(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第5547630号
(P5547630)

(45)発行日　平成26年7月16日(2014.7.16)　(24)登録日　平成26年5月23日(2014.5.23)

(51)Int.Cl.		F I		
G01N 33/15	***(2006.01)***	G01N	33/15	A
G01N 21/17	***(2006.01)***	G01N	21/17	A

請求項の数 15　(全 10 頁)

(21)出願番号	特願2010-512125 (P2010-512125)
(86)(22)出願日	平成20年6月11日 (2008.6.11)
(65)公表番号	特表2010-529478 (P2010-529478A)
(43)公表日	平成22年8月26日 (2010.8.26)
(86)国際出願番号	PCT/SE2008/050698
(87)国際公開番号	WO2008/153493
(87)国際公開日	平成20年12月18日 (2008.12.18)
審査請求日	平成23年6月13日 (2011.6.13)
(31)優先権主張番号	60/934,070
(32)優先日	平成19年6月11日 (2007.6.11)
(33)優先権主張国	米国(US)

(73)特許権者　510003564
インハレイション・サイエンシズ・スウェーデン・エイビイ
スウェーデン国・エス－１７１　７７・ストックホルム・フォージフレテン・２ビイ・カロリンスカ・インスティテュート　サイエンス　パーク内
(74)代理人　100064621
弁理士　山川　政樹
(74)代理人　100098394
弁理士　山川　茂樹
(72)発明者　ゲルデ，ペル
スウェーデン国・エス－６１０　７５　ヴェステルリュング・ロモラ　スャーフフレーテン・（番地なし）

最終頁に続く

(54)【発明の名称】粒子と肺との間の相互作用を調べるための装置

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

気道の空気／血液バリアに運ばれた粒子（２０３）の相互作用をシミュレートするための装置であって、この装置は、

・潅流液の流れを受け入れて送り出す潅流チャンバ（１０１）と、

・一方の面をバリア層（２０４）でコーティングされた、前記粒子と相互作用するように構成された半透膜（２０５）と、

・前記粒子を散布した面を有する第１のシート状器官（２０２）と、を備え、

前記潅流液が前記潅流チャンバ（１０１）内を前記半透膜（２０５）に沿って流れる時の前記空気／血液バリアにおける前記粒子（２０３）の溶解をシミュレートするために、前記半透膜（２０５）は前記潅流液と流体接触するように配置される一方で、前記第１のシート状器官（２０２）は前記半透膜（２０５）の前記バリア層（２０４）に近接するように配置されることを特徴とする装置。

