ナノテクノロジーを利用した経肺投与技術の開発

特集 微粒子製剤による薬物経肺デリバリー

川上 亘作・張 紹玲*

Nanotechnologies in development of pulmonary drug delivery

Various nanotechnologies have been utilized in recent researches on pulmonary drug delivery. Notably, pulmonary administration of nanoparticulate formulation is regarded as promising in terms of effective deposition and prolonged retention of the drugs.

In this review, recent development of the nanotechnology-driven particle engineering for pulmonary drug delivery, with emphasis on control of surface characteristics of the particles using nanofabrication technique. Also noticed is the electrospray method, which is a novel technology to prepare nanoparticles. The advantage of this method is that it can be operated in ambient temperature and pressure conditions.

近年の吸入剤研究にはさまざまなナノテクノロジーが利用されており、特にナノ粒子を利用した経肺投与は、薬物の沈着効率やその持続性において、効果を発揮すると期待されている。

本稿では、筆者らのナノ加工による粒子の表面物性制御に関する研究を中心として、最近のナノテクノロジーを利用した吸入用粒子設計について解説する。また、新しいナノ粒子調製法であるエレクトロスプレー法を利用した粒子設計についても触れる。本手法は常温・常圧下で操作できるマイルドなナノ粒子調製法として期待される。

Kohsaku Kawakami · Shaoling Zhang*

key words : nanotechnology, nanoparticle, surface roughness, spray-drying, electrospray

経肺投与が肺疾患治療のみならず、薬物の全身投与手段としてもきわめて有望であることは、すでに広く認識されている。しかし吸入剤の製品化にあたっては、いまださまざまな課題が残されている。世界初の全身投与吸入剤として2006年に発売されたファイザー社のExuberaも、発売前は年商2,000億円といわれながら、わずか2年足らずで販売中止となった。本製品に対する指摘からも明らかになったとおり、現状の経肺投与技術については、デバイスの適正使用の難しさ、製剤の分散性の確保、バイオアベイラビリティの低さなど、問題点が山積している。

経肺投与が薬物の全身投与手段として広く普及するためには、吸入デバイスと製剤技術の両方に、いまだ革新的な技術向上が必要であるといえる。そのような状況のなか、近年はナノテクノロジーが急速に進歩しており、経肺投与研究においてもそれを利

用したものが多くみられるようになってきた。

本稿においては、ナノテクノロジーを利用した経肺投与技術の開発、特にナノ粒子やナノ加工を利用した粒子設計についてレビューを行う。なお通常、材料化学の分野においてナノ粒子とは100 nm以下のものを指すが、これは気相微粒子についてはいまだ達成困難な領域であり、本稿ではサブミクロン以下の粒子をナノ粒子とよぶ。

吸入剤におけるナノ粒子の特長

吸入剤の肺内沈着部位は、呼吸様式などさまざまな因子によって影響を受けるが¹⁾、製剤の観点からみれば空気力学径が最も重要な要素である^{1~8)}。一般に吸入剤の製剤開発研究においては、数 μm が最も投与効率の高いサイズと認識されてきたが、ナノ粒子のさらなる可能性も示唆されている。図1は、ICRP(International Commission on Radiological Protection)モデルに基づく、空気力学径と肺内沈着部位の関係である¹⁾。本モデルは粒子径の影響を

* Biomaterials Center, National Institute for Materials Science and International Center for Materials Nanoarchitectonics 物質・材料研究機構生体材料センター、国際ナノアーキテクトニクス研究拠点

図1 半経験モデル(ICRP Model)による口呼吸時の粒子径と肺内沈着部位の関係(文献⁹⁾より改変)

