

製剤技術としての高分子ミセル薬物キャリアシステム

(財) 神奈川科学技術アカデミー

横山昌幸

1. はじめに

高分子ミセルは薬物キャリアとしては、1980年代から現れたいわば「新参者」で、その製剤技術が研究・開発され始めたのは1990年代後半になってからである。(後述するアドリマイシン封入高分子ミセルの開発例) によって、錠剤、顆粒剤、微粒子製剤の膨大な薬剤学的知識・ノウハウと比較にならない程、高分子ミセル製剤についてはその蓄積が少ない。その意味で、今後、製剤学的な研究が加えられることで、高分子ミセル薬物キャリアシステムが大きな発展が成される可能性があると考えられる。今回の講演では、演者の研究を主な例として、高分子ミセルを製剤技術の面から眺めてみたい。

2. 高分子ミセル薬物キャリアとは

高分子ミセル型ドラッグキャリアシステムとは、図1に示すように、A鎖とB鎖が直列につながったブロックコポリマーのような不均質な構造を有するものの一成分のみに選択的に薬物を化学的結合あるいは物理的吸着により導入することにより、薬物を導入した部分の疎水性と、薬物を有しない部分の親水性から成る両親媒性により高分子ミセル構造を形成させるものである。(1-5) その第

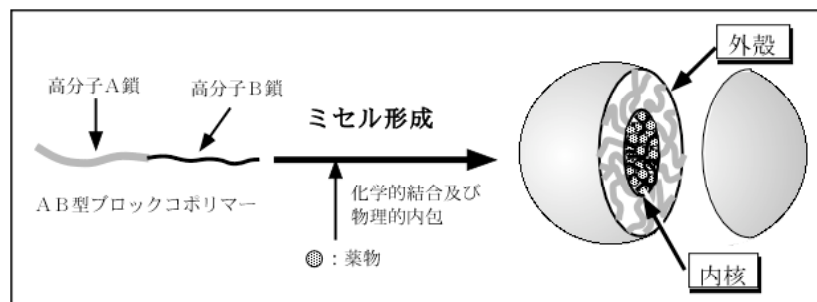


図1 高分子ミセル薬物キャリアシステム

1の特長はその粒径の小ささである。典型的には粒径が10～100nmの範囲にあり、その粒径分布も狭い。生体環境下でも安定なナノサイズ微粒子を得る技術として、高分子ミセルは優れていると考えられる。また、用いる高分子の鎖長や組成を制御することにより、連続的に粒径を変化させることができる。高分子ミセルの特長の第2は、内核と外殻の明確な2層構造であることである。ミセル外殻は生体との相互作用を通して体内動態・分布を決定し、内核は薬物を封入し、標的に到着した後の薬効発現を担う。この構造により、得たいと考える薬物動態・分布のためには望ましくない薬物の物理化学的性質を内核に封じ込めて、外殻を構成する高分子鎖の性質に基づいた動態・分布制御が可能となる。

3. 高分子ミセル薬物キャリアシステム研究の歴史

高分子ミセル構造をドラッグキャリアとしての応用を初めて試みたのはRingsdorf (6) で、in vitroでの薬物の徐放を目的とした研究がなされ、1984年に発表された。生体内のターゲティングに高分子ミセル構造を活用する研究は、1989年頃に日本の横山、片岡ら (7, 8) とロシアのKabanov (9) らがそれぞれ独立に発表された論文から始まる。講演者

の研究は後で紹介することとして、Kabanov らの研究は高分子ミセルをドラッグキャリアーとして活用するよりは、ブロックコポリマーを高分子界面活性剤として血液から組織への薬物移行過程を改善するために役立てる側面が強く、後にそれを目的とした興味ある研究結果を発表している。(10)

著者と片岡らの研究グループは、抗ガン剤アドリアマイシンを内包した高分子ミセルを用いて、著しい *in vivo* 抗ガン活性の増進を得、ガン組織への選択性高い集積を確認した。