【請求項２】

前記チャンバは、

第２の上部シート状器官（２０１）と、

前記第２の上部シート状器官（２０１）を前記半透膜（２０５）の上方に取り付けるための上部間隔手段（２０７）と、

前記粒子を前記バリア層に接触させている間に、前記半透膜（２０５）を取り付け、さらに前記第１のシート状器官（２０２）に接触させるための下部間隔手段（２０８）と、

を備え、
前記上部間隔手段（２０７）に、流入及び流出潅流液を輸送するための流路（３０１）がそれぞれ設けられていることを特徴とする請求項１に記載の装置。
【請求項３】
前記装置の前記シート状器官（２０１、２０２）は基本的に平行であることを特徴とする請求項２に記載の装置。
【請求項４】
前記流路（３０１）は、前記膜（２０５）に対して基本的に平行な流れを提供するように配置されていることを特徴とする請求項２または３に記載の装置。
【請求項５】
前記バリア層は、ポリカーボハイドレート懸濁液から作られることを特徴とする請求項１乃至４のいずれか１項に記載の装置。
【請求項６】
前記バリア層は、分散した界面活性剤であってリン脂質及び／又はタンパク質界面活性剤成分を含むことを特徴とする請求項１乃至５のいずれか１項に記載の装置。
【請求項７】
前記粒子（２０３）を含む環境に前記第１のシート状器官（２０２）を曝すことにより、前記粒子が前記第１のシート状器官（２０２）上に散布されるか、あるいは、エアロゾル化した剤型の流れから前記第１のシート状器官（２０２）上に散布されることを特徴とする請求項１乃至６のいずれか１項に記載の装置。
【請求項８】
前記エアロゾル化した剤型は、少なくとも１つの薬学的に活性のある化合物を含む０．３～１０μｍのサイズ範囲の粒子を含むことを特徴とする請求項７に記載の装置。
【請求項９】
前潅流液の分画を収集するための手段と、前記装置を固定構造体に固定化するための手段を併合した装置であって、前記固定化手段は、
・潅流液を前記チャンバ（１０１）へ及び前記チャンバから導くための接続チューブ（１０２）を備えた上部（４０１）と、
・膜（２０５）を前記上部間隔手段（２０７）に対して固定化するための中間部（４０３）と、
・粒子（２０３）を散布した表面を有する前記第１のシート状器官（２０２）を前記膜（２０５）に対して押し付けるための下部（４００）と、を備えることを特徴とする請求項１乃至８のいずれか一項に記載の装置。
【請求項１０】
請求項１乃至９のいずれかに一項に記載の装置を準備する方法であって、
・潅流液の流れを受け入れて送り出すようにされた、半透膜から成る壁を有する潅流チャンバを設けるステップと、
・前記膜をバリア層でコーティングするステップと、
・前記第１のシート状器官を前記バリア層に接触させ固定化するステップと、から構成され、
前記第１のシート状器官はその接触面上に散布された粒子を有し、前記粒子の散布は元々の散布パターンの最小限の乱れにとどまるようにすることを特徴とする方法。
【請求項１１】
浮遊微小粒子と気道の空気／血液バリアとの間の相互作用を調べる方法であって、
・粒子の空気流からサンプルを提供するステップと、
・請求項１乃至９のいずれか一項の記載の装置を提供するステップと、
・前記潅流チャンバに潅流液の流れを提供するステップと、
・前記粒子の空気流からの薬剤の前記相互作用を検出するステップ、及び／又は、
・前記潅流液からサンプルを収集して分析するステップと、を含むことを特徴とする方法。

【請求項１２】
前記検出は光学検出器で行われることを特徴とする請求項１１に記載の相互作用を調べる方法。
【請求項１３】
画像解析のために、前記第１のシート状器官（２０２）の画像を記録するステップを含むことを特徴とする請求項１２に記載の方法。
【請求項１４】
前記第１のシート状器官（２０２）を照射し、前記光が前記粒子（２０３）によってどのように影響を受けるかを測定するステップを含むことを特徴とする請求項１２に記載の方法。
【請求項１５】
前記第１のシート状器官上への前記粒子の初期沈着の重量測定を含むことを特徴とする請求項１１に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、肺内における乾燥粉末薬の溶解速度をシミュレートするようにされた装置及び方法を含む、浮遊微小粒子が肺とどのように相互作用するかについての研究に関する改善を目的とする。
【背景技術】
【０００２】
乾燥粉末エアロゾルにとって、肺培地内への溶解は吸入薬の行方において極めて重要な要素である。肺内における薬剤の持続時間を増加させるための戦略として低速溶解を使用することができる。しかしながら、低速溶解により、吸入された粒子のかなりの分画が粘膜繊毛エスカレータで消化管に再分配され、或いは肺胞マクロファージにより食菌されてこれらの消化細胞小器官内で分解される可能性もある（Ｌｕｎｄｂｏｒｇ、Ｆａｌｋ他、１９９２）。肺内で可溶性粒子の溶解を測定することは非常に困難である。より高速可溶性の物質の場合、吸入暴露後の循環における溶質出現のような間接的方法を使用する必要がある。いくつかの粒子状放射性核種などの低速溶解粒子類は、採取した肺組織から粒子を回収した後に定量化される。肺内における固形粒子の溶解速度をシミュレートするための数多くの方法が考案されてきた。これらの方法のほとんどは、不溶性核に対して難溶解性を有する環境由来の複合粒子を対象とするものである。例として、放射性粒子（Ｋａｎａｐｉｌｌｙ、Ｒａａｂｅ他、１９７３年）、鉱物粒子又は繊維（Ｊｏｈｎｓｏｎ、１９９４年）が挙げられる。しかしながら、最近になって、肺内における固形粒子の溶解速度をシミュレートするためのフィルタ法が考案された（Ｄａｖｉｅｓ及びＦｅｄｄａｈ、２００３年）。薬剤粒子をガラス繊維フィルタ上に沈着させ、その後フィルタカセット内に置く。フィルタをフロースルー形態で溶出し、溶解した薬剤を求めて単一通過溶出物を繰り返し分析する。肺組織内で薬剤粒子がどのように相互作用及び溶解するかを調べるためのより正確で信頼性があり生理学的に正確なモデルを見出すことには改善の余地がある。
【先行技術文献】
【非特許文献】
【０００３】
【非特許文献１】Ｄａｖｉｓ，Ｎ．Ｍ．及びＭ．Ｒ．Ｆｅｄｄａｈ（２００３年）、「エアロゾル吸入剤の溶解を評価するための新しい方法」、Ｉｎｔ　Ｊ　Ｐｈａｒｍ　２５５巻（１～２）：１７５～１８７ページ。
【非特許文献２】Ｇｅｒｄｅ，Ｐ．及びＰ．Ｓｃｈｏｌａｎｄｅｒ（１９８９年）、「気管支内層のモデルへの多環式芳香性炭化水素類の浸透に関する実験的研究」、Ｅｎｖｉｒｏｎｍｅｎｔａｌ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　４８巻：２８７～２９５ページ。
【非特許文献３】Ｇｅｒｄｅ，Ｐ．及びＢ．Ｒ．Ｓｃｏｔｔ（２００１年）、「気道粘膜による低揮発性毒物吸収のためのモデル」、Ｉｎｈａｌａｔｉｏｎ　Ｔｏｘｉｃｏｌｏｇ

