医薬品添加物の細胞内動態とトランスポーター

国立医薬品食品衛生研究所・薬品部

加藤くみ子*

Intracellular trafficking of excipients and the involvement of transporters in the efflux of excipients

For the development of DDS products, excipients attract lots of attention and the appropriate selection and evaluation of excipients are expected. In this review, the author overviews the evaluation of excipients. The author also presents the recent studies concerning the intracellular trafficking processes from intracellular uptake to extracellular efflux of the excipients which are used as drug carrier, and the involvement of transporters in the efflux of excipients from the cells.

DDS 製剤の開発における医薬品添加物の役割はますます脚光を浴びており、医薬品添加物の適切な選択・評価が重要となる。本稿では、まず医薬品添加物とその評価について概説、及び考察する。次に放出技術や標的化技術を目的とした薬物キャリアとしての医薬品添加物に着目し、その細胞内動態とキャリア成分の細胞外への排出におけるトランスポーターの関与について筆者らの最近の研究について紹介したい。

Kumiko Sakai-Kato*

Keywords: excipient, intracellular trafficking, transporter, drug delivery system

はじめに

近年の製剤技術の高度化や剤形の多様化に伴い医薬品添加物はますます脚光を浴びている。「薬物放出技術(徐放化や外部刺激応答システムなど)」、「薬物標的化技術(能動的、受動的標的化技術など)」、「薬物吸収改善技術(プロドラッグ化、新規投与経路など)」など、DDS 技術を用いた製剤開発には医薬品添加物の適切な選択・評価が重要であろう。本稿では、まず医薬品添加物とその評価について概説、及び考察したい。次に有効成分の放出技術や標的化技術を目的とした薬物キャリアとしての医薬品添加物に着目し、その細胞内動態とトランスポーターの関与について筆者らの最近の研究について紹介したい。

DDS 製剤と添加物

1) 医薬品添加物について

医薬品添加物は日本薬局方・製剤総則の製剤通則(6)項に次のように規定されている。*

「添加剤は、製剤に含まれる有効成分以外の物質で、有効成分及び製剤の有用性を高める、製剤化を容易にする、品質の安定化を図る、又は使用性を向上させるなどの目的で用いられる。製剤には、必要に応じて、適切な添加剤を加えることができる。ただし、用いる添加剤はその製剤の投与量において薬理作用を示さず、無害でなければならない。また、添加剤は有効成分の治療効果を妨げるものであってはならない。」¹⁾

従って、その使用にあたっては、薬効が不十分になったり、安全性の点で影響を与えたりすることがないように適切に選択すべきであり、成分そのものの特性に加えて製剤全体としても把握することが必要である²⁾。表 1 には後述する医薬品添加物事典に

* Division of Drugs, National Institute of Health Sciences

* 日本薬局方では「添加剤」という言葉が用いられている。本稿では「添加物」を用いることとする。

記載されている医薬品添加物の用途を挙げた³⁾。医薬品添加物は様々な用途で使用されていることがわかる。

安定（化）剤	抗酸化剤	着色剤	分散剤
界面活性剤	光沢化剤	糖衣剤	噴射剤
改良剤	効力増強剤	等張化剤	崩壊剤
可塑剤	コーティング剤	軟化剤	崩壊補助剤
滑沢剤	剤皮	乳化剤	芳香剤
カプセル皮膜	支持体	燃料剤	防鎖剤
可溶（化）剤	持続化剤	粘着剤	防湿剤
還元剤	湿潤剤	粘着増強剤	放出制御膜
緩衝剤	湿潤調整剤	粘稠剤	防腐剤
甘味剤	充填剤	粘稠化剤	保存剤
基剤	消泡剤	発炎抑制剤	無痛化剤
揮発補助剤	清涼化剤	発熱剤	誘引剤
吸着剤	摂食促進剤	発泡剤	溶解剤
矯味剤	接着剤	pH 調節剤	溶解補助剤
共力剤	増強剤	皮膚保護剤	溶剤
結合剤	咀嚼剤	賦形剤	雛型剤
懸濁（化）剤	着香剤・香料	浮遊剤	流動化剤