(11-14) これは、抗ガン剤アドリアマイシンをポリエチレングリコール-ポリアスパラギン酸ブロックコポリマーのアスパラギン酸部分に化学的に結合させて、ポリエチレングリコール鎖を外殻とする高分子ミセルを形成させ、さらにその内核にアドリアマイシンを物理的に吸着させたものである。この場合、物理的に吸着させたアドリアマイシンが活性を示す薬物で、高分子鎖に化学的に結合させたアドリアマイシンは、高分子鎖に疎水性を与えてミセル形成の原動力となるとともに、活性を示す薬物を物理的に吸着して封入する役割を果たしている。この高分子ミセル抗ガン剤の *in vivo* での抗ガン活性を図 2 b に示す。対照とした ADR (図 2 a) では、最大許容投与量 (10 mg/kg) でのみ明確なガン増殖抑制効果がみられたが、ガンが投与開始時に比べて縮小することはなかった。高分子ミセルの場合には、致死投与量 (40 mg/kg、物理的に封入した ADR 量として) の次 (20 mg/kg) とその次 (10 mg/kg) の投与量

で劇的なガン増殖抑制効果が

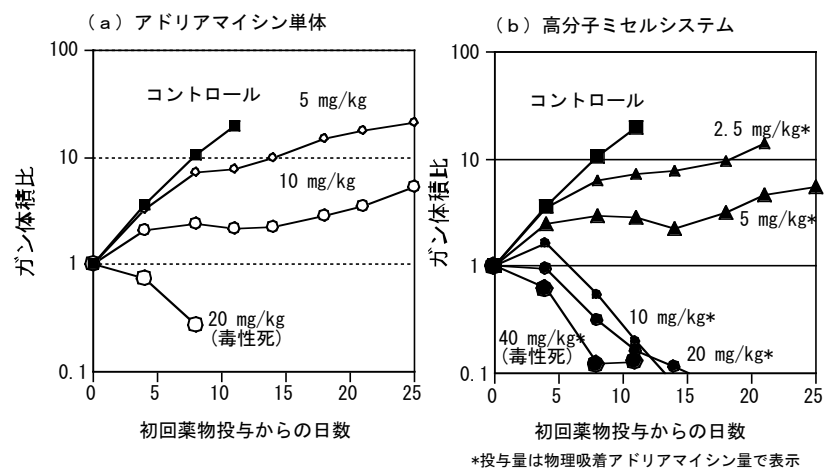


図 2 マウス C 2 6 ガンに対する *in vivo* 抗ガン活性

がみられ、両投与量ともにガンが完全に消滅した。次の 5 mg/kg の投与量でも明らかな増殖抑制効果がみられ、アドリアマイシンの場合の最大の効果とほぼ等しかった。つまり、アドリアマイシンを高分子ミセルに封入することで飛躍的に増進した活性が 2 つ投与量にわたって新たに出現したことになる。このような劇的な抗ガン活性の増大はドラッグデリバリーの技術によって得られた中でも最大級である。

次に、ガンへの選択的集積を確認したのが次ページ図 3 b である。C 2 6 固形ガンにおいては、アドリアマイシン単体に比べて圧倒的に多い量が集積していた。さらに、特徴的なのは時間が経過するに従って (24 時間まで) 分布量が増加していることで、この特徴は EPR 効果によるパッシブなターゲティング機構を支持する。これと対照的に、高分子ミセルの正常臓器での分布は、アドリアマイシン単体とほとんど同じレベルであり、投与 24 時間後のガンと正常部位の濃度比を求めると、アドリアマイシン単体ではガン/心臓=1.3、ガン/筋肉=1.4 とほとんど選択性がないのに対し、高分子ミセルの場合には心臓に対しては 6 倍、筋肉に対しては 1.3 倍高い集積量がガンでみられた。このようにナノサイズのキャリアシステムが EPR 効果によって固形がんへのターゲティングを達成するためには、肝臓などの

細網内皮系に急速に捕捉されることなく、図3 aに示すように血液中を高濃度で長期間循環することが必要となる。

このアドリアマイシン封入ミセルは、現在、臨床第II相試験中である。また、抗癌剤タキソールを内包した高分子ミセルシステムは臨床第I相試験中である。タキソールはアドリアマイシンに比べて約20年新しい薬で、抗がん活性も高いと考えられているため、タキソール内包高分子ミセルは後発ながら、今後の臨床開発では高分子ミセルシステムの中心的な役割を果たすと考えられている。

