

- 7) Akashi, M. *et al.*: *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, **27**, 3521 (1989).
 8) Akashi, M. *et al.*: *J. Appl. Polym. Sci.*, **39**, 2027 (1990).
 9) Chen, M.-Q. *et al.*: *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, **37**, 2155 (1999).
 10) Serizawa, T. *et al.*: *Biomacromolecules*, **2**, 469 (2001).
 11) Akashi, M. *et al.*: *Bioconjugate Chem.*, **9**, 50 (1998).
 12) Hayakawa, T. *et al.*: *J. Medical Virology*, **56**, 327 (1998).
 13) Van Cott, T. C. *et al.*: *J. Immunol.*, **160**, 2000 (1998).
 14) 窪田 満ら: 化学と生物, **35**, 415 (1997).
 15) Kawamura, M. *et al.*: *J. Med. Virol.*, **66**, 291 (2002).
 16) Mazzoli, S. *et al.*: *Nat. Med.*, **3**, 1250 (1997).
 17) Akagi, T. *et al.*: *J. Med. Virol.* **69**, 163 (2003).

生分解性ナノパーティクルを用いたDDS

山本 浩充・竹内 洋文・川島 嘉明*

理想的な薬物治療を目指して、薬物送達能、薬物放出制御能を有する薬物キャリアを用い、目的とする部位(患部)に必要なとき必要な量の薬物を適用するシステムの構築が多数試みられている。これにより、従来の剤形と比較して、薬理効果の増大、毒性の低減、患者のコンプライアンスや服用性向上が期待されるからである。薬物キャリアの中でも、生体適合性素材を基剤として用いたマイクロ、ナノパーティクル製剤が注目されている。特にナノパーティクルはターゲティング能や薬物吸収改善能など、マイクロパーティクルに比べすぐれた機能を有している。たとえばナノパーティクルは血中に投与可能なことに加えて、経粘膜的に粒子自身を取り込ませ全身循環できることが報告されている。そのためナノパーティクルの基剤には、ポリ乳酸グリコール酸 (PLGA) やポリブチルシヤノアクリレートなどのように、生体内で毒性を示さない低分子物質に分解され、代謝されることが望まれる。生分解性ポリマーとしては、その他にポリε-カプロラクトンやポリリジン、ポリアルギニンなどのポリアミノ酸などが利用されている。以下に注射型と経粘膜投与型 DDS として活用されている生分解性ナノパーティクルシステムを概説する。

1. 注射型生分解性ナノパーティクル

ナノパーティクルは、ワクチンや抗ガン剤のためのキャリアとして1970年頃に開発された。血中に入った5 μm以下の微粒子は肝臓や脾臓などに存在する細網内皮系 (reticuloendothelial system, RES) によって取り込まれ、血中から速やかに消失する。組織ターゲティングを目的としたナノパーティクルを設計する場合、このRESによる取り込みをいかに回避し、血中滞留性を高めて目的組織への薬物送達量を増大させるかが重要となる。RESの取り込みには免疫グロブリン (IgG, IgM) や補体系タンパクであるC3フラグメントが粒子表面に結

合し、オプソニンレセプターを有するマクロファージなどの貪食系細胞に捕食される。これらタンパクは、粒子表面の疎水性が高いほど、また正に荷電した粒子ほど結合しやすく、その吸着は粒子表面を親水化することで回避できることが報告されている。^{1,2)} リポソームやリピッドエマルジョンでは、ポリエチレングリコール (PEG) やポリビニルアルコールなどの親水性の高分子で表面修飾することで血中滞留性が高まり、血管透過性の高い腫瘍組織や炎症部位などの疾患部位に集積させることができる。また、高分子ナノパーティクルでも、生分解性ポリマーとこれら親水性高分子とのブロック共重合体を基剤として用いることによって、RESを回避する粒子を設計できる。このような、長期血中滞留型 (ステルス) ナノキャリアに関する研究は、ガン治療などを中心に行われている。³⁾

