

【目的】肺胞まで到達する吸入剤は、肺疾患の治療のみならず、種々の薬物の全身投与手段としても極めて有望である。また、特定遺伝子の発現亢進に起因する疾患治療のため、siRNA (small interfering RNA) 薬の開発が期待されている。しかし、siRNA 吸入剤の開発において、肺深部の肺胞まで siRNA を安全かつ効率的に送達させることがボトルネックとなっている。本研究では、我々が開発を進めてきた核酸・ヒアルロン酸 (HA) 含有吸入用マイクロ粒子製剤 LPDH-SFDP (Spray-freeze-dried particles (SFDP) containing a hyaluronic acid (HA) -coated liposome-protamine-DNA complex (LPDH)) の疾患治療への応用を試み、siRNA 吸入剤の実現を目指す。本研究では、疾患治療、特に COPD 治療への応用を目指すにあたり、LPDH-SFDP 作製法の再検討を行う。既存の作製法より低密度な粒子の作製を期待し、直径 $1\mu\text{m}$ 以下の微細気泡であるウルトラファインバブル (UFB) の応用を試みる。加えて、COPD モデルラットの作製を行い、LPDH-SFDP 吸入投与による治療実験に進む。

【方法】UFB は、独自に開発したベンチュリー式 UFB 作製装置により、ガス成分を大気として作製した。ナノトラッキング法による粒子径測定により UFB の物理物性を評価した。UFB は、LPDH 分散液に分散させて加えた他、LPDH-SFDP の作製法は過去の研究とほぼ同様である。COPD 治療に向けた siRNA を内封する HA 被覆脂質ナノ粒子 (LPDH) を作製し、さらに、糖アルコールを用いた噴霧凍結乾燥法により、核酸および HA を肺胞まで送達する低密度の多孔性マイクロ粒子 (LPDH-SFDP) を作製した。作製した LPDH-SFDP の物性評価は、走査型顕微鏡 (SEM) を用いた形状評価により行った。また、ブタ膀胱エラスターゼ (PPE) (100 U/0.5 ml) を SD ラットの肺へ均等に曝露し、COPD モデルラットを作製した。

【結果】作製した UFB の粒子径を測定したところ平均粒子径 $135.1\pm 2.6\text{ nm}$ であり、全体として 200 nm 以下の微細気泡の作製を確認できた。粒子濃度は、 $1.5\times 10^9\pm 2.0\times 10^7$ 個/ml であった。LPDH-SFDP を作製する際、この微小で高濃度の UFB を LPDH 分散液に含有させてマイクロ粒子を作製することで、マイクロ粒子の骨格となるマンニトールが物理的に阻害され、既存の作製法より低密度な粒子が作製できると考えている。作製した LPDH-SFDP を SEM 画像で確認したところ、UFB の有無に関わらず、平均粒子径約 $30\sim 40\mu\text{ m}$ の粒子が観察された。空隙率に関しても、観察できる差異はなかったが、今回用いた UFB の平均粒子径は 130 nm と小さく、目視できるレベルにない。少なくとも、UFB を用いても粒子を破壊するような悪影響がないことは確認できた。今後、この粒子の空気動力学径を測定し、肺深部への送達性を評価していく。COPD モデルラットの作製では、エラスターゼ投与により肺胞の破壊がみられ軽度の COPD 病態の作製に成功した。現在、この COPD モデルラットに、LPDH-SFDP を吸入投与する治療実験を進めている。

本研究の概要