描写するモデルとして、さまざまな分野において最も広く受け入れられているものであり、近年のナノ材料の安全性の議論もこのモデルに基づいて行われることが多い。このモデルによると、一般に数マイクロの粒子の沈着効率が大きく、それより少し小さいサブミクロン粒子の沈着効率は低下するが、さらに小さな数百ナノメートル以下の領域に到達すると、再び沈着効率は高くなる。この傾向はICRPモデルに限ったことではなく、他のモデルでも同様の傾向を示し、さらに最近では、100 nm以下の粒子のすぐれた沈着性がヒトのデータでも実証されている^{9,10)}。

マイクロ粒子の沈着挙動が慣性力や重力沈降に支配されているのに対し、この大きさの粒子はブラウン運動に支配されているため、ゆっくりとした呼吸や息止め、さらには繰り返し吸入によって沈着効率はさらに上昇する^{4,7)}。

ほかにもナノ粒子にはさまざまな効果が期待されており、たとえば粘液纖毛クリアランスが回避できる可能性が示唆されており、効果の高い徐放性も期待できる。また数マイクロの粒子は肺胞マクロファージに認識されやすい大きさでもあるため¹¹⁾、マクロファージを標的とする場合には望ましいが、それ以外の場合には無用の免疫反応を引き起こす危

険性がある。ナノ粒子はマクロファージに認識されないため、これも回避できる。さらには、分散液のネブライザー投与を想定した場合、マイクロ粒子では投与が困難であるが、ナノ粒子では可能となる¹²⁾。

ナノ粒子の徐放性を活かした例として、Pandeyらはポリ乳酸グリコール酸(PLGA)ナノ粒子分散液を用い、ジェットネブライザー投与によって、rifampicin, isoniazid, pyrazinamideの徐放化と、バイオアベイラビリティの向上を達成している(表1)^{13,14)}。いずれの薬物も、溶液をネブライザー投与したときの平均滞留時間(MRT)は2.5~4時間であったが、ナノ粒子化によって3~5日にまで延長している。バイオアベイラビリティ(BA)も、それぞれ2.1倍、18倍、98倍となった。この効果は、ナノ粒子表面をレクチン修飾し、上皮細胞のレセプターで認識させることによって、さらに増大した。

ほかにも、YamamotoらはPLGAナノ粒子をキトサンで修飾することにより、その粘膜付着性とタイトジャンクション開口能によって、薬効の持続と吸収促進効果が達成できることを示した¹²⁾。特にelcatoninを含有したキトサン修飾ナノ粒子は、24時間にわたる血中カルシウム濃度の抑制効果を達成している。

ナノ粒子を含有した製剤設計

気相で分散性にすぐれたナノ粒子を得るのは現状困難であるが、液相ではさまざまな手法で調製できる。そのようなナノ粒子を含有し、肺においてすぐにナノ粒子が放出される製剤を作成することによっても、粘液纖毛クリアランスやマクロファージ認識を回避するといった長所を享受するには充分である¹⁵⁾。そのためには、溶解性にすぐれる担体のなかにナノ粒子を保持すればよい^{16~18)}。調製には噴霧乾燥、もしくはそれを改良した手法が用いられるが、その代表例ともいえる4流体ノズル噴霧乾燥機を利用した製剤化¹⁷⁾が、本号において尾関らにより解説される予定である。またナノ粒子としてリポソームを用いた研究も展開されているが、これについては昨年の本誌で紹介¹⁹⁾したため割愛する。

表1 ジェットネブライザー投与時のナノ粒子の効果(Pandey R et al., 2003¹³⁾, Sharma A et al., 2004¹⁴⁾より抜粋)

	Rifampicin			Isoniazid			Pyrazinamide		
	水溶液	PLGA粒子	レクチン粒子	水溶液	PLGA粒子	レクチン粒子	水溶液	PLGA粒子	レクチン粒子
Cmax(mg/L)	—	1.29	1.07	—	5.06	5.79	—	25.6	22.52
Tmax(h)	—	24	72	—	96	120	—	96	96
MRT(h)	2.5~4	60.3	—	2.5~4	98.6	—	2.5~4	101.2	—
AUC(mg・h/L)	2.1	107	117.2	18	359	584	98	2715	4670
経口投与に対するBA比	0.13	6.5	13.4	0.96	19.1	53.1	0.48	13.4	22.1

