

ナノ・微粒子設計によるDDS製剤，医療デバイス等への応用

Nano Particulate Design and Preparation for DDS & Medical Devices

辻本 広行

Hiroyuki TSUJIMOTO, Dr.

ホソカワミクロン(株) 粉体工学研究所 製薬・美容科学研究センター センター長
 Manager, Pharmaceutical and Beauty Science Research Center,
 Powder Technology Research Institute, Hosokawa Micron Corporation

1. はじめに

本誌では生体適合性で生分解性基材である「乳酸・グリコール酸共重合体 (PLGA)」の薬剤キャリア粒子としての DDS 製剤と医療デバイスへの当社での応用例について紹介する。

DDS 製剤における PLGA ナノ粒子の有用性はこれまでに多数研究報告されている。当社では PLGA ナノ粒子の製剤粒子設計に関し、独自の機械的粒子複合 (ナノコンポジット) 化技術を利用したアプリケーション開発を進め、2004年からはそれらの研究成果を基礎とした「PLGA ナノ粒子の DDS 製剤の受託研究事業」に乗りだした。

これまでに既存薬や新規核酸医薬品を PLGA ナノ粒子の中へ封入させたり、粒子表面へ担持させた製剤やこの粒子を塗布した医療デバイスのいくつかは、従来技術品に比して各疾患部位での薬剤の吸収・持続性が高まり、臨床応用へ向け開発が進められるようになった。

これらの中から、本受託研究事業の立上のきっかけとなった、①吸入製剤の他、②注射剤や、医療デバイスである、③ PTA バルーンカテーテルと④ステントの開発の一端を記す。

2. PLGA ナノ粒子の DDS 化

2.1 DDS 利用の背景

PLGA ナノ粒子の新しい用途の一つは核酸医薬品の DDS 化であろう。疾患発症要因の上流に位置する標的遺伝子の発現を制御しうる「デコイオリゴヌクレオ

チド、siRNA、アンチセンス」等の核酸医薬品は、標的分子に対する特異性が強く、副作用なしに強い薬理作用を有する医薬品になると期待される。しかしながら、血中では酵素分解を受けやすく、分子量が大きいため細胞膜透過性も低く、そのまま注射製剤として利用しても本来の薬効の発揮は困難であり臨床応用には DDS のコンセプトが必須である。

すなわち、核酸医薬品の安定性を高め、優れた標的 (炎症細胞) 指向性と細胞内導入性を兼備させようと企図した DDS では、様々な機能性を有したナノサイズの非ウイルス核酸キャリアが提案されている。カチオン性の脂質や高分子を利用したりポソーム、高分子ミセル、ナノスフェア等はその典型例である。

PLGA 自体は生体へ投与されると加水分解や酵素分解を受けて TCA 回路 (tricarboxylic acid cycle) によって水と二酸化炭素へと分解され体外へ排泄される¹⁾。この安全性の高い PLGA 基材をナノ粒子化する際に薬物が封入でき、薬物の安定性を増したり、基材の加水分解性^{2, 3)} を利用し薬物の徐放ができる。

図 1 は PLGA の分解・重合時の化学構造式と PBS (リン酸緩衝生理食塩水) 中での PLGA ナノ粒子 (平均粒子径 200nm) の分解の様子を示す。体内では加水分解に加え酵素分解も生じ、分解速度は一層速まる (分解初期 (ガラス状態) では非酵素的であり、後期 (ラバー状態) では酵素作用が重要)⁴⁾。

PLGA の臨床実績は前立腺がん用長期徐放性マイクロカプセル皮下投与製剤 (粒子径は数 10 μm)⁵⁾ や抜糸不要の縫合糸が知られているが、ナノ粒子としての実用例はなかった。

PLGA 粒子の物理的なサイズをナノ化していくと、

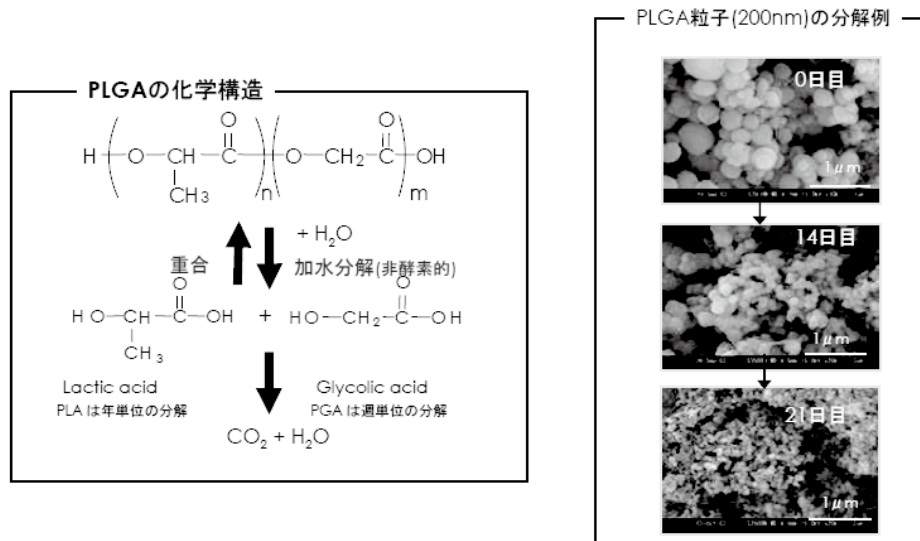


図1 PLGA (乳酸・グリコール酸共重合体) の化学構造と PBS 中での分解過程の様子

比表面積は急増していき、体積が微小化するため、生体膜との相互作用が高まり、粘膜への滞留性や附着性が増強され浸透性も増す。そのため、吸収部位では薬物濃度が高まり、その徐放効果も加わって薬物の吸収性は一般には向上していく。さらに、PLGA ナノ粒子の細胞膜を通しての浸透性(エンドサイトーシス)も良くなるので遺伝子導入にも応用される。

2.2 DDS実用のためのPLGAナノ粒子の作製

PLGA 基材のナノ粒子化法としては、図2に示す川島ら⁶⁾が考案した水中エマルジョン溶媒拡散法が知られている。本法で作製したPLGA ナノ粒子の原子

間力顕微鏡写真と粒度分布を図3に例示する。粒子群は球形で動的光散乱法による平均径は200nm程度で粒度分布は狭い。この粒子径の制御は可能であり、たとえば、「無菌製剤用PLGA ナノ粒子」を作る場合、目開き0.2μmのメンブレンフィルターによりろ過滅菌するが、粒子径は溶媒濃度等の調整により100nm程度⁷⁾にしている。これにより注射製剤への適用が可能となってくる。現在、注射製剤でのGLP・安全性試験が進行中である。

