膜の医療への応用

宮嶋孝一郎

京都大学薬学部 ☎ 606 京都市左京区吉田下阿達町 46-29

Application of membrane and film to medical and pharmaceutical fields

Koichiro Miyajima

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University
46-29 Yoshida-shimoadachi-cho, Sakyo-ku, Kyoto-shi, 606 Japan.

Modified natural and synthetic polymers and phospholipids have been studied as membrane materials in medical and pharmaceutical fields. Chitin prepared from the carapace of crab and shrimp is biodegradable polymer of acetylglucosamine and easily forms a film and fiber from solution. The chitin film protects from an attack of bacteria, when covered on the wounded site and accelerates the recovery. Polymer membranes have been used as materials of microcapsules containing drugs inside, through oral, subcutaneous and intramuscular administrations. These microcapsules administered orally are capable to release drugs at targeting organ in time-dependent manner. Biodegradable polymer microcapsule implanted in muscle through injection, releases drugs for over 4 weeks at a constant rate.

Biodegradable and biocompatible phospholipids has been applied for the preparations of intravenous administrations as a liposome and a microsphere. Liposomes and microspheres accumulate generally in reticuloendothelial system (RES). Recently RES-avoiding liposome has been developed by the modification of liposomal surface with polyethylene glycol and applied for an artificial red blood cell with undated hemoglobin. Lipid microsphere containing prostaglandin E_1 and anti-inflammation drug had been applied for the cure of inflammation diseases, because the inflammation sites are macrophage-rich.

Key words : Polymer, phospholipid, Drug Carrier, Controlled release.

緒言

膜の特性として隔離作用、透過（圧力下では濾過）による分離、配向性をもつ反応場の提供など

が考えられる。一方膜素材としては天然高分子、合成高分子、半合成高分子（フィルム）と、生体成分であるリン脂質や中性脂質よりなるリポソーム（脂質2分子膜）や、エマルション（脂質単分

子膜)の二種に大別される。高分子よりなる膜は、リン脂質膜にくらべて膜厚が大きく種々の大きさの細孔をもつ。また生体適合性、生分解性はリン脂質にくらべて劣り、血管系への投与剤型として用いにくい。これに反してリン脂質よりなる膜は膜厚も小さく、生体適合性、生分解性にもすぐれ、血管内投与の可能な唯一の膜素材と考えられる。

医薬品素材としてこれらの膜を生体に应用する場合、基本的に毒性のないことが要求されるが、目的とする臓器や組織に応じて、素材は異なったものになる。血管系(動脈、静脈)に用いる場合、生分解性の他に、剤型が粒子の場合、赤血球のように変形しないために、粒子の直径は $0.2\mu\text{m}$ 以下が要求される。一方経口投与と製剤の場合、高分子、リン脂質いずれの素材も用いることができるが、膜の強度や、安定性から高分子膜が用いられている。筋肉や皮下に埋め込む剤型(Implantation)では高分子膜素材の場合、生体内での分解、吸収されるものが要求される。外用(皮膚)剤の場合、生分解性のある高分子が利用されている。本稿ではシンポジウムで発表された報告を中心に膜の性質を利用した薬物の送達について述べる。

1. 外用製剤

血液透析に高分子膜が実用に供されるようになって久しい。純合成膜も用いられているが、セルロースを銅-アンモニア液で可溶化した再生セルロースの表面を、アミノ基やアンモニウム基で修飾したものを中空糸膜に加工したもので、膜のもつ透過と濾過作用を利用して血中の老廃物(低および中程度の分子、分子量 $500\sim 5,000$)を除去する。この膜は血液と直接接触するから、有形成分や血漿タンパク、補体系成分などとの相互作用のないものを用いなければならない¹⁾。血液透析用中空糸膜については、昨年のシンポジウムの主題の1つであり本稿ではのべない。

キチンは蟹や海老の甲らの主成分であり、Table 1に見られるようにセルロースの2位の水酸基がアセチルアミノ基に置換されたもので、さらに脱アセチル化されたものがキトサンである。哺乳動物に含まれる多糖は酸性ムコ多糖で、負の荷電をもっており、キトサンとは逆である。キチンを溶媒にとかし、展開したり紡糸すれば膜や繊維に加工することができる。原料となるキチンは100%アセチル化体ではなく、一部遊離のアミノ基を含んでおり、生体細胞が一般に負に荷電していることから、接着性のよさは静電相互作用も関与しているかもしれない。この膜はリゾチームやN-アセチルグリコサミダーゼによって分解をうけ、アセチルグルコサミンになり解糖系へと運ばれていく。これら生体に含まれる酵素系によって分解されるために吸収されやすく、投与部位から消失しやすい。直径 $10\mu\text{m}$ の微細繊維を厚さ 0.12mm の不織布にしたものは、通気性もよく損傷を受けた皮膚の保護および修復剤として実用化されている²⁾。キチンを細孔形成剤で処理したキチンスポンジは、人工粘膜、人工軟骨として利用されており、医薬品領域では徐放性マイクロカプセルの素材としても研究が行われている³⁾。