PLGA粒子の平均粒子径は186~290nm(エアロゾル径1.9 μ m), レクチン修飾粒子の平均粒子径は350~400nm(エアロゾル径2.8 μ m)

ナノ粒子は溶質と比較すれば拡散速度が遅いため、十分に速い乾燥条件で噴霧乾燥すれば、中空粒子が形成される。担体を利用せず、もしくは少量だけ添加して、そのようにナノ粒子自身を低密度で集合させた粒子^{20,21)}は、PNAPs(Porous nanoparticle-aggregate particles)と名付けられており¹⁵⁾、製剤化の一つの選択肢として注目されている。

Exuberaについて実用化されるといわれているインスリン吸入剤はTachnosphereとよばれる技術を利用しているが、これはfumaryl diketopiperazineをナノ晶析し、自己集合させた粒子上に薬物を吸着させるものである²²⁾。インスリン製剤の場合は、空気力学径2.5 μ mの粒子となっている。

高機能性気相ナノ粒子の実現に向けた検討

現状、吸入剤の粒子設計はマイクロオーダーの粒子径を目指すのが普通であるが、凝集力が強いいため乳糖などの担体に頼ることが多い。担体との相互作用には、保存中は強固でありながら、投与時には容易に脱着することを期待している。これはある意味矛盾した期待であるため、担体を用いることによって逆に吸入特性がわるくなるようなケースも当然存在する。たとえば、Adiらはsalmeterol xinaforateに乳糖担体を適用したところ、FPF(fine particle fraction)が10.8%から4.0%まで低下した例を報告している²³⁾。粒子がナノ化すれば、担体との相互作用制御や、混合均一性の確保などがより深刻な問題となることは想像に難くない。したがって、あくまでもナノ粒子のみでの製剤化が理想であり、そのためには粒子表面物性を制御して高分散性を確保しなければならない。

粒子の付着性を制御するためには、表面に露出する分子や官能基を制御するといった化学的改質と、微細形状を制御する物理的改質が想定できる。噴霧乾燥のように液滴から粒子を得る場合、その表面組成は径方向の物質移動により決定されるため、滴の収縮に追従することが困難な高分子化合物は、粒子表面に集積しやすい。また、界面活性物質も表面への集積が期待される。たとえば吸湿性の高いマルトースに、界面活性剤であるGelucire 44/14を0.5%添加して噴霧乾燥を行ったところ、表面の90%をGelucireが被覆することが、X線光電子分光分析より明らかとなった²⁴⁾。マルトースのみで噴霧乾燥した粒子は非常に凝集性が高いため、比表面積測定を行っても粒子径から求められる理論値の70%の値しか得られないが、Gelucireを添加した粒子では104%となり、分散性が顕著に改善されることがわかった²⁴⁾。

表面形状の複雑さは凝集力に大きな影響を及ぼすが^{25,26)}、たとえばそのような加工は、高分子化合物を表面に集積させることによって達成できる。図2は10重量%のマルトース水溶液を噴霧乾燥して得られる粒子と、それに対して5%のBSA(牛血清アルブミン)を添加して噴霧乾燥することによって得られる粒子であるが、明らかに異なる表面形状を有していることがわかる。乾燥過程における液滴内の物質移動は、ペクレ数 Pe によって定量表現することができる²⁷⁾。

$$Pe = \frac{r^2}{\tau D_i}$$

ここで r , τ , D_i はそれぞれ液滴径、乾燥時間、成分 i の拡散速度である。 Pe が大きいほど、その成分は表面に取り残される。したがって拡散速度の

図2 噴霧乾燥法により得られたマルトース粒子aとマルトース/BSA = 100/5 粒子bの電子顕微鏡写真

図3 比表面積の実測値/理論値の比と、カスケードインパクト測定から得られる高分散性粒子割合との関係。高分散性粒子割合はデバイスに残留した量を差し引いて求めた。

○：マルトース/BSA. □：マンニトール/BSA. △：マンニトール/メチルセルロース. ◇：マンニトール/ポリビニルピロリドン. ●：マルトース/BSA/Gelucire. ■：マンニトール. ▲：マルトース/メチルセルロース. ◆：マルトース/ポリビニルピロリドン