2.3 PLGA粒子のナノコンポジット化

一般に、粒子をナノ化していくと、附着・凝集性が

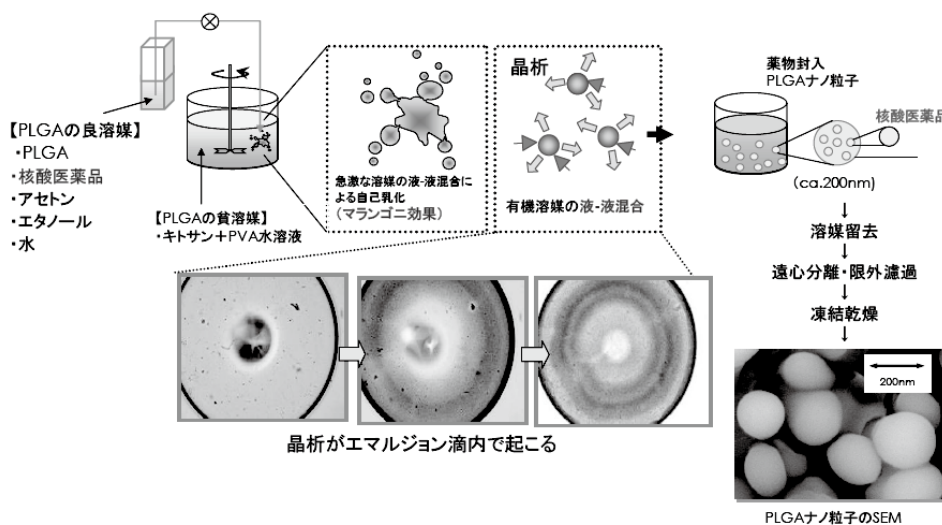


図2 水中エマルジョン溶媒拡散法によるPLGA ナノ粒子の調製法とエマルジョン中でPLGAが沈積する様子

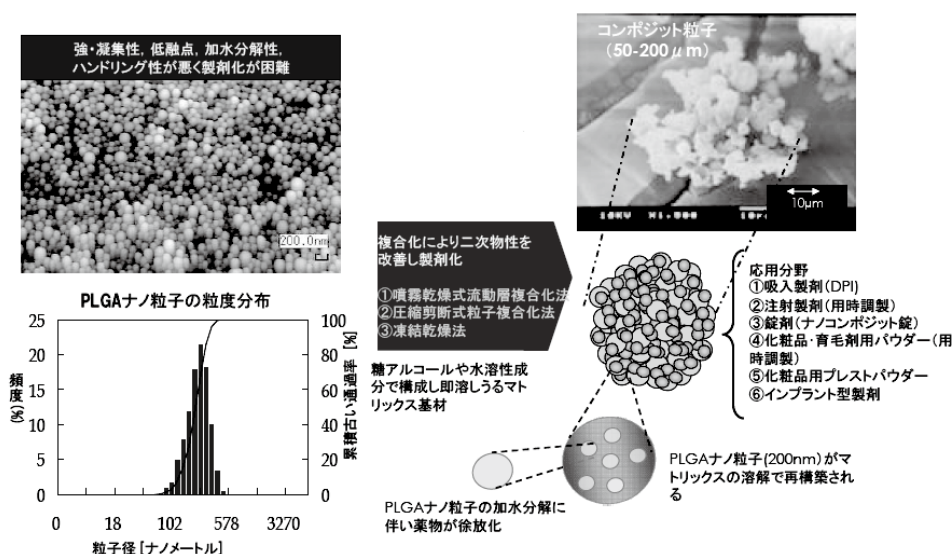


図3 PLGA ナノ粒子の原子間力顕微鏡写真 及び ナノコンポジット粒子の構造と応用分野

強まり流動性が極端に悪くなってくる。そのままの状態ではハンドリングすると凝集し、粗大な粒子になったり、容器やカプセル等の内壁に付着し、プロセスの歩留まりの著しい低下を招く。たとえば、PLGA ナノ粒子の調製プロセスではPLGA ナノ粒子の液分散相を凍結乾燥することがある。この乾燥条件が悪いと粒子間で強固な凝集・凝固が生じ、得られた乾燥粒子の水中への再分散性は大きく損なわれ、ナノ粒子本来の機能が目的とする作用点で発揮されなくなる。また、PLGA はガラス転移点が45℃程度と低く、粒子の二次加工や保管・流通時の熱に起因する凝集・固結等による品質低下を招きやすく、これらを防止する手立てが実用化のノウハウとなる。

この点に関し、PLGAは他のDDS用微粒子素材（たとえば、高分子ミセルやリポソーム等）に比べRigidな固体高分子材料であるので、様々な機械的粒子複合法⁸⁻¹⁰⁾ が用いられる。本複合法では、賦形剤がマトリックスでPLGA ナノ粒子が分散相として構造制御されたマイクロサイズのPLGA ナノコンポジット粒子の作製が可能となった。すなわち、このナノコンポジット粒子は保存安定性が改善し、従来の固形製剤と同じようなハンドリングもでき、幅広い投与剤形へ適用できる。たとえば、注射液と用時混合したり、服用・投与後、体内で吸水することでマトリックス部分が即溶し、PLGA ナノ粒子が再構築されて諸機能が発現される。

無菌のPLGA ナノ粒子の作製は、前記の無菌ろ過

したPLGA ナノ粒子の水分散液を無菌で凍結乾燥する方法や、無菌ろ過したPLGA ナノ粒子の水分散液に水溶性賦形剤を溶解させこれをSIP・CIP対応（無菌）型の噴霧乾燥式流動層（アグロマスタ）法¹³⁾ で連続的にスプレー乾燥できる。このように無菌PLGA ナノコンポジット粒子の量産プロセスに目処が立っており、これらの技術を駆使すれば、これまで酵素分解等の問題で実現できなかった核酸医薬等の全身投与の注射剤用DDS粒子提供が可能である。

3. PLGAナノ粒子を基盤キャリアとした応用技術

3.1 PLGAナノ粒子製剤の研究例

ナノ化されたPLGA粒子は粒子サイズや表面電荷の調整や表面修飾等によってマイクロ粒子には見られないDDSとしての興味深い現象が生体内で観察される。表1はPLGA ナノ粒子のDDS研究例である。200nm程度のPLGA ナノ粒子は消化管粘膜を透過し、粘膜層内や上皮表面に滞留（吸着）¹¹⁾ すること、ラット大腸炎モデルや血管内皮炎症モデルでは炎症部位に集積（ターゲティング）¹²⁾ し、経口投与後数時間以内に腸管上皮を通過¹³⁾ することが報告されている。自発呼吸下にあるビーグル犬へ糖尿病疾患用のインスリンを封入したPLGA ナノ粒子を経肺全身循環ルートで投与した我々の経験では、肺胞上皮から全身へインスリンが吸収された。このとき皮下投与群に比べ、即

