

# エアロゾル化インターフェロン

神戸常盤短大・衛技, 京都パストゥール研

喜多正和

神戸常盤短大・衛技

佐藤良暢

## はじめに

ウイルス抑制因子として発見されたインターフェロン(IFN)は、現在、抗癌剤あるいは抗ウイルス剤として臨床応用されている。一方、実験的には上気道ウイルス性疾患の予防または治療を目的として経鼻投与され、ライノウイルス、コロナウイルス、インフルエンザウイルスなどに対して有効であるとの報告がある<sup>1)~6)</sup>。しかし、IFNの経鼻投与により一部副作用が認められること<sup>7)</sup>、経鼻投与では鼻腔、副鼻腔にしか作用しないと推察されることなどの理由から、呼吸器疾患の予防効果をより確かなものにするためには、IFNのエアロゾル化が有用であると考えられる。そこで、より有用性の高い drug delivery system を追求する目的で、汎用エアロゾル吸入器8機種を用い、エアロゾル特性とIFN活性に及ぼす影響について検討した。

## 材料と方法

### 1) エアロゾル発生装置

超音波式エアロゾル発生器として立石電機社製NE-U05(160 KHz), NE-U10B(1.7 MHz, 2.5 ml/分), NE-U11B(1.7 MHz, 1.5 ml/分), 松下電工社製EW-621(182 KHz, 2 ml/分)の4機種, エアスプレー式エアロゾル発生器としてNE-S07(2 ml/分), EW-611(1.5 ml/分)の2機種, エアコンプレッサ式エアロゾル発生器としてNE-C10(12 ml/分)の1機種, スチーム式エアロゾル発生器としてEW-631(7 ml/分)の1機種, 計8機種を使用した。

### 2) エアロゾル粒径分布測定法

エアロゾル捕集法としてゼラチンコーティン

グ式捕集法の改良法を用いた。捕集したエアロゾルはFig. 1に示したように、LUZEX-450とパーソナルコンピュータ-HP-85を組み合わせた粒径分布自動測定システムを用いて平均径、粒径分布を測定した。

### 3) IFNおよびIFN力価測定法

リンバ芽球由来の精製 $\alpha$ 型IFN(比活性 $1 \times 10^8$  IU/mg蛋白以上)を2000 IU/mlとなるようPBS(-)で溶解希釈し、エアロゾル化前後の検体を回収後、 $-80^\circ\text{C}$ に保存した。IFN力価測定にはFL細胞、水泡性口内炎ウイルスを用いた50% CPE抑制によるDye-Uptake法を使用した。すべての力価は国際標準IFNであるMRC69/19を同時測定することにより国際単位(IU)に換算した。

## 結果

### 1) 各機種のエアロゾル粒径分布

エアロゾル粒径分布を各機器ごとに10回測定し、各回の平均値と標準偏差を求めた。Fig. 2, 3に全機種のエアロゾル粒径分布を示し、総平均値と標準偏差をTable. 1にまとめた。

超音波式の4機種については、NE-U05, EW-621, NE-U10Bを用いた場合、平均粒径が各々 $18.171 \mu\text{m}$ ,  $20.822 \mu\text{m}$ ,  $17.574 \mu\text{m}$ と約 $20 \mu\text{m}$ 前後であったが、NE-U11Bだけは平均粒径 $3.863 \mu\text{m}$ と小さかった。一方、エアスプレー式においては、NE-S07, EW-611の平均粒径は各々、 $23.854 \mu\text{m}$ ,  $31.520 \mu\text{m}$ であり、超音波式に比べやや大きく、粒径のバラツキも大きかった。また、コンプレッサ式のNE-C10の平均粒径は $5.143 \mu\text{m}$ であ