2. 経口投与型マイクロカプセル

従来酸性下(胃)で安定でアルカリ性下(腸)で溶解する腸溶錠(Enteric coating Tablet)が、膜素材としてセルロース醋酸・フタル酸エステルを用いて作られてきた。最近高分子膜を用いる放出制御型(Time-controlled releasesy stem)マイクロカプセルの開発が行なわれ始めた。経口投与形マイクロカプセル皮膚用高分子としては、エチルセルロースやアンモニウム基をもつ Eudragit SR が用いられている(Table 1)。これら2種の高分子は生分解生をもたないために、カプセルに内封された薬物の放出は膜透過性の変化や、膜破壊によって起こる。これらカプセルの製造は流動層造粒法によって薬物などをコートし、ついでスプレードライ法によって皮膜を形成させるものである。膜透過性の変化、膜破壊のいずれの場合も、まず膜の細孔を通してカプセル内に水が浸入することが第一段階である。

エチルセルロースを皮膜とするマイクロカプセルである TES (Time-controlled Explosion

Table 1. Chemical Structures and Compositions of Membrane Materials.

マイクロ大豆油 (100 mg), 卵黄レシチン (12 mmg), クリセロール (22.1 mg), オレイン酸 (2.4 mmg), スフェア PGE₁ (2.4 ng), 粒径 0.05~0.2 μm, マイクロスフェアの膜組成の組成

NRC の HPC : Chol : Mystinic Acid : V_E = 7 : 7 : 2 : 0.28, +PEGPE, 粒径 0.2 μm 膜組成

Fig. 1. Schematic cross-sectional view of Time-Controlled Explosion System (TES).

System) についてのべよう⁴⁾. Fig. 1に見られるように, TES は中心に芯物質, ついで薬物層, 水に不溶で膨潤性高分子であるヒドロキシプロピルセルロース層があり, その外側をエチルセルロース膜で皮覆したものである. 薬物の放出機構としては, (1) 外部から高分子皮膜を介しての水の浸入, (2) 浸入した水を膨潤剤が吸収し, 水和による膨潤圧の発生, (3) 膨潤力による高分子皮膜の破壊, (4) 薬物の外部環境への放出といった過程

Table 2. Formulation of five types of TES containing Metoprolol^{a)}.

Function	Component	TES 0	TES 1	TES 2	TES 3	TES 4
Drug	Metoprolol tartrate	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Core	Sucrose beads ^{b)}	24.0	24.0	24.0	24.0	24.0
Swelling agent	L-HPC ^{c)}	54.4	54.4	54.4	54.4	54.4
Binder	HPMC ^{d)}	11.6	11.6	11.6	11.6	11.6
Membrane	Ethylcellulose ^{e)}	—	10.0	15.0	20.0	33.0
	Talc	—	2.0	3.0	4.0	6.6

a) Each value is represented as weight ratio.

b) Nonpareil® seeds (350~500 μm in a diameter).

c) low-substituted hydroxypropylcellulose.

d) Hydroxypropylmethylcellulose (TC-5R®).

e) Grade : Ethocel 10 cps.

Fig. 2. Release patterns of metoprolol from TES in JP XII 1 st fluid (open key) and 2 nd fluid (closed key) at 37°C
TES 0 (▽, ▼); TES 1 (○, ●); TES 2 (□, ■); TES 3 (△, ▲); TES 4 (◇, ◆). Each point describes the mean value of triplicated tests.

が考えられる。

(1) (2) の過程に要する時間が、放出の遅れ (lag time) として放出の時間制御を司ることになる。皮膜の厚さを一定として、膨潤層の厚さを変えた時、膨潤層の厚さが小さければ、発生する膨潤力は小さく、膜破壊は起こらないし、逆に厚さが大きいと、早く皮膜の崩壊が起こる。Table 2 に見られるように、膨潤層の厚さを一定にし皮膜の厚さを変えた時、Fig. 2 (*in vitro*), Fig. 3

Fig. 3. Time-courses of mean plasma metoprolol concentration after oral administration of TES particles containing 120 mg metoprolol tartrate to three fasted dogs
TES 0 (▼); TES 1 (●); TES 2 (■); TES 3 (▲); TES 4 (◆). Each value is expressed as the mean ± S. D. of three animals.