表 1 医薬品添加物の主な用途 (医薬品添加物事典より)³⁾

2) 医薬品添加物の評価

医薬品等の添加物の取り扱いについては「医薬品の承認申請について」（平成 17 年 3 月 31 日付薬食発第 0331015 号）に「既承認医薬品等の添加物として使用前例のない添加物を配合する場合又は使用前例があっても投与経路が異なる若しくは前例を上回る量を使用する場合には、当該添加物の品質、安全性等に関する資料を併せて提出することを必要とする」とされている⁴⁾。

(1) 使用前例のない添加物を配合する場合や使用前例があっても投与経路が異なる若しくは前例を上回る量を使用する場合

新添加剤を含有する製剤が承認された場合、承認された製剤の用法及び用量下における 1 日最大使用量に含まれる添加物量までが、使用前例として他の製剤でも同一投与経路において使用が可能となる。したがって、ある添加物について使用前例があっても投与経路が異なる若しくは前例を上回る量を使用する場合は添加物の品質、安全性等に関する資料を提出する必要がある。我が国において、医薬品添加物の使用前例に関する参考資料に、医薬品添加物事典がある³⁾。当該事典には既承認医薬品の添加物と

しての使用前例が記載されており、その用途、使用量等が確認された医薬品添加物の成分名 1228 品目が掲載されている。具体的には、品目ごとに、成分名、英名、別名、構造、概要、参考文献、貯法、用途、投与経路・最大使用量（承認前例のうちで 1 日量の最大）、商品名（メーカーまたは取扱業者）に関する情報が記載されている。本書に記載されている投与経路、最大投与量については厚生労働省の通知による（「医薬品添加物事典に掲載されていない医薬品添加物の使用前例について」平成 18 年 2 月 14 日審査管理課事務連絡⁵⁾）。本参考資料に記載されていないものについては申請者が調査する必要がある。新添加物の審査はその成分が医薬品に配合されたときに、医薬品の有効性、安全性及び品質への影響も含めて評価されるものであり、その新添加物を単独で承認を取得するための申請を行うことはできない。また、食品、化粧品に前例のある添加物をそれぞれ経口、外用の目的で添加する場合であっても、医薬品添加物として前例のないものは、新添加物として取り扱われる。さらに、外国での使用実績があっても、国内で使用実績のない成分は新添加物として取り扱われる。²⁾

申請の際に提出が要求される新添加物の資料は原則として次のとおりである。（「医薬品の承認申請に際し留意すべき事項について」（平成 17 年 3 月 31 日付薬食発第 0331009 号）⁶⁾

- ・起原又は発見の経緯及び外国における使用状況等に関する資料
- ・製造方法並びに規格及び試験方法等に関する資料
- ・安定性に関する資料
- ・毒性に関する資料

(2) 医薬品において使用実績が存在するものの、使用前例として取り扱われない例

近年の製剤技術の進歩により、様々な添加物が使用されるようになってきており、既承認医薬品等の添加物の中には、個々の製剤の限定された条件下においてのみ使用可能と判断されたものがある。このような特定の製剤や特定の条件下においてのみ使用が認められると判断された添加物の使用事例については、当該製剤又は条件下での使用を除き、使用前

例として取り扱うものではないものとされ、該当する添加物とその使用前例等について情報提供がなされている(「特定の製剤や特定の条件下においてのみ使用が認められた添加物の取扱いについて」(平成21年6月3日審査管理課事務連絡))⁷⁾。なお、これら情報提供されている添加物であっても、記載されている以外の製剤において使用されている場合については、その使用前例の範囲(分量・投与経路)で使用することは、使用前例の範囲内と判断して差し支えないとされている⁷⁾。

リポソーム製剤は、リン脂質など1つの分子上に親水性部分と疎水性部分を持たせた分子からつくられる脂質二分子膜の小胞であり、その内部水相または、膜中に薬物を含ませることができる^{8,9)}。我が国では、ビスダイン静注用15mg、アムビゾーム点滴静注用50mg、ドキシル注20mgが臨床応用されている。リポソーム製剤のキャリア成分は添加物とされており、ビスダイン静注用15mg、アムビゾーム点滴静注用50mg、ドキシル注20mgに用いられている添加物はいずれも使用前例として取り扱うものではないとされている(表2)⁷⁾。公表されているドキシル注20mgの審査報告書には、ドキシソルビシンを含まないプラセボリポソームをイヌに静脈内投与したところ血圧低下等の所見が認められ、臨床使用においてもアナフィラキシー反応等の infusion reaction が認められリポソーム投与との関連性が疑