ｙ　１３巻（１０）：９０３～９２９ページ。
【非特許文献４】Ｊｏｈｎｓｏｎ　Ｎ．Ｆ．（１９９４年）、「培養鼻上皮細胞におけるファゴソームｐＨとグラスファイバ溶解及び肺胞マクロファージ：予備研究」、Ｅｎｖｉｒｏｎｍｅｎｔａｌ　Ｈｅａｌｔｈ　Ｐｅｒｓｐｅｃｔｉｖｅｓ　１０２巻（増刊５）：９７～１０２ページ。
【非特許文献５】Ｋａｎａｐｉｌｌｙ　Ｇ．Ｍ．及びＯ．Ｇ．Ｒａａｂｅ他（１９７３年）、「吸入後の下気道における生体内溶解と比較するためのエアロゾル粒子の生体内溶解の測定」、　Ｈｅａｌｔｈ　Ｐｈｙｓｉｃｓ　２４巻：４９７～５０７ページ。
【非特許文献６】Ｌａｔｉｎｅｎ　Ａ．、Ｌ．Ａ．Ｌａｔｉｎｅｎ他（１９８９年）、「犬における気管及び気管支血管の組織及び構造」、Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ａｎａｔｏｍｙ　１６５巻：１３３～１４０ページ。
【非特許文献７】Ｌｕｎｄｂｏｒｇ　Ｍ．、Ｒ．Ｆａｌｋ他（１９９２年）、「肺胞マクロファージによるファゴリソソマルｐＨ及び酸化コバルト粒子の溶解」、Ｅｎｖｉｒｏｎｍｅｎｔａｌ　Ｈｅａｌｔｈ　Ｐｅｒｓｐｅｃｔｉｖｅｓ　９７巻：１５３～１５７ページ。

【発明の概要】

【０００４】

本説明においては、「空気／血液バリア」という用語は空気と気道組織との間の境界面を意味する。典型的には、誘導気道の粘膜組織及び肺の肺胞組織が空気／血液バリアの例である。

【０００５】

本発明の最も一般化した形態は、粒子の、肺液及び細胞との相互作用を調べるための装置である。この装置は、潅流チャンバと、半透膜と、粒子を散布した表面を有するシート状器官とで構成される。