高分子ミセルのシステムはシスプラチン(15)や他の難水溶性抗がん剤(16, 17)にも容易に適用が可能なことから、汎用性の大きいターゲティングシステムである。さらに、外殻を構成する高分子鎖を温度応答性にすることで、ある温度以上に加温した場合に選択的に薬物を内核から放出する材料設計が可能となった。(18)がん局所ハイパーサーミアと併用する事でさらに高いがん部位選択的デリバリーが可能となると考えられる。

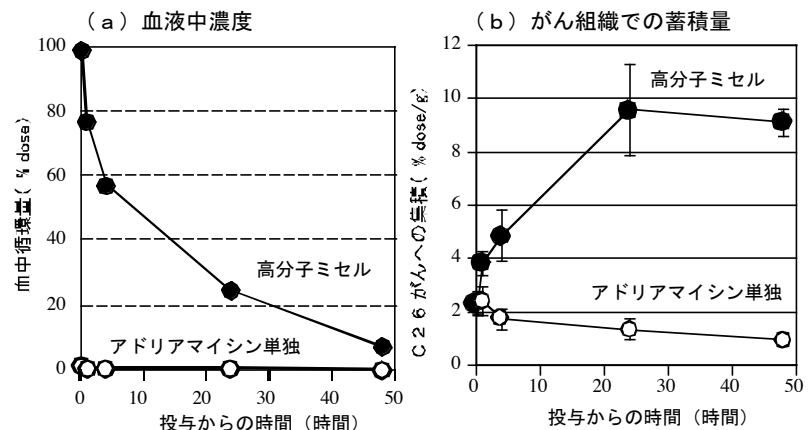


図3 高分子ミセルによる体内動態・分布の制御

4. 高分子ミセルの製剤技術としての特長、課題

特長1 大きさ

高分子ミセルは、高分子が数十～数百個会合して形成され、粒径が10～100 nmの範囲にあり、その粒径分布も狭い。よって、ナノサイズの超微粒子を得る技術として本来的に優れていると言える。また、EPR効果によるがんのターゲティングを達成するためには、キャリアシステムが5～200 nmの直径の範囲であることが求められる。(その理由は、腎臓の排出限界よりも大きく、細網内皮系の細胞に貪食される。) 高分子ミセルの直径はこの範囲にあるので、EPR効果によるがんターゲティングには好適であることがわかる。

特長2 疎水性薬物への適用

疎水性相互作用をミセル構造形成および薬物封入の原動力として利用することから、非水溶性薬物を含めて疎水性薬物を封入することに、高分子ミセルシステムは適している。タキソールなどの非水溶性薬物を、安全に静脈内投与を可能とする技術としても、高分子ミセルは優れていると言える。これまでKR N-5500 (16)、タキソール(17)、カンプトテシン(19-21)などの非水溶性抗がん剤を、有毒な有機溶媒や界面活性剤を用いずに、安全に静脈内投与できることが示されている。

特長3 生体内安定性、低毒性

一般に高分子ミセルは、低分子ミセルと異なり高い安定性を示す。通常、臨界ミセル濃度は1〜10 mg/Lであり、血液に投与した後の高分子の血中濃度が臨界ミセル濃度よりも遙かに高くなる。事実、高分子ミセル及びそれに封入された薬物が血液中を長時間安定に循環していることが示されている。また、これまでの例では、ミセルを形成する高分子自体の毒性は低いことがわかっている。演者が経験した抗がん剤を封入薬物として例では、いずれも抗がん剤単独の副作用（血液中で放出された抗がん剤による）以外は観察されていない。この低毒性（あるいは事実上の無毒性）をミセル形成高分子の一般的性質として扱うのは、まだ事例が少なく時期尚早であるが、合成高分子のキャリアシステムでは、Infusion-related reactionなどの予想外の副作用が報告されていないことから、合成高分子系のキャリアシステムの特長ととらえてもよいかと考える。

