●特集 エマルションの最前線

W/O/Wエマルション製剤の動注化学療法向け ドラッグデリバリーシステムへの応用と課題

中島忠夫

(財) 宮崎県産業支援財団 〒880-0303 宮崎県佐土原町東上那珂16500-2

Application of W/O/W Emulsion to Drug Delivery System for Arterial Injection Chemotherapy and Some Technical Issues

Tadao Nakashima

Miyazaki Prefectural Industrial Foundation
16500-2, Higashi-kaminaka, Sadowara, Miyazaki 880-0303, Japan

W/O/W emulsion is one of the most promising candidates as a drug carrier in drug delivery system. Strict size control of emulsion is very important technology for preparing a stable and safe emulsion drug as well as delivering drug or emulsion particle to target organ. Membrane emulsification was found very suitable technique for these purposes through many clinical applications to the hepatocellular carcinoma. However there are some technical issues yet such as guarantee of long-term stability and quality of hydrophobic surfactants. W/O/W emulsion will be able to contribute to drug delivery system and industries in near future when such technical issues are truly solved out.

Key words : W/O/W emulsion / membrane emulsification / drug delivery system / hepatocellular carcinoma

1. 緒言

病気の治療に必要な薬物を病巣となる標的部位目がけて適時に適量で送り込むことが薬物投与の先端技術と呼ばれるドラッグデリバリーシステム(DDS)の考え方である。これによって薬が無駄なく効率的に用いられるばかりでなく、副作用を大幅に抑制することができる。かつては薬物投与の究極の目標と思われたこのDDSが、最近のナ

ノテクノロジーの進展や製剤技術の進歩によって次第に現実のものになりつつある。このことを反映して、一部の分野の人々の専門用語でしか無かった「ドラッグデリバリーシステム」という言葉や「DDS」という文字が新聞の見出しに使われることも決して珍しくなくなった。DDSはここ数年の内に市民権をほぼ獲得したと言ってもよい。

しかしながら、一般の期待と周知に比例して

Fig. 1 W/O/W emulsion as drug carrier.
A, B, C : hydrophilic drug, D : hydrophobic drug

DDSが実現しているかと言えば、必ずしもそうではない。リプルやリユープリンなど日本発の製剤も散見されるが、多くの努力にもかかわらず実際に成功しているのは驚くほど少なく、ターゲティングやコントロールドリリースなど解決すべき問題が山積みであり、DDSもこのような困難を乗り越えて一步一步進歩するものらしい。

実際に分子治療薬として開発された慢性骨髄性白血病治療薬や大腸がん治療薬における華々しい成功の一方で、肺がん治療薬のゲフィチニブを例に挙げるまでもなく正常細胞への影響を完全に抑制するまでに至っていないのが現状である。化合物だけに目を向けた開発にも落とし穴があるということである。制がん剤や抗菌剤においては特にDDS技術に対する取り組みや考えが重要であるといえる。

DDSに基づいた製剤の設計では、薬物そのものの効能もさることながら、薬物を標的臓器や標的部位にできるだけ集中的に送達させるターゲティングの手法が最も重要な技術となる。ターゲティングには、能動的ターゲティングと受動的ターゲティングの二つがある。前者が薬物や薬物を封入させたキャリアにあらかじめ標的部位の細胞が認識できるリガンドを付与して、細胞との能動的な結合や取り込みを促進するのに対して、後者は主にキャリアの体内分布特性を利用して標的部位への薬物送達を図るものである。能動的ターゲテ

ィングは俗にミサイル療法とも称され、知的で美しいフォームとも言えるが、正常な細胞と病的な細胞を明確に識別するのが難しく、実際に成功している例は少ない。しかし目覚ましい分子細胞生物学の進歩によってこの問題が解決され、いずれは本法がDDSターゲティングの主流になることは間違いないであろう。一方、後者の受動的ターゲティングは、DDSの現実的な選択として今なお有効である。上述したように、現在用いられている抗がん剤も優れた効果を示すものが少なくないが、正常細胞に対して重大な障害を示すのも現実である。

我々はナノテクノロジーを応用したW/O/Wエマルションを開発し、これに薬物を担持させてDDSのドラッグキャリアに利用することを検討してきた。本法で得られるW/O/Wエマルションは、Water-in-Oil-in-Water型のエマルションでサブミクロンから数十ミクロンの領域で厳密な粒子設計ができることを特徴にしている。この特徴を利用して、臓器の構造特性に見合ったエマルション粒子を設計し標的部位への集積性を期するものだから、上述のターゲティングでは典型的な「受動的」であると言える。