表1 PLGA ナノ粒子の DDS 研究

投与部位	標的部位	作用	粒子径	モデル薬物	評価方法	結果(PLGAナノ粒子の動態)	応用分野	引用
目	結膜内皮細胞	局所	101nm	(蛍光:ケルリン)	In vitro	培養液で眼結膜内皮細胞に貪食	結膜疾患	Pharm Res. 2004, 21(4):641-8(Qaddoumi MG et al.)
鼻	粘膜	局所	<200nm	(GFPプラスミド)	In vivo(マウス)	鼻粘膜に遺伝子発現	鼻粘膜疾患(アレルギー性 etc.)	J Nanosci Nanotechnol. 2004, 4(8):990-4 (Kumar MN, et al.)
口	腸管粘膜	全身	400nm	カルシトニン	In vivo(ラット)	腸管粘膜層に付着。粘膜内に侵入	注射製剤(ペプチド etc)の代替製剤化	Pharm. Develop. Technol. 2000, 5, 77-85 (愛知学院大薬, 川島先生)
					In vivo	経口投与後数時間以内に腸管上皮を通過		
口	大腸(炎症細胞)	局所	200nm	Rolipram	In vivo(ラット)	炎症細胞に効率よく集積、持続的な薬理効果を発揮	炎症性腸疾患	J Pharmacol Exp Ther. 2001, 299:775-781 (愛知学院大薬, 川島先生)
肺	肺胞	全身	650nm	エルカトニン	In vivo(モルモット)	ナノ粒子から放出された薬物により血中カルシトニン濃度が低下	注射製剤(ペプチド etc)の代替製剤化	J Control Release. 2005, 102, 373-381 (愛知学院大, 川島先生)
			200nm	インスリン	In vivo(ビーグル犬)	ナノ粒子から放出された薬物により血糖値が低下		
関節窩	関節窩	局所	265nm	(蛍光:フルオレセインAミン)	In vivo(ラット)	マクロファージに貪食。炎症性関節滑膜炎中に移動、滞留	慢性関節疾患(慢性関節リウマチ変形性膝関節症)	Pharm Res. 2002, 19(2):132-9(Horisawa E et al.)
血管(虚血部)	血管内皮細胞	局所(スネット)	200nm	(蛍光:FITC)(GFPプラスミド)	In vitro In vivo(ブタ)	培養ヒト冠動脈平滑筋細胞に貪食。スネット留置後冠動脈平滑筋細胞内に貪食。遺伝子発現	動脈硬化症(血管再狭窄抑制)	Jpn J Interv Cardiol. 2007, 22, 3:201-210(九大薬, 江崎先生, HPTRI)
注射	血管内皮細胞	局所		テキサマザン	In vivo(ラット)	ハルン傷害部の新生内膜形成を抑制	動脈硬化症	Circulation. 1996, 94(6):1441-8 (Guzman LA et al.)
皮膚	皮膚	局所	200nm	ヒタシC誘導体	In vitro	ヒト抽出皮膚片(器官培養)の表皮、真皮まで送達	経皮製剤(アレルギー性疾患、鎮痛 etc.)	J Society of Powder Technology, 2004, 41, 12, 867-875 (県立広島大, 三羽先生, HPTRI)
皮膚	皮膚	局所	200nm	NFκB抑制剤オキサリチン(ONDN)	In vivo(マウス)	遅延型アレルギー反応を抑制	経皮製剤(アレルギー性皮膚炎)	The First Asian Symposium on Pharmaceutical Sciences and Technology, 2007, 84-89, July 28-30 (阪大薬, 森下先生, HPTRI)

効吸収性部位の肺胞へと効率よく送達された PLGA ナノ粒子から放出されるインスリンは酵素分解を殆ど受けることなく粒子から徐放されるためか、約3.5倍の血糖値降下作用を示していた¹⁴⁾。

これに関連し、核酸医薬の肺局所型経肺 DDS 製剤(肺がん・肺繊維症・肺高血圧症用)¹⁵⁾用のナノコンポジット型粉末吸入用顆粒(DPI 製剤)の作製法は、図4に例示する機械式複合法が知られている。

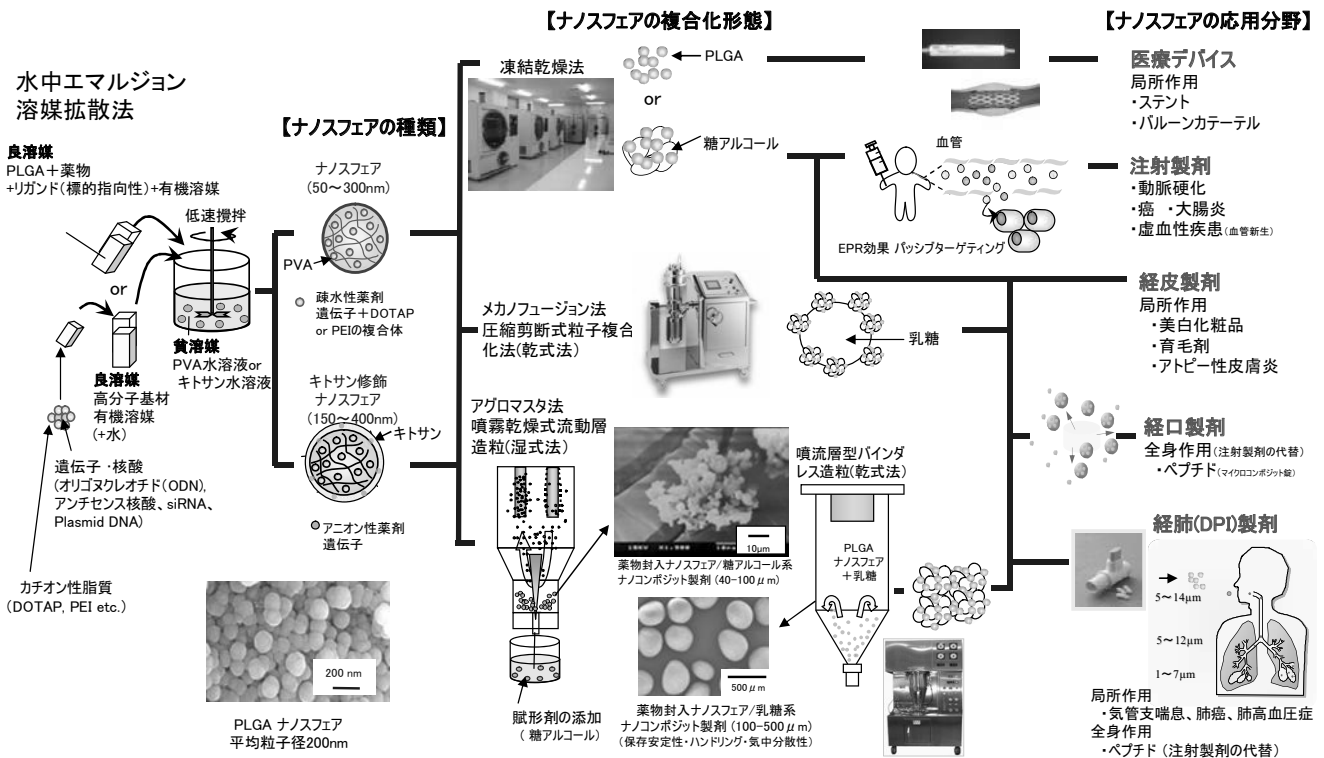


図4 新規 DDS 製剤誕生に必要な PLGA ナノ粒子の粒子設計・加工技術の例

PLGA ナノ粒子と凝集性の数ミクロンサイズの乳糖粒子とを精密混合しておき、これを噴流層内でバイナドレス造粒¹⁰⁾すると、乳糖顆粒中にPLGA ナノ粒子が均一分散された球形の製剤が得られる。PLGA ナノ粒子の水懸濁液に糖アルコール（マンニトールなど）を溶解させ、これを噴霧乾燥式流動層造粒（アグロマスタ）法⁹⁾でスプレー乾燥すると、糖アルコールの顆粒内にPLGA ナノ粒子が均一分散した製剤が得られる。さらには、圧縮剪断式粒子複合化（メカノフュージョン）法¹⁰⁾を用いると、数10ミクロンサイズの乳糖粒子表面へPLGA ナノ粒子を緩く担持させた製剤が得られる。