課題1 高分子設計

薬物キャリアのための高分子設計の目的は2つに大別される。第1の目的は、薬物の封入であり、第2の目的は薬物のターゲティングである。これまでの演者の経験では、第1の薬物封入のためには、あまり厳密な高分子設計は必要ない。ブロックコポリマーの親水と疎水のバランスがミセル構造形成のために適切な範囲内であるかぎり、高分子構造は薬物の封入挙動には大きな影響を与えない。（もちろん最大内包量が2〜3倍異なることはよく起こりえる）これに対して、ブロックコポリマーの疎水性鎖の構造は、薬物のターゲティング挙動に大きな影響を与える。この場合の薬物のターゲティングとは、薬物を封入したミセルがターゲティングできる能力と、薬物封入が安定であること、封入された薬物が徐放することである。（封入薬物が速く（例えば放出半減期30分）放出すると、キャリアのほとんどが血中にあって、デリバリーが完了していないから）

抗がん活性物質のカンプトテシンの例を以下に示す。(19)この目的に使用したブロックコポリマーはポリエチレングリコール-ポリ（疎水基置換アスパラギン酸）である。図4にその構造を示す。疎水基としてベンジル基、ブチル基、ラウリル基をアスパラギン酸の約45%エステルとして導入したものである。このものに様々な割合で、カンプトテシンを封入し、その封入安定性を水系のゲルパーミエーションクロマトグラフィーで比較したのが図5である。

封入薬物のカンプトテシンを封入が高分子ミセルのピークと流出する割合が大きい程、封入安定性が高いと判断される。（封入安定性が低いと疎水性相互作用によってカラムに吸着して流出しない）ベンジルとブチル基の場合は、

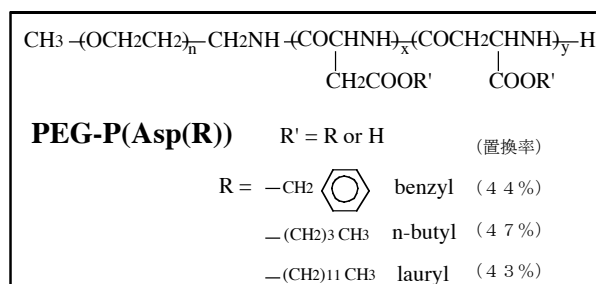


図4 カンプトテシン封入のためのブロックコポリマーの構造

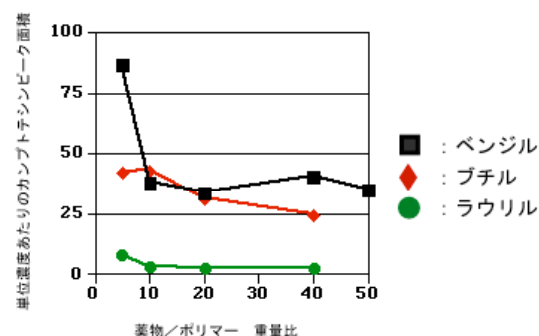


図5 封入カンプトテシンの安定性比較

ポリマーに対する薬物の割合によって変化するが、ほぼ同じような安定性を示した。これに対し、疎水性が最も高いラウリル基はずっと低い安定性であった。この事実は、疎水性の高さがターゲティングのために必要な薬物封入安定性を決める唯一の因子ではなく、高分子鎖の立体構造や、疎水性高分子鎖によって形成される疎水性内核の諸物性（固体性、粘弾性等）が重要な役割を果たしていることを示唆する。

課題2 薬物封入法

薬物を高分子ミセルに封入するには、透析法、エマルション法、エバポレーション法がこれまでに知られているが、この方法の選択が薬物封入に極めて重要な場合（カンプトテシン(19)など）と、あまり大きな影響が見られない場合（アドリアマイシンの場合、未発表データ）がある。薬物封入法については、物理化学的で系統的な解析が今後必要になると考えられる。

5. まとめ

高分子ミセルは薬物キャリアーとして、今後さらに発展し、利用される可能性を有している。そのためには、高分子合成と製剤技術を巧みに組み合わせて、研究・開発してゆく必要があると考える。

