

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究 (B)  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19300177  
 研究課題名 (和文) 肺癌を標的としたナノコンポジット微粒子の経気道的局所投与  
 研究課題名 (英文) Pulmonary delivery of nanocomposite particles for the treatment of lung carcinoma.  
 研究代表者  
 牧野 公子 (MAKINO KIMIKO)  
 東京理科大学・薬学部・教授  
 研究者番号：40147509

研究成果の概要：抗癌薬 (TAS-103) を内包したナノ PLGA 微粒子を調製して、 $3\mu\text{m}$  程度の大きさのナノコンポジット微粒子に成型した。PLGA (ポリ (乳酸・グリコール酸) 共重合体) は生体内で加水分解して消失する生体適合性の高い高分子である。TAS-103 を粉末で添加した場合の 50% 奏功濃度  $>30\text{nM}$  であるのに対して、ナノコンポジット製剤にすると 50% 奏功濃度  $\sim 10\text{nM}$  まで低下し、有効性が高いことが示された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	5,300,000	1,590,000	6,890,000
2008年度	9,000,000	2,700,000	11,700,000
年度			
年度			
年度			
総計	14,300,000	4,290,000	18,590,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用生体工学、生体材料学

キーワード：薬物送達システム

## 1. 研究開始当初の背景

肺癌は男性の死因第一位を占め、女性では第二位を占め、この50年間で患者数が約10倍に増加し、今後も女性や高齢者の肺癌の増加が予測される。肺癌は手術、放射線療法、多剤化学療法によって治療されている。従来の手術は背中からわきにかけて大きく皮膚を切開して病変に達して切除していたが、胸腔内視鏡を用いる低侵襲性外科治療が開発された。放射線療法は、可能な限り限局された領域に

向けて高エネルギー光線を照射することで、局所治療を可能にしてきた。さらには、非常に小さい肺癌の治療に用いられる光線力学療法は細胞レベルでの局所治療である。多剤化学療法だけが、未だに薬物の局在化に成功していない。薬物は、点滴静注によって、あるいは、経口投与によって全身性に投与されている。肺癌局所での薬物濃度は低く、また、感染症を含む重篤な全身性副作用が発現する。

肺がんは、現在の化学療法に対する耐性が高いがんであり、治療のための新規薬物治療法の開発が必要である。

## 2. 研究の目的

我々は、肺癌細胞を標的とした、近傍からの局所療法を目的とした。そのために呼吸器官を通過して、直接、肺に薬物を投与し、さらに免疫活性を賦活化する化学療法を検討することを目的とした。肺胞に到達可能な粒子の空気力学径は2~3  $\mu\text{m}$ であることが知られている。我々の以前の研究から、ポリ(乳酸・グリコール酸)共重合体(PLGA)微粒子は肺胞マクロファージを活性化し、特に、粒子径約3  $\mu\text{m}$ のPLGA微粒子を肺胞マクロファージが積極的に貪食し免疫活性が賦活化することが明らかである。

肺がん治療のためには、抗癌薬を内包したPLGAドライパウダー微粒子が、肺胞に到達する必要がある。さらに、肺胞に到達したPLGAドライパウダー微粒子が肺胞マクロファージによる取り込みを回避して、肺癌細胞内に取り込まれることが必要である。マクロファージを回避するためには、ナノサイズの粒子が有用である。しかし、ナノサイズの粒子を呼吸器官から投与すると、呼気とともに排出され、肺胞への貯留性が低い。

そこで、我々は、抗癌薬を内包したナノPLGA微粒子を調製して、スプレードライによって、3  $\mu\text{m}$ 程度の大きさのナノコンポジット微粒子に成型した。また、このナノコンポジット微粒子は肺胞表面に到達後、体液中でナノサイズの微粒子に再分散するため、肺胞マクロファージの認識を回避して肺癌細胞に送達されると考えられた。