(*in vivo*) に見られるように、皮膜が厚くなれば崩壊に要する時間 (lag time) は長くなる。一般に一定の lag time を経て、シグモイド型の溶出一時間曲線を示すが、この lag time は次の実験式で表わされることがわかった。

$$T_{lag} \text{ (hr.)} = \frac{Q_D^2}{R_w} = \frac{(k_2 L + Q_{D0})^2}{(k_1 / L + R_{w0})}$$

ここで Q_D は崩壊吸水量、 R_w は吸水速度、 k_1 , k_2

はそれぞれ吸水速度定数, 崩壊吸水定数, L は膜厚である. Q_{D0} , R_{W0} は Q_D - L 曲線, R_W - $1/L$ 曲線における L , $1/L$ が零の点での D_D および R_W の値である. FK 409 と呼ばれ, 血圧降下薬のビーグル犬をつかった *in vivo* での血中濃度の推移と, 血圧の時間推移と連動していた. この方法はカプセルの製法も簡単であり, 薬物の性質(酸性, 塩基性, 中性)によらずいずれの薬物にも適用が可能で, その原理から考えても応用範囲が広いと考えられる.

一方合成高分子である Eudragit を皮膜とするマイクロカプセルも放出時間制御機能を持ち, SRS (Sigmoidal Release System) と命名され研究が行われている⁵⁾. 皮膜の形成はスプレーコーティング法によっている. カプセルの基本構造を Fig. 4 に示した. 今芯物のまわりに有機酸

Fig. 4. Basic Structure of Sigmoidal Release System.

と薬物の混合物をコートし, これを皮膜で覆ったマイクロカプセルである. 今このカプセルを水中に入れると皮膜の細孔を通して水がカプセル内に浸入し, カプセル内は水溶液状態になる. この時, イオン型の有機酸は Eudragit のアンモニウム基と, 分子型のは疎水性ドメインと相互作用し, 膜は膨潤し, 細孔は拡大する. 膜内外の浸透圧差により, 内部の薬物の透過性は増大する. 放出機構を Fig. 5 に示した. 酸の種類や皮膜形成物質である Eudragit に添加物を加えたり, 膜厚をかえることにより崩壊時間をかえることができる. Fig. 6 [A], [B] に膜厚をかえた時の *in vivo*, および, ビーグル犬を使った *in vitro* の血漿中濃度の時間推移を示した. この方法は薬物の性質によって適用ができないものがあると考えられる. 例えば酸性で分解するもの, 酸と反応して不溶性の塩を形成するもの, また分子量の大きいタン白質などである.

3. 筋肉投与型微小マイクロカプセル

ポリ乳酸/ポリグリコール酸の共重合体である合成高分子は, 生分解性があり, 生体内でそれぞれのモノマーに分解され組織に吸収される. この高分子を塩化メチレンなどに溶かし, 薬物水溶液 (W_1) と混合して, まず W_1/O 型のエマルションを作り, これに PVA 水溶液 (W_1) と混合して $W_1/O/W_2$ 型三相エマルションを作る. この分散液から溶媒を揮散させ, 内水相 (W_1) を保持した

Fig. 5. Possible drug release mechanism of SRS.

Fig. 6. *In vitro* drug release and *in vivo* performance of acetaminophen-SRS. [A]: *In vitro* releases profile; Lag time: (■); 1.2 hr; (△); 2.5 hr; (●); 5.0 hr. [B]: Plasma concentration-time profile after oral administration to beagle dog (200 mg dose, n=3).