遅い高分子化合物は、乾燥過程で表面に濃縮されて柔軟性を有する高分子層を形成するため、収縮後の粒子は皺構造を有するものと解釈できる。さらに乾燥速度を速くしたり、液滴径を大きくしたりすることによって、表面構造が制御できる可能性があることも、この式より読み取ることができる。

マルトース粒子は凝集性が高いため、それ単体でカスケードインパクトで評価することは不可能であ

図4 噴霧乾燥法により得られたマルトース/SDS = 100/4 の中空粒子の電子顕微鏡写真

るが、高分子化合物によって表面を複雑化した粒子は評価が可能となる。図3はカスケードインパクトで2段目以降に回収される粒子の割合を、実測比表面積と理論比表面積の比の関数として示したものである²⁴⁾。いずれも粒子径は3.9~7.4 μmの範囲内であるが、粒子径や組成に関わらず相関がみられ、表面構造が分散性を決定する重要な因子となることが示唆されている。高分子化合物を粒子表面に集積させることによって、表面加工を施すこの手法は、ナノ粒子の凝集性制御にも有効になるものと期待される。

また、粒子密度を下げることによって空気力学径を小さくし、肺深部へのデリバリー効率を上げるアプローチも大きな注目を集めている。なかでも中空

図5 エレクトロスプレー法の概略図

粒子の設計は、密度を下げるためのきわめて効率的な戦略であるが²⁸⁾、中空粒子を得るためにも表面集積と同じ発想が有効である。マルトースを噴霧乾燥した場合、球形粒子が得られることはすでに図2aで示した。これに4%のSDS(ドデシル硫酸ナトリウム)を添加して噴霧乾燥を行うと、図4に示すような中空粒子となる。界面活性剤の添加は溶媒の蒸発速度に影響を与えることが知られているが、SDSは特に表面への拡散が速い界面活性剤であり、10 msで表面張力は43 mN/mまで低下するため、SDSの速やかな表面吸着によって、蒸発速度が速くなった可能性が考えられる。マルトース粒子の密度は1.55 g/cm³であるが、中空化によって1.19 g/cm³までの低下が達成された²⁴⁾。

エレクトロスプレー法によるナノ粒子の調製

経肺投与粒子は噴霧乾燥によって調製されるのが一般的であるが、既往の噴霧乾燥機によるナノ粒子調製はきわめて困難であるため、噴霧ノズル部や回収部の改良が、精力的に進められている。その一方で、超臨界流体法が有望視されており、本号でも採り上げられている。しかしこれらの手法は温度や圧力条件が過酷であるため、今後急増が見込まれるバイオ医薬品への適用は困難かもしれない。以下、マイルドなナノ粒子調製法として筆者らが検討を進めている、エレクトロスプレー法を紹介する。

エレクトロスプレー装置の概略を図5に示す。ノズルに送り込まれた溶液に高電圧を印加すると、ノ

図6 エレクトロスプレー法で得られた粒子の電子顕微鏡写真

- a: キトサンナノ粒子
- b: PVP(ポリビニルピロリドン K90)粒子
- c: PVP/カルバマゼピン=2/3 粒子

ズル先端にイオンが集積し、静電反発が溶液の表面張力を打ち破ることによって、微細な液滴が発生する。この液滴はターゲットに吹き付けられるが、その間に溶媒は蒸発し、ターゲット上で固体粒子が得られる。エレクトロスプレー法は質量分析計のマイ

