

氏 名	Tse, Jun Yee
学位の種類	博士(薬科学)
学位記番号	甲博薬科第2号
学位授与の日付	令和4年2月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Application of Phytoglycogen in Dry Powder Inhaler Formulation Design フィトグリコーゲンの吸入粉末剤への応用及び製剤設計
論文審査委員	(主査) 教授 土井 光暢 (副査) 教授 戸塚 裕一 (副査) 准教授 門田 和紀

論文内容の要旨

近年、医薬品開発において、低分子化合物の開発難易度が上昇し、経口投与以外による投与経路を利用した製剤開発が行われている。中でも、経肺投与製剤は、薬効の発現が早く、非侵襲性、全身への副作用が低いため、気管支喘息や慢性閉塞性肺疾患などの肺局所治療だけでなく、全身性疾患治療を目的とした研究が進められている。肺に医薬品を投与し循環血液中に送達した場合、肝初回通過効果を避けられること、速やかな治療効果の発現ができることなどが利点として挙げられるが、これは肺が 40～100 m² と大きな表面積を有していること、肺胞の上皮細胞が薄く透過性が良好であること、代謝酵素の活性が低いことが起因していると考えられている。経肺投与製剤には、主に、ネブライザー、定量噴霧吸入器、吸入粉末剤 (Dry powder inhaler: DPI) 等があるが、中でも、DPI 製剤は携帯性、安定性に優れ、吸入しやすく、比較的安価であるといった点から開発が進められている。しかし、DPI 製剤の気道内への沈着は、粉体の粒子物性に大きく影響され、その粉体物性を制御した製剤設計には高度な技術を有する。特に、医薬品有効成分 (Active pharmaceutical ingredients: API) のみで肺へ送達することは困難であることから、ほとんどの DPI 製剤には、キャリアと呼ばれる添加剤が含まれている。しかし、キャリアを用いた製剤設計において、使用される乳

糖による副作用やキャリアとの薬物含量の均一性などが問題点として挙げられる。そこで、薬物と添加剤との間で複合粒子を作製し、粒子径や形状などの粒子物性を制御した粒子設計は、複数の薬物を分散させた配合製剤や、局所での薬物放出挙動を制御可能な新たな粉末製剤として期待できる。しかしながら、市販される経肺投与製剤に使用できる添加物は、糖類、アミノ酸、界面活性剤など非常に限定されている。したがって、前述の複合粒子を調製するためには、生体適合性および安全性を有する新たな添加剤を検討することが、その DPI 製剤開発の可能性を広げることにつながる。本稿では、高分子多糖類であるフィトグリコーゲンに着目し、薬物との複合粒子調製を試みた。

トウモロコシの種子から抽出・精製した、フィトグリコーゲンはグルコースが高度に枝分かれし、分子量が 10^6 – 10^7 の範囲で比較的狭く、溶液中で樹状のような構造を持つことが知られている。そこで、このフィトグリコーゲンを添加剤として用い、噴霧乾燥法によりマトリックス型の機能性を持った粒子を設計する。DPI 製剤の吸入特性を評価するには、空気力学的粒子径以外の指標として、Emitted dose, Fine particle fraction, Extra-fine particle fraction がある。生産性の点から、製剤の収率(Product yield)も非常に重要であり、それぞれの結果を最適化するには、実験計画法が有用である。実験計画法は、因子と応答を統計的に結びつけるツールであり、複合粒子作製のための噴霧乾燥法による DPI 製剤の重要な因子を特定することができる。実験計画法を DPI 製剤の設計に適用することで、高分子多糖類添加剤をベースとして API を含有した、理想的な吸入特性及び生産性を持つ DPI 製剤の開発の可能性を広げることができる。

第 2 章では、フィトグリコーゲンを利用した DPI 製剤に対する粒子形態設計及び生体適合性について評価した。疎水性薬物であるリファンピシンとフィトグリコーゲンを含む複合粒子を噴霧乾燥により調製し、粒子物性の制御および吸入特性の向上を試みた。フィトグリコーゲンの細胞毒性は、呼吸器の細胞株を用いた *in vitro* 細胞毒性試験及びで評価した。また、機能性添加剤としてのフィトグリコーゲンが、炎症性サイトカイン遺伝子の発現や RAW264.7 細胞の貪食作用に及ぼす影響を調べた。その結果、フィトグリコーゲンを添加剤として調製した粒子物性を、噴霧乾燥前駆溶液の組成を調節することで制御することに成功した。特に、作製した粒子の構造は、多孔質粒子及び大きなリンクル粒子であった。興味深いことに、多孔質粒子と比較して、リンクル粒子は、肺胞までより効率的に薬物を送達することができる。また、肺胞上皮細胞株である A-549 及び気管支細胞である Calu-3 を用いた細胞毒性試験により、フィトグリコーゲンの生体適合性が検証された。また、機能性添加剤としてのフィトグリコーゲンが、炎症性サイトカイン遺伝子の発現や RAW264.7 細胞の貪食作用における影響も確認された。