参考文献

-
- (1) M. Yokoyama, "Polymeric Micelles for the Targeting of Hydrophobic Drugs"
Drug and Pharmaceutical Sciences vol.148, Polymeric Drug Delivery Systems
Taylor & Francis, pp.533-575 (2005)
 - (2) 横山昌幸、特集ナノメディシン/part 1、「高分子ミセルによる薬物ターゲティング」
BIO INDUSTRY、シーエムシー出版、22(4) 48-54 (2005)
 - (3) 横山昌幸：“高分子ミセルドラッグキャリアーによる固形ガンのターゲティング治療”，生体材料、16, pp. 276-281 (1998)
 - (4) M. Yokoyama: "Novel Passive Targetable Drug Delivery with Polymeric Micelles"
in T. Okano ed., "Biorelated Polymers and Gels: Controlled Release and Applications in Biomedical Engineering", Academic Press, San Diego, pp. 193-230 (1998)
 - (5) A. Lavasanifar, J. Samuel, and G. S. Kwon, Adv. Drug Delivery reviews, 54, 169-190 (2002)
 - (6) H. Bader, H. Ringsdorf, and B. Schmidt, Angew. Chem., 123/124, 457-485 (1984)
 - (7) M. Yokoyama, S. Inoue, K. Kataoka, N. Yui, and Y. Sakurai, Makromol. Chem. Rapid Communications, 8, 431-435 (1987)
 - (8) M. Yokoyama, S. Inoue, K. Kataoka, N. Yui, T. Okano, and Y. Sakurai, Makromol. Chem 190, 2041-2054 (1989)
 - (9) A. V. Kabanov, V.P. Chekhonin, V.Y. Alakhov, E.V. Batrakova, A.S. Lebedev, N.S. Melik-Nubarov, S.A. Arzhakov, A.V. Levashov, G.V. Morozov, E.S. Severin, and V.A.

-
- Kabanov, FEBS Lett., 258, 343-345 (1989)
- (10) E.V. Natrakova, T.Y. Dorodnych, E.Y. Klinskii, E.N. Kliushnenkova, O.B. Shemchukova, O.N. Goncharova, S.A. Arjakov, V.Y. Alakhov, and V.A. Kabanov, Br. J. Cancer, 74, 1545-1552 (1996)
- (11) M. Yokoyama, M. Miyauchi, N. Yamada, T. Okano, Y. Sakurai, K. Kataoka, and S. Inoue, Cancer Res., 50, 1693-1700 (1990)
- (12) M. Yokoyama, T. Okano, Y. Sakurai, H. Ekimoto, C. Shibazaki, K. Kataoka, Cancer Research, **51**, 3229-3236 (1991)
- (13) G. S. Kwon, S. Suwa, M. Yokoyama, T. Okano, Y. Sakurai, and K. Kataoka, J. Controlled Release, **29**, 17-23 (1994)
- (14) M. Yokoyama, T. Okano, Y. Sakurai, S. Fukushima, K. Okamoto, and K. Kataoka, J. Drug Targeting, **7**, 171-186 (1999)
- (15) N. Nishiyama, M. Yokoyama, T. Aoyagi, T. Okano, Y. Sakurai, and K. Kataoka, Langmuir, **15**, 377-383 (1999)
- (16) Y. Mizumura, Y. Matsumura, M. Yokoyama, T. Okano, T. Kawaguchi, F. Moriyasu, and T. Kakizoe, Japanese J. Cancer Research, **93**, 1237-1243 (2002)
- (17) T. Hamaguchi, Y. Matsumura, M. Suzuki, K. Shimizu, R. Goda, I. Nakamura, I. Nakatomi, M. Yokoyama, K. Kataoka and T. Kakizoe, British J. Cancer, **92**, 1240-1246 (2005)
- (18) F. Kohori, M. Yokoyama, K. Sakai, and T. Okano, J. Controlled Release, **78**, 155-163 (2002)
- (19) M. Yokoyama, P. Opanasopit, Y. Maitani, K. Kawano, and T. Okano, J. Drug Targeting, **12**, 373-384 (2004)
- (20) P. Opanasopit, M. Yokoyama, M. Watanabe, K. Kawano, Y. Maitani, T. Okano, Pharmaceutical Research, **21**, 2003-2010 (2004)
- (21) P. Opanasopit, M. Yokoyama, M. Watanabe, K. Kawano, Y. Maitani, T. Okano, J. Controlled Release, **104** 313-321 (2005)