Micromeritics*, 64 (2021) 62–68.
<https://doi.org/10.24611/micromeritics.2021014>

著者紹介



鈴木 貴弘 Takahiro SUZUKI

〔経歴〕2017年神戸大学大学院工学研究科博士前期課程修了。同年ホソカワミクロン株式会社入社。2017年から美容科学研究センターにて勤務。

〔専門〕ナノ粒子のドラッグデリバリーシステム。最近では化粧品開発にも取り組んでいる。

〔連絡先〕tsuzuki@hmc.hosokawa.com



笹井 愛子 Aiko SASAI

〔経歴〕2009年岩手大学大学院博士後期課程修了，博士（工学）。同年ホソカワミクロン株式会社入社。2010年より製薬・美容科学研究センターにて勤務。副センター長。

〔専門〕ナノマテリアル。PLGA ナノ粒子の医薬品・化粧品開発業務に従事。

〔連絡先〕ayasutake@hmc.hosokawa.com



辻本 広行 Hiroyuki TSUJIMOTO

〔経歴〕1988年中央大学大学院理工学研究科博士前期課程修了。博士（工学）。同年ホソカワミクロン株式会社入社。粉体工学研究所，粉体システム事業部等を経て，マテリアル事業本部長，執行役員。

〔専門〕粉体工学，化粧品，育毛剤開発等 PLGA ナノ粒子の実用化開発の国家プロジェクト等多数。

〔連絡先〕hytsujimoto@hmc.hosokawa.com