【０００６】

潅流チャンバは、潅流液の流れを受け入れて送り出すようになっている。片面をバリア層でコーティングされた半透膜を、潅流液と流体接触するように配置する。装置は、粒子を散布した面を有し、膜のバリア層と接触するように配置された第１のシート状器官をさらに含む。バリアは、肺内の上皮細胞の生体膜に類似する、或いはこれを模倣するようにされた物理化学的又は生物学的バリアを構成することができる。本構成では、物理化学的バリアは、気道粘液を模倣するポリカーボハイドレートゲルと、上皮細胞の脂質膜を模倣するリン脂質分散体とから成る。別の例では、上皮細胞の生物学的バリアをゲル層に付加して、バリア内の能動的輸送メカニズムさえも研究可能にする。１つの態様では、バリアは、潅流液と等張であり粒子を受け取るようにされたゲルである。１つの実施形態では、ゲルがリン脂質分散体を含むことができる。別の実施形態では、ゲルが、肺の粘液内層の上面にある界面活性剤層を模倣するために、リン脂質又は適当な両親媒性脂質の（１０層などの）単層を含む境界面をさらに設けた分散したリン脂質を含む。別の態様では、生物学的バリアを設けるために、上皮細胞をバリア層として設けてバリア内の能動的輸送メカニズムさえも可能にする。

【０００７】

潅流チャンバは、流入及び流出潅流液に対してチャンバとの流体接続を確立するための手段、好ましくは流体を輸送するための流路を設けた間隔リングを含む。肺内の粒子から出される溶質の溶解及び吸収をシミュレートするために、潅流液が潅流チャンバを通り膜全体に沿って流れる。潅流は、バリア層及び膜を通って溶解され分散された作用物質を受け取り、次にその後の分析のために運び去られることになる。

【０００８】

潅流液が膜を通って流れるように意図された解決法とは対照的に、潅流液が粒子でコーティングされた膜に沿って流れるように意図されていることが重要な特徴である。膜に沿った潅流液の流れが、空気血液バリアの自然作用をより正確にシミュレートする。

【０００９】

潅流チャンバは、カバーガラスなどの上部シート状器官をさらに含む。チャンバは、第２の上部シート状器官と、一方の面を第２の上部シート状器官に、他方の面を前記膜に取り付けられた上部間隔手段と、一方の面を膜に、他方の面をプレートに取り付けられた下部間隔手段とを備えることが好ましい。上部間隔手段には、流入及び流出潅流液を輸送するための流路を設けることが好ましい。１つの好ましい実施形態では、前記チャンバは、上方から見ると基本的に円形であるが、基本的に矩形などのその他の形状も考えられる。装置の膜は、拡散種は迅速に通過させるが膜を通る流体の大きな対流移動は防ぐような直径と細孔表面積の分画とを有する細孔構造を含むポリカーボネートで作られることが好ましい。１つの好ましい実施形態では、膜はポリカーボネートで作られ、約０．０１～１μｍの孔径を有する。しかしながら、装置を溶解のための異なる作用物質を含む異なる種類の浮遊微小粒子に適応させるために、その他の膜の材料、孔のサイズ、及び作動条件を選択することもできる。

【００１０】

第１のシート状器官は、光学検出器で溶解を調査できるようにされることが好ましい。バリア層は、肺内の上皮細胞の生体膜に類似する、或いはこれを模倣するようにされた物理化学的又は生物学的バリアのいずれかである。１つの態様では、バリアは、潅流液と等張であり粒子を受け取るようにされたゲルである。１つの実施形態では、このゲルは、分散したリン脂質を含むポリカーボハイドレートゲルである。別の実施形態では、ゲルが、肺の粘液内層の上面にある界面活性剤層を模倣するために、リン脂質又は適当な両親媒性脂質の（１０層などの）単層を含む境界面をさらに設けた分散したリン脂質を含む。別の態様では、生物学的バリアを設けるために、上皮細胞の単層をゲル層内の膜上で培養して生きた肺上皮を模倣し、バリア内の能動的輸送メカニズムさえも調べるための手段を提供する。浮遊微小粒子は、エアロゾル化した剤型の流れからプレート上に散布されることが好ましい。エアロゾル化した粒子は、少なくとも１つの薬学的に活性のある化合物を含む０．３～１０μｍの範囲のサイズであることが好ましい。或いは、浮遊微小粒子を含む環境にプレートを曝すことにより、浮遊微小粒子がプレート上に散布される。潅流液は、一般に自然の血流に似た態様でバリア層と相互作用するようになっている。より具体的には、潅流液はゲル層の等張性に適合した等張性を有する生理学的に容認可能な流体であるべきであり、生きた細胞を含むバリア層を使用する場合にはこの細胞の種類に適合する。当業者は、器官潅流向けに提案される多くの血液状流体を見出すことができ、これらは考えられる潅流液としてヘパリン化した全血も一般に認めている本発明の用途とともに有用となり得る。本発明の特定の実施形態では、潅流液が、リン脂質などの分散した両親媒性脂質とアルブミン緩衝体などの緩衝体とを含む。

