

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：34419

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K16431

研究課題名（和文）肺がん治療への応用を目的とした吸入用抗がん剤ナノ粒子の創製

研究課題名（英文）Development of Paclitaxel Nano Particles for Inhalation Against Lung Cancers.

研究代表者

大竹 裕子 (Hiroko, Otake)

近畿大学・薬学部・講師

研究者番号：40803771

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、肺がん治療薬として用いられているパクリタキセル（PTX）とナノサイズまでの破碎が可能なビーズミル法を基盤とし、肺がん吸入用治療薬としての吸入用抗がん剤ナノ粒子の創製を目指した。ビーズミルの調製条件および処方条件の最適化を通じて、粒子径100 nm以下を示す吸入用PTXナノ粒子懸濁液の調製に成功した。調製した懸濁液をマウスに経肺投与したところ、PTXの肺局所性が高まり、血中移行性を抑制することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

薬物ナノ粒子の吸入剤化に向けた検討が進められているが、粒子径100 nm以下のナノ粒子の調製が困難、粒子径に起因する体内動態の変化などの課題が挙げられる。また、がん化学療法の主剤形である注射剤を用いた治療は、疾患部位以外に薬物が到達するため全身性副作用の発現が問題となっている。以上の点から、吸入用抗がん剤ナノ粒子を応用した肺がん治療は疾患部位である肺に薬物を直接送達可能であり、少量の薬物投与による効率的な治療、全身性副作用の軽減が期待される。本研究により得られる成果は、吸入用薬物ナノ粒子によるドラッグデリバリーシステムの新たな確立に繋がるとともに、患者のQOL向上に大きく貢献可能な研究である。

研究成果の概要（英文）：The aim of the present study was to develop inhalable anticancer nanoparticles as a therapeutic agent for lung cancer, combining paclitaxel (PTX), which is used as a lung cancer drug, and the bead-milling method. The optimization of the preparation and formulation conditions of the bead mill achieved successful production of PTX nanoparticles for inhalation with a particle size of less than 100 nm. The results of pulmonary administration of the prepared PTX-NPs suspension to mice showed that improved the pulmonary localization of PTX and inhibited its delivery to the blood.

研究分野：薬物ナノ粒子，吸入剤開発

キーワード：吸入用ナノ粒子 パクリタキセル ビーズミル 湿式破碎 肺がん治療

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年、ナノ粒子の医療応用を指向した研究が進められているものの、多くは溶媒中にナノ粒子を分散した『液剤』を血管内投与した検討に限局しており、肺などの血管以外の投与経路で検討した内容は少ない。機能性ナノ粒子（リポソームやミセルなど）の注射剤としての応用が推進されているが調製工程が煩雑であるとともに、これらの粒子は細網内皮系に捕捉されるため標的組織への送達が困難であり、治療効果に影響を与えることが問題となっている。したがって、本研究では薬物ナノ粒子の調製工程が比較的簡便なビーズミル法ならびに標的組織に直接薬物を送達可能な局所投与法の1つである肺内投与に注目した。現在のがん化学療法における主な剤形は『注射剤』であり、副作用の軽減ならびに化学療法の効率化、患者のQOL向上の観点から抗がん剤の『吸入剤』が望まれている。さらに、工業分野でのナノ粒子の応用・製品化の拡大に伴って、人体への影響、特に吸入時の肺障害性及び肺からの全身移行性が懸念されている。ゆえに、研究者が所属する研究機関において確立されたナノ粒子化術と研究者が大学ならびに大学院を通じて検討してきた吸入剤に関する研究を融合することにより、肺がん吸入用治療薬としての吸入用パクリタキセルナノ粒子の有用性ならびに粒子径100 nm以下の吸入用薬物ナノ粒子に関する体内挙動および安全性についての新情報の獲得を試みた。本研究を推進することで、ナノ粒子の医療応用を大きく展開・推進するとともに、ナノ粒子に関わる工業・環境面での人体への安全性情報としての有効活用についても期待できる。また、肺には、肺がん以外にも嚢胞性線維症など難治性・致死性の疾患が多く、典型的な肺疾患である気管支喘息や結核についても近年では世界的に増加傾向にあり、治療効果ならびに患者のQuality of lifeを改善する革新的な肺疾患治療の実現に向けて本研究が果たす意義は極めて大きい。

