

# 生体活性ガラス骨セメントを用いたドラッグ デリバリーシステムの構築

神戸薬科大学製剤学研究室

大塚 誠・松田 芳久

## Development of Drug Delivery System using Bioactive Glass Bone Cement

Makoto Otsuka, Yoshihisa Matsuda

*Department of Pharmaceutical Technology, Kobe Pharmaceutical University*

### 目 的

生活水準の向上と衛生環境の改善から、我が国は、急速に高齢化社会を迎えつつあり、高齢者に特有の生活習慣病を効率的に予防、治療することが次世代の社会の活性化のために極めて重要である。これらの疾病のうち骨粗鬆症は、容易に骨折を引き起し、患者を寝たきり状態にする原因ともなり、患者の生活の質を向上させるためにその治療方法の改善が望まれている。これらの骨組織に関連する疾病に適用される人工臓器として、生体親和性をもつ PMMA などの高分子を用いた骨セメントの有用性が認められ、活発に研究が進められており、高い評価を得て広く臨床で使用されている<sup>1),2)</sup>。生体親和性材料を用いた、埋め込み型薬物送達システムに関する研究は、高分子セメントをステロイド剤や抗生物質と混合し薬物放出を制御研究<sup>3),4)</sup>あるいは、ポリ乳酸誘導体やコラーゲンなどの天然高分子を骨代謝刺激因子に混合し、骨成長

の促進を検討している<sup>5),6)</sup>。しかしながら、これらの高分子セメントシステムは、短期的には代用骨として極めて有効でありその役割を果たすが、硬組織に用いられた場合には骨細胞が生体物質として認識しないため、長期的には硬組織に対する親和性が認められず問題がある。

一方、ハイドロキシアパタイト (HAP) はリン酸カルシウムから成り、歯や骨などの生体硬組織を形成している重要な無機構成成分であることから硬組織への生体適合性が非常によい。このことから、代用骨、人工関節、歯科用インプラントなどの理想的な材料として利用され<sup>7)</sup>、特に硬組織へインプラントを適用する場合にはアパタイト結晶構造をもつ物質のコーティングなどによる表面特性の改質が求められる<sup>4)</sup>。このことから、合成多孔性アパタイトビーズを用いた抗生物質や抗癌剤の薬物放出制御が試みられている<sup>8),9)</sup>。しかし、これらの多孔性アパタイトを用いた場合薬物は吸着していることから薬物含有量は極めて低く、また、薬物放出特性の制御も十分とは言えない。そこで、Brown ら<sup>10)</sup>の自己硬化アパタイトセメントを利用し、生体内埋め込み型の薬物送達システム

(DDS) を研究開発した<sup>11)</sup>。しかし、このセメントは、pH が中性で生体への刺激性が少なく、また、薬物を安定に保持することができ、DDS の素材として大きな利点を有する一方、機械的強度に乏しくその使用範囲が限定される。これらの従来のアパタイトセメントに対して小久保らは、自家硬化特性を有するさらに高機能性の材料として生体活性ガラスセメントを報告している<sup>12)</sup>。溶融法<sup>12)</sup>により調製した CaO, 46.7; SiO<sub>2</sub>, 35.6; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 17.0; CaF<sub>2</sub>, 0.7 wt% の組成のリン酸カルシウムガラスは粉末をリン酸緩衝液と練合後 5 分以内に硬化し、擬似体液に 3 日間浸漬後、生体活性の高いハイドロキシアパタイト (HAP) に転移する。また、コンクリートの 3-4 倍の強度を示し、その高い自己硬化特性と生体親和性の両面から注目される機能性材料ともいふべき特性をもつ粉体である。アパタイトへ転移するこのガラスセメントを基剤として薬物送達システムを調製し、生体硬組織の形成を促進するポリペプチド系薬物(骨成長因子など)や抗炎症剤、抗癌剤、抗生物質等の薬物を粉末あるいは顆粒状で生体活性セメントに添加し、長期間にわたる薬物放出を継続させることを試みた。セメント内の空隙率や薬物顆粒の溶解性の制御により薬物の放出を自由に制御することができれば薬物の薬効を任意に調節し、その薬理作用を最大限に引き出すことや副作用の劇的な軽減が期待できる。また、薬物放出後には破骨細胞あるいは骨芽細胞がセメント表面に吸着するので、本セメントの表面に硬組織の形成を促進することが可能である。これらの基本的概念に基づいて、まず、抗生物質セフェレキシム (CEX)<sup>12)</sup> と抗炎症薬インドメタシン (IMC)<sup>13)</sup> をモデル薬物として体内埋め込み型 DDS を考案し、その薬物放出特性と自己硬化特性を検討した。