【００１１】

別の態様では、本発明は、肺内の粒子の溶解を調べるための構成に関し、この構成では、前述した装置と、光学検出機器と、潅流液の分画を収集するための手段と、前記装置を固定構造体に固定化するための手段とを含む。固定化手段は、潅流液をチャンバへ及びチャンバから導くための接続チューブを備えた上部と、上部間隔手段に対して膜を固定化するための中間部と、浮遊微小粒子を散布した表面を有するシート状器官を膜に押し付けるための下部とを含むことが好ましい。

【００１２】

さらに別の態様では、本発明は、前述した装置を作成する方法に関し、この方法では、潅流液の流れを受け入れて送り出すようにされた、半透膜から成る壁を有する潅流チャンバを設けるステップと、前記膜をゲル層でコーティングするステップと、前記装置を回転させるステップと、接触面上に浮遊微小粒子を散布した前記第１のシート状器官と前記ゲル層を接触させるステップと、前記第１のシート状構造体を前記膜に固定化するステップとを含む。接触させるステップ及び固定化するステップは、膜を固定化された第１のシート状器官に向けて垂直方向の動きで移動させるためのウェッジ機構を使用して、粒子の元々の散布パターンのいずれの乱れをも基本的に最少化することにより行うことができる。

【００１３】

さらに別の態様では、本発明は、浮遊微小粒子間の相互作用を調べる方法に関し、この方法では、粒子の空気流からサンプルを提供するステップと、前述した構成内に前述した装置を提供するステップとを含む。この方法は、潅流チャンバに潅流液の流れを提供しながら、前記粒子の空気流から作用物質の溶解を検出するステップと、潅流液からサンプルを収集し分析するステップとをさらに含む。検出に関しては、任意にデジタル画像解析技術又はあらゆる同様の技術とともに光学検出器を使用して粒子の溶解を記録することができる。

【００１４】

本発明は、特定の作用物質の予想溶解速度の判定を可能にするという利点を有し、このことは、呼吸器系を介して投与される薬剤候補を選別及び評価するために非常に重要である。従って、結果として得られる潅流液を分析することにより、（呼吸器系の粘膜などの）空気／血液境界面における薬剤候補の挙動を視覚的／光学的に、重力測定法で、及び化学的に注意深く分析することができる。循環器系における薬剤候補の出現時間を推定することも考えられる。従って、本発明は、呼吸器系への投与に適した固形薬剤を迅速に選別するための、またこの目的のための製剤を評価するための強力なツールに相当すると結論づけることができる。

【図面の簡単な説明】

【００１５】

【図１】本発明による構成の概略図である。

【図２】潅流チャンバのより詳細な図である。

【図３】潅流流路を備えた潅流チャンバの図である。

【図４】固定手段のより詳細な図である。

【発明を実施するための形態】

【００１６】

図１は、肺内で粒子２０３がどのように溶解するかをインビトロ研究するための本発明による構成を示しており、この構成では、潅流チャンバ１０１を含む装置と、コンピュータ制御のシリンジポンプ１０２と、粒子２０３の画像１０５を記録する、高解像度カメラを備えた倒立顕微鏡１０３とから成る。潅流チャンバ１０１の下流において、潅流液が、コンピュータ化されたフラクション・コレクタ１０４内に回収される。