### 2. 研究の目的

本研究では、吸入用抗がん剤ナノ粒子を肺がん治療に応用すべく、吸入用パクリタキセルナノ粒子の有用性について評価するとともに、粒子径100 nm以下の吸入用薬物ナノ粒子に関する体内挙動についても明らかにする。抗がん剤を使用するため、試料調製などの操作は全て安全キャビネット内で行った。

### 3. 研究の方法

#### (1) 吸入用パクリタキセルナノ粒子 (PTX-NPs) 懸濁液の調製

肺がん治療薬であるパクリタキセル (PTX) を使用し、懸濁液中の粘度を増加させる添加物としてカルボキシメチルセルロース (CMC)、ポリビニルピロリドン (PVP)、ポリビニルアルコール (PVA)、メチルセルロース (SM-4)、ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン (HPβCD) を加えて懸濁した後、湿式ビーズミル処理 (図1) にて各 PTX-NPs 懸濁液を調製した。調製後、各 PTX-NPs 懸濁液中の PTX 濃度を HPLC にて測定した。

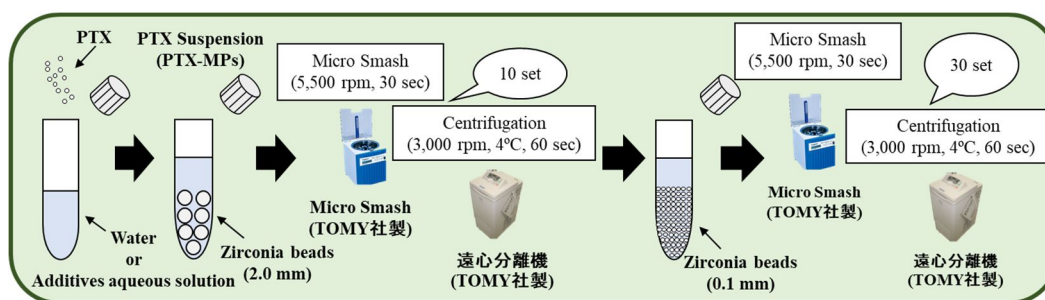


図1 PTX-NPs の調製方法

表1. 各 PTX-NPs 懸濁液の処方内容

	PTX濃度 (w/v%)	添加物濃度 (w/v%)				
		CMC	PVP	PVA	SM4	HPβCD
Rp.1	0.2	—	—	—	—	—
Rp.2	0.2	1.0	—	—	—	—
Rp.3	0.2	—	1.0	—	—	—
Rp.4	0.2	—	—	1.0	—	—
Rp.5	0.2	—	—	—	0.5	5.0
Rp.6	0.2	—	—	2.0	—	—
Rp.7	0.3	—	—	2.0	—	—
Rp.8	0.4	—	—	2.0	—	—

## (2) PTX-NPs の粒子形状および粒子径評価

調製した PTX-NPs 懸濁液中の PTX-NPs の粒子形状を走査電子顕微鏡 (SEM) により観察するとともに、各 PTX-NPs 懸濁液をフィルターろ過 (0.45  $\mu\text{m}$  および 0.2  $\mu\text{m}$  フィルターを使用) し得られた試料液中の PTX 濃度を測定することで、ナノ粒子の存在について確認を行った。

## (3) PTX-NPs 懸濁液の体内動態評価 (*in vivo*)

(1) および (2) の検討結果より処方最適化された PTX-NPs 懸濁液について、ICR マウス (5 週齢、雌) に経肺投与 (PTX 60  $\mu\text{g}/\text{匹}$ ) を行い、所定の時間に麻酔・解剖して血液および肺組織をそれぞれ回収・抽出した。比較対照として、市販 PTX 製剤であるタキソール®を尾静脈内投与 (PTX 240  $\mu\text{g}/\text{匹}$ ) し、同様の処置を行い、比較に用いた。