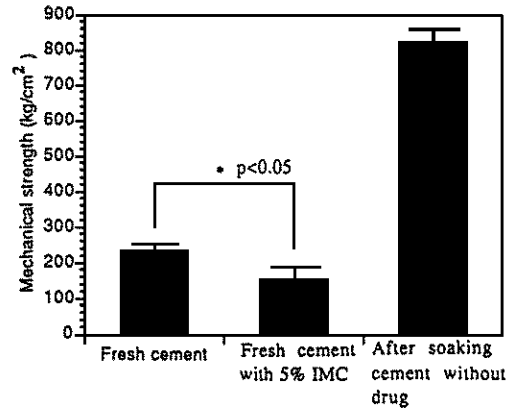


Fig. 1 Mechanical Strength of Bioactive Bone Cement Containing 5%IMC (n=3).

### 薬物含有生体活性骨セメントの自己硬化特性

生体活性ガラス骨セメント粉末 1 g にリン酸アンモニウム緩衝液 0.5 g を加え練合し、37°C, 100%RH で 1 h 保存し硬化させた。溶出試験は pH 7.25 の擬似体液 (SBF) 中 37±0.5°C で行った。溶出液 50 ml を毎回全量交換し、薬物量は吸光度から定量した。薬物含有セメントの物理化学的特性は X 線粉末回折と示差走査熱量計 (DSC) で測定した。

図 1 にセメント圧縮強度に対する薬物添加の影響を示した。硬化後の 5%IMC 含有セメントの圧縮強度は 157 kg/cm<sup>2</sup> を示し、薬物の添加により圧縮強度が無添加の場合に比較して約 50% 減少したが、かなり強固なセメントが調製された。薬物を含まないセメントは SBF に 7 日間浸漬後に、825 kg/cm<sup>2</sup> の圧縮強度を示した。

### 薬物含有生体活性骨セメントの X 線粉末回折

図 2 にインドメタシン (IMC) 含有セメントの X 線粉末回折プロファイルを示した。セメント原料粉末はガラス特有のハロパターンを示

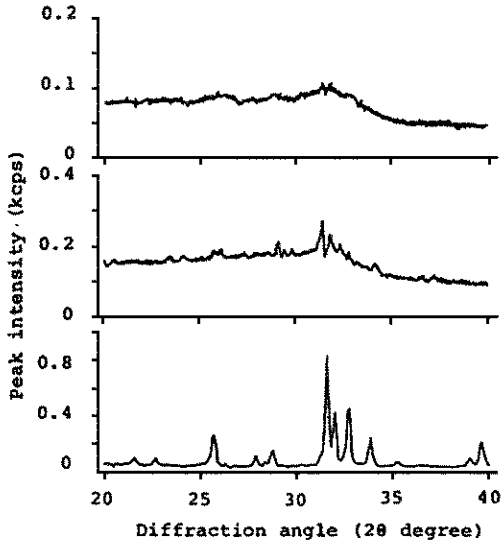


Fig. 2 X-ray diffraction profiles of the bioactive bone cements containing 5%IMC before and after drug release. Upper, fresh 5%IMC loaded-cement; middle, the cement after 14 d drug release; lower, synthetic hydroxyapatite.