ルドなイオン化手法として広く認識されている一方で、材料化学の分野では高粘性溶液からナノファイバーを作成する手法として注目されている。

エレクトロスプレー法で調製したキトサンナノ粒子を図6aに示す。本手法においても、高分子化合物の利用で表面構造の複雑化が可能である。図6bはポリビニルピロリドン粒子であるが、その形状は、やはり表面層形成後に内部溶媒が留去されたことを示唆している。これに1.5倍量のカルバマゼピンを含有させた例が図6cであり、薬物が多量に搭載されると形状の複雑化効果が失われ、ほぼ球形になっていることがわかる。

本手法は、常温・常圧で操作できることが大きな特長であるため、経肺投与が有望視されているバイオ医薬品にも比較的適用が容易かもしれない。噴霧乾燥法で蓄積された知見をもって、本手法でも表面物性を化学的・物理的に制御し、吸入治療に適した粒子設計が展開できるものと期待される。

おわりに

以上、ナノテクノロジーを利用した経肺投与粒子の設計について解説した。経肺投与が薬物の全身投与技術として広く受け入れられるためには、薬物粒子が肺胞にまで確実に送達されなければならない。それを実現するためには、表面加工も含めたナノテクノロジーの利用が鍵になると考えられる。

また本稿では粒子設計にしか触れていないが、投与デバイスのさらなる開発も急務である。ドライパウダー吸入器(DPI)は使用が簡単とされているものの、実際にはうまく吸入できていない例が少なくないようである。たとえば吸引力が強すぎると、大きな粒子は喉周辺で衝突する確率が高まり、小さな粒子は一度肺深部まで到達しても、再び排出されてしまうといった問題が起こる。近年はナノ材料の安全性に対する議論も進んでおり、今後ナノ粒子の経肺曝露に関する安全性・沈着挙動両方のデータが多く提出されると見込まれるため、他分野の研究も参考にしながらの、固定観念に捕われない革新的な開発研究が求められる。

文 献

- 1) ICRP Publication 66 : Human respiratory tract model for radiological protection. (Smith H Ed.), Pergamon, New York, 1994.
- 2) Drug delivery to the lung. (Bisgaard H, O'Callaghan C, Smaldone GC Ed.), Informa Healthcare, New York, 2001.
- 3) Inhalation Aerosols 2nd Edition. (Hickey AJ Ed.), Informa Healthcare, New York, 2006.
- 4) Katz IM, Schroeter JD, Martonen TB : Factor affecting the deposition of aerosolized insulin. *Diabetes Technol Ther* 3 : 387-397, 2001.
- 5) Shekunov BY, Chattopadhyay P, Tong HHH, Chow AHL : Particle size analysis in pharmaceuticals : Principles, Methods and Applications. *Pharm Res* 24 : 203-227, 2007.
- 6) Patton JS, Byron PR : Inhaling medicines : delivering drugs to the body through the lungs. *Nature Rev Drug Discovery* 6 : 67-74, 2007.
- 7) Park SS, Wexler AS : Size-dependent deposition of particles in the human lung at steady-state breathing. *Aerosol Sci* 39 : 266-276, 2008.
- 8) Yang W, Peters JL, Williams III RO : Inhaled nanoparticles—A current review. *Int J Pharm* 356 : 239-247, 2008.
- 9) Jaques PA, Kim CS : Measurement of total lung deposition of inhaled ultrafine particles in healthy men and women. *Inhal Toxicol* 12 : 715-731, 2000.
- 10) Daigle CC, Chalupa DC, Gibb FR, Morrow PE, Oberdörster E et al. : Ultrafine particle deposition in humans during rest and exercise. *Inhal Toxicol* 15 : 539-552, 2003.
- 11) Hirota K, Hasegawa T, Hinata H, Ito F, Inagawa H et al. : Optimum conditions for efficient phagocytosis of rifampicin-loaded PLGA microspheres by alveolar macrophages. *J Control Release* 119 : 69-76, 2007.
- 12) Yamamoto H, Kuno Y, Sugimoto S, Takeuchi H, Kawashima Y : Surface-modified PLGA nanosphere with chitosan improved pulmonary delivery of calcitonin by mucoadhesion and opening of the intercellular tight junctions. *J Control Release* 102 : 373-381, 2005.
- 13) Pandey R, Sharma A, Zahoor A, Sharma S, Khuller GK et al. : Poly (DL-lactide-co-glycolide) nanoparticle-based inhalable sustained drug delivery system for experimental tuberculosis. *J Antimicrob Chemther* 52 : 981-986, 2003.
- 14) Sharma A, Sharma S, Khuller GK : Lectin-functionalized poly (lactide-co-glycolide) nanoparticles as oral/aerosolized antitubercular drug carriers for treatment of tuberculosis. *J Antimicrob Chemther* 54 : 761-766, 2004.
- 15) Sung JC, Pulliam BL, Edwards DA : Nanoparticles for drug delivery to the lungs. *Trends Biotechnol* 25 : 563-570, 2007.
- 16) Sham JOH, Zhang Y, Finlay WH, Roa WH, Lobenberg R : Formulation and characterization of spray-dried powders containing nanoparticles for aerosol delivery to the lung. *Int J Pharm* 269 : 457-467, 2004.
- 17) Yamamoto H, Hoshina W, Kurashima H, Takeuchi H, Kawashima Y et al. : 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. *Adv Powder Technol* 18 : 215-228, 2007.
- 18) Ozeki T, Beppu S, Mizoe T, Takashima Y, Yuasa H et al. : Preparation of polymeric submicron particle-containing microparticles using a 4-fluid nozzle spray drier. *Pharm Res* 23 : 177-183, 2006.
- 19) 吉川剛兆, 川上亘作, 金岡恵理 : リボソームの吸入療法への応用. *Drug Delivery System* 23 : 460-466, 2008.
- 20) Tsapis N, Bennett D, Jackson B, Weitz DA, Edwards DA : Trojan particles : Large porous carriers of nanoparticles for