ところでW/O/Wエマルションのドラッグキャリアとしての魅力と期待は、製剤設計の自由度の高さにある。すなわちFig. 1に示すように水溶性薬物は内水相に、脂溶性薬物を油相に担持させることができるばかりでなく、必要ならば、種々の内水相エマルション (W/O) を混合することでその多様性を高めることができるからである。下記に上げるW/O/Wエマルションの課題が解決されれば、このような多様な応用可能性がもっと生かせるのではないかと考えている。

W/O/WエマルションのDDSにおける有用性については、肝細胞がんに対する動注化学療法への応用に関して、すでに雑誌^{1,2)} や書籍³⁾ にて紹介したので、本誌ではW/O/WエマルションのDDSへの応用とそれに伴う問題点についてさらに解説したい。

Fig. 2 Preparation of W/O/W emulsion by 2 stage membrane emulsification.

2. W/O/Wエマルジョンの調製

製剤の基本的な剤形となるW/O/Wエマルジョンは、二段膜乳化法によってつくられる。二段膜乳化法概念図をFig. 2に示す。まず、第1段乳化において、精密に孔径が制御された多孔膜に水溶性薬物を溶解した水溶液を透過させ、W/Oエマルジョンを調製する。このようにして得られたW/Oエマルジョンを第2段乳化では、比較的孔径の大きな多孔膜を用いてW/O/Wエマルジョンに

する。この二段膜乳化法で最も重要な役割を果たすのが、多孔膜である。分散相の膜透過によって形成されるエマルジョンの粒径と粒径のばらつきは、この孔径の大きさとばらつきに支配されるからだ。現在広く知られた市販の多孔膜で、二段膜乳化に最も有用なものは、分相法で造られた多孔質ガラス⁴⁾ (SPG) 膜である。

このSPG膜はCaO-B₂O₃-Al₂O₃-SiO₂系ガラスのマイクロ相分離によって造られる。シラスと石灰、ホウ酸を原料にして合成されたCaO-B₂O₃-Al₂O₃-SiO₂系ガラスには、ガラス転移点以上、軟化点付近以下の温度で、ガラスのスピノーダル分解⁵⁾に基づくCaO-B₂O₃/Al₂O₃-SiO₂不混和域が存在する。このため同域に属する組成のガラスをこれらの温度で熱処理するとき、CaO-B₂O₃リッチなガラスとAl₂O₃-SiO₂リッチなガラスの2相分離が起こる。CaO-B₂O₃リッチなガラスは酸に溶けやすいので、

分相させたガラスを酸処理すると、CaO-B₂O₃リッチなガラスが酸に溶けだしてAl₂O₃-SiO₂ガラスを骨格にした丈夫なガラス多孔体が得られる。この多孔体を膜状に加工したのがSPG膜である。

SPG膜はFig. 3の電子顕微鏡写真に見られるような独特のマイクロ多孔構造が存在する。この構造は均一な無数の細孔チャンネルが複雑に絡み合っており、分相ガラスの分相構造をそのまま反映したものである。ガラスの分相ではオングストロームオーダーのスピノーダル分解を起点にして、無

Fig. 3 Electron micrograph of microstructure of SPG membrane prepared by phase separation method.

数の微相が界面エネルギーを駆動力にしてより大きな相へと変化する。これらの変化はガラスの組成や熱処理の温度や時間などの熱力学的なパラメーターに依存している。このため、SPG膜はこのようなパラメーターを厳密に制御することで、孔径が均一でムラのない細孔や均一さを保持しつつ様々の孔径の細孔を設計することができる。膜乳化^{6,7)}ではナノテクノロジーの成果がもたらしたSPG膜の特徴が最大限に生かされている。

膜乳化ではこのようなSPG膜の特徴に加えて、精密な粒子形成を安定して達成するための、もう一つの要件が満足されなければならない。それは膜の表面が常に連続相に対して優先して濡れ、分散相に対しては濡れにくい条件である。このため、W/Oエマルションをつくる第1段乳化で使用するSPG膜は疎水性である必要があり、W/O/Wエマルションをつくる第2段乳化で使用するSPG膜は親水性でなければならぬ。この条件に合わせてSPG膜はその表面を疎水化したり、親水化したりすることができる。

W/O/Wエマルションは従来から攪拌法によって製造されている。この方法では、先ず水相と油相を攪拌混合してW/Oエマルションをつくり、このエマルションを大量の水相に投入、攪拌してW/O/Wエマルションにする。このようにして得られるW/O/Wエマルションでは粒子のサイズコントロールが十分できない上、内水相の封入は半

Fig. 4 Particle design of W/O/W emulsion drug for hepatic arterial injection.

a: inner water droplet encapsulating anti-cancer reagent, epirubicin, b: iodized poppy seed oil as contrast medium with hydrophobic surfactant HCO-40 and c: outer water phase consisting of physiological saline and Pluronic F-68.