状態で固化させ、ついで凍乾により水分を除去、マイクロカプセルを得る。Fig. 7にマイクロカプセルを示した。SEM 写真によれば、粒径は20～30 μm で微小な細孔をもっている。薬物はマイクロカプセル内にマトリックス状に存在する内水相に保持されるが、この時、塩基性薬物（リュウプロレリン⁶⁾、TRH（甲状腺ホルモン放出ホルモン⁷⁾）は内水槽表面に存在するカルボキシレート

イオンと静電相互作用をもち強く保持される。この作用が薬物の徐放性に大きく寄与していると考えられ、酸性および中性の薬物には適用できないのではないかと考えられる。この重合体の加水分解はプロトンによって加速され、グリコール酸の方が分解されやすい。薬物の放出機構としては水のカプセル内浸入による膜構造の変化、高分子の加水分解および浸透圧差による膜破壊などが関与していると考えられる (Fig. 8)。リュウプロレリンではラットやイヌにおいて、筋肉投与後4週間にわたりほぼ一定の血液中濃度を維持することが認められている。Fig. 9に TRH 含有マイクロカプセルの皮下注射後の血漿中濃度の時間推移を示した。

4. 脂質エマルション（マイクロスフェア）およびリポソーム

血中に直接投与しうる膜素材としては、生体膜の主成分であるリン脂質が中心であり、その剤型としては、水溶性薬物については脂質エマルションが用いられ、水溶性薬物についてはリポソームが用いられる。リポソームは脂質2分子層に油性薬物も保持するため、いずれにも用いることも可能である。血中投与の場合、毛細血管を通過するに十分な粒径0.2 μm 以下が要求される。大豆油を油相とし、膜素材としてレシチンを用いて得られる脂質エマルションはリポドマイクロスフェアとも呼ばれ、高カロリー輸液として古くから繁用されている。また多くの脂溶性ビタミン（A, E, K）も、HCO-60などの非イオン型界面活性剤が使用しにくくなった現在、この剤型にうつりつつある。血管拡張作用や血漿凝集作用をもつ PGE₁（プロスタグランジン E₁）や、抗炎症作用をもつデキサメタゾンの脂溶性プロドラッグであるデキサメタゾンパルミテートの脂質エマルションが作られ、水溶性のリン酸デキサメタゾンや、水溶性シクロデキストリン包接体（CD-PGE₁）とその作用が比較された⁸⁾。Fig. 10に見られるように CD-PGE₁にくらべて、リポドマイクロスフェア PGE₁ (lipo EGE₁) で

Fig. 7. Basic Structure of PLGA microsphere and the drug-PLGA interactions

● Hydrophilic end group of PLGA • Drug

Fig. 8. Schematic representation of drug release mechanisms.

は、正常ラットで血圧降下作用が約 10 倍つよく、糖尿病ラットではさらに顕著である。またデキサメタゾンについても、リビッドマクイロスフェアは水溶性のものにくらべて ED_{50} で約 3 倍効果が大きかった。この原因として、これらエマルションがマクロファージにとむ炎症部位や、血管内皮細胞障害部位に選択的にとり込まれることが、電顕写真などから明らかにされている。一般にリボソームは細網内皮系に取り込まれることにより、投与初期血流中より急速に消失し、二相性

の消失曲線を示す。リポドマクイロスフェアでは LPL (リポプロテインリパーゼ) の作用により、油相を形成するトリグリセライド (単分子膜中の濃度は 3 モル %) の分解が起こり、レシチン単分子膜は HDL (高密度リポタン白質) のプレカーサーとなる。単位リン脂質量に対して大きい膜面積をもつ小さいエマルションの方が分解による消失速度が大きい。そのためにエマルションの消失を ^{14}CTP (トリパルミチン) をマーカーとして求めると、スローフェーズの消失は小さい

Fig. 9. Plasma TRH levels after s. c. injection of TRH/PLGA microspheres.
a) Plasma levels at 30 min : ▲, 35.9 ± 2.27 ng/ml ; ■, 85.8 ± 8.14 ng/ml
b) Mean plasma TRH level before administration of the microspheres.

Fig. 11. Relation between Oxygen Saturation (%) and Oxygen Pressure.

エマルションの方が大きい結果が得られている。

リポソームは脂溶性および両親媒性物質を2分子膜層に、水溶性物質を内水相に保持することができる。PGE₁は有機カルボン酸であり、アルカリ性では解離してカルボキシレートイオンになる。膜素材として水添レシチンを用い、内水相を重炭酸塩でアルカリ性とし、外水相を弱酸性にして、ここにPGE₁を加えたとリモートローディング法の原理にしたがって、内水相にPGE₁を濃厚な状態で封入することが出来る⁹⁾。内水相に移行したPGE₁はイオンの状態で存在し、2分子

Fig. 10. Changes in mean blood pressure (Δ MBP) in diabetic rats.

