

研究課題： セラノスティクスバブル製剤の調製と応用

研究代表者： 薬学部 セラノスティクス学講座 丸山一雄特任教授

研究の目的：

セラノスティクスバブル製剤の粒径分離法の開発

研究の概要：

前々年度（2018）、前年度（2019）に続き、無菌的な大量生産に向けたマイクロバブルのGMP製造法について検討し、研究室にある凍結乾燥機(FDU-1100、東京理化器械)に用いて、セラノスティクスバブル製剤の研究室レベルでの凍結乾燥製剤化に成功した。しかしながら、理想的なバブルの粒子径は1~4 $\mu\text{m}$ であるが、本方法では1 $\mu\text{m}$ 以下のバブルが多いことが判明し、その除去方法について検討した。

図1 マイクロバブルのGMP製造のイメージ図 7000rpm 1時間のリバース攪拌

7000rpm、1時間のリバース攪拌でバブルが調製されるが、粒子径を1~4 $\mu\text{m}$ にコントロールすることが困難であった。そこで、バブルをカラム管に入れて1時間静置した。その結果、図2に示す様にサイズにもとづいて分離することが示された。下層には粒子径1 $\mu\text{m}$ 以下のバブルが多いことが確認でき、静置法によって粒子径を1~4 $\mu\text{m}$ を回収することが可能であることが示された。





攪拌終了後、スクロースで、バブルの9%スクロース溶液に調製する。その後、シリンダー内に1時間静置する、

シリンダー内での様子を知る目的で、カラムに採取し1時間静置し観察した。

攪拌後、攪拌機下部の採取口からカラムに取り1時間静置

上中下の3層に分かれる		
上層	大きな泡	4 $\mu$ m以上
中層	メイン	1~4 $\mu$ m
下層	薄い	1 $\mu$ m以下

攪拌後 そのまま1時間静置  
上中下の3層に分かれる ので

攪拌機下部の採取口から  
下層部分を捨てると  
メインの部分の採取できる

図2 静置法によるバブルの分離の様子

図2に示すように、静置法によって1 $\mu$ m以下のサイズのバブルを捨てて中層を採取すれば、目的とする1~4 $\mu$ mのサイズのバブルを回収することができるとわかったので、ホモジナイザータンクをそのまま利用して、ホモジナイズ終了後、同量の18%スクロース溶液を添加して混合し、そのまま1時間静置して、下部から1 $\mu$ m以下のサイズのバブルを採取し、その後1~4 $\mu$ mサイズのバブル層を回収した。

1 $\mu$ m以下のサイズのバブル層から1~4 $\mu$ mサイズのバブル層への変化は、懸濁の色調から判断した。4 $\mu$ m以上の大きなバブルも色調の変化から判断した。

回収した1~4 $\mu$ mを2mLづつ5mLバイアル瓶に分注し凍結乾燥し密栓した。図3に凍結乾燥1~4 $\mu$ mサイズのバブル製剤を示す。

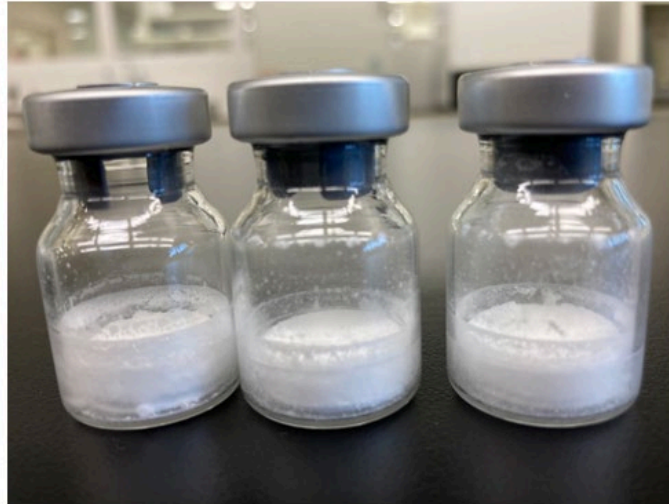


図3 1～4 $\mu$ m 凍結乾燥バブル製剤

上部空間にPFPガスが充填されている  
(凍結乾燥終了後、PFPガスで庫内を常圧に戻す  
時に充填される)

研究目標	達成度
セラノスティクスバブル製剤の 粒径分離法の開発	静置法で1～4 $\mu$ mのバブルを回収する方 法を開発した。 ホモジナイザー後、18%スクロース溶 液で2倍希釈後、ホモジナイザータン ク内でそのまま静置して回収可能とな ったので、GMP製造がより容易になっ た。