ば偶然に頼っているのです。粒子の充填率は常に一定しない。すなわち内水相が存在しない充填率ゼロの油相粒子や内水相が存在する油相粒子が混在している。内水相が存在する油相粒子の全油相粒子に対する割合で表すW/O/Wエマルションの生成率は高々30～40%に過ぎない。

これに対して膜乳化法では、SPG膜の細孔径に対応した厳密な粒子設計ができるばかりでなく、内水相充填率が一定したW/O/Wエマルションを常に100%の収率で得ることができる。

このような特徴を比較すれば、製剤設計に高い精度が要求されるDDSにおいて、膜乳化法が攪拌乳化法に比べて優れていることは明白であろう。

3. W/O/Wエマルション製剤を用いる肝細胞がん治療

W/O/Wエマルションのドラッグキャリアとしての応用可能性に着目し、DDSを考慮した肝細胞がん治療を提案したのは、東秀史⁸⁾を中心とする宮崎医科大学の研究グループであった。この提案によれば、内水相粒子にあらかじめ水溶性抗

Fig. 5 Microphotograph of real W/O/W emulsion drug prepared by membrane emulsification.

がん剤の塩酸エピルピシンを溶解させ、これらの粒子を油性造影剤であるヨウ素化けし油脂肪酸エステル（商品名 リピオドール）で包んだW/O/Wエマルション製剤を膜乳化法で調製し、この製剤を動注法により肝臓へ直接投与するものであった。動注法とは、経動脈的にカテーテルを挿入し、このカテーテルを介して薬液を標的臓器へ投与する手技である。肝臓の場合、肝動脈と門脈の二重血行支配を受けている解剖学的特性のため、肝動脈は治療のための薬剤や画像診断のための造影剤のしばしば重要な投与経路となる。加えて肝細胞がんは肝動脈によって栄養を供給されているので、選択的にこの栄養動脈にゼラチンスポンジなどの塞栓物を送り、これを閉塞することで肝臓がんを兵糧攻めにしようという治療がすでに行われている。

Fig. 4は肝細胞がん治療に用いるW/O/Wエマルション製剤の概念図である。塩酸エピルピシンを溶解した無数の内水相粒子（平均粒径 $0.5\mu\text{m}$ ）を油性界面活性剤のポリオキシエチレン硬化ひまし油 HCO-40 でリピオドールに分散させたW/O/Wエマルション（平均粒径 $70\mu\text{m}$ ）である。エマルションの安定のために外水相として生理食塩水に水性活性剤のプルロニック F68 を添加する。二段膜乳化法で実際に得られたW/O/Wエマルション製剤をFig. 5に示す。微細な内水相粒子が無数の点の集合となって均一なりピオドール粒

Fig. 6 X-ray computing tomograms of human liver suffered from hepatocellular carcinoma before and after administration of emulsion drug.

子の中に充填されているのが観察される。

Fig. 6は肝動脈へ挿入されたカテーテルを通じて、肝細胞がんで侵された肝臓へW/O/Wエマルション製剤を投与する前後の患者のCTスキャン断層像である。投与前、肝臓に認められた4つの大きな腫瘍に一致して、W/O/Wエマルション製剤の集積を認めた。これはエマルション製剤の製造に使用した造影剤の効果であり、製剤が肝臓がんの部位に確実にターゲティングされていることを示している。

製剤がなぜ腫瘍に選択的にターゲティングされるかについては、これまで様々な議論がなされている。その中で、非腫瘍部では血管構築が柔軟性に富み、かつ肝動脈と門脈が合流するため血流が早いので、血管にエマルション粒子が流れ込んでウォッシュアウトされやすい。これに対して、

腫瘍部では血流が肝動脈流にのみ依存しているので、流速が遅くエマルション粒子が沈着しやすいというのがかなり説得力のある解釈である。また臨床研究の結果では、粒子の沈着は血流だけでなく粒子のサイズも関係し、 $70\mu\text{m}$ の大きさが最も良好である。恐らくは粒子と血管壁とのフリクションが沈着に必要なためであろう。

肝細胞がんに対するW/O/Wエマルション製剤の治療効果は、画像診断による腫瘍サイズの変化や肝細胞がんの腫瘍マーカーであるアルファフェトプロテイン (AFP) やPIVKA-IIの血中濃度によって確かめられるが、これまでの1000例を超える臨床投与から次のことが明らかになっている。