膜中では分子型で存在すると考えられる。このためにリポソームに封入されたPGE₁はCD-PGE₁やlipo-PGE₁より血中からの消失速度が遅かった。ラットを用いた末梢血流増加作用はCD-PGE₁にくらべて3倍増加し、持続時間は5倍に延長された。

ウイルス汚染、血液型、保存性、緊急時の利用性などの理由から、血液の代りに人工的に作られた代換血液の研究が古くから行なわれている。代換血液は通常赤血球の作用を代換するもので血液全体ではない。赤血球すなわち酸素運搬体としての作用である。しかしヘモグロビン(Hb)単独では血中からの消失速度も大きく、また酸素親和度も大きく、さらにコロイド浸透圧も上昇し、実用には供されない。その解決策として高分子修飾ヘモグロビン(PEG修飾)、重合ヘモグロビン、架橋ヘモグロビンなどが研究されてきた。一方リポソームの研究の発展に伴って、脂質小胞を利用する研究もなされるようになってきた。その1つ

はリポソームの脂質 2 分子層に合成されたヘムリピドを埋め込むもので、もう 1 つは SFHb (ストローマフリーヘモグロビン) を脂質小胞の内水相に封入するものである。リポソームに SFHb を封入した人工赤血球は浸透圧、粘度共に低く、内水相に酸素親和度を調節するピリドキサル 5'-リン酸や、イノシトールリン酸を組み込むことによりすぐれた酸素運搬体となりうるが、ヘム鉄が 2 価から 3 価に酸化されたメトヘモグロビンは酸素運搬能を失うため、これを還元する系を組み込む必要があった。鈴木等は上記化合物の他に赤血球由来のメトヘモグロビンリダクターゼと、その基質(アデニン、イノシトール、グルコース)と補酵素 (NADH, NADPH) を加えて還元系を形成させることにより、メトヘモグロビン形成を抑制することに成功した。一方リポソーム表面を PEG で修飾して親水化することにより、細網内皮系の捕捉から逃れ血流中での長時間安定化に成功した(半減期 13 時間)。粒径もエクストルウダー法により $0.2\mu\text{m}$ 以下に保つと、酸素濃度の高いところでは Fig. 9 に見られるように赤血球にくらべて 1.5~2 倍の酸素運搬能が得られている。このヘモグロビン内封脂質小胞を NRC (Neo Red Cell) と命名している。出血性ショックによる血圧低下からの回復も早く、SFHb に見られる血圧上昇も一過性であった。NRC は低温保存により 2 年間有効であるとされている。以上最近の膜の医療への応用について述べたが、Bangham によって初めて多重リポソームが発見されて以来 30 有余年を経て、リポソーム製剤としてアンホ

テリシン B (商品名: アンビソーム) 以外上市されていない事実は、膜の生体への応用の困難さを物語っているように思われる。

文 献

- 1) 酒井清孝, 表面 **31**, (8) 600 (1993)
- 2) 鶴谷良一, 技術談話会要旨集 P. 53, 化学工学会東海支部 (1993)
- 3) 藤井尊ら “キチン・キトサンシンポジウム” 講演要旨集 P. 34 (1991)
- 4) S. Ueda, et al, *Chem, Pharm Bull* **42**, 364 (1993)
T. Hata et al, *Intn. J. Pharm.* **110**, 1~7 (1994)
S. Ueda et al, *J. Drug Targeting* **2**, 133 (1994)
- 5) R. Ishino et al, *Chem, Pharm Bull* **40**, 3036, 3094 (1992)
S. Narisawa et al, *Pharm Res.* **11**, 111, (1994)
吉野広祐, 膜 **19**, 392 (1994)
- 6) Y. Ogawa et al, *Chem. Pharm Bull.* **36**, 1095 (1988)
Y. Ogawa et al, *J. Pharm, Pharmacol.* **41**, 439 (1989)
- 7) T. Heya, et al, *Intn. J. Pharm.* **69**, 69, (1992)
T. Heya, et al, *Intn. J. Pharm.* **72**, 199, (1992)
T. Heya, et al, *J. Pharm. Sic.* **83**, 636, (1994)
T. Heya, et al, *J. Pharm. Sic.* **83**, 798, (1994)
- 8) 横山和正, 上田泰正, 油化学 **43**, 994 (1994)
- 9) 上田泰正, 松田寛, 日本膜学会第 17 年会要旨集 P.27, 1995.
- 10) 鈴木一比好, 後藤博, 上谷利治, 高橋晃, 人工血液, **2**, 391, 1993.
鈴木一比好, *Bio Industry* **9**, 290 (1992)
薄場彰, 宮沢正紹, 鈴木一比好, 上谷利治, 人工臓器, **22**, 554 (1993)

(受付 1995 年 5 月 17 日)