## 3. 研究の方法

経肺吸収肺癌治療のためのナノコンポジット微粒子製剤の開発を行った。

標的部位は、肺癌細胞ならびに、肺癌細胞周囲に存在する肺胞マクロファージである。

また、経肺吸収製剤を開発する事を目的とした。抗癌薬(TAS-103)を含有したナノPLGA微粒子をコンポジット化し、PLGAミクロスフェアと併に、肺に投与することを計画した。

## 4. 研究成果

我々は肺癌治療のための経肺吸収ナノコンポジット製剤を開発してきた。TAS-103(トポイソメラーゼI, II阻害薬)をポリ(乳酸・グリコール酸)共重合体(PLGA)ナノ粒子(200nm)に内包し、さらにトレハロース水溶液に分散してスプレードライ法によって2~3  $\mu\text{m}$ の粒子に成型した。ラット肺癌細胞に対する抗がん活性を測定した。ナノコンポジット製剤のED<sub>50</sub>≈10nMであるのに対して、静注によってTAS-103を投与する場合のED<sub>50</sub>>30nMであり、ナノコンポジット製剤は原薬よりもはるかに高い有効性を示した。

この製剤が肺癌治療に有効であるためには次の2つの条件を満たさなければならない。

- (1) TAS-103含有PLGAドライパウダー微粒子が、肺胞に到達する
- (2) 肺胞に到達したTAS-103含有PLGAドライパウダー微粒子が肺胞マクロファージによる取り込みを回避して、肺癌細胞内に取り込まれる。

肺胞に到達可能な粒子の空気力学径は2~5  $\mu\text{m}$ である。さらに、肺胞マクロファージに取り込まれる粒子径は2~3  $\mu\text{m}$ である。肺癌治療のためには、肺胞マクロファージによる貪食を回避しなければならない。本製剤は、肺に到達した後に、ナノ粒子に分解するので、肺胞マクロファージに取り込まれにくい。(PCT/JP2003/010871、PCT/JP2006/055388)

以上、肺癌治療製剤の調製方法を確立した。

さらに、このナノコンポジット微粒子を DPI を用いてラットに呼吸器から肺に直接投与すると尾静脈から投与した場合に比べて、肺内貯留量が極めて高くなった。しかし、現在の DPI では、肺胞全体に均一にナノコンポジット製剤を投与できていないことが明らかになった。この小動物への投与方法を今後の検討課題として残した。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 14 件)

- ① Sagar M. Agnihotri, Hiroyuki Ohshima, Hiroshi Terada, Keishiro Tomoda, Kimiko Makino,  
Electrophoretic mobility of colloidal gold particles in electrolyte solutions.  
Langmuir, accepted January 26, 2009, 査読有り.
- ② Fuminori Ito, Hiroyuki Fujimori, Hiroyuki Honnami, Hiroyoshi Kawakami, Kiyoshi Kanamura and Kimiko Makino,  
Study of types and mixture ratio of organic solvent used to dissolve polymers for preparation of drug-containing PLGA microspheres.  
European Polymer Journal, 45, 658-667, 2009, 査読有り.
- ③ Fuminori Ito, Hiroyuki Honnami, Hiroyoshi Kawakami, Kiyoshi Kanamura and Kimiko Makino,  
Preparation and properties of PLGA microspheres containing hydrophilic drugs by the SPG (shirasu porous glass) membrane emulsification technique.  
Colloids and Surfaces B; Biointerfaces, 67, 20-25, 2008, 査読有り.
- ④ Ganeshchandra Sonavane, Keishiro Tomoda, and Kimiko Makino,  
Biodistribution of colloidal gold nanoparticles after intravenous administration :Effect of particle size  
Colloids and Surfaces B; Biointerfaces, (査読有り)66, 274-280, 2008, 査読有り.

⑤ Fuminori Ito, Hiroyuki Fujimori, Hiroyuki Honnami, Hiroyoshi Kawakami, Kiyoshi Kanamura and Kimiko Makino,

Effect of polyethylene glycol on preparation of rifampicin-loaded PLGA microspheres with membrane emulsification technique.