【００１７】

チャンバを通る流れは粘膜の生理機能を模倣し、交叉流構成（図２）で構築される。実験中は、モデル粘膜が、２枚の平行なカバー・スリップ２０１と２０２との間の５５０μｍの空間に閉じ込められる。薬剤粒子２０３が、１２ｍｍの下部カバー・スリップ２０２上に沈着する。薬剤粒子２０３は、気管気管支粘膜の上皮細胞層を模倣した５０μｍのゲル層２０４に接触する。ゲル層は、気道粘膜の基底膜を模倣した１０μｍのポリカーボネート膜２０５上に存在する。ポリカーボネート膜２０５の上方には、５００μｍ厚の潅流チャンバ１０１が存在する。潅流チャンバ１０１の潅流液は、一方の側から他方の側まで膜２０５全体に沿って流れる。チャンバ内における潅流液の滞留時間はほんの２、３秒である。これは、気道粘膜内の基底膜の直下にある豊富な毛細血管係蹄における血液の短い通過時間を模倣することを意図したものである（Ｌａｉｔｉｎｅｎ他、１９８９年）。上部間隔手段２０７は、上部カバー・スリップを膜２０５から隔て、潅流チャンバ１０１を形成するようになっている。また、下部間隔手段２０８は、膜２０５を下部カバー・スリップ２０２から隔てるようになっている。

【００１８】

図３は、潅流チャンバ１０１の水平図であり、間隔手段２０７内に適合された潅流液のための流入及び流出の流路３０１を示している。潅流チャンバ１０１の水平断面は基本的に円形形状を有する。

【００１９】

潅流液の組成は、ポリカーボネート膜２０５の他方の面に接するゲル２０４と等張である。例えば、潅流液の基本組成は、リン脂質を添加して疎水性溶質に関する抽出能力を増

大させることのできるアルブミン緩衝体である。

【００２０】

潅流液流チャンバ１０１は、１２ｍｍの直径と０．５ｍｍの厚さとを有し、５０μＬの容積を与える。５０μｍのゲル層２０４は５．７μＬの体積を有し、ポリカーボネート膜２０５の浸透部分は１．１μＬで、バリアの全容積は６３μＬとなる。ちなみに、健常人における人の気管気管支上皮内の空気血液バリアの厚さは、気管で６０μｍから細気管支で５～８μｍと様々である。ガス交換領域では、空気血液バリアの厚さはほんの０．２～１．５μｍ程度である。従って、本装置におけるバリア厚は気管上皮に対応している。十分に潅流された粘膜の部分の総厚は、上部気道においては２００μｍ程度であると推定されている（Ｇｅｒｄｅ及びＳｃｏｔｔ、２００１年）。この装置の総厚は約５１０μｍである。

【００２１】

装置で調べるためのサンプルを準備するために、Ｐ．Ｇｅｒｄｅ他によるＩｎｈａｌａｔｉｏｎ　Ｔｏｘｉｃｏｌｏｇｙ（吸入毒物学）、２００４年、１６巻：４２～５２ページに記載されるような修正ダストガン発生器を使用して、粒子２０３をカバー・スリップ２０２上に沈着させることができる。３枚のカバー・スリップを三角形にまとめ、これらの周囲１ｍｍをマスクしてゲル層と直接接していない面上への粒子沈着を防ぐ。一回のエアロゾル発生サイクルにより、同時に３枚のガラスカバー・スリップ上に均一に付着が行われるように修正エアロゾル保持チャンバ、並びに３つのガラスカバー・スリップ・ホルダを作成することができる。