した。薬物含有セメントの2週間薬物放出後のX線回折プロファイルは標準HAPに比較して非常にブロードではあるが $2\theta=32-34$ にHAP特有の回折パターンを示し、結晶性の低い生体適合性を有するHAPへの転移を示唆した。また、5%IMC含有セメントのX線回折プロファイルにはIMC結晶由来の回折ピークを示さなかった。このことからセメント中のIMCは非晶質状態で存在することが示唆された。また、薬物溶出試験の後、HAPへの転移を示唆する回折ピークの新たな出現を示し、溶出試験中の再結晶化が示された。薬物含有セメントのX線回折プロファイルは標準HAPに比較して非常にブロードな回折パターンを示し、結晶性の低い生体適合性を有するHAPへの転移を示唆した。

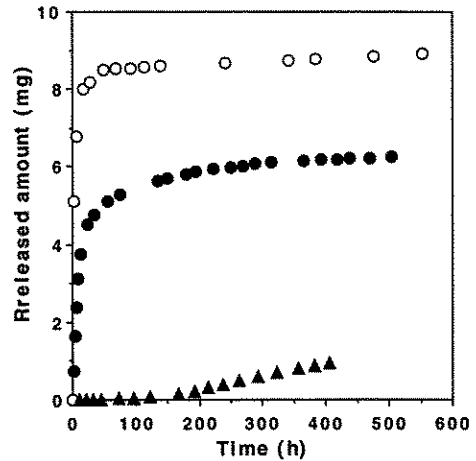


Fig. 3 Effect of Drug Load on Drug Release Profiles of 5%CEX from Bioactive Bone Cement.  $\circ$ , homogeneous load;  $\bullet$ , heterogeneous load;  $\blacktriangle$ , homogeneous load after drug release test.

#### 薬物含有生体活性骨セメントからの *in vitro* 薬物放出試験

図3にIMC粉末(2および5%)を均一充填法と不均一充填法により添加したセメントの薬物放出曲線を示した。薬物はセメントマトリックスから非常に緩慢に放出され、2%IMC含有均一薬物充填セメントからの薬物放出は20日後に約13%、不均一充填系では20日後に約5%溶出した。5%IMC含有均一薬物充填セメントからの薬物放出は10日後に約30%、不均一充填系では10日後に約20%溶出した。

図4に5%の抗生物質CEX粉末を均一充填法と不均一充填法により添加したセメントからの薬物放出曲線を示した。5%IMC含有均一薬物充填セメントからの薬物放出は20日後に約36%、不均一充填系では20日後に約24%溶出した。硬化したこれらの均一薬物充填セメント系では、セメントマトリックス中に充填された薬物が空隙細孔を通過して放出される。このときの薬物放出速度は基本的にはセメントの空隙率、薬物含有量、薬物溶解度、セメントの表

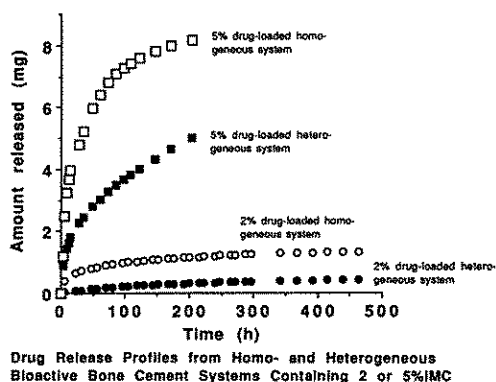


Fig. 4 Drug Release Profiles from Homo- and Heterogeneous Bioactive Bone Cement Systems Containing 2 or 5%IMC.