近年、これまで治療が困難とされてきた遺伝子欠損による疾病に対する治療法として、遺伝子治療が注目を集めているが、生分解性ナノパーティクルは非ウイルス性の遺伝子ベクターとしての応用も研究されている。LeeらはポリリジンにPEGをグラフト重合させたポリマーと遺伝子を静電的に相互作用させてナノコンプレックス粒子を調製している。このときグラフト化したPEGは調製時の粒子の凝集を抑制する分散安定剤として働く。さらにこの粒子の表面に膜融合タンパクであるKALAを静電的に吸着させることで、遺伝子導入効率を向上させることに成功している。⁴⁾

堀沢らは、関節注射用徐放性製剤としてPLGAナノパーティクルを用いたシステムを開発している。^{5,6)} 関節リウマチの薬物療法において、薬物溶液投与では薬物が関節から速やかに消失してしまうが、全身性の副作用が懸念されるため現在頻回投与が制限されている。また、患者のコンプライアンスやQOL向上を考慮すると、臨床的には月1~2回程度の投与が望ましい。このため、徐

* 著者紹介 (代表) 岐阜薬科大学製剤学教室 (教授) 〒502-8585 岐阜市三田洞東5-6-1
 TEL. 058-237-3931 FAX. 058-237-6524 E-mail: yoshiaki@gifu-pu.ac.jp

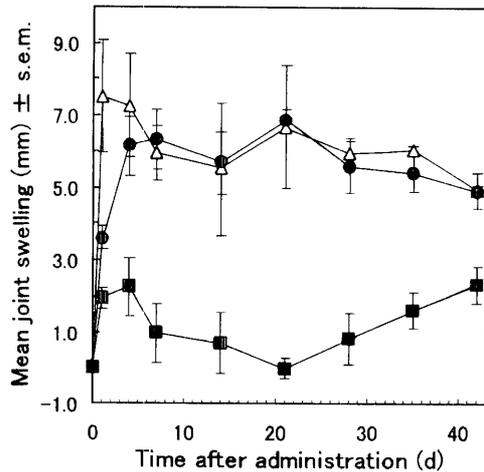


図1. FCA感作ウサギ関節炎モデルの関節膨潤性. △, 生理食塩水; ■, BSP封入ナノパーティクル; ●, BSP水溶液.

放射性製剤の開発が望まれている。関節に粒子を注射する場合、粒子のサイズが非常に重要となる。すなわち、粒子サイズがマイクロパーティクルでは滑膜の滑りが悪くなり、逆に炎症を悪化させてしまう。さらに、組織浸潤性に関しても、ナノパーティクルは速やかにマクロファージに貪食されて滑膜深部に到達するのに対し、マイクロパーティクルでは滑膜表面に局在化し炎症部位全体に粒子が拡がらない。リン酸ナトリウムベタメタゾン (BSP) を内封したナノパーティクルと薬物溶液を、炎症を惹起させたウサギの関節に投与したところ、溶液投与群では関節の膨潤が抑制できなかったのに対し、ナノパーティクル投与群では40日にわたり有意に膨潤を抑制した (図1)。

2. 経粘膜投与型生分解性ナノパーティクル

インスリンなどを始めとするペプチド性薬物は、分子サイズが大きいことと親水性であること、また、酵素分解を受けやすいことなどのため、経口投与を始めとする経粘膜投与ではバイオアベイラビリティが非常に低い。これらの課題を克服したペプチド性薬物の非注射型製剤の開発を目指した生分解性ナノパーティクルの開発例について、経口、経肺投与型システムを中心に以下に紹介する。

経口投与型生分解性ナノパーティクル ナノパーティクルはサイズが小さいため、消化管粘膜の深部にまで侵入することができる。侵入部位、すなわち小腸上皮細胞近傍で薬物を放出することで高い濃度勾配を維持でき、薬物吸収を高めることができると期待される。1988年、Dangeらはポリイソブチルシアノアクリレートナノ

パーティクルにインスリンを封入し、高血糖モデルラットに経口投与したところ、インスリン封入ナノパーティクル投与群では血糖値の低下が認められ、さらに投与量によっては20日以上血糖値の低下効果を維持できることを報告した。⁷⁾ この報告以来、ナノパーティクルの経口投与に関する研究が数多くなされるようになった。この中には、消化管からのナノパーティクルの取り込み実験なども報告されている。