- drug delivery. *Proc Natl Acad Sci USA* 99 : 12001-12005, 2002.
- 21) Hadinoto K, Phanapavudhikul P, Kewu Z, Tan RBH : Novel formulation of large hollow nanoparticles aggregates as potential carriers in inhaled delivery of nanoparticulate drugs. *Ind Eng Chem Res* 45 : 3697-3706, 2006.
 - 22) Kraft KS, Grant M : Preparation of macromolecule-containing dry powders for pulmonary delivery. *Macromolecular Drug Delivery*. (Belting M Ed), Humana Press, New York, 2009, 165-174.
 - 23) Adi H, Larson I, Chiou H, Young P, Traini D et al. : Agglomerate Strength and dispersion of salmeterol xinafoate from powder mixtures for inhalation. *Pharm Res* 23 : 2556-2565, 2006.
 - 24) 川上亘作, 住谷知弥, 吉橋泰生, 米持悦生, 寺田勝英 : 経肺投与のための高分散性微粒子設計. *粉体工学会誌* 46, 2009 (印刷中).
 - 25) Chew NYK, Tang P, Chan HK, Rapper JA : How much particle surface corrugation is sufficient to improve aerosol performance of powders? *Pharm Res* 22 : 148-152, 2005.
 - 26) Dickhoff BHJ, de Boer AH, Lambregts D, Frijlink HW : The effect of carrier surface treatment on drug particle detachment from crystalline carriers in adhesive mixtures for inhalation. *Int J Pharm* 327 : 17-25, 2006.
 - 27) Vehring R, Foss WR, Lechuga-Ballesteros D : Particle formation in spray drying. *J Aerosol Sci* 38 : 728-746, 2007.
 - 28) Edwards DA, Hanes J, Capronetti G, Hrkach J, Ben-Jebria A et al. : Large porous particles for pulmonary drug delivery. *Science* 276 : 1868-1871, 1997.