面積，細孔の曲路率に依存することが Higuchi より次の式で報告されている<sup>14)</sup>。

$$M(t) = A \frac{Dc}{\tau} \sqrt{2Cd - \varepsilon Cst} \quad \text{eq. 1}$$

ここで， $M(t)$ ，時間  $t$  における薬物放出量； $A$ ，セメントの表面積； $K$ ，Higuchi 定数； $t$ ，時間； $D$ ，薬物の拡散定数； $D_{eff}$ ，マトリックス内での薬物の拡散定数； $\tau$ ，曲路率； $\varepsilon$ ，空隙率； $C_a$ ，薬物含有量； $C_s$ ，薬物の溶解度。

この式に基づき薬物放出曲線を解析したところ，IMC あるいは CEX とともに Higuchi 式に従わない薬物放出パターンとなった。この理由として生体活性セメントはリン酸緩衝液との練合により，その一部がアンモニウム塩へ転移することによりセメントは硬化し，これが生体中あるいは SBF 中で徐々に HAP に転移することにより，薬物放出中にセメント中の細孔の幾何学的構造が変化したためと思われる。

#### in vivo 薬物放出試験と生体適合性<sup>15)</sup>

図 5 にインドメタシン含有生体活性骨セメントをラット皮下に埋め込んだ後の血中薬物濃度曲線を示した。セメントからの薬物放出は，皮下注射に比較して極めて長い放出が挙動を示し，長期間の薬物放出が可能であることが実証

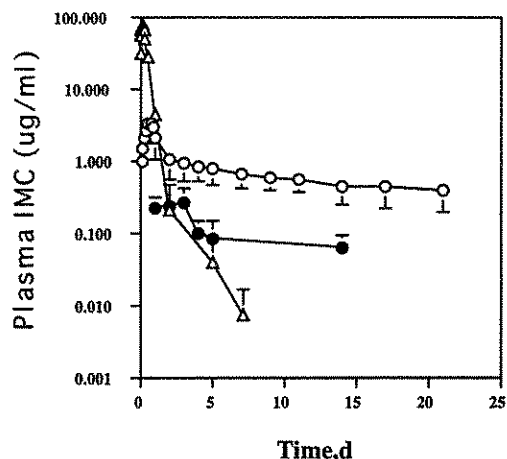


Fig. 5 Plasma level of IMC after s.c. administration of IMC-loaded cement, ○, 5%IMC cement; ●, 2%IMC cement; △, 14.1 mg/kg solution s.c. injection.

された。また，セメントへの薬物含有量に依存して薬物放出速度は増加し，薬物含有量により薬物放出を制御することができる。2 週間の薬物放出後の解剖所見と走査型顕微鏡観察によりセメント周辺部に炎症は認められず極めて生体親和性が高いことが確認された。

#### 高分子/ガラスセラミック複合骨セメントを用いた薬物送達システムの開発

これまでに，ガラスセラミックセメントは，圧縮破壊強度は高いが，衝撃に対して脆い欠点がある。これを克服するためにガラスセラミックセメントに生体親和性高分子である bisphenol- $\alpha$ -glycidyl methacrylate (BisGMA) と triethylene-glycoldimethacrylate (TEGDMA) の 1:1 レジンを複合することにより機械的強度が高く，骨に直接結合するセメントが開発された<sup>16)</sup>。これらの複合セメントを薬物送達システムとして活用を試みた。ガラスセラミック粉末として直径 5 mm の AW-GC ガラスセラミック粉末を 0.4% の  $\gamma$ -methacryloxy propyl trimethoxy silane 処理により表面を

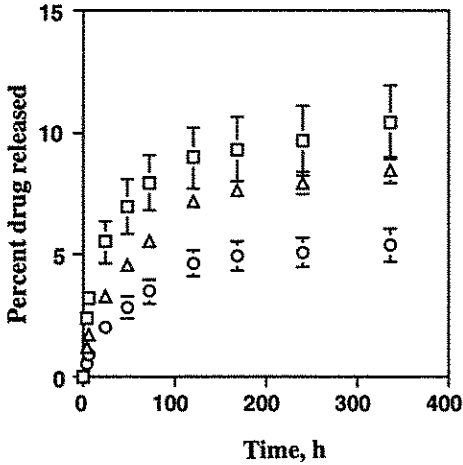


Fig. 6 in vitro CEX release profiles from CEX loaded bioactive bone cement in SBF □, 5% CEX; △, 2% CEX; ○, 1% CEX.