関連論文など：

- 1) 科研費基盤 (B) 令和 2~4 年 代表 リピッドバブルと MRI ガイド経頭蓋超音波による血液脳関門開口と脳内薬物送達
- 2) 科研費基盤 (B) 令和 3~5 年 分担 新規超音波造影剤と高密度焦点式超音波(HIFU)を用いた低侵襲治療システムの開発
- 3) Ultrasound Image-guided Gene Delivery using Three-dimensional Diagnostic Ultrasound and Lipid-based Microbubbles Daiki Omataa, Lisa Munakataa, Saori Kageyamaa, Yuno Suzukia, Tamotsu Maruyamaa, Tadimitsu Shima, Takumi Chikaarashib, Naoya Kajitab, Kohji Masudab, Naoto Tsuchiyac, Kazuo Maruyamad, Ryo Suzukia. [Journal of Drug Targeting 22, 1-8, 2021.](#) DOI: [10.1080/1061186X.2021.1953510](#)
- 4) Ternary Complexes of pDNA, Neuron-Binding Peptide, and PEGylated Polyethyleneimine for Brain Delivery with Nano-Bubbles and Ultrasound Yoko Endo-Takahashi, Ryo Kurokawa, Kanako Sato, Nao Takizawa, Fumihiko Katagiri, Nobuhito Hamano, Ryo Suzuki, Kazuo Maruyama, Motoyoshi Nomizu, Norio Takagi, Yoichi Negishi. [Pharmaceutics 13, 2021.](#) <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13071003>
- 5) Enhanced antitumor activity of combined lipid bubble ultrasound and anticancer drugs in gynecological cervical cancers. Yamaguchi Kohei; Matsumoto Yoko; Suzuki Ryo; Nishida Haruka; Omata Daiki; Inaba Hirofumi; Kukita Asako; Tanikawa Michihiro; Sone Kenbun; Oda Katsutoshi; Osuga Yutaka; Maruyama Kazuo; Fujii Tomoyuki. [Cancer Science 2021 Apr 1.](#) doi: 10.1111/cas.14907
- 6) Lipid bubbles combined with low-intensity ultrasound enhance the intratumoral accumulation and antitumor effect of pegylated liposomal doxorubicin *in vivo*. Inoru Yokoe, Daiki Omata, Johan Unga, Ryo Suzuki, Kazuo Maruyama, Yoshiharu Okamoto, Tomohiro Osaki. [Drug Delivery 28, 530-541, 2021](#)  
doi: 10.1080/10717544.2021.1895907.
- 7) Inhibition of miR-96-5p in the mouse brain increases glutathione levels by altering NOVA1 expression. Chisato Kinoshita, Kazue Kikuchi-Utsumi, Koji Aoyama, Ryo Suzuki, Yayoi Okamoto, Nobuko Matsumura, Kazuo Maruyama and Toshio Nakaki. [Communications Biology 4, 182, 2021](#) DOI:10.1038/s42003-021-01706-0
- 8) Lipid-based Microbubbles and Ultrasound for Therapeutic Application. Daiki Omata, Johan Unga, Ryo Suzuki, Kazuo Maruyama. [Advanced Drug Delivery Rev., 154-155, 236-244, 2020](#) DOI: [10.1016/j.addr.2020.07.005](#)
- 9) 腫瘍新生血管オープニングによるがん治療 大崎 智弘・横江 祈・鈴木 亮・小俣 大樹・丸

山 一雄 BIO

Clinica 36(12), 53-55, 2021

- 10) 腫瘍新生血管オープニングによるがん治療 Cancer treatment by tumor neovascular opening 大崎 智弘・横江 祈・鈴木 亮・小俣 大樹・丸山 一雄 Medical Science Digest 47 (10) ,38-40, 2021
- 11) 腫瘍新生血管オープニングによるがん治療 Cancer treatment by tumor neovascular opening 大崎 智弘・横江 祈・村端 悠介・鈴木 亮・小俣 大樹・丸山 一雄 細胞 53 (2) , 107-109, 2021
- 12) 第 10 章 ファインバブルの医療への応用 鈴木亮、小俣大樹、宗像理紗、丸山一雄 pp106-117 シーエムシー出版 6月18日 2021
- 13) OPINION 体外から DDS をコントロールする技術に期待 丸山一雄 Drug Delivery System, 36 (3), 160, 2021.

【関連リンク】 帝京大学薬学部 薬物送達学研究室 (DDS 研) HP

[帝京大学薬学部 | 薬物送達学研究室 | 東京都 \(teikyo-dds.com\)](http://teikyo-dds.com)