【００２２】

図１及び図２に示す構成を動作させる場合、溶解測定は下記の主要ステップから成る、

１．潅流液及びゲル層２０４の準備、

２．エアロゾル発生及びカバー・スリップ２０２上への沈着、

３．潅流チャンバ１０１及びゲル層２０４の始動、

４．顕微鏡１０３下での溶解実験、

５．顕微鏡記録の画像解析、

６．溶出された潅流液の化学分析。

【００２３】

潅流液は、リン脂質を混ぜて疎水性溶質に関する抽出能力を増大させたアルブミン緩衝体をベースにしている。リン脂質を完全に超音波処理して安定した分散体を得ることになる。シリンジ内の懸濁液が潅流チャンバ１０１内へポンプ輸送されるまで懸濁したままでいる場合、このことが極めて重要となる。リン脂質がシリンジ内にある間懸濁状態に保つために、シリンジ内に磁気攪拌器が配置される。ゲル２０４はポリカーボハイドレート懸濁液から作られる（Ｇｅｒｄｅ及びＳｃｈｏｌａｎｄｅｒ、１９８９年）。細胞懸濁液を含むいくつかの異なる種類のバリアがテストされることになる。テストされる１つの細胞の種類はＡ５４９である。

【００２４】

カバー・スリップ２０３をコーティングするためのエアロゾルを、Ｐ．Ｇｅｒｄｅ他によるＩｎｈａｌａｔｉｏｎ　Ｔｏｘｉｃｏｌｏｇｙ（吸入毒物学）、２００４年、１６巻：４２～５２ページに記載されるシステムで生成して、カバー・スリップ１枚当り約１０μｇのエアロゾルからコーティングを生じる。カバー・スリップは、特殊なホルダ内に同時に３枚置かれる。エアロゾルは、生成後にカバー・スリップ・ホルダを通り越してトータルフィルタ内に入る。弁のない新しい保持チャンバが、カバー・スリップ上に沈着する装入粉末の分画を最大化するように設計される。現在のチャンバでは、３ｍｇの装入粉末からカバー・スリップ上に約３×１０μｇが沈着する。

【００２５】

潅流チャンバ１０１を備えた装置には、適所で引き伸ばされたポリカーボネート膜２０５が準備される。潅流が接続され、チャンバ１０１内の残留気泡が除去された後、ゲル層２０４が施される。分散リン脂質を含むゲル層２０４の塗布は、ピペットにより、又は噴

霧器で行われる。コンピュータに記憶した溶解過程の顕微鏡写真を画像解析することにより溶解曲線が計算される。バリア２０４内に沈着した粒子状物質２０３の初期量は、溶解実験前に重力測定法で判定される。

【００２６】

図４は、潅流チャンバ１０１を備えた装置のための固定手段を示す図である。この図には、流入流のための連結部４０２のみを示している。しかしながら、この図は流出流に対しても有効となり得る。この固定手段は、流入及び流出潅流液のための連結部４０２を備えた上部バリアモジュール部分４０１と、膜２０５を上部バリアモジュール部分４０１に固定するための下部バリアモジュール部分４０３とを含む。モジュール部分４０１及び４０３には、膜２０５を引き伸ばすための伸長手段４０５及び密閉手段４０５が設けられる。

【００２７】

粒子カバー・スリップ２０２が、顕微鏡台に取り付けられた粒子カバー・スリップ２０２のホルダ４００内に置かれると、自動操縦プログラムが起動して測定を行う。顕微鏡の焦点を手動で調節し、この結果、操縦プログラムが粒子２０５の接触前画像を撮影する。バリアモジュール４０１、４０３を粒子カバー・スリップ２０２上へ下降させ、接触直後に最初の付着後画像を記録する。次に、第１の組の画像１０５を記録して溶解速度を判定する。これらの初期画像間の変化の速度に応じ、データ収集スケジュールを採用して、溶解過程の十分に良好な時間分解能を与える。

【００２８】

溶解過程の光学的検出は、倒立顕微鏡１０３と高解像度デジタルカメラとを使用して行われる。粒子２０５が沈着した粒子カバー・スリップ２０２を、顕微鏡台上に取り付けられた特殊ホルダ４００上に置く。粒子２０５に焦点が合わせられ、ゲル２０４を含む潅流チャンバ１０１が粒子カバー・スリップ２０２の上方のガイドピン上に置かれる。粒子２０５がゲル２０４と接触する前に多くの画像が記録される。接触直後に、一連の高速画像１０５を記録して溶解の進行速度を判定する。その後、十分に正常な一連の画像１０５を記録して溶解過程全体を判定する。全ての画像１０５をコンピュータに記憶し、コントラストを強調して粒子２０３を容易に際立たせるようにする。溶解は、粒子に関連するピクセルの消失を時間の関数として数えることにより判定される。様々な数学モデルを使用してピクセル消失を粒子の溶解と結びつける。