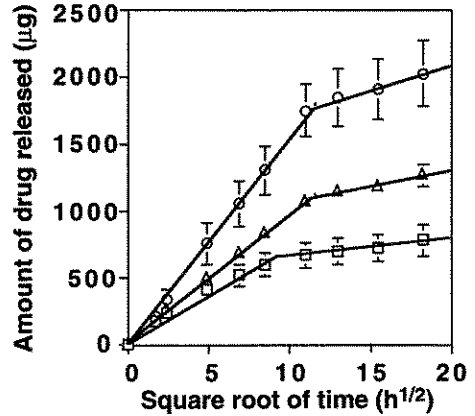


Fig. 7 Higuchi plots of CEX-loaded bioactive glass bone cement □, 1% CEX; △, 2% CEX; ○, 5% CEX.

疎水性に改質し、重合開始剤を粉末と混合しておく。BisGMA : TEGDMA=1 : 1 のモノマー溶液を混合し、薬物として CEX を用いた。5%薬物を含有する高分子ガラスセラミックス複合セメントは  $127 \pm 6$  MPa の圧縮強度を示し、かなり強固なセメントが調製された。図 6 に薬物含有量が擬似体液中での in vitro 薬物放出特性に与える影響を示した。薬物放出は、薬物含有量により制御できることが示された。図 7 にこれらの薬物放出曲線の Higuchi plot を示した。初期の薬物放出特性は、直線を示したが、100 h 以降に抑制が示された。これは、図 8 に示した表面反射 FT-IR スペクトルの結果が示すように、薬物放出試験後のセメント表面にアパタイトが析出したために薬物の放出が抑制されたことによるものと思われる。これらの結果から、骨に結合するガラスセメントを生体親和性高分子と複合することにより、さらに機械的強度の高い生体活性セメントから薬物を放出制御することができることが示された。

結 論

抗生物質 CEX と抗炎症剤 IMC をモデル薬

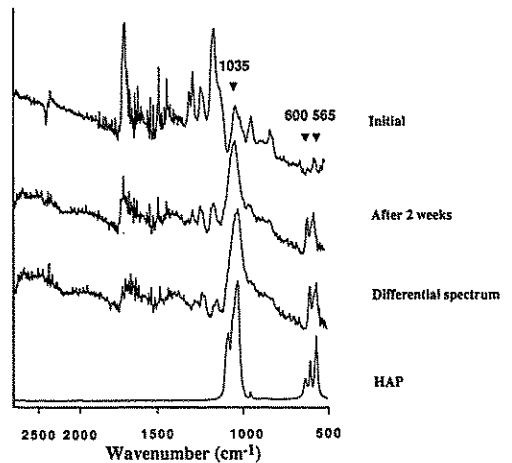


Fig. 8 FT-IR-RAD spectra of bioactive bone cement before and dissolution.

物として自己硬化型生体活性セメントを用いた硬組織への新規 DDS の適用を想定すると、本システムを骨欠損部位に適用後 5 分以内にセメントが硬化し、長期間にわたって薬物をマトリックスから放出することが期待される。さらに、これらのガラスセラミックスに高分子を複合することにより、新しい機能を持ったセメントから薬物を自由に制御することができる。これらのセメントは放出完了後にはマトリックス

を摘出する必要もなく、骨欠損部の人工埋め込み材料として長期間にわたる利用が可能な新規の薬物投与方法として有望である。今後、生体内で安定性や生体活性の高い、高機能ガラスの活用により、癌治療や骨塑しょう症などへの種々の薬物への適用とさらに高度の機能を有するDDSへの発展が期待され、新しいガラスの応用研究分野として展開される可能性を秘めている。