Janiらは粒子径の異なる数種の蛍光標識したポリスチレンラテックス粒子 (50～3000 nm) をラットに10日間連続投与した粒子の消化管粘膜透過性試験を行い、消化管粘膜から取り込まれる粒子の割合は粒子径に依存し、より小さな粒子ほど取り込まれやすいことを見いだした。⁸⁾ 1000 nm以下の粒子であれば5%以下の粒子が、500 nm以下であれば14%、50 nm以下の粒子では30～40%の粒子が消化管から取り込まれ、さらに肝臓や脾臓への分布、血中での滞留が認められたと報告している。また、取り込まれた後の体内分布も粒子サイズに依存し、微細なほど各臓器に分布する速度が速くなった。しかしながら、実験方法などにより取り込みの割合が大きく変動しており、系統的な検討が必要であろう。また、薬物を封入したナノパーティクルに関する報告ではその粒子サイズは200 nmから800 nmである。これらの大きさの粒子では消化管から吸収される割合が投与量に比べて非常に少ないと考えられる。

消化管における粒子の取り込みは、一般に抗原認識を司るパイエル氏板において行われる。しかしながら、小腸上皮細胞などの面積に比べパイエル氏板の面積は狭く、すでに述べたような取り込み量のばらつきを生じやすい。このため、ナノパーティクルの粘膜侵入性を利用した、粘膜付着性ナノパーティクルが経口投与製剤として開発されつつある。消化管粘膜と粘膜付着性製剤との間に働く相互作用としては、静電的結合、水素結合、疎水結合などの非共有結合的相互作用、粘膜成分とポリマーとの絡み合いによる物理的な相互作用が考えられている。これまでに研究されてきた粘膜付着性物質としてポリアクリル酸やキトサン、細胞凝集因子であるレクチンなど数多くある。これら粘膜と相互作用する物質をナノパーティクル表面に化学的あるいは物理的に結合させることで、粘膜付着性ナノパーティクルが調製される。我々は、キトサンでPLGAナノパーティクルを修飾することで、粘膜付着性を示すことを明らかにした。⁹⁾ さらに、エルカトニン封入した粘膜付着性ナノパーティクルをラットに経口投与したところ、未修飾のナノパー

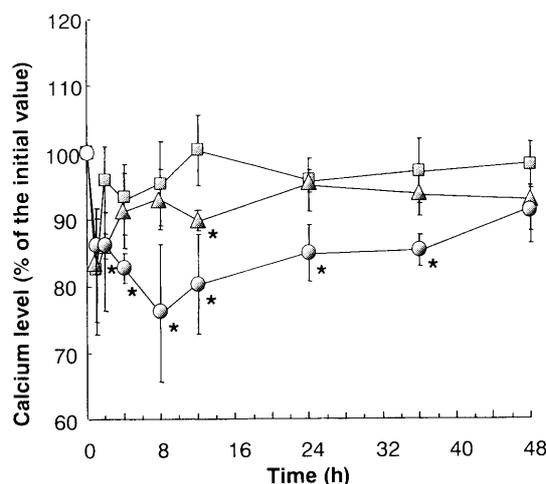


図2. 粘膜附着性カルシトニン封入ナノスフェアを経口投与したラットの血中カルシウム濃度曲線 (n=3, Mean±SD (*: P<0.05)). 投与量: 500 IU/Kg. □, カルシトニン溶液 (コントロール); ●, キトサン修飾PLGAナノスフェア; △, 未修飾PLGAナノスフェア.