Colloids and Surfaces B; Biointerfaces, 66, 5-70, 2008, 査読有り.

⑥ Ganeshchandra Sonavane, Keishiro Tomoda, Akira Sano, Hiroyuki Ohshima, Hiroshi Terada and Kimiko Makino,

In vitro permeation of gold nanoparticles through rat skin and intestine: Effect of particle size.

Colloids and Surfaces B; Biointerfaces, 65, 1-10, 2008, 査読有り.

⑦ Keishiro Tomoda, Takumi Ohkoshi,

Takehisa Nakajima, Kimiko Makino

Preparation and properties of inhalable nanocomposite particles: Effects of the size, weight ratio of the primary nanoparticles in nanocomposite particles and temperature at a spray-dryer inlet upon properties of nanocomposite particles.

Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 64, 70-76, 2008, 査読有り.

⑧ Taizo Hasegawa, Kanako Iijima, Keiji Hirota,

Takehisa Nakajima, Kimiko Makino,

and Hiroshi Terada,

Exact determination of phagocytic activity of alveolar macrophages toward polymer microspheres by elimination of those attached to the macrophage membrane,

Colloids and Surfaces B; Biointerfaces, 63, 209-216 2008, 査読有り.

⑨ Junichi Kitagawa, Masanori Nasu, Hayato Okumura, Akihiko Shibata, Kimiko Makino, Hiroshi Terada, Shigeji Matsumoto,

Allopurinol gel mitigates radiation-induced mucositis and dermatitis,

J. Radiat. Res., 49, 49-54, 2008, 査読有り.

⑩ Keishiro Tomoda, Takehisa Nakajima, Satoru Ohgoshi, Yusaku Kawai and Kimiko Makino,  
Preparation and properties of inhalable nanocomposite particles: effects of temperature at a spray-dryer inlet upon the properties of particles.  
Colloids and Surfaces B; Biointerfaces, 61, 138-144, 2008, 査読有り.

⑪ Fuminori Ito, Hiroyuki Fujimori, and Kimiko Makino,  
Factors affecting the loading efficiency of water-soluble drugs in PLGA microspheres.  
Colloids and Surfaces B; Biointerfaces, 61, 25-29, 2008, 査読有り.

⑫ Taizo Hasegawa, Keiji Hirota, Keishiro Tomoda, Fuminori Ito, Hiroyuki Inagawa, Chie Kochi, Gen-Ichiro Soma, Kimiko Makino and Hiroshi Terada  
Phagocytic activity of alveolar macrophages toward polystyrene latex microspheres and PLGA microspheres loaded with anti-tuberculosis agent  
Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 60, 221-228, 2007, 査読有り.

⑬ Akira Inoue, Toshiyuki Ito, Kimiko Makino, Kazuo Hosokawa, and Mizuo Maeda  
I-Shaped Microchannel Array Chip for Parallel Electrophoretic Analyses  
Anal. Chem., 79, 2168-2173, 2007, 査読有り.

⑭ Keiji Hirota, Taizo Hasegawa, Hideyuki Hinata, Fuminori Ito, Hiroyuki Inagawa, Chie Kochi, Gen-Ichiro Soma, Kimiko Makino and Hiroshi Terada  
Optimum conditions for efficient phagocytosis of rifampicin-loaded PLGA microspheres by alveolar macrophages  
Journal of Controlled Release, 119, 69-76, 2007, 査読有り.

[学会発表] (計 46 件)

① Kimiko Makino  
Nanomedicine: Biodistribution of Gold Nano Colloids:

Nano composite Particles for the Treatment of Lung Carcinoma.

The 17<sup>th</sup> Nissin Engineering Particle Technology International Seminar(NEPTIS-17) on Interactions between Biomaterials and Solids -Fundamentals and application from DDS to environmental Problems-  
Nara Hotel, Nara, Japan, Dec. 8-9<sup>th</sup>, 2008.