## 4. 研究成果

### (1) 各 PTX-NPs 懸濁液中の PTX 濃度

各 PTX-NPs 懸濁液中の PTX 濃度の比較結果を図 2 に示した。添加物を含まず PTX のみでピーズ処理を行った Rp.1 については、懸濁液中の PTX 濃度が最も低値であり、各種添加物を添加することで、PTX 濃度は上昇することが示された。この理由として、添加物の有無が懸濁液の粘度に影響し、粘度が増加することで PTX とピーズの衝突が生じやすくなり、破碎効率が上がったためと考えられる。さらに、添加物として PVA を用いた際 (Rp.4) に懸濁液中の PTX 濃度が著しく増加したことから、PVA は他の添加物と比較して破碎効率を高める添加物であることが示された。PVA 添加濃度および PTX 濃度を適宜変化させて調製した結果、0.4 w/v% PTX と 2.0 w/v% PVA からなる Rp.8 が最も PTX 濃度が高いことが明らかとなった。

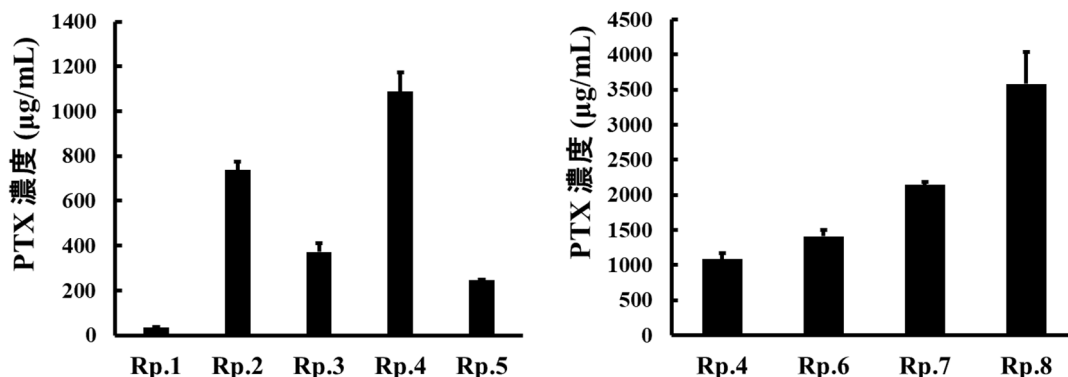


図 2 各 PTX-NPs 懸濁液中の PTX 濃度 (n = 3, mean  $\pm$  S.D.)

### (2) PTX-NPs の粒子形状および粒子径評価

調製した各 PTX-NPs 懸濁液中の PTX-NPs の SEM 画像を図 3 に示した。Rp.1 については十分な破碎が行われていないため、幾何学的粒子径が約 20  $\mu\text{m}$  の凝集粒子が観察された。一方、各添加物を添加した PTX-NPs 懸濁液 (Rp.2-8) については、効率的な破碎が生じ、幾何学的粒子径が約数十～数百 nm の粒子が観察された。特に、Rp.4、Rp.7、Rp.8 において他の処方群と比較して、より微細な粒子が観察された。Rp.8 についてフィルターろ過 (0.45  $\mu\text{m}$  および 0.2  $\mu\text{m}$  フィルターを使用) を行い、得られた試料液中の PTX 濃度を測定したところ、0.2  $\mu\text{m}$  フィルターを透過した試料液中の PTX 濃度はフィルターろ過前の懸濁液中の PTX 濃度の約 80%であったことから、Rp.8 は粒子径 200 nm 以下の PTX-NPs が高濃度で存在することが明らかとなった。