われたが、対象疾患や infusion reaction 発現を抑えるための措置が講じられる予定であることから使用は差し支えない。しかし、当該リポソームに含まれる各新添加物を一般的な添加物として承認使用前例として取り扱うことは好ましくない、との理由が記されている(審議結果報告書 平成21年2月13日医薬食品局審査管理課)¹⁰⁾。DDS製剤によっては添加物の機能に留意し、製剤としてのリスク・ベネフィットの考え方も重要になると考えられる。

その他、DDS製剤に関連した事例として、アジュバンドに用いられる添加物、及び経皮吸収製剤に用いられる添加物が記載されている(表2)。

3) ナノ DDS 製剤に関連した評価について

2002年に米国医薬食品局(FDA)よりリポソーム製剤の評価に関するドラフトガイダンス“Guidance for industry; Liposome Drug Products – Chemistry, Manufacturing, and Controls; Human Pharmacokinetics and Bioavailability; and Labeling Documentation, Draft”¹¹⁾が発出されている。(表3)

品質(Chemistry, Manufacturing and Control (CMC)という言葉が用いられる)に関連した項目では、製剤組成、製品の品質を左右する重要な物理的・化学的特性パラメータの特定および測定、製造工程パラメータの特定およびその管理の重要性、有効成分およびリポソームの主原料である脂質の管理、

ビスダイン静注用15mg (静注)	ジミリストイルホスファチジルコリン エッグホスファチジルグリセロール パルミチン酸アスコルビン酸
アムビゾーム点滴静注用50mg (静注)	水素添加大豆リン脂質 ジステアロイルホスファチジルグリセロールナトリウム コレステロール トコフェロール
ドキシル注20mg (静注)	Sodium MPEG-2000-Carbonyl-DSPE 水素添加大豆ホスファチジルコリン コレステロール 硫酸アンモニウム
プレベナー水性懸濁皮下注 (皮下注)	リン酸アルミニウム
サーバリックス (筋注)	3-脱アシル化-4'-モノホスホリリビッドA 水酸化アルミニウム懸濁液
ノルスパンテープ 5mg/10mg/20mg (経皮吸収製剤)	アクリル酸2-エチルヘキシル・酢酸ビニル・アクリル酸ブチル・アクリル酸共重合体溶液(DURO-TAK387-2051/87-2051) アクリル酸2-エチルヘキシル・酢酸ビニル・アクリル酸ブチル・アクリル酸共重合体溶液(DURO-TAK387-2054/87-2054)

表2 特定の製剤や特定の条件下においてのみ使用が認められた添加物の例⁷⁾

CHEMISTRY, MANUFACTURING, AND CONTROLS

- A. Description and Composition
- B. Physicochemical Properties
- C. Description of Manufacturing Process and Process Controls
- D. Control of Excipients: Lipid Components
- E. Control of Drug Product: Specifications
- F. Stability
- G. Changes in Manufacturing

HUMAN PHARMACOKINETICS AND BIOAVAILABILITY

- A. Bioanalytical Methods
- B. In Vivo Integrity (Stability) Considerations
- C. Protein Binding
- D. In Vitro Stability
- E. Pharmacokinetics and Bioavailability

表3 リポソーム製剤の評価に関するドラフトガイドライン¹¹⁾

Guidance for industry; Liposome Drug Products – Chemistry, Manufacturing, and Controls; Human Pharmacokinetics and Bioavailability; and Labeling Documentation

製剤の安定性試験、製法変更時の留意事項が記されている。本ドラフトガイドラインでは、リポソーム製剤のキャリアに相当する脂質成分は医薬品添加物として記載されているが、脂質に関する厳重な管理(特性解析、製造、規格、安定性)を重視している。これは、脂質成分が、リポソームのサイズやリポソームの rigidity 等の物理的・化学的特性に、さらには薬物の内封量、有効成分の放出性、血中滞留性などの製品としての特性と直接関連するためである。さらに、サイズや表面電荷等の物理的・化学的特性は、補体活性等の免疫学的な安全性にも関連している(図1)。一方、本ドラフトガイドラインにはヒトでの薬物動態試験とバイオアベイラビリティに関する項目がありその中で、1) 生体試料の分析手法、2) *In vivo* での完全性 (integrity) の分析、3) 血中タン