これらの方法で作製した顆粒のサイズは数10～500 μm であり、カプセル充填性に優れ、服用時にもハンドリングしやすい。顆粒強度は服用・吸入時は自吸式吸入デバイス内で数ミクロンサイズの粒子へと分散されるように制御されており、吸入後、気中で分散されて効率よく気道を通して肺まで送達される。その後、製剤中の乳糖や糖アルコール成分は吸水し、崩壊するため、ナノサイズのPLGA粒子が再構築され機能発現する。

このPLGA ナノ粒子へデコイ核酸、siRNA、アンチセンス等の核酸医薬品等を封入しておけば、細気管支上皮、肺胞上皮、肺損傷、線維化部位あるいは肺癌細胞の疾患部位へと吸入により効率よく送達できる新たな治療戦略が可能となる。

我々はPLGA ナノ粒子の経肺吸入時の体内動態を病理組織学的に評価している¹⁶⁾。ラットにFITC封入PLGA ナノ粒子懸濁液を圧搾空気と共に吸入させると、FITCが投与5分後には1型肺胞上皮細胞に取込まれ15分後には肝臓と腎臓で検出されていた。すなわち、投与後速やかにFITCは1型肺胞上皮細胞から吸収されており、これは単にFITC溶液を投与したときよりも即効的であった。PLGA ナノ粒子自体の肺内挙動も徐々に明らかとなりつつある。

こうしたPLGA ナノコンポジット顆粒は成型性も優れていて、腸溶性基剤等と混合し打錠することで腸溶性のナノコンポジット型錠剤¹⁷⁾の作製も可能になってきた。

4. PLGAナノ粒子を用いたナノメディシンの開発

PLGA ナノ粒子を用いた虚血性疾患（血管狭窄、動

脈硬化、重症下肢虚血、肺高血圧症）への臨床応用が検討されている。PLGA ナノ粒子はヒト臍帯静脈内皮細胞やヒト骨格筋細胞に効率よく取り込まれ¹⁸⁾、内皮細胞の血管新生の促進へ利用される。虚血性疾患の主因である平滑筋増殖・遊走作用を抑制する遺伝子や分子標的薬¹⁹⁾がPLGA ナノ粒子へ封入され、これらの粒子が吸入製剤²⁰⁾や筋注^{21, 22)}の他、ステントやバルーンカテーテル^{23, 24)}等の医療機器への応用が試みられている。

4.1 スタチン封入PLGA粒子を用いた虚血性疾患治療用注射剤

スタチン封入PLGA ナノ粒子のマウス下肢虚血モデルへの局所投与（筋注）²²⁾の例では、血管新生効果による再内皮化（虚血肢の血流回復）が確認されている。従来、動物実験での皮下注や経口投与では1～5mg/kg/日の高用量スタチンの全身・連日投与が必要であったが、これは横紋筋融解症などの副作用リスクが大きく、臨床応用は困難であった。しかし、スタチン封入PLGA ナノ粒子を下肢の4カ所の局所に筋注（スタチン約0.4mg/kgに相当）するだけでマウス下肢での血管新生作用がみられ、何も治療しなかった群やスタチンを含まないPLGA ナノ粒子やスタチンを直接筋注した群との比較において、血流が有意に改善されている。

4.2 NF- κ Bデコイ核酸封入PLGA粒子を用いた経皮製剤

NF- κ Bデコイ核酸（NDON、分子量14,000）は種々の炎症性サイトカインの遺伝子発現を制御する細胞質および核内にある転写因子NF- κ Bの活性化を抑制する、「おとり型核酸医薬」である。各種炎症性疾患に対する同物質の新規治療の可能性が数多くの動物実験の例で示唆されている²⁵⁻²⁸⁾。また、アトピー性皮膚炎用NDON軟膏製剤では第2相臨床試験²⁹⁾で良好な結果が報告されている。しかし、NDONは重症顔面病変や掻爬による糜爛局面など角質層が薄いかそれが欠落している部位以外の体幹や四肢等の角質バリアの厚い皮膚部位での薬理効果は十分でておらず、将来の全身適用型製剤化のためには皮膚浸透性を改善できるDDS技術が求められていた。

そこで、NDONをPLGA ナノ粒子の内部と表面に担持³⁰⁾し、軟膏へ配合したDDS製剤を試したところ、単にNDONを軟膏にした従来型製剤に比べ、難

治性アトピー性皮膚炎への著効 (Ovalbumin 誘発遅延型過敏反応 (DTH) マウスモデル) が確認された³¹⁾。本 DTH モデルでアレルギー反応を有意に抑制した従来型 NDON 軟膏の最小有効濃度は1.5~2.0%であったのに対し、PLGA ナノ粒子を用いた製剤のそれは0.2%以下の低濃度であった。このことから皮膚バリアーの高い全身への適用拡大において PLGA ナノ粒子の有用性が示唆されている。

4.3 NF- κ B デコイ核酸封入PLGA粒子を用いた DDSの展開

水溶性の NDON 等の核酸医薬の DDS ではキトサン修飾型のカチオン性 PLGA ナノ粒子を多用する。図5に PLGA ナノ粒子の DDS の展開例を示す。この中で医療デバイスは血管炎症組織へステントを直接留置したり、バルーンを膨らませることによって PLGA ナノ粒子を炎症細胞表面へ直接大きなロスなしで送達できる「究極の標的指向化された DDS」といえる。

キトサン修飾型カチオン性 PLGA ナノ粒子は、リン酸基由来のアニオン性の細胞表面への親和性と吸着性に優れ、エンドサイトーシス機能により細胞内に効率よく導入される。エンドソームから細胞質への移行は主に PLGA ナノ粒子表面にあるキトサンのアミノ基由来のバッファー効果 (プロトンスポンジ効果) に

よるものと、エンドソーム内の低 pH 環境においては PLGA ナノ粒子の分解に伴うカチオン性連鎖 (たとえば、内包 NDON と PLGA 分解成分 (グリコール酸 or 乳酸) とキトサンとの複合体) が直接エンドソーム膜と相互作用して膜を破壊し、内包 NDON の細胞質移行を達成している可能性も考えられる。

PLGA ナノ粒子を利用すると NDON の薬効は高まることから、PLGA ナノ粒子が NDON の細胞質 (および核内) 移行を亢進しているということは明らかであるが、内包薬剤の細胞内 DDS に及ぼす機序の解析は現在一部明らかになってきている³²⁾ もの、今後の研究課題となっている。

4.4 医療デバイスへの応用

ステント³³⁾ やバルーンカテーテル³⁴⁻³⁶⁾ の表面に PLGA ナノ粒子を積層した新しい薬剤溶出型の医療デバイスによる経皮的冠動脈・シャント血行再建術の研究が進められている。

4.4.1 薬剤溶出型ステント (DES: Drug Eluting Stent)