【００２９】

他の形の光学的検出も実施することができる。このような方法は、粒子２０３を散布した粒子カバー・スリップ２０２を光源で照射すること、及び照明光の反射又は屈折を調べることにより溶解の速度を判定することに基づくことができる。

【００３０】

溶解の光学的検出と同時に、フラクション・コレクタ１０４を使用して潅流チャンバ１０１から流出する単一通過潅流を回収することにより吸収が測定される。吸収過程の十分な分解能が得られるようにサンプリング間隔を調節することになる。同一時間軸に対して溶解曲線及び吸収曲線の両方が描かれるようになる。粒子カバー・スリップを容易に重力測定分析して潅流の化学分析との相関をさらに調べることもでき、これにより粒子溶解及び吸収のより完全な写真を得ることができるようになる。

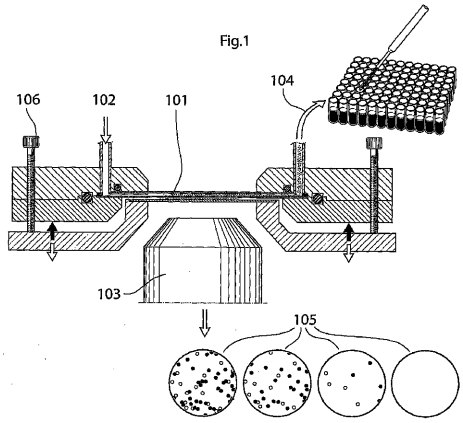
【符号の説明】

【００３１】

１０１　潅流チャンバ
１０２　シリンジポンプ
１０３　倒立顕微鏡
１０４　フラクション・コレクタ
１０５　粒子の画像

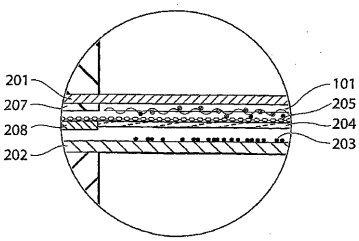
【図１】

Fig.1



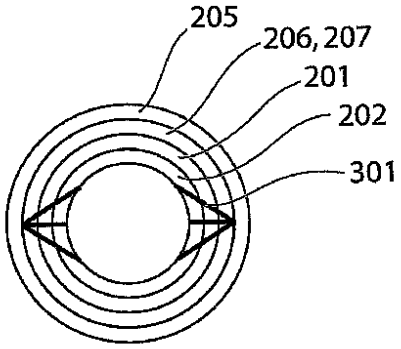
【図２】

Fig.2



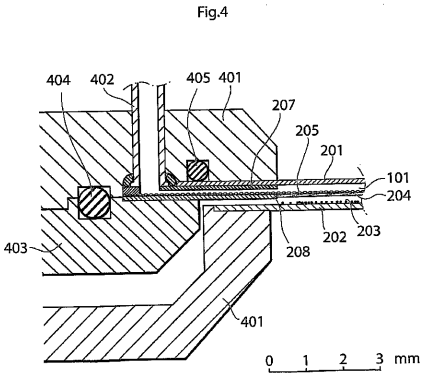
【図３】

Fig.3



【図４】

Fig.4



フロントページの続き

審査官　赤坂　祐樹

(56)参考文献　特開２００７－１２１２９７（ＪＰ，Ａ）
特表２００８－５０１０３７（ＪＰ，Ａ）
特表平０６－５００９２７（ＪＰ，Ａ）
Darquenne C et al, Aerosol dispersion in human lung: comparison between numerical simulations and experiments for bolus tests, J Appl Physiol , １９９７年　9月, 83(3), 966-974

(58)調査した分野(Int.Cl., ＤＢ名)
Ｇ０１Ｎ　３３／１５
Ｇ０１Ｎ　２１／１７