## 文 献

- 1) N. Ogata, S. W. Kim, J. Feijen, T. Okano, *Advanced Biomaerials in Biomedical Engineering and Drug Delivery System*, Springer Press, 1996.
- 2) 嶋林三郎, 寺田 弘, 岡林博文, 生体コロイド I, II, 基礎と実際, 広川書店 (1990).
- 3) H. J. Tatum, E. M. Coutinho, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 105, 1139 (1969).
- 4) H. W. Buchholz, R. A. Elson, K. Heinert, *Clin. Orth. Reiated Res.*, 190, 96 (1984).
- 5) 嘉悦 勲編, ドラッグデリバリーシステム, pp. 17-25 (1986).
- 6) 高岡邦夫ら, 第13回日本バイオマテリアル学会予稿集, pp. 31 (1991).
- 7) 田端恒雄, 小木曾誠, *歯科ジャーナル*, 18, 337 (1983).
- 8) 山村恵子, 趙 学珠, 岩田 久, 抗生物質含有ハイドロキシアパタイトの開発, *Drug Delivery System*, 6, 103 (1991).
- 9) T. Katoh, K. Sawai, T. Hattori, S. Hashimoto H. Ohta, S. Niwa, H. Tagai, T. Ohtsuka, *Application of Porous Hydroxyapatite Beads for a New Drug Delivery System*, *Apatite*, 1, 411 (1992).
- 10) H. W. Buchholz, R. A. Elson, K. Heinert, *Clin. Orth. Reiated Res.*, 190, 96 (1984).
- 11) M. Otsuka, Y. Matsuda, D. Yu, J. Wong, J. L. Fox and W. I. Higuchi: A Novel Skeletal Drug Delivery System for Anti-Bacterial Drugs by Using Self-Setting Hydroxyapatite Cement, *Chem. Pharm. Bull.*, 38, 3500-3502 (1990).
- 12) T. Kokubo, S. Yoshihara, N. Nishimura, et al., *J. Am. Ceram. Soc.*, 74, 1739 (1991).
- 12) M. Otsuka, Y. Matsuda, T. Kokubo, S. Yoshihara, T. Nakamura and T. Yamamuro: Drug Release From A Novel Self-Setting Bioactive Glass Bone Cement Containing Cephalexin and Its Physicochemical Properties, *J. Biomed. Mat. Res.*, 29, 33-38 (1995).
- 13) M. Otsuka, Y. Matsuda, T. Kokubo, S. Yoshihara, T. Nakamura and T. Yamamuro: A Novel Skeletal Drug Delivery System Using Self-Setting Bioactive Glass Bone Cement III: The in vitro Drug Release from Cement Containing Indomethacin and Its Physicochemical Properties, *J. Controlled Release.*, 31, 111-119 (1994).
- 14) T. Higuchi, *J. Pharm. Sci.*, 52, 1145 (1963).
- 15) M. Otsuka, Y. Nakahigashi, Y. Matsuda, T. Kobube, S. Yoshihara, H. Fujita and T. Nakamura: The In Vitro and In Vivo Indomethacin Release From Self-Setting Bioactive Glass Bone Cement, *Bio-Med. Material Eng.*, 7(5) 291-302 (1997).
- 16) Kawanage, K. Tamura, J., Yamamuro, T. Nakamura, T., Kokubo, T, Yoshihara, S., A new bioactive bone cement consisting of BIS-GMA resin and bioactive glass powder, *J. Appl. Biomater.*, 1993; 4: 135-141.
- 17) M. Otsuka, M. Sawada, Y. Matsuda, T. Nakamura and T. Kokubo: Antibiotic Delivery System Using Bioactive Bone Cement Consisting of Bis-GMA/TEGDMA Resin and Bioactive Glass Ceramics, *Biomaterials*, 印刷中.