ステントは金属製の網状のチューブである。主に、狭くなったり詰まったりした冠動脈を拡げた後、血管内にそのまま留置して血流を確保するデバイスであ

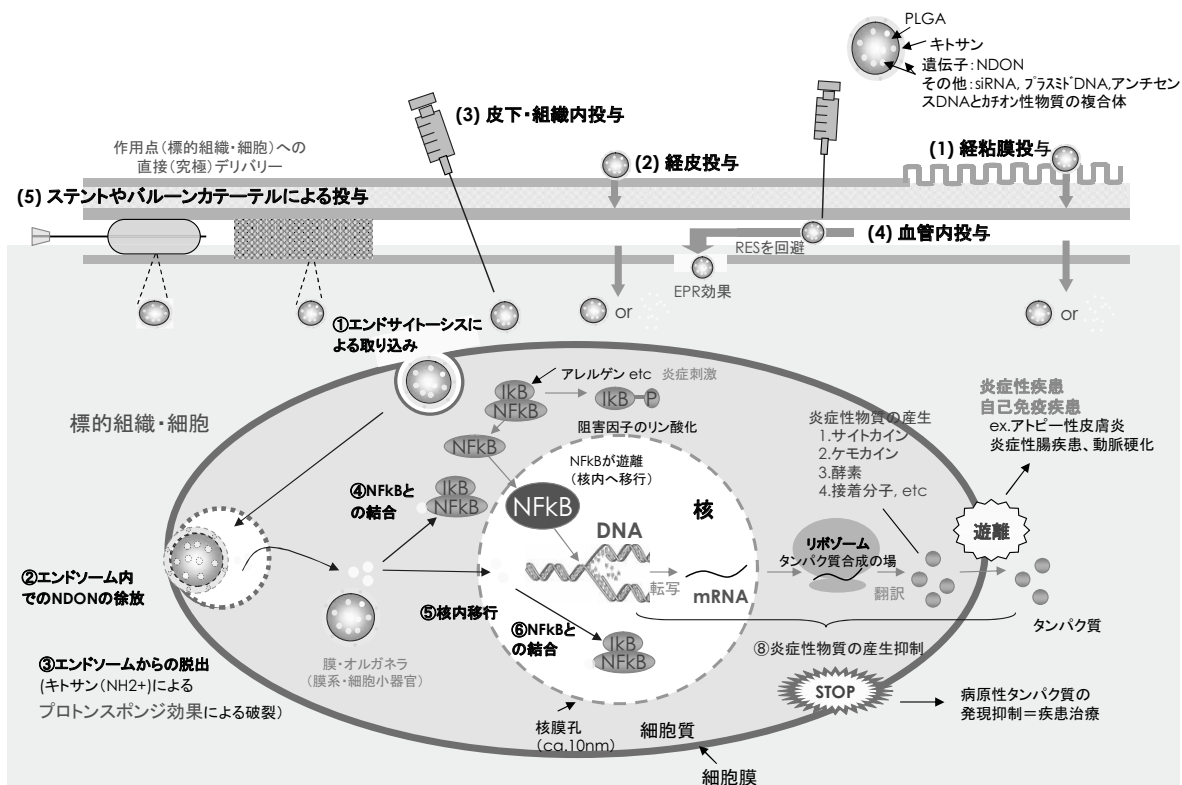


図5 NF κ B デコイオリゴヌクレオチド (NDON) の PLGA ナノ粒子による DDS の例

る。この経皮的冠動脈（拡げる）形成（血行再建術）の85%がステント治療であり、年間、日本国内で15万例、世界的には150万例以上実施されている。

「薬剤封入 PLGA ナノ粒子積層型 DDS ステント（図6）」は江頭らの臨床応用を目指した研究^{37, 38)}が進んでいる。ステントは当初ベアメタルステント（BMS）と呼ばれる薬剤をコートしていないものが普及した。この留置術では20～30%の割合でいったん拡張した血管内腔は新生内膜の過増殖等により狭窄し、狭心症や急性心筋梗塞の再発を来していた。

この再狭窄率は脂溶性の生体非適合性高分子内に、①免疫抑制剤（シロリムス／CypherTM, 2003年FDA認可、日本2004年認可）や、②抗がん剤（パクリタキセル／TaxusTM, 2004年FDA認可）を分散させ、それをステント表面へ塗布した薬剤溶出ステント（DES）の出現により劇的に低下し³⁹⁾、現在、DESが世界的に普及した。

しかしながら、DESは内膜増殖を抑制するが、ステント留置部位の内皮細胞にも非特異的な抗増殖作用を示すため、血管（内皮）再生不全が生じやすく、急性心筋梗塞や突然死へと繋がりがうるDESの晩期ステント内血栓症の頻度はBMSに比べて高くなっていることがここ数年間の調査⁴⁰⁾で明らかになった。現在FDAは認可外使用に対し警告を出し適正な使用を推奨するまでに至っている。他のDESの使用の問題点としては、抗血栓薬の服用（歯科治療、外傷、外科手術で抗血小板薬を中止）が要ることや、薬剤コーティング基材の生体非適合性ポリマーに対する過敏性があること、SUS製ステントが体内に永久に残存する等

が挙げられていた。

江頭らはこれらの問題解決に向けて再内皮化や繊維性癒着は抑制せず新生内膜増殖のみを抑制する薬剤（従来担持が不向きであった新水性薬剤含む）を選定し、これを生体吸収性のキトサン修飾型 PLGA ナノ粒子へ封入し、この粒子群を図7に示すカチオン電着法⁴¹⁾でステント表面に積層・固定化させた「薬剤封入 PLGA 粒子積層型 DES」を開発した。

本カチオン電着法ではステントを陰極に設置しカチオン性 PLGA ナノ粒子を電気凝析するため、電気化学的プロセスにおいて陽極の酸化現象（金属イオン、溶出、錆、膜化）に伴う悪影響は受けず、製造法として安定している。本法ではステント表面に形成させる PLGA ナノ粒子層の厚みにより薬剤量が変わるが、これは電流や PLGA ナノ粒子の表面電荷の調整で制御でき、薬剤の放出タイミング（濃度&時間）については PLGA 自体の分子量や成分組成比を変え制御できる。

ステント表面へ積層したカチオン性 PLGA ナノ粒子はステントの拡張に伴い細胞表面へ結合（移行）し、エンドサイトーシスを受けて細胞内へ導入後、プロトンスポンジ効果等によってエンドソームから脱出して内包薬剤が核内移行していく可能性があり、核酸・遺伝子治療への応用にも期待が高い。

本DESに関しては、既にブタ冠動脈への留置実験（内膜と中膜に PLGA ナノ粒子が移行し長期に滞留）が報告されている^{33, 37, 38)}。一般に、ステント留置後に生ずる新生内膜の平滑筋細胞の遊走・増殖は、留置後7～14日後より始まることが知られている。従来の