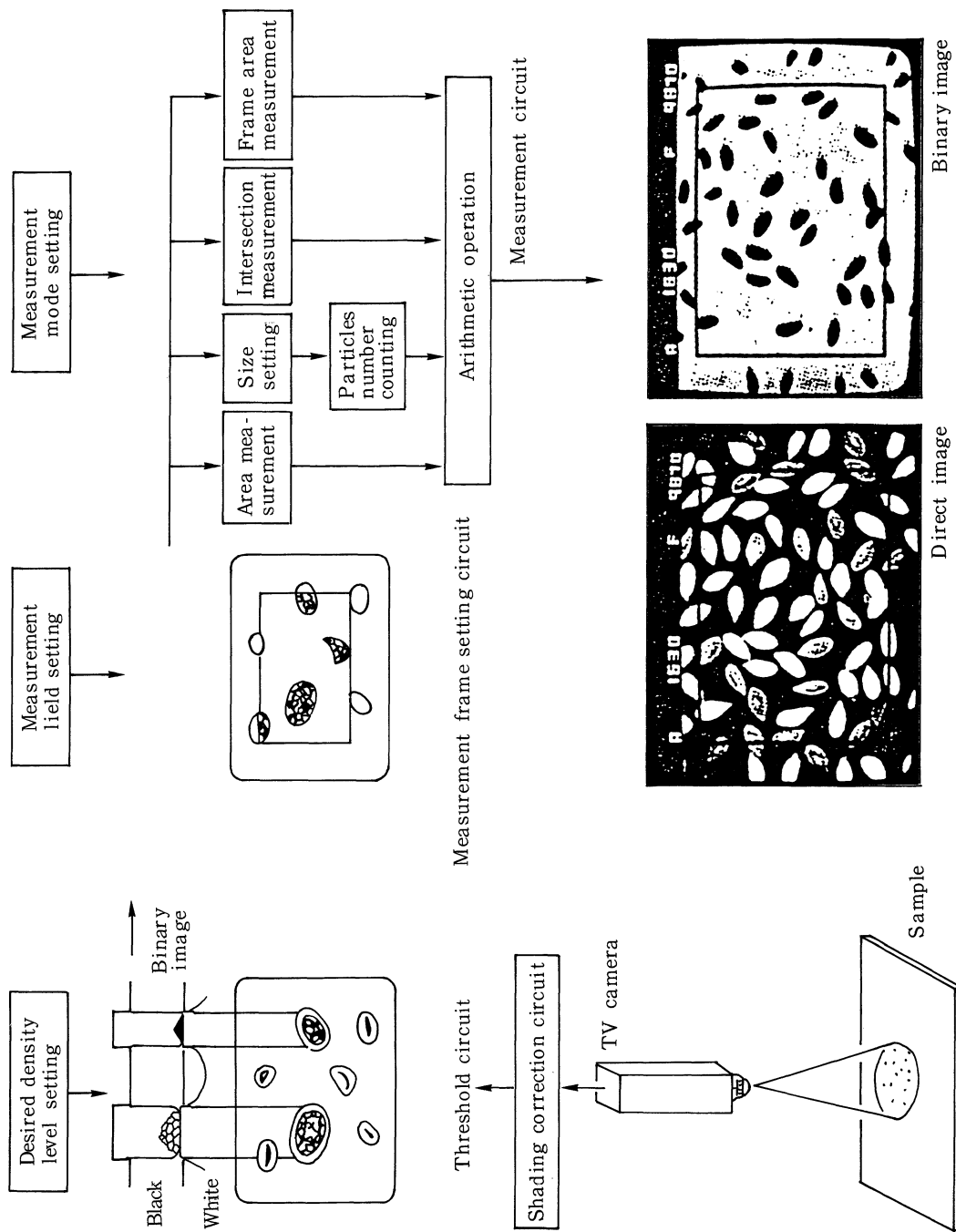


Fig. 1. Particle size distribution analyzing system

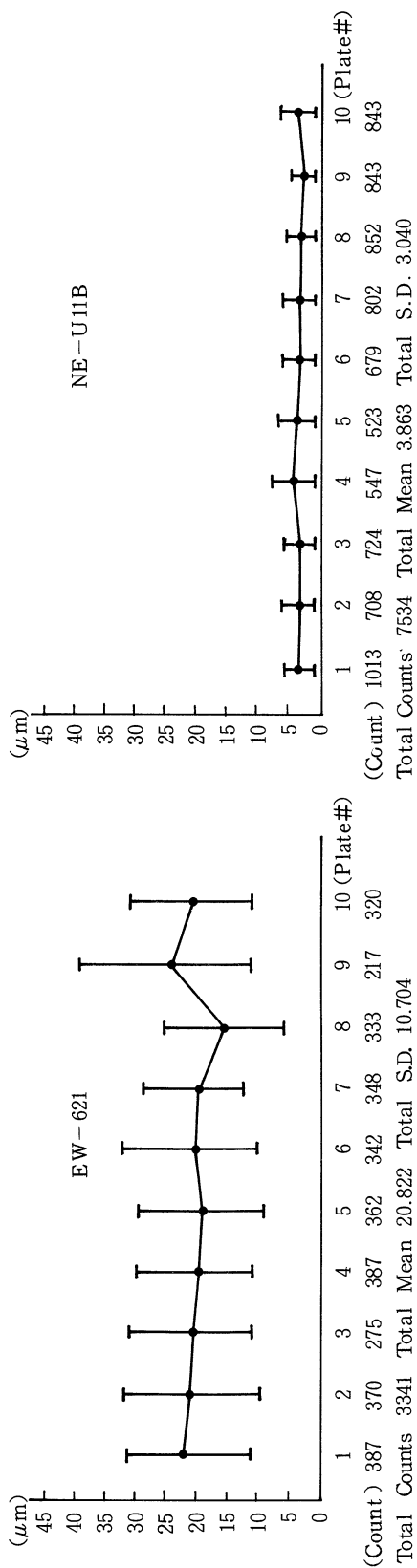
