

## 博士（薬学）

## 高速気体を利用した薬物含有微粒子の皮内送達に関する研究

内田 昌希

薬物を皮膚から投与するTransdermal Drug Delivery System (TDDS) は、薬物の肝臓での初回通過代謝の回避、一回の投与で長時間にわたる薬物血中濃度の維持、投与の簡便さなどの利点を有し、患者のQOLの向上ばかりでなく、高齢化社会においても極めて有用であると思われる。しかしながら、皮膚角質層は薬物の吸収に対してバリアーとして機能するため、多くの薬物の皮膚からの吸収性は極めて低い。それゆえ、TDDSとして製剤化された薬物（ニトログリセリン等）は、脂溶性が高く、分子量が小さいといった物理化学的性質を有するものに制限される。従って、多くの薬物のTDDSを開発するために、促進剤を含有させる化学的促進法やイオントフォーシス等の物理的促進法の研究がなされてきたが、特に水溶性高分子薬物ではこれらの方法を用いても有用性の高い改善に至った例はほとんどない。そこで著者は、様々な物性の薬物を体内へ送達できる方法として、直接皮膚内に粉末薬物を導入できるparticle bombardment systemに着目した。このシステムは本来遺伝子をコーティングした粒子径 1  $\mu\text{m}$  の金粒子を高速に加速させて、遺伝子を直接細胞内に導入する方法である。この導入法の原理を応用して粉末薬物を直接皮膚内に導入できれば、様々な物性を有する薬物の送達が可能になると考えられる。そこで本研究ではparticle bombardment systemとして遺伝子銃であるHelios<sup>TM</sup> gun systemを用いて、薬物の導入の可能性さらには適用条件について検討した。

第1編では薬物含有微粒子を効率良く皮膚内に導入するための条件を設定するとともに、粒子画像流速測定法 (PIV) を用いて皮膚内導入に関係している因子について解析した。ついで、第2編ではこの新規投与方法が最も有用であると思われる免疫処置法への応用を試みた。以下にその検討結果を論じる。

第1編ではまず、薬物含有微粒子として種々粒子径のインドメタシン (IDM) 含有ポリ乳酸マイクロスフィア (PLA MS) を調製し、ヘアレスラット腹部皮膚への IDM 導入率に対するヘリウム圧 (100、200 及び 300 psi)、PLA MS の粒子径 (20-38、44-53 及び 75-100  $\mu\text{m}$ ?) 及び投与量 (0.5、1.0 及び 3.0 mg) の影響について検討した。その結果、粒子径の大きな PLA MS をより少ない投与量で、粒子を加速するためのヘリウム圧を高くして投与すると、高い IDM 皮膚内導入率が得られることが明らかとなった。しかしながら、投与量の減少に伴って IDM 皮膚内導入量及び吸収量は減少し、IDM 血中濃度プロファイルは投与量依存性を示したことから、このシステムを用いて用量の多い薬物を投与するためにはさらなる工夫が必要と考えられた。次に、投与後の皮膚の紅斑を Draize score を用いて点数化することにより、皮膚の安全性の観点から本システムの適正な条件を評価した。その結果、ヘリウム圧、粒子径及び投与量の増加で、皮膚障害性を示す Draize score が大きくなることが明らか

となった。つまり、皮膚内導入量と皮膚の障害とはパラレルであることが明らかとなった。以上の結果から、投与量を増加させると導入効率が低下し、皮膚の障害が高まることが判明した。そこで、これらの問題を解決するために、1回当たりの微粒子の投与量を少なくして、異なる部位への複数回投与の効果について検討した。その結果、少量の微粒子を異なる部位へ複数回投与する方法が、皮膚への障害を抑えることができ、かつ効率的に薬物を皮膚内及び全身に送達できることが判明した。以上、本システムにおいて、高いヘリウム圧を用い、粒子径の大きな微粒子を少ない投与量で、単回及び異なる部位に複数回投与することが、効果的かつ安全性の高い皮膚内導入法であると考えられた。

一方、ヘリウム圧、粒子径及び投与量のみかけのパラメータは皮膚に導入されるとき個々の粒子の運動エネルギーに関係していると考えられた。そこでPIVを用いて、Helios<sup>TM</sup> gun systemから噴射されるPLA MSの速度を測定し、粒子速度並びにPLA MSの相対質量比とIDMのバイオアベイラビリティ (F<sub>0-24h</sub>) との関係性を評価した。その結果、ヘリウム圧の増加及び投与量の減少に伴い粒子速度は増加したが、粒子径、つまり個々の粒子の質量は粒子速度に影響しないことが明らかとなった。またF<sub>0-24h</sub>は粒子速度及び粒子の質量の増加に伴い増加したが、より粒子速度に依存することが明らかとなった。以上の結果から、particle bombardment systemを用いたときの薬物含有微粒子の皮膚内導入は、主に粒子速度の影響を受けるものと考えられた。

さらに第2編では、第1編の結果に基づいて、免疫処置法への応用を試みた。モデル抗原にovalbumin (OVA) を選択し、OVA含有ポリ乳酸グリコール酸共重合体マイクロスフィア (PLG MS) を調製し、particle bombardment systemにより免疫が賦活されるか否かを検討した。その結果、Helios<sup>TM</sup> gun systemを用いて粒子径75-100 μmのOVA含有PLG MS 1.0 mgをヘリウム圧300 psiでマウス腹部皮膚に投与すると、OVA含有PLG MSが皮膚内に導入され、OVAに対する抗体応答の誘導が可能となり、従来のOVA水溶液の皮下注射と比較して有意に高い抗体応答が得られることが明らかとなった。次に、このシステムにより誘導される免疫応答性について、血清中のIgGサブクラス (抗OVA-IgG1 及びIgG2a) の力価及び脾臓細胞から産出されるサイトカイン (IL-4 及びIFN- $\gamma$ ) 量を測定して検討した。Helios<sup>TM</sup> gun systemを用いて粒子径75-100 μmのOVA含有PLG MSを皮膚内に導入すると、抗OVA-IgG2a力価及びIFN- $\gamma$  産生量は増加しなかったが、抗OVA-IgG1 力価及びIL-4産生量の増加が認められた。このIgGサブクラス及びサイトカイン量の変動は、particle bombardment systemによる免疫処置では、従来のOVA水溶液の皮下注射と同様に、Th2型免疫優位の応答、すなわち体液性免疫優位の応答が誘導されることを示している。以上の結果より、本システムはワクチン接種において有効な手段になることが明らかとなった。今後は、体液性 (Th2型) 免疫応答の誘導ばかりでなく細胞性 (CTL及びTh1型) 免疫応答及び粘膜免疫応答を誘導するように改善できれば、本システムによる免疫処置は、ワクチン接種において簡便で集団投与が容易な方法として、高い有用性を示すものと考えられる。

以上2編にわたり、高速気体を利用した薬物含有微粒子の皮膚内送達について論じた。particle

bombardment system は種々の粉末薬物、特に皮膚吸収性の低い水溶性高分子薬物（ペプチド及び蛋白性医薬品等）を固体微粒子化して、ヘリウム圧、微粒子の粒子径及び投与量を調節することにより、皮膚内及び全身に送達するのに非常に有用であることを明らかにした。さらに、ワクチンの経皮送達にも応用できることを示したことは、この度の実験結果が将来実用化に向けての基礎的な情報を与えたものと考えられる。