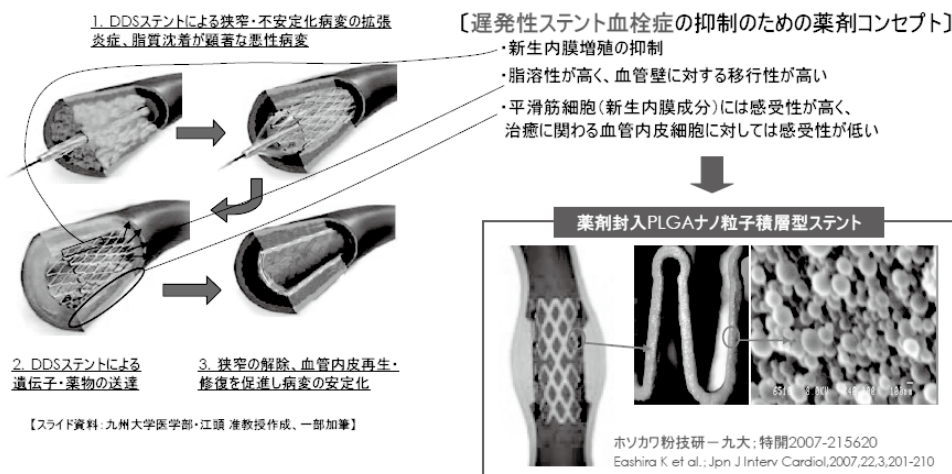


図6 薬剤封入 PLGA 粒子積層型 DDS ステント

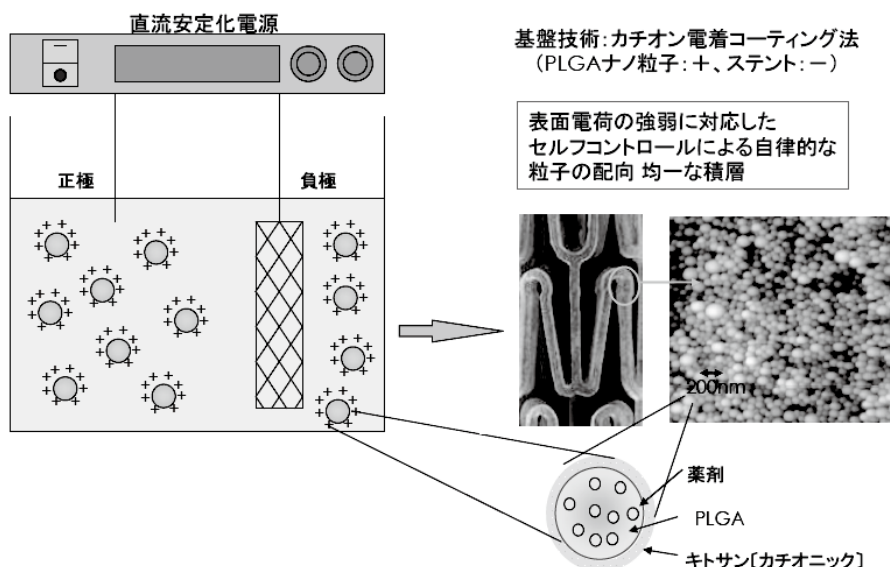


図7 電着コーティング法による PLGA ナノ粒子のステントへのコーティング技術

DES のコーティング技術ではこの治療標的の発現に一致した治療因子の局所送達は困難であったが、本 DES 技術では PLGA ナノ粒子の徐放機能により可能となってきたことは注目すべき点である。また、本 DES 用の適用薬剤は PLGA ナノ粒子の薬剤封入技術に依存するが、抗炎症作用を持つ NDON など遺伝子プラスミドやたんぱく質、内皮再生に関わる血管新生因子やスタチン、分子標的薬のイマチニブなどへと検討が広がっており³⁸⁾、チロシンキナーゼ阻害薬など内膜の再生を阻害せずに、平滑筋細胞の増殖を抑制する薬剤や遺伝子を持続的に細胞内に送達しうる革新的血管内医療デバイスとなりうるものと期待される。

4.4.2 NDON溶出型バルーンカテーテル (DEB : Decoy Eluting Balloonカテーテル) の開発³⁴⁻³⁶⁾

PTA (Percutaneous Transluminal Angioplasty, 経皮的血管形成術) バルーンカテーテルは末梢血管領域において、PTA に用いられる細長いチューブ (カテーテル) の先端に血管を拡張するためのバルーンが付いた医療デバイスである。足や手の血管にシースという筒を穿刺し、このシースを介してバルーンカテーテルを血管内の病変部へと進ませ、バルーンを拡張させることで血管の狭窄や閉塞部を正常な血管径に近づける治療に用いられる。特に閉塞性動脈硬化症患者や血液透析患者の腕に形成するシャント血管の狭窄治療で多用され、既に有効な治療法として確立されているが、治療後、約30%の割合で再狭窄が発生している。

この再狭窄率の低減を目指し、森下らは血管再狭窄予防用の NDON 溶出型 バルーンカテーテルの開発を進めている。バルーン外表面には血管拡張術施行時の急性期炎症反応抑制効果を有する NDON を封入した PLGA ナノ粒子を積層し、バルーン拡張時にこれらの粒子が剥がれ、炎症組織・細胞内へ直接移行し取り込まれる。すなわち、NDON の細胞内デリバリーが可能となる DDS 型医療デバイスであり、概念図を DES と比較して図 8 に示す。

心臓血管領域においては前述の DES が上市され、臨床上的効果が明らかにされ、同市場が急拡大してきたが使用箇所が限定されている。体内留置型のステントを用いずに、バルーンカテーテルそのものの表面に再狭窄予防効果を有する薬剤を塗布した DDS 型バルーンカテーテルは、これまで末梢血管領域のみならず、心臓血管領域においても世界で商品化されたものは今のところなく、患者の QOL 改善に大きく寄与し、医療経済上も有用なバルーンカテーテルとなることが期待される。

5. 実用例、機能性化粧品への応用

PLGA ナノ粒子の優れた皮膚浸透性は機能性化粧品にも大きなメリットがあり、同分野では既に実用化している。PLGA ナノ粒子は粒子内包成分の皮膚浸透を充進させ薬理効果を持続させる。また、PLGA の分解成分である乳酸は皮膚の保湿効果を高め⁴²⁾、グリコー