パク質の結合、4) *In vitro* 安定性、5) 薬物動態試験とバイオアベイラビリティに関する留意事項が記載されている。*In vivo* でのリポソームの integrity の分析、リポソームと血清タンパク質の結合の解析により、内封薬物が安定的にリポソーム内に存在し漏出しないか、また血清タンパク質の結合と細胞内皮系(肝臓や脾臓など)による取り込みを最低限に抑え得るか解析することにより、血中での滞留性に関わる情報を得られるとともに、薬効、および初期バーストや輸注反応等の有害作用に関わる情報を得られると考えられる。

以上のようにリポソーム製剤における重要な特性「標的性、標的部位での有効成分の放出、及び血中滞留性・安定性」は、いずれもリポソームの“体内動態”に関連する事項である。ここで“体内動態”とは、全身レベルや組織・器官レベルでの ADME(吸収、分布、代謝、排泄)に加え、製剤の特殊性に応じてケースバイケースの対応になるが、細胞レベル、細胞小器官レベルでの“微小空間における動態”も重要となるであろう。また、「標的性、標的部位での有効成分の放出、及び血中滞留性・安定性」のすべて、あるいはいくつかの特性は昨今開発が活発になっている他のナノテクノロジーを駆使した薬物キャリア製剤(ナノ DDS 製剤と称する)においても重要な特性であると考えられる。従って、ナノ DDS 製剤の評価においては、微小空間における動態を含めた体内動態がキーポイントの1つとして

図1 ナノ DDS 製剤開発における重要な要素

挙げられ、体内動態に関するデータや情報が重要であると思われる。その上で、ナノ DDS 製剤の体内動態と物理的・化学的特性の関係に関する知識を蓄積することで、体内動態に重要な影響を及ぼす製剤の重要な物理的・化学的特性を明らかにする。同様に、体内動態と医薬品としての有効性・安全性との関係に関する知識や、製剤に重要な物理的・化学的特性に影響する製造工程パラメータに関する知識を蓄積する。このように、体内動態を1つのキーポイントとして図1に示すような関連知識を蓄積していくことは、ナノ DDS 製剤の的確な製剤設計、合理的な製法・品質管理システムの構築に有用であると考えられる。

ナノ DDS 製剤の細胞内動態とトランスポーター

本節では、筆者らがやっているナノ DDS 製剤の細胞内動態に関する知見について紹介したい。また、薬物キャリア成分の細胞外排出におけるトランスポーターの機能について明らかとなりつつあるので報告したい。

ナノサイズの薬物キャリアを利用し、抗癌剤等の低分子化学物質をはじめ、タンパク質や核酸等の細胞内への送達に関する研究が盛んに行われている。細胞内におけるキャリアの動態は、有効成分の放出

メカニズムやキャリア自身の細胞内での動態に関し有用な情報を与えると考えられるが、これまでに細胞外への排出を含めた細胞内動態に関する研究はなかった。そこで筆者らは、キャリアの構成成分を蛍光標識し、共焦点レーザー顕微鏡により細胞外からの排出を含めた細胞内動態に関する研究を行っている。

(1) ブロック共重合体ミセルの細胞内動態

ブロック共重合体ミセルは、ポリエチレングリコール (PEG) などの親水性ポリマーと難溶性ポリマーが連結されたブロック共重合体の自己会合により形成されるナノ粒子ミセルで、従来の溶解改善を目的とした低分子ミセルと比べ、ミセルを構成する高分子鎖のミセルからの解離速度が小さく、高い構造安定性の実現が可能であることが知られている¹²⁾。我々は、ブロック共重合体にドキシソルビシンを結合したミセルを利用して、細胞内に取り込まれた後のブロック共重合体の細胞内動態について詳細に調べた (図2)¹³⁾。本来ブロック共重合体に結合したドキシソルビシンは、内包する有効成分としてのドキシソルビシンの内包率を上昇させるために結合しているが¹⁴⁾、本研究では結合したドキシソルビシンは蛍光標識体として働くのみであり、実験条件中に遊離することはなく、また細胞毒性を示すことがない