ティクルでは効果の持続は約12時間であったのに対し、36時間にもおよぶ血中カルシウム濃度低下効果の持続が認められた (図2)。

経肺投与型生分解性ナノパーティクル ヒトの肺の総表面積は43~102 m²と小腸の22~52%に匹敵するほど広い。さらに、消化管に比べ投与した薬物を局在化でき、肺胞上皮細胞は1 μm以下と薄いため、薬物吸収に有利である。これらのことから、従来の喘息治療等の局所治療だけでなく、全身治療を目的とした薬物、特にペプチドなどの高分子量薬物の投与経路として注目されている。

我々は、PLGAを基剤とした経肺投与型の徐放性ナノパーティクルを開発している。経口投与と同様にエルカトニンを封入したナノパーティクルをモルモットに経気管支投与した。ナノパーティクル投与群では、溶液投与群に比べ薬理効果持続時間がわずかに延長した。肺では異物排除機構が存在するため、ナノパーティクルは速やかに消失し、投与後1時間で投与量の3分の1にまで減少した。このため薬理効果の持続時間が短かったと考えられる。¹⁰⁾ 経口投与において、PLGAナノパーティクル表面をキトサンで修飾することにより、薬理効果の持続化が達成できたことから、粘膜附着性ナノパーティクルを経肺投与に応用した。その結果、肺からの消失速度が低下し、薬理効果も持続した。同様に我々は *in situ* 心肺循環系を用いて肺からの粒子の透過について検討している。¹¹⁾ ポリスチレンラテックスを用いた検討において、消化管粘膜および鼻粘膜からの粒子の透過と同様に、経

気管支的に50 nmの粒子を投与したところ、投与した粒子の約2%が循環液中に透過した。しかしながら100 nm以上の粒子を投与した群では、粒子の透過は認められなかった。この結果から、透過性には粒子サイズが影響することが明らかになった。また、キトサン溶液とともに粒子を投与しても、粒子透過量の増加は認められなかった。粒子の透過機構に関しては、細胞間隙開口を作用機序とする吸収促進剤同時投与による吸収量の増加が認められなかったこと、エンドサイトーシス阻害剤併用投与によって吸収量が減少したことから、肺での粒子の透過経路は細胞内ルートがメインルートとして考えられる。このように経粘膜的に粒子を全身血流中に移行させることができることから、DNAを内封した微粒子キャリアやDNAとキトサンとのコンプレックスなどを経粘膜的に投与し遺伝子発現させたり、免疫発現を起こさせたりするなど新しい展開が期待できる。

近年、患者の体質による薬の効き方の違いに基づいた治療法であるテーラーメイド医療の実現に向けた研究が盛んに行われ、日本政府も「バイオテクノロジー戦略大綱」の一環として、テーラーメイド医療に関する研究開発を奨励している。テーラーメイド医療が実現すれば、副作用が少なく効果の高い治療や、生活習慣病やガンなどの予防や早期治療も可能になると考えられる。たとえば粒子の表面修飾技術などを利用して組織指向性を高めたり、すでに血糖値の程度によって放出制御が可能な製剤が報告されているように薬理効果のフィードバックによって薬物放出をオン・オフする高分子を利用したナノパーティクルは、テーラーメイド医療用の薬物キャリアとして利用できる。今後のナノパーティクルシステムのさらなる発展が期待される。

文 献

- 1) Ishida, T. *et al.*: *Int. J. Pharm.*, **156**, 27 (1997).
- 2) Takeuchi, H. *et al.*: *J. Control. Release*, **68**, 195 (2000).
- 3) Kaul, G. *et al.*: *Pharm. Res.*, **19**, 1061 (2002).
- 4) Lee, H. *et al.*: *J. Control Release*, **79**, 283 (2002).
- 5) Horisawa, E. *et al.*: *Pharm. Res.*, **19**, 403 (2002).
- 6) Horisawa, E. *et al.*: *Pharm. Res.*, **19**, 132 (2002).
- 7) Damge, C. *et al.*: *Diabetes*, **37**, 246 (1988).
- 8) Jani, P. *et al.*: *J. Pharm. Pharmacol.*, **42**, 821 (1990).
- 9) Takeuchi, H. *et al.*: *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **47**, 39 (2001).
- 10) 久野由雄ら: 第36回粉体に関する討論会講演論文集, p.72 (1998).
- 11) 杉村大樹ら: 日本薬学会第122年会講演要旨集4, p.75 (2002).