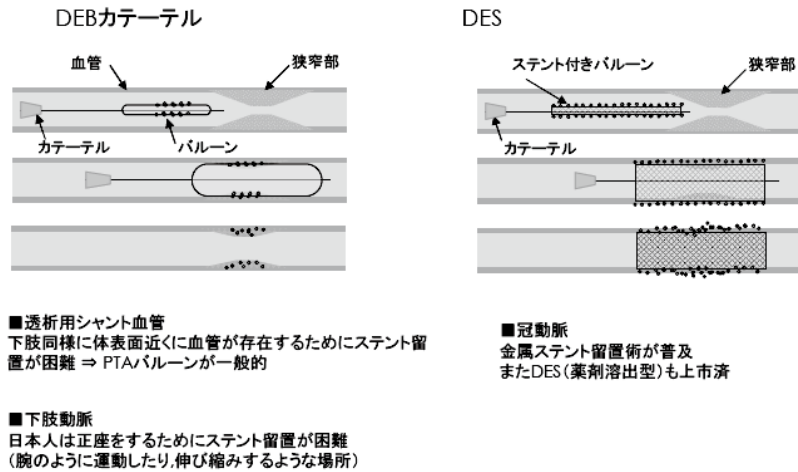


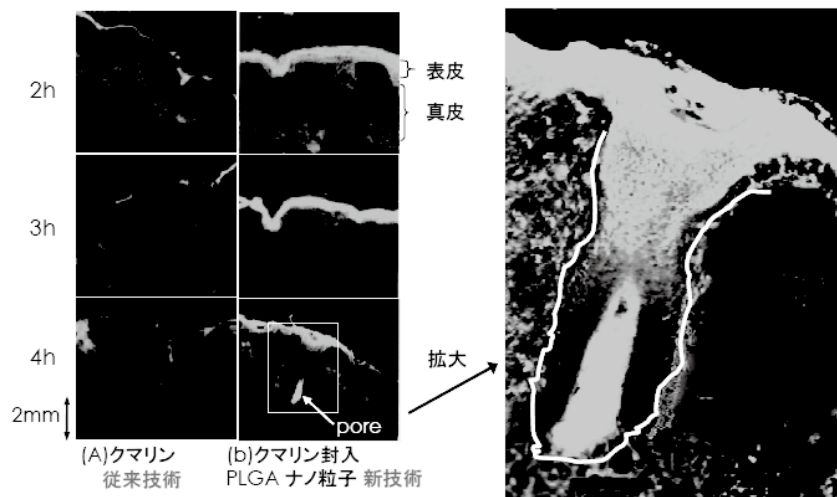
図8 DEBカテーテルとDESによるPLGA粒子のDDSと治療可能な適応部位

ル酸は角層細胞のターンオーバーを促進させる⁴³⁾ことが知られており、いずれもスキンケアにとっては有益である。

図9は、クマリンを単に水分散させたものと、PLGAナノ粒子に封入しそれを水分散したものを各々ヒト皮膚片へ塗布し、クマリンの浸透性を比較したものである⁴⁴⁾。PLGAナノ粒子に入れていたクマリンは表皮から真皮の深いところまで浸透しており、しかも4時間経過後もそれが滞留していた。同様に脂溶性ビタミンC誘導体について、それをPLGAナノ粒子に

封入したものは単に乳液(W/Oエマルジョン)にして塗布したものに比べ、塗布後4時間までの真皮へのビタミンC積算浸透量は10倍以上大きかった。これらの効果は毛包の無いヒト皮膚片でも確認されており、PLGAナノ粒子が角質層内に分配されることで、毛包ルートとともに、内包成分を表皮から基底層を経て真皮層までの拡散、浸透を亢進させていることが示唆された。

このビタミンC誘導体封入PLGAナノ粒子はビタミンC誘導体の乳液に比べ、皮膚塗布時には高い美白



(a) クマリン6 (conc.10wt%) の水分散液(界面活性剤:Pluronic F68 0.5wt%)。塗布量:0.3ml。
 (b) クマリン6 封入PLGAナノ粒子の水分散液。PLGANANO粒子の濃度は0.2wt%。
 クマリン6のPLGA内の封入率は0.05wt%。クマリン6の水中濃度は0.0001wt% (10万分の1対(a)) 塗布量:0.3ml。
 ヒト皮膚摘出片(35歳女性、脇下部/6個の小片に分割)注) 角質層(皮膚表面から~0.01mm)、表皮(同~0.1mm)、真皮(同~1.7mm)

写真・評価: 県立広島大学, 三羽信比古教授

図9 PLGAナノ粒子のヒト摘出皮膚片/共焦点走査型レーザー蛍光顕微鏡による皮膚浸透性観察

や抗しわ作用があり、紫外線が照射されたときの皮膚細胞ダメージ (DNA 断裂) を抑制する等の高い二次効果も確認され⁴⁵⁾、スキンケアにとって有能な機能性粒子としてスキンケア化粧品 (Nano CrysphereTM)⁴⁶⁾へ応用された。同様に育毛成分のヒノキチオール等を封入した PLGA ナノ粒子の例でも、毛包ルートにおける毛乳頭への育毛成分の送達能が単なる溶液 (アルコール水溶液) を塗布する方法に比べ、3.5倍以上優れていることが検証⁴⁷⁾されており、本粒子を用いた育毛剤 (NanoImpactTM)⁴⁸⁾も商品化された。

高齢社会が進行してきた現在、しみ、しわ、たるみ、脱毛などの肌・毛髪老化に起因した諸症状に対するアンチエイジング製品として、この種のナノテク機能性化粧品の社会的役割や意義は大きくなってきているが、この分野でも PLGA ナノ粒子は今後さまざまな応用が期待できる。

6. おわりに

当社で開発している PLGA ナノ粒子のナノコンポジット化技術とその DDS 製剤、医療デバイスへの応用例を紹介した。実用に向けては、ナノ複合化処理による精密 DDS へ向けた関連技術 (安全性、無菌化等諸技術含む) の構築も重要である。当面、安全性試験や臨床試験に向けて、多様な製剤ニーズに対応した GLP、GMP グレードの PLGA ナノ粒子製剤の提供を担いうるよう、臨床開発に貢献していきたく考える。

参考文献

- 1) Wu XS, Wise et al., editors., Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering, New York: Marcel Dekker, 1015-54 (1995).
- 2) Brady JM, Cutright DE, Miller RA, Battistone GC., J Biomed Mater Res 7, 155-66 (1973).
- 3) R.Miller, J. M. Brady, D. Cutright., J. Biome. Mater. Res., 11, 711 (1977).
- 4) Simon J. Holland and Brain J. Tighe., Journal of control release, 4,155-180 (1986).
- 5) 小川泰亮, 現代化学, 1月号, 63-66 (2005).
- 6) Kawashima, Y., H.Yamamoto, H. Takeuchi, T. Hino, T. Niwa., European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 45, 41-48 (1998).
- 7) Yusuke Tsukada, Kaori Hara, Yohei Bando, C. Huang, Yasuo Kousaka, Yoshiaki Kawashima, Ryuichi Morishita, Hiroyuki Tsujimoto, Int. J. Pharm., 370, 196-201 (2009).
- 8) Hiromitsu Yamamoto, Wataru Hoshina, Homare Kurashima, Hirofumi Takeuchi, Yoshiaki Kawashima, Toyokazu Yokoyama, Hiroyuki Tsujimoto., Advanced Powder Technology, 18, 2, pp.215-228 (2007).
- 9) 山本浩充, 倉嶋誉, 片桐大介, 楊明世, 竹内洋文, 川島嘉明, 横山豊和, 辻本広行, 薬剤学, 64, 4, 245-253 (2004).
- 10) 辻本広行, 原香織, 塚田雄亮, 川島嘉明, 羽多野重信, 粉体工学会, 44,6459-464 (2007).
- 11) Kawashima Y et al., Pharm Devel Tech 5, 77-85 (2000).
- 12) Lamprecht A et al., J Pharmacol Exp Ther 299, 775-781 (2001).
- 13) Dange C et al., J Control Rel ,13, 233-239 (1990).
- 14) 辻本広行, 原香織, 川島嘉明, 粉体工学会誌, 42, 765-772 (2005).
- 15) 辻本広行, 塚田雄亮, 原香織, 江頭健輔, 特許公開2007-119396, 核酸化合物封入ナノ粒子を含む経肺投与用医薬製剤.
- 16) Hara, K., H. Tsujimoto, C. C.Huang, Y. Kawashima, M. Tsutsumi., Int J Pharm,356(1-2), 267-73 (2008).
- 17) Fukuta, M., H.Yamamoto, Y. Kawashima, K. Tahara, M. Mizuno, K. Hara, H. Tsujimoto, H. Mori., 2nd Int. Symp. Smart Process. Tech. (SPT'07), Osaka, Japan.
- 18) 久保満樹, 江頭健輔, 小田晋一郎, 川島嘉明, 辻本広行, 原香織, 砂川賢二, 第15回日本血管生物医学会学術大会 p.81, 2007. 11. 30.
- 19) Satoshi Kimura, Kensuke Egashira, Kaku Nakano, Eiko Iwata, Miho Miyagawa, Hiroyuki Tsujimoto, Kaori Hara, Yoshiaki Kawashima, Ryuji Tominaga, Kenji Sunagawa, "Local Delivery of Imatinib Mesylate (STI571)-Incorporated Nanoparticle Ex Vivo Suppresses Vein Graft Neointima Formation", Circulation, 118 (suppl1) :S65-S70 (2008).
- 20) Satoshi Kimura, Kensuke Egashira, Ling Chen, Kaku Nakano, Eiko Iwata, Miho Miyagawa, Hiroyuki Tsujimoto, Kaori Hara, Ryuichi