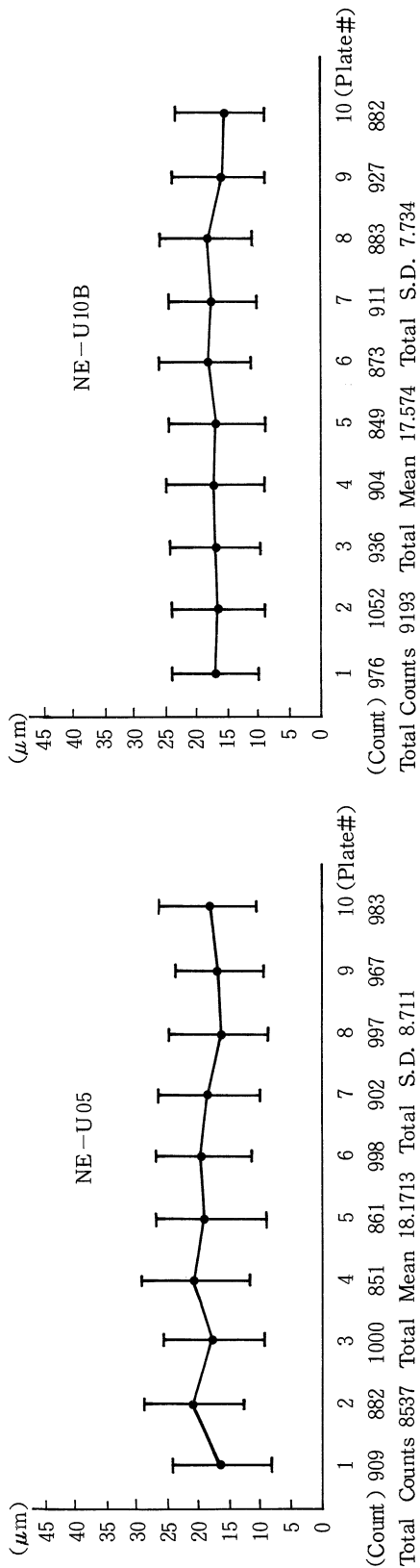


Fig. 2. Particle size distribution (NE-U05, EW-621, NE-U10B, NE-U11B)

