

# リポソーム DDS の基盤研究

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部

薬物動態学分野

石田竜弘

## 1. はじめに

薬物の効果を最大限発揮させるためには、吸収・分布・代謝・排泄機構を考慮し、作用部位にいたるまでの過程を精密に制御する必要がある。しかし、薬物が分子としての性状を有する以上、これらをコントロールし、副作用発現の理由である非選択的な生体内分布を抑制することは難しい。そこで、その役割をキャリアー（リポソーム）にゆだねる事とし、徳島大学薬学部薬剤学教室（現徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部、薬物動態学分野）に学部4回生として配属以来これまで（約13年間）を、際田弘志教授、原島秀吉助教授（現北海道大学大学院薬学研究科教授）、**T.M. Allen** 教授（カナダ・アルバータ大学、**Stealth liposome** の開発者の一人）の指導の下、一貫してリポソーム **DDS** の研究に携わってきた。リポソームを用いた **DDS** の利点は、1. 非選択的な分布の抑制、2. 分解・代謝からの保護、3. 徐放化による **availability** の向上、4. 標的化による組織への選択的輸送、を実現した結果得られる高い薬理効果にある。本講演では、これらリポソーム **DDS** の利点に関して、最近我々の研究室で取り組んでいる、脳脊髄腔へのリポソーム化薬物の投与による脳血管攣縮予防効果に関する検討結果を通じて紹介する。また、一部リポソームは既に完成された技術であるとの認識を持たれている向きもある。しかし、まだまだ未知の部分が多く残されている。その一例として、最近その原因因子を特定した、**PEG** 修飾リポソームの頻回投与時に観察される **accelerated blood clearance (ABC)** 現象について紹介する。

## 2. 脳脊髄腔リポソーム化薬物直接投与による脳血管攣縮予防効果（1-3）

くも膜下出血などの出血により生成された過酸化物質などにより、遅発性の脳血管攣縮が起こることが知られており、この抑制が予後を左右する重要なポイントであるとされている。予後の改善を目的として、血管拡張作用を持つ薬剤の予防的投与が行われているが、血液脳関門の存在などにより、脳内への薬物の分布は極めて少なくかつ一過性であり、長期間に渡る予防効果は期待できない。一方、髄腔内投与は、顕著な薬理効果を得ることができる反面、薬物によっては痙攣などの副作用が生じる場合が多く、さらには投与された薬物が速やかに脳脊髄腔から排出されるため、やはり長期的な予防効果を得ることは困難である。したがって、脳脊髄液中での薬物の有効濃度の維持と脳脊髄腔への直接投与による副作用の軽減を実現しうる **DDS** の開発が期待されている。演者らは、脳脊髄腔を閉鎖系のデポットにとらえ、リポソーム封入薬物の腔内単回投与のみで

高い脳神経保護効果および血管攣縮抑制効果が得られるシステムの開発を行った。

徐放性塩酸フアスジル（リポソーム化塩酸フアスジル）は、粒子径を約 **140nm** に揃えたリポソームに薬物を硫酸アンモニウム-pH 勾配法で封入することにより調製した。人工髄液中(**37°C**)で、塩酸フアスジルは半減期 **7.27** 日で放出された。また、この放出はリポソーム膜の崩壊に伴うものではなく、脂質膜を透過することによって生じていた。さらに、リポソーム化することにより重篤な副作用（痙攣（てんかん様発作）・死亡）の発現が抑制され、リポソームへの封入は髄腔内投与を可能にする有用な方法であることが併せて示唆された。さらに、徐放性塩酸フアスジルの効果をラットおよびイヌ **SAH** モデルを用いて検討したところ、両モデルにおいてリポソーム化塩酸フアスジルの脳脊髄腔内への単回投与によって、顕著な脳底動脈攣縮抑制効果が示された。現在、さらなる本システムの向上をめざし、脊髄腔内での薬物およびリポソームの動態に関して **planar positron imaging system** を用いて詳細な検討を行っている。

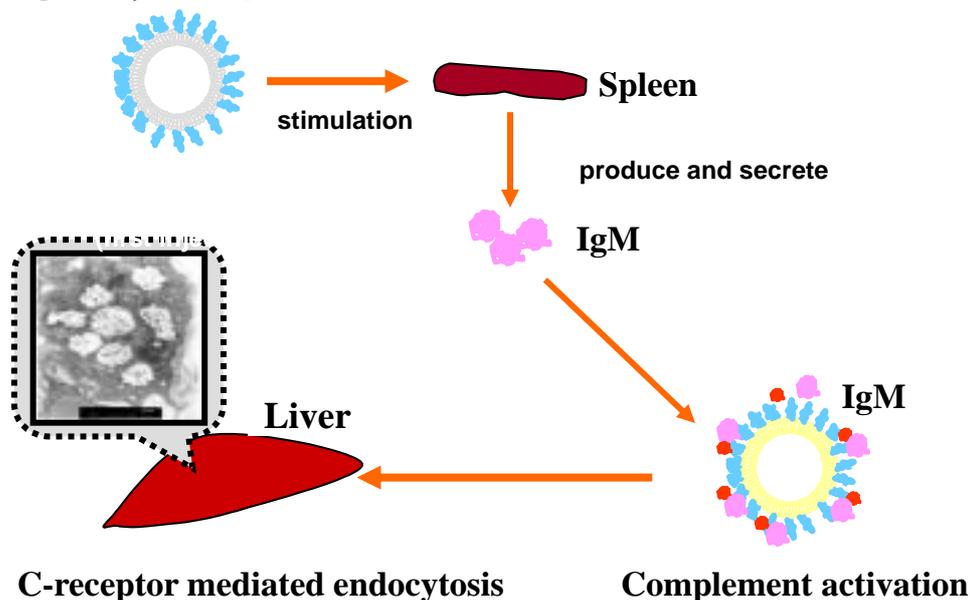
### 3. ポリエチレングリコール修飾リポソーム(SL)頻回投与時に生ずる動態変化(4-6)