- ①原発部位が数十箇所以上に及ぶ多発性肝がんには極めて有効である。多発性となれば肝切除は勿論、エタノール注入法やマイクロ波にも限界があるので本法で最も強調できる特徴かも知れない。
- ②10cm以上の末期の巨大肝がんに対しても著明な治療効果が認められる。末期がんでは予後の治療を考えると、腫瘍部を縮退させることは言うまでもないが、非腫瘍部をどれほど残せるかということも重要になる。腫瘍部のみを縮退させ非腫瘍部は100%残すくらいの精度が要求される。この点、W/O/Wエマルション製剤のターゲティングの精度の高さが大きな役割を果たしている。

4. W/O/Wエマルション製剤に残された課題

4.1 製剤の安定性

熱力学的不安定系であるエマルションの宿命かも知れないが、製剤の安定を如何にして保つことができるかが重要な課題である。現状では、この課題を十分解決していないので、用時調製を余儀なくされている。長期的な視点に立てば、臨床に過大な責任と労力を課すこの用時調製を改め、GMP仕様に基づいた管理下で製剤を製造し、これを臨床現場へ供給することが強く望まれている。

製剤の安定性に関する第1の課題はW/O/Wエ

マルションの剤形安定性である。エマルションの熱力学的不安定をもたらしているのは界面エネルギーの存在である。エマルションがO/WであれW/Oであれ、またW/O/Wであれ、その種類によらず常に界面が存在するから、この熱力学的条件から逃れることはできない。しかしながらその一方で、我々が製剤に求める安定とは、熱力学的永久の安定でなくて、製剤の製造から保存、輸送、治療に至る一連のプロセスを通じてエマルションが壊れなければそれで十分である。

このような安定を確保するためにエマルションの均一な粒子設計は極めて有益で、膜乳化法で得られたW/O/Wエマルションが数ヶ月間壊れずに安定であることも珍しいことではない。エマルションの剤形安定のため、このようにエマルションの均一な粒子設計は有効であるが、下に述べる界面活性剤の役割も重要で、界面エネルギーを低下させてエマルションの安定化に寄与する。

製剤の安定性にかかる第2の課題は封入薬物の漏洩である。現状のW/O/Wエマルション製剤が臨床での用時調製を強いられているのは主としてこの問題による。多くの場合、内水相へ封入した薬物はその薬物の分子量が小さいほど漏洩しやすく、逆に分子量が大きくて数万になるとほとんど漏洩しない。例えば、塩酸エピルピシン (分子量 580) や塩酸イリノテカン (分子量 677) は非常に漏洩しやすくエマルション製剤の調製直後から外水相へ漏れ出る。これに対してインターフェロン (分子量 20000) は漏洩を認めない。インスリン (分子量 6000) はこれらの中間である。低分子薬物の漏洩は、恐らくは内水相と外水相の濃度差がもたらす拡散輸送と考えられるが、油水界面における薬物の取り込み、油相中の薬物輸送における活性剤分子の役割など、明確なことは分かっていない。いずれにしても、薬物の漏洩阻止はW/O/Wエマルション製剤の実用化のために解決しなければならない課題である。

4.2 界面活性剤

W/O/Wエマルション製剤では、エマルション

Fig. 7 Dispersion ability of polyglycerin condensed ricinolate, PGCR and Span 20 in W/O emulsion.

の安定化のため、親水性界面活性剤と親油性界面活性剤の双方が必要である。このうち親油性界面活性剤の選択は内水相を安定に保持するため重要であるが、ポリオキシエチレンひまし油など数例に限定されている。W/O/Wエマルジョン製剤の実用化のためには、安全で分散性と乳化力に優れた親油性界面活性剤の開発が強く望まれる。このような条件をすべて満たしている界面活性剤としてポリグリセリンエステル⁹⁾ (PGCR) がある。1981年食品添加物として製造承認され、乳製品やチョコレートなどに幅広く使用されているが、医薬品添加物としての使用は未だ認められていない。Fig. 7はW/OエマルジョンにおけるPGCRとSpan 20の分散力を比べている。Span 20では分散水滴のサイズはいずれも均一であるが、水滴が凝集して見かけ上、多分散している。これに対してPGCRでは凝集物は認められず、水滴粒子が単分散している。PGCRのこの優れた分散力は、W/O/Wエマルジョン製剤をつくる第2段目の円滑な乳化を可能にする。すなわちW/Oエマルシ

Fig. 8 Flow of polyglycerin condensed ricinolate synthesis.