第 3 章では、実験計画法を用いてフィトグリコーゲンを基剤とした DPI 製剤につい

て噴霧乾燥工程の最適化および肺胞への送達性向上条件について検討した。特に、噴霧乾燥工程における因子のうち、乾燥温度、送液速度、気流速度が製剤の粒子物性に与える影響について検討した。その結果、気流速度が DPI 製剤の粒子径に与えた影響が最も統計的に高かった。さらに、実験計画法から応答曲面を生成し、肺胞への送達性を最も向上させたフィトグリコーゲン基剤の DPI 製剤を調製するための因子を最適化した。最終的に、設計の信頼性を確保するため、妥当性及び最適化の効果を評価し検証した。

以上の結果、高分子多糖類であるフィトグリコーゲンを用いた DPI 製剤は、薬物微粒子を表面に付着させたリンクル粒子を形成し、その粒子はこれまでの報告にもないほどの肺深部への送達性を向上させることに成功した。また、実験計画法により様々な呼吸器疾患についての、特定の吸入特性を持つ薬物製剤が標的部位への送達を行うのに有用であると考えら、本研究で得られた知見は、高分子多糖類を添加剤とした肺深部へ送達できる DPI 製剤の設計に貢献ができ、経肺投与に関する今後の発展にも役立つと考えられる。

論文審査の結果の要旨

経肺投与製剤は、薬効の発現が速く、非侵襲性で全身への副作用が低いため、気管支喘息や慢性閉塞性肺疾患などの肺局所治療だけでなく、全身性疾患治療を目的とした研究が進められている。その製剤には、ネブライザー、定量噴霧吸入剤、吸入粉末剤（Dry powder inhaler: DPI）等が汎用されているが、中でもDPI製剤は他の経肺投与製剤に比べ、携帯性、安定性に優れ、さらに吸入しやすく、比較的安価であるといった利点から特に開発が進められている。上市されているDPI製剤のほとんどはキャリア法が用いられているが、使用される乳糖による副作用や薬物含量の不均一性などが問題点として挙げられる。

本研究の目的は、薬物と添加剤との間で複合粒子を作製し、粒子径や形状などの粒子物性を制御し、粒子の肺深部への高い到達性や、適した部位への粒子送達を改善することである。さらに、高分子多糖類であるフィトグリコーゲンに着目し、薬物との複合粒子調製を行っている。トウモロコシの種子から抽出・精製したフィトグリコーゲンを添加剤として用い、噴霧乾燥法によりマトリックス型の機能性を持った粒子の設計を確認している。また、DPI製剤の吸入特性を評価するには、空気力学的粒子径以外の指標として、Emitted dose、Fine particle fraction、Extra-fine particle fractionがある。生産性の点から、製剤の収率（Product yield）も非常に重要であり、それぞれの結果を最適化するには、実験計画法が有用であることを示している。実験計画法をDPI製剤の設計に適用することで、高分子多糖類添加剤をベースとしてAPIを含有した、理想的な吸入特性及び生産性を持つDPI製剤の開発の可能性を示しており、本研究の目的は達成している。

第2章では、フィトグリコーゲンを利用したDPI製剤に対する粒子形態設計及び生体適合性について評価している。疎水性薬物であるリファンピシンを用いて、粒子物性の制御および吸入特性の向上を確認している。その結果、噴霧乾燥前駆溶液の組成を調節することで多孔質粒子及び陥没、いわゆるリンクル粒子といった粒子形態の制御に成功にしている。興味深いことに、多孔質粒子と比較して、リンクル粒子は、肺胞までより効率的に薬物を送達できることができた。また、肺胞上皮細胞株であるA-549及び気管支細胞であるCalu-3を用いた細胞毒性試験により、フィトグリコーゲンの生体適合性を示した点は評価に値する。

第3章では実験計画法を用いてフィトグリコーゲンを基剤としたDPI製剤について

噴霧乾燥工程の最適化および肺胞への送達性向上条件について検討している。特に、噴霧乾燥工程における因子のうち、乾燥温度、送液速度、気流速度が製剤の粒子物性に与える影響について検討したところ、気流速度がDPI製剤の粒子径に与えた影響が最も統計的に高いことが判明している。そして、実験計画法から最適化を示すことが可能な応答曲面を作成し、その因子を最適化させたところ、収率が改善され、肺胞への送達性を最も向上させたフィトグリコーゲン基剤のDPI製剤の設計に成功し、この手法は他の添加剤を用いたDPI製剤設計への適用の可能性を示している。

創薬技術の進歩に伴い、経肺投与製剤が数多く創製される一方、難水溶性薬物が吸入粉末剤開発の成功確率の低下の一因であり、製剤学的な工夫による粒子設計が求められている。本研究では、高分子多糖類であるフィトグリコーゲンを用いたDPI製剤は、薬物微粒子を表面に付着させたリンクル粒子を形成し、肺深部への送達性を劇的に向上させる粒子の設計に成功している。また、実験計画法を活用することで、薬物製剤の標的部位への送達が実現可能となる粒子が設計できた。本研究で得られた知見は、高分子多糖類を用いたDPI製剤の設計に貢献ができ、経肺投与に関する今後の発展に役立つと考えられるため、申請者の本論文は本学博士論文として評価に値する。

以上により、上記の論文は、博士(薬科学)論文として適当と判断する。