ポリエチレングリコール(**PEG**)修飾リポソーム(**SL**)は、**PEG** による立体障害および表面に形成される水相により血清タンパクとの相互作用および単核食細胞系による異物認識を回避できることから、血中滞留性の高いリポソームとして知られている。このような滞留性の高いリポソームは、血管の透過性が高く、リンパ系が未発達な腫瘍組織に蓄積しやすい（パッシブ・ターゲティング）ため、抗癌剤のキャリアーとして期待され、事実ドキシルビシン封入体（**Doxil**）が上市されるにいたっている。

我々は、最近、**SL** を頻回投与すると、特に2回目に投与された **SL** が、**PEG** によって保護されているにもかかわらず、血中から速やかに排除され、肝マクロファージによって貪食されている事実を明らかにし、この現象を **accelerated blood clearance (ABC)** 現象と名付け、詳細にその発現機構の解明を行っている。これまでの検討から、①脾臓が重要な役割を果たしている、②初回投与 **SL** 刺激によって分泌される血清タンパクが重要な役割を果たしている、③免疫抑制剤（サイクロスポリン）で現象の発現が抑制される、④**SL** に特異性を持つ **IgM** が分泌され、**SL** に結合した **IgM** が補体系を活性化している、などの知見が得られた。これらの情報を総括すると、図1に示すように、初回投与時の **SL** が恐らく脾臓の **B** 細胞を刺激し、この刺激に呼応して **B** 細胞が **IgM** を分泌し、この **IgM** が2回目に投与された **SL** 表面に結合することによって補体系の活性化を誘導し、その結果 **SL** が肝クッパー細胞によって補体受容体依存的エンドサイトーシスによって取り込まれ、血中から速やかに消失している可能性が示唆された。

明確なエビデンスは得られていないが、本現象は **natural memory immunity** と称される **T cell independent immune response** による可能性が強い。本現象は昨今開発が進められている高分子からなるナノデバイスの生体適応時にも惹起される可能性が高く、発現機構の解明はこれら開発途上のナノデバイスの臨床応用時にも重要な意味をも

つものと考えている。



**Fig. 1, Estimated mechanism of the ABC phenomenon.**

#### 4. おわりに

今やリポソーム技術は、**Doxil** や **AmBisome** の上市もあり、完成されたものと認識されている。しかし、リポソームをあくまでも主剤の薬効を最大限、最適に発揮させるための“剤型(キャリアー)”として捉えるのであれば、それこそ多種多様な主剤に対応しうる多様なリポソームの開発と関連情報の蓄積は今後も必須要件であろう。また、一方で、リポソームを“器”として完成されたものであると認識するのであれば、製薬企業は“器”にあった“料理”の提供、すなわちはじめからリポソーム化することを目的とした薬物の開発にも取り組み始める時期に差しかかっているのではないかと考えている。

演者は縁あって研究生生活の最初から現在までおよそ13年間に渡り「リポソーム」とともに歩んできた。現在も際田教授の薫陶の下、リポソーム化薬物の調製、動物モデルでの効果確認、生体内動態の検討、と、幅広く研究を展開する栄を賜っている。今後も“リポソームDDSの基盤”を固めるべく研究にいそしみ、少しでもその知見を社会に還元できればと考えている。

#### 謝辞

本研究は徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・際田弘志教授のご指導のもと、同薬剤学研究室において行われたものであり、ともに研究を推進してくれた学生諸子にこの場を借りて謝意を表す。また、これまでの研究活動を通じ、多くの助言を与えてくださった先生、先輩、共同研究者の諸氏にも深甚なる謝意を表す。

## 文献

1. Takanashi, Y., Ishida, T., Meguro, T., Kiwada, H., Zhang, J.H., Yamamoto, I., *Neurosurgery*, 48, 894-901, (2001)
2. Takanashi, Y., Ishida, T., Meguro T., Kirchmeier, M.J., Allen, T.M., Zhang, J.H., *J. Clin. Neurosci.*, 8, 557-561 (2001)
3. Ishida, T., Takanashi, Y., Doi, H, Yamamoto, I., Kiwada, H., *Int. J. Pharm.* 232, 59-67 (2002)
4. Ishida, T., Masuda, K., Ichikawa, T., Ichihara, M., Irimura, K., Kiwada, H., *Int. J. Pharm.*, 255, 167-174 (2003)
5. Ishida, T., Maeda, R., Ichihara, M., Irimura, K., Kiwada, H., *J. Control. Release*, 88, 35-42 (2003)
6. Ishida, T., Ichikawa, T., Ichihara, M., Sadzuka, Y., Kiwada, H., *J. Control. Release*, 95, 403-412 (2004)