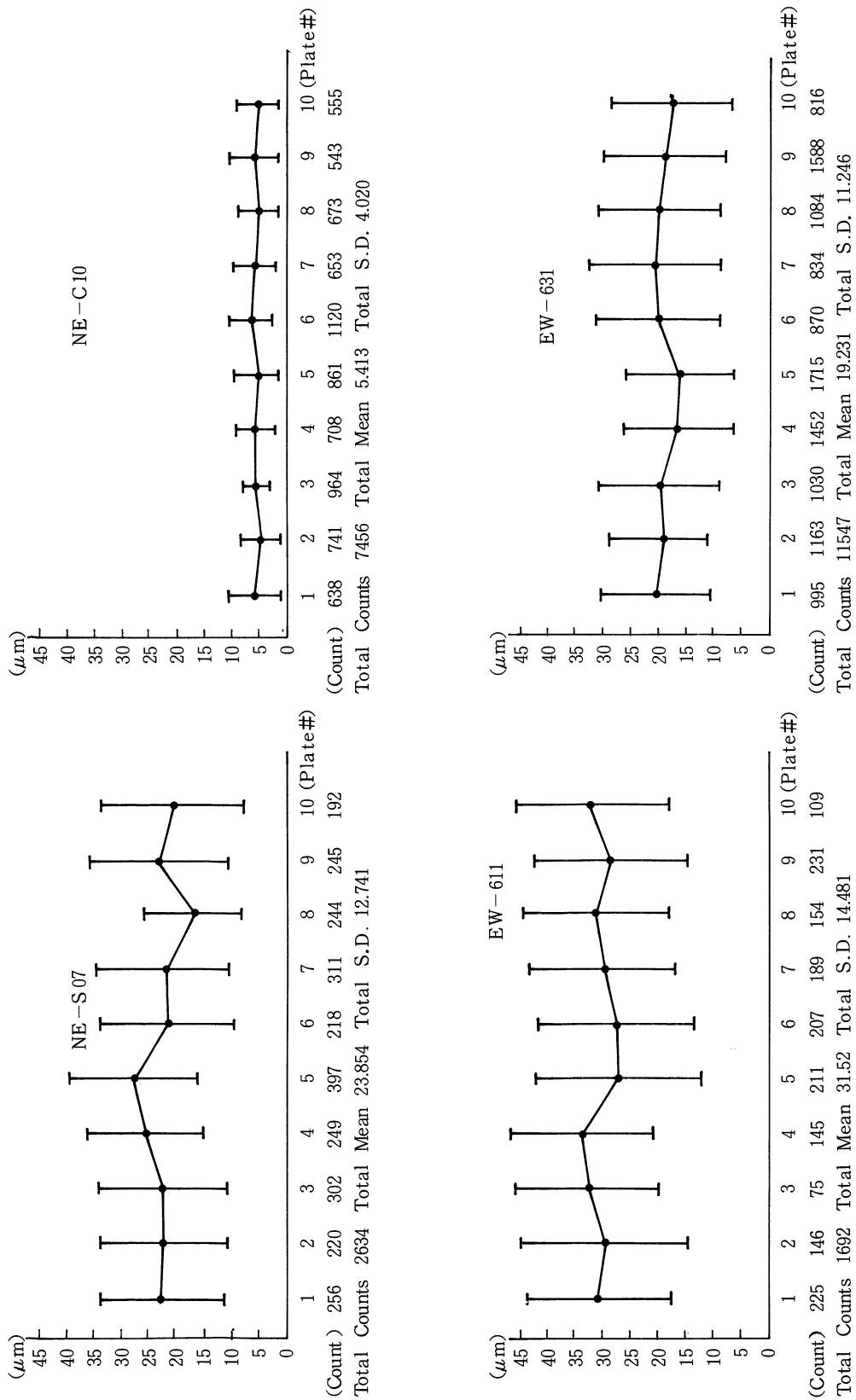


Fig. 3. Particle size distribution (NE-S07, EW-611, NE-C10, EW-631)

Table 1 Particle size distribution

Ultrasonic Type				
Device	NE-U05	EW-621	NE-U10B	NE-U11B
Count	8537	3341	9193	7534
Mean	18.171	20.822	17.574	3.863
S.D.	8.711	10.704	7.734	3.040

Air Spray Type			Compressor Type	Steam Type
Device	NE-S07	EW-611	NE-C10	EW-631
Count	2634	1692	7456	11547
Mean	23.854	31.520	5.413	19.231
S.D.	12.741	14.481	4.020	11.246

り、超音波式のNE-U11Bに近い粒径分布を示した。スチーム式のEW-631の平均粒径は19.231  $\mu\text{m}$ で超音波式の3機種と同様約20  $\mu\text{m}$ の粒径であった。

## 2) IFN活性に対するエアロゾル化の影響

IFNのエアロゾル化において最大の問題となるのは、エアロゾル化によるIFN活性の失活である。そこで、各機器を用いてIFNのエアロゾル化を行ないエアロゾル化前後のIFN活性を測定した。Table.2に示したように、ほとんどの機種

においては、エアロゾル化前後のIFN力価は2000 IU/ml前後であり、エアロゾル化によるIFN活性の失活は認められなかったが、超音波式のEW-621およびコンプレッサー式のNE-C10を用いた場合、エアロゾル化後のIFN力価は各々495 IU/ml, 367 IU/mlとエアロゾル化前の値の $\frac{1}{4}$ 以下に低下していた。また、スチーム式のEW-631を用いた場合、実験4あるいは実験5においてIFN活性の低下が認められ、条件によってはエアロゾル化によるIFN活性の失活が起こり得ることが示唆された。