- Morishita, Katsuo Sueishi, Ryuji Tominaga, Kenji Sunagawa, "Nanoparticle-Mediated Delivery of Nuclear Factor B Decoy Into Lungs Ameliorates Monocrotaline-Induced Pulmonary Arterial Hypertension", *Hypertension*, (2009).
- 21) Koga, J., T. Matoba, K. Egashira, K.Hara, H. Tsujimoto, K. Sunagawa., 第72回日本循環器学会, 72, 149 (2008).
- 22) Mitsuki Kubo, Kensuke Egashira, Takahiro Inoue, Jun-ichiro Koga, Shinichiro Oda, Ling Chen, Kaku Nakano, Tetsuya Matoba, Yoshiaki Kawashima, Kaori Hara, Hiroyuki Tsujimoto, Katsuo Sueishi, Ryuji Tominaga, Kenji Sunagawa, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, DOI: 10.1161/ATVBAHA.108.182584, (2009).
- 23) Masuda, S., K. Egashira, K. Nakano, N. Tsukie, K. Funakoshi, E. Iwata, H. Tsujimoto, K. Hara, K. Sunagawa., 第72回日本循環器学会, 72, 606 (2008).
- 24) Tsukie, N., K. Egashira, K. Nakano, S. Masuda, E. Iwata, H. Tsujimoto, K. Hara, K. Sunagawa., 第72回日本循環器学会, 72, 344-345 (2008).
- 25) R. Morishita., M. Aoki, Y. Kaneda, *Current Drug Targets*, 1, 15-23 (2000).
- 26) R. Morishita., *J. Pharmacol. Sci.*, 95, 1-8 (2004).
- 27) H. Nakamura, M. Aoki, K. Tamai, M. Oishi, T. Ogihara, Y. Kaneda, R. Morishita., *Gene Therapy*, 9, pp.1221-1229 (2002).
- 28) K. Tamai, K. Hashimoto, Y. Kaneda, R. Morishita., *General Report of Research with Health and Labour Sciences Research Grants* (2004).
- 29) 平成18年2月12日, アンジェスMG, HPリリース (NF- κ B デコイオリゴのアトピー性皮膚炎領域における国内第II相臨床試験の成績とその意義について).
- 30) 辻本広行, 塚田雄亮, 原香織, 川島嘉明, *粉体工学会*, 44, 6, 453-458 (2007).
- 31) Y. Tsukada, H. Tsujimoto, K. Hara, C. C. Huang, M. Sakaguchi, M. Aoki, R. Morishita, Y. Kawashima., *The First Asian Symposium on Pharmaceutical Sciences and Technology*, 86-89, July 28-30, 2007.
- 32) 田原耕平, 山本浩充, 川島嘉明, *PLGA ナノスフェアの細胞内取り込みメカニズムと細胞内挙動の解析*, 日本薬剤学会 (北海道 2008).
- 33) 船越公太, 江頭健輔, ナノDDS制御コーティング技術の創製による次世代ステント内再狭窄対策の開発, *Mebio Vol.24 No.4* 106-117 (2007.6).
- 34) 平成17年11月15日, アンジェスMG, 東郷メデキット, ホソカワミクロン, HPリリース (血管再狭窄予防用「薬剤溶出型バルーンカテーテル」の3社共同研究開発契約締結のお知らせ) 例えば <http://www.hosokawamicron.co.jp/news/pdf/news20071115.pdf>.
- 35) フジサンケイビジネスアイ2007年11月20日9面・企業・ベンチャー・テクノロジー, 「ホソカワミクロン, 血管の再閉塞防止, カテーテル共同開発へ」.
- 36) 日経産業新聞2007年12月17日10面・バイオこれで攻める「メデキット, 薬剤塗布した風船で治療」.
- 37) Kaku Nakano, Kensuke Egashira, Seigo Masuda, Kouta Funakoshi, Gang Zhao, Satoshi Kimura, Tetsuya Matoba, Katsuo Sueishi, Yasuhisa Endo, Yoshiaki Kawashima, Kaori Hara, Hiroyuki Tsujimoto, Ryuji Tominaga, Kenji Sunagawa, *JACC: Cardiovascular Intervention*, vol.2, No.4, 277-83 (2009).
- 38) 学会ダイジェスト, 第15回日本血管生物医学会学術集会 2007. 11. 30, DESの問題解決に生体吸収性ポリマーや生分解性マグネシウムが有効, <http://medical.nikkeibp.co.jp/leaf/all/gakkai/jvbmo2007/200711/504933.html>.
- 39) Babapulle MN, Eisenberg MJ., *Circulation*. 106, 2859-66 (2002).
- 40) Joner M, Finn AV, Farb A, Mont EK, Kolodgie FD, Ladich E, Kutys R, Skoriya K, Gold HK, Virmani R., *L Am Coll Cardiol*. 48, 193-202 (2006).
- 41) 辻本広行, 江頭健輔他, 特許公開2007-215620, 薬剤溶出型ステント及びその製造方法.
- 42) 井上紳太郎, 化粧品開発でのバイオサイエンスの応用, *科学と生物*, 46, 4, 268 (2008).
- 43) 船越陽子, *J. Soc. Cosmet.Chem.Jpn Vol.42, No.1*, 2-6 (2008).
- 44) 辻本広行, 原香織, C. C. Huang, 横山豊和, 山本浩充, 竹内洋文, 川島嘉明, 赤木訓香, 三羽信比古, *粉体工学会誌*, 41, 867-875 (2004).

- 45) 辻本広行, Drug Delivery System, 7, 405-415 (2006).
- 46) 塚田雄亮, 原香織, 辻本広行, 粉体と工業, Vol.39, 5, 54-63 (2007).
- 47) Tsujimoto, H., K. Hara, Y. Tsukada, C. C. Huang, Y. Kawashima, M. Arakaki, H. Okayasu, H. Mimura, N. Miwa, E., Bioorganic & medicinal chemistry letters, 17, 4771-4777 (2007).
- 48) 辻本広行, 原香織, 粉体と工業, Vol.39, 1, 51-57 (2007).

Captions

- Fig. 1 Chemical structure of PLGA and its decomposition behavior in PBS
- Fig. 2 PLGA nanoparticle preparation by ESD method and its deposition behavior in emulsions

- Fig. 3 AFM Photo of PLGA nanoparticles and construction of PLGA nanocomposite particles, and their application
- Fig. 4 PLGA particulate designs and preparation technologies for creating new DDS
- Fig. 5 Examples of DDS of NDON loaded PLGA nanoparticles
- Fig. 6 New drug eluting stent coated with drug loaded PLGA nanoparticles
- Fig. 7 Stent coating technology using electrodeposition for PLGA nanoparticles
- Fig. 8 Adaptability difference between DEB catheter and DES
- Fig. 9 Photos of permeability of PLGA nanoparticles into human skin biopsies
- Table 1 DDS researches on PLGA nanoparticles