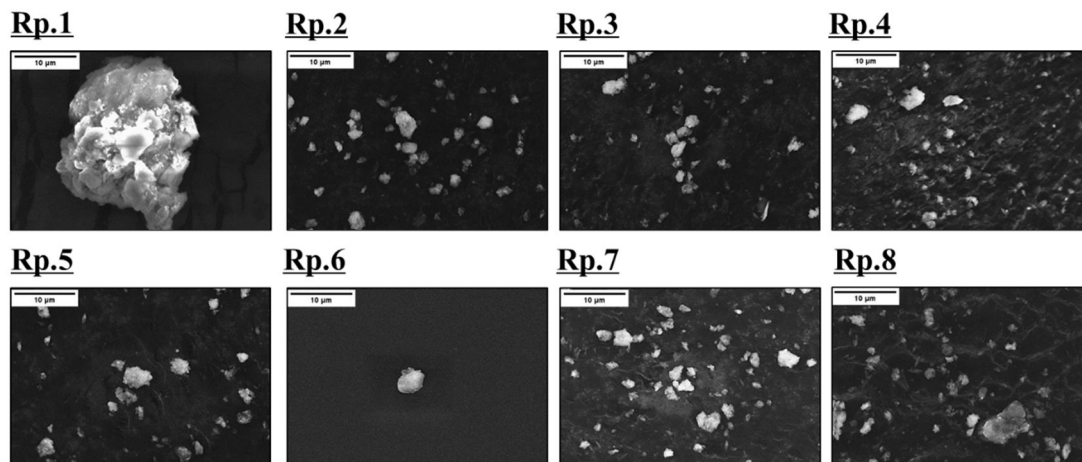


図 3 各 PTX-NPs 懸濁液中の PTX-NPs の SEM 画像

### (3) PTX-NPs 懸濁液の体内動態評価 (*in vivo*)

(1) および (2) の結果から Rp.8 が最適処方と考え、以降の検討では Rp.8 を PTX-NPs 懸濁液として用いた。調製した PTX-NPs 懸濁液を経肺投与した際の体内動態評価結果を表 2 に示した。比較対象として、タキソール®を尾静脈内投与した群についても同様に検討を行った。その結果、肺組織における PTX 濃度は PTX-NPs 懸濁液投与群において高く、血液中における PTX 濃度はタキソール®投与群において高いことが示された。PTX-NPs 懸濁液投与群はタキソール®投与群と比較して、投与量が 1/4 であるものの肺組織中濃度が高いことから、PTX-NPs の経肺投与は少量の投与量で効率的な治療が可能であると考えられる。また、経肺投与することで PTX の血液移行を抑制したことから、全身性副作用の軽減が期待できる。

表 2 *In vivo* 体内動態評価結果 (n = 6, mean ± S.D.)

	PTX-NPs	Taxol®
Lung (ng/ µg protein)	7.89 ± 4.07	3.38 ± 0.23
Blood (ng/ µg protein)	0.09 ± 0.02	1.32 ± 0.29

以上の結果より、懸濁液中の粘度を高める添加物として PVA を用いた際に、ビーズミル処理の破碎効率が最も高まることが示され、粒子径 数十~200 nm の PTX-NPs を高濃度で含有する PTX-NPs 懸濁液の調製に成功した。また、*in vivo* 体内動態評価において PTX-NPs 懸濁液を経肺投与することで肺局所性を高めるとともに、血中移行を抑制することが明らかとなり、少量の投与量で効率的な治療ならびに全身性副作用の軽減が期待される吸入用抗がん剤ナノ粒子製剤であると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大竹裕子, 辜 瓊雅, 福本 航, 長井紀章
2. 発表標題 噴霧急速凍結乾燥法を用いたトラニラストナノ結晶懸濁液からの微粉末体作成と吸入製剤の応用性
3. 学会等名 日本薬学会 第142年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 福本 航, 秋山紗和子, GU QIONGYA, 大竹裕子, 長井紀章
2. 発表標題 プレオマイシン誘発性肺線維症モデルマウスを用いた薬物肺線維症治療の模索
3. 学会等名 第71回 日本薬学会関西支部総会・大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 GU QIONGYA, 秋山紗和子, 福本 航, 大竹裕子, 長井紀章
2. 発表標題 トラニラストナノおよびマイクロ結晶配合吸入製剤の調製と経肺投与時における体内動態評価
3. 学会等名 第71回 日本薬学会関西支部総会・大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大竹裕子, 秋山紗和子, 福本 航, 長井紀章
2. 発表標題 経肺DDS製剤開発に関する研究：トラニラストナノ結晶はプレオマイシン誘発性肺傷害を抑制する
3. 学会等名 第70回 日本薬学会関西支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大竹裕子, 秋山紗和子, 片山理沙, 福本 航, 長井紀章
2. 発表標題 トラニラストの超微細化と肺内投与による肺線維化抑制効果
3. 学会等名 日本薬剤学会 第35年会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------