② Kimiko Makino  
Pulmonary Drug Delivery System for Efficient Treatment of Tuberculosis.  
The Ehrlich II conference, 2<sup>nd</sup> World Conference on Magic Bullets, 3<sup>rd</sup>-5<sup>th</sup>, October, 2008. Nürnberg, Germany.

③ Kimiko Makino  
Pulmonary Drug Delivery System: Inhalable nano composite particles for the treatment of lung cancer.  
11<sup>th</sup> Canadian Society for Pharmaceutical Sciences Annual Meeting, 22<sup>th</sup>-25<sup>th</sup>, May, 2008. The Banff Center, Banff, Alberta, Canada.

④ Kimiko Makino  
Inhalable nano composite particles for treatment of lung cancer.  
8<sup>th</sup> CRS-Symposium at B. V. Patel center, Ahmedabad (India) 26<sup>th</sup>-27<sup>th</sup>, February, 2008.

⑤ Kimiko Makino  
Pulmonary drug delivery system for efficient treatment of tuberculosis.  
1<sup>st</sup> Indo-Japanese International Joint Symposium on Overcoming Intractable Infectious Diseases Prevalent in Asian Countries, Nov. 6-7<sup>th</sup>, 2007. Morito Hall, Tokyo, Japan.

⑥ 牧野公子,  
結核治療を目的とした経肺吸収製剤  
第 23 回日本 DDS 学会 シンポジウム 3 ホテル日航熊本 2007 年 6 月 14-15 日

⑦ 牧野公子,  
結核治療に応用可能な気道内 DDS 治療について, 第 30 回日本呼吸器内視鏡学会学術集会

ワークショップ3 気管支からの内科的治療  
2007年6月8日 東京ドームホテル

〔図書〕(計2件)

①牧野公子, “物理平衡”  
物理化学テキスト 葛谷昌之 編集 第8章  
p. 123-143, (241頁中) 廣川書店 2008年  
9月10日

②牧野公子 “マイクロカプセル”  
機能性化粧品の開発 III  
鈴木正人監修 第4編 第4章, p. 298-303,  
CMC シーエムシー, 2007年6月21日.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)  
○取得状況 (計0件)

〔その他〕

総説

①稲川裕之、河内千恵、杣源一郎、松本真、  
山下修司、寺田弘、牧野公子  
“結核治療を目的とした経肺吸収製剤”  
Drug Delivery System, 23 (4), 474-480 2008.  
査読無し。

② 牧野公子 “ナノDDS”  
オレオサイエンス, 7, 99-103, 2007. 査読  
無し。

③寺田弘、牧野公子  
“薬を飛ばして結核を治す: 肺胞マクロファ  
ージをターゲットにしたDDS”  
化学と薬学の教室, 157, 23-27, 2007. 査読  
無し。

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

牧野 公子 (MAKINO KIMIKO)  
東京理科大学・薬学部・教授  
研究者番号: 40147509

### (2) 研究分担者

平成19年度

寺田 弘 (TERADA HIROSHI)  
東京理科大学・薬学部・教授  
研究者番号: 00035544

深井文雄  
東京理科大学・薬学部・教授  
研究者番号: 90124487

杣 源一郎  
徳島文理大学・家政学部  
研究者番号: 00158990

伊藤 史典  
東京理科大学・薬学部・助教  
研究者番号: 10366429

Sonavane Ganeshchandra  
東京理科大学・総合研究機構・ポストドク  
トラル研究員  
研究者番号: 90449231

(3) 連携研究者  
平成20年度

寺田 弘 (TERADA HIROSHI)  
東京理科大学・薬学部・教授  
研究者番号: 00035544

深井文雄  
東京理科大学・薬学部・教授  
研究者番号: 90124487

杣 源一郎  
徳島文理大学・家政学部  
研究者番号: 00158990

友田敬士郎  
東京理科大学・薬学部・助教  
研究者番号: 70516400

廣田慶司  
東京理科大学・総合研究機構・ポストドク  
トラル研究員  
研究者番号: 50516359