Table 2 IFN titer before and after aerosolization

		Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 4	Exp. 5	Mean $\pm$ S.D.
before aerosolization		2185	2305	1700	2387	1956	2107 $\pm$ 279
Ultrasonic	NE-U05	2010	2378	1890	1860	1910	2010 $\pm$ 213
	EW-621	432	541	317	685	502	495 $\pm$ 136
	NE-U10B	2011	2236	1716	1985	1998	1989 $\pm$ 184
	NE-U11B	1643	2648	1721	2057	2149	2044 $\pm$ 400
Air Spray	NE-S07	1713	1918	1608	2338	2318	1979 $\pm$ 338
	EW-611	1534	1698	2012	2126	2254	1925 $\pm$ 300
Compressor	NE-C10	186	184	470	718	425	367 $\pm$ 223
Steam	EW-631	2047	2033	2250	561	1125	1603 $\pm$ 727

(単位はすべて IU/ml)

## 考 察

気道に吸入されるエアロゾル粒子の粒径の違いにより、気道各部位における沈着効率が異なることが知られており、一般に肺胞に沈着しやすい粒径は1~3  $\mu\text{m}$ 、細気管支では3~6  $\mu\text{m}$ 、気管支では6~8  $\mu\text{m}$ 、喉頭、咽頭、口腔、鼻腔では10~15  $\mu\text{m}$  であると考えられている<sup>8,9)</sup>。

本実験の結果、肺胞あるいは細気管支に沈着効率が高いと考えられる機種はNE-C10、NE-U11Bであり、喉頭、咽頭、口腔、鼻腔に沈着効率が高いと考えられる機種はNE-U05、NE-U10B、EW-621、EW-631であった。しかしながら臨床応用を実際に考える場合、エアロゾル粒子は吸入時における発生から沈着までの時間、吸気あるいは呼気の強さ、気道内におけるエアロゾル流速、温度、湿度などの影響を受け、沈着時において粒径分布はかなり変化すると考えられ、十分に考慮する必要がある。一方、エアロゾル化におけるIFN活性の影響を検討した結果、NE-C10およびEW-621を用いた場合、明らかなIFN活性の低下が認められ、またEW-631を用いた場合においても活性の低下が認められることがあった。コンプレッサー式のNE-C10によるIFN活性の低下は0.2~2.6  $\text{kg}/\text{cm}^2$  の圧力、スチーム式のEW-631の場合は熱が原因であると考えられ、超音波式のEW-621の場合は超音波による影響が認められないことより超音波振動板に溶液を誘導するフェルトへのIFN吸着が原因であると考えられる。

## まとめ

呼吸器疾患の予防あるいは治療を目的として、汎用エアロゾル吸入器8機種（超音波式4機種、エアスプレー式2機種、コンプレッサー式1機種、スチーム式1機種）を用いてIFNのエアロゾル化を試み、エアロゾル特性とIFN活性に及ぼす影響について検討した結果、エアロゾル粒径分布およびIFN活性に対する影響を総合的に判定すると、肺胞および細気管支に対しては超音波式エアロゾル吸入器であるNE-U11Bが、喉頭、咽頭、口腔、鼻腔に対しては超音波式エ

アロゾル吸入器であるNE-U05またはNE-U10Bが有効であると考えられた。

## References

- 1) J. Imanishi et al. : J. Interferon Res. 1, 169, 1980.
- 2) F. G. Hayden et al. : J. Infec. Dis., 148, 543, 1983.
- 3) B. M. Farr et al. : Antimicrob. Agents chemother 26, 31, 1984.
- 4) R. J. Phillpotts et al. : J. Interferon Res., 4, 535, 1984.
- 5) A. S. Monto et al. : J. Infec. Dis., 154, 128, 1986.
- 6) R. B. Turner et al. : J. Infec. Dis., 154, 443, 1986.
- 7) F. G. Hayden et al. : J. Infec. Dis., 148, 914, 1983.
- 8) H. D. Landahl et al. : J. Indust. Hyg. Toxicol., 30, 181, 1948.
- 9) A. J. Christophoridis et al. : Chest. 59, 629, 1971.

## 討 論

質問；大山（鹿児島大）

臨床応用への目的は何か。

応答；喜多（神戸常盤短大）

上気道および下気道のウイルス性疾患に対する予防ならびに治療を目的と考えている。

質問；鈴木（帝京大）

インターフェロンは大へん高価と思うが、ネビュライザーにすると空中に失われる量も多いと思う。特別なねらいがあるか。

応答；喜多（神戸常盤短大）

インターフェロンは、現在主に全身投与（筋注、静注）で用いられているが、副作用の軽減、局所への有効到達率でエアロゾル化は秀れていると考えられる。また、投与量が少量でも有効であり、空中への損失を考慮しても安価になると思われる。