ョンがSPG膜を透過して、W/O/Wエマルジョンがスムーズに形成される。しかしながらSpan 20のように水滴粒子が凝集すると、凝集物がSPG膜でろ過されるか、膜の細孔を閉塞してW/O/Wエマルジョンの形成を障害する。

PGCRはこのように優れた親油性界面活性剤であるが、注射用医薬品添加物としての可能性を考えると、PGCRの品質規格を保証することができかが課題となる。PGCRはFig. 8のようにグリセリンの脱水縮合、リシノール酸縮合、これらの縮合物相互のエステル化反応など複雑な反応工程を経て合成される。製品には制御できないくらい無数の生成物が含まれ、この複雑さを物語る。従って、この方法では注射用医薬品添加物として規格化するのが難しく、PGCR合成法を含めた抜本的な見直しが必要と考える。

5. 結 言

肝細胞がん治療に関連してW/O/Wエマルジョン製剤のドラッグデリバリーシステムへの応用と課題について述べた。これでW/O/Wエマルジョンは安定性や親油性界面活性剤に課題を残すものの、抗がん剤の薬物キャリアとして極めて有用であることを明らかにしたつもりである。ところで肝細胞がんが肝炎ウイルスや肝硬変を母地として発症することは広く知られている。毎年約3万人

の人が肝細胞がんで亡くなり、日本に広く多発していることが、国民的関心を高めているとも言える。この肝細胞がんの治療法としては、これまで様々の方法が行われている。肝切除が第1選択と考えられるが、肝細胞がんが実際に切除できるケースは意外に少なく全体の15%前後に過ぎない。また、仮に手術ができたにしても肝硬変を母地として発症する肝細胞がんの性格上、再発の危険は常に存在する。これが肝細胞がんが難治悪性がん数えられる所以である。肝切除が不可能な場合の治療法としては、エタノール注入法やマイクロ波壊死療法、肝動脈塞栓療法、肝動注化学療法(SMANCSを含む)などが知られている。それぞれに一長一短あり、がんの病態に合わせて選択しなければならない。W/O/Wエマルジョン製剤の開発はこれら治療法の選択の幅が広がることであり望ましいことである。W/O/Wエマルジョン製剤の持ち味である、多発性の肝がんや巨大肝がんに対する効果が生かされる形で、実用化されることを期待している。

なお、今回は紙面の都合で割愛したが、W/O/Wエマルジョン製剤は適切な粒子設計と内封薬物の選択によって、DDS製剤としての様々な応用可能性を秘めている。この拙文がこの製剤に対する関心のきっかけになれば幸いである。

文 献

- 1) 中島忠夫ら：膜乳化技術の開発とDDS医用工学への応用，膜，**24** 278 (1999)
- 2) Nakashima T *et al.* : Particle Control of Emulsion by Membrane Emulsification and Its Applications, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **45** 47 (2000)
- 3) 中島忠夫ら：“乳化・分散プロセスの機能と応用技術”，刈米孝夫ら編，p.91，サイエンスフォーラム (1995)
- 4) 中島忠夫：“スーパーファインセラミックス制御技術ハンドブック”，白崎信一ら監修，p.412，サイエンスフォーラム (1990)
- 5) Kingery WD *et al.* : “Introduction to Ceramics”，p.323, John Wiley & Sons, Inc. (1975)
- 6) 中島忠夫ら：多孔質ガラス膜による単分散エマルジョンの調製，化学工学論文集，**19** 984 (1993)
- 7) 中島忠夫ら：膜乳化法による単分散O/Wエマルジョン生成に及ぼす界面活性剤の影響，化学工学論文集，**19** 991 (1993)
- 8) Higashi S *et al.* : Arterial Injection Chemotherapy for Hepatocellular Carcinoma Using Monodispersed, Long-term Stable, Iodized Poppy Seed Oil Microdroplets Containing Fine Vesicles of Aqueous Solution of Epirubicin, *Cancer*, **75** 1245 (1995)
- 9) 松下和男編：“ポリグリセリンエステル”，阪本薬品工業 (2001)

(受付2004年1月9日 掲載決定2月6日)

著者略歴

中島忠夫 (なかしま ただお)

1967年 宮崎大学工学部工業化学
科卒業

同年 宮崎県工業試験場入所

1981年 分相法多孔質ガラス
(SPG)の開発

1988年 膜乳化技術の提唱

1993年 東京大学より博士号授与 (工学博士)

1996～2003年 DDS開発コンソーシアム総括研究代表者

2003年 宮崎県工業技術センター所長退任後，(財)宮崎県産業支援財団常務理事