図2 ドキシソルビシン結合ブロック共重合体によるミセル形成

ことも確認した。キャリア成分の動態を詳細に追跡するために本実験では有効成分としてのドキソルビシンは内包しなかったが、ブロック共重合体のみで約 40nm の大きさの粒子を形成していることを動的散乱計、及び原子間力顕微鏡で確認した。細胞内への取り込みを評価したところ細胞内への温度依存的な取り込みが観察され、また初期 / 後期エンドソームマーカーである Alexa 標識トランスフェリンとの共局在が認められたことから、エンドサイトーシスで取り込まれることが示唆された。さらに、細胞内に取り込まれた後の動態を追跡したところ、エンドソーム / ライソゾームへの分布とともに小胞体への局在が示された(図 3)。

細胞外へのキャリア成分の排出はキャリア成分の細胞内蓄積による安全性への影響やキャリアからの有効成分の放出、さらにキャリア成分に有効成分を結合させた場合は薬効自体への影響を評価するうえで重要な情報であると考え、ブロック共重合体の細胞外排出について詳細な解析を行った。ブロック共重合体は PEG などの親水性鎖と内核を構成する疎水性鎖から構成される両親媒性化合物であること、またブロック共重合体の小胞体への局在が示されたことから、ブロック共重合体の細胞内での動態が生体物質であるコレステロールの細胞内動態と類似していることに着目した¹⁵⁾。さらに、ブロック共重合体は比較的速やかに細胞外に排出されることから積

極的な排出システムが働いていることが予想された。以上より、コレステロールの細胞外排出機構として知られているトランスポーターの関与について評価することとした。特異的阻害剤、及び siRNA による発現阻害により、コレステロールの排出に関わる ABCA1 及び ABCB1 を標的としてその機能を阻害したところ、ABCB1 の阻害により、細胞内におけるドキソルビシン結合ブロック共重合体の量が有意に増加することが明らかとなり、ドキソルビシン結合ブロック共重合体の細胞外排出に ABCB1 が関与することが示唆された(図 4)。ABCB1 の基質認識性は広いことが知られているが、高分子としてはアミロイド β タンパク質(分子量約 4.5kDa)の血液脳関門からの排出が報告されている^{16,17)}。今回用いたポリマーの分子量は約 15kDa であり¹⁴⁾、アミロイド β タンパク質を大きく上まわる高分子の排出に ABCB1 の関与が示唆された。以上の結果より、ドキソルビシン結合ブロック共重合体の細胞内動態の 1 つの経路として、ミセルの状態で細胞内にエンドサイトーシスで取り込まれたのち、エンドソーム / ライソゾームでミセルを構成するブロック共重合体に解離後、細胞質に運搬され、小胞体へ集積後、トランスポーターを介して細胞外へ排出するメカニズムが示唆された。このように、合成高分子の細胞内動態に、コレステロールなど内因性化合物の細胞内動態に関わる分子メカニズムの関与が示唆された。

図 3 ドキソルビシン結合ブロック共重合体の細胞内動態

図4 ブロック共重合体の細胞外排出に関わる ABCB1 の影響

以上の知見は、ブロック共重合体の細胞内蓄積等の安全性に関わる議論、細胞内における有効成分の放出など薬効に関わる議論の他、内因性物質の細胞内動態に関わる分子メカニズムを利用した新たな DDS 製剤開発戦略へも重要な情報を与えると思われる。

(2) リポソームの細胞内動態

次に、筆者らは同じくナノ DDS 製剤として開発が盛んなリポソーム製剤についてキャリア成分の細胞内動態に関して解析を行った¹⁸⁾。基本的な組成であるリン脂質 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphatidylcholine (DOPC) とコレステロール (1:1, molar ratio) からなるリポソームを調製し、細胞内動態を評価した。本研究ではリポソームの主要な構成成分であるリン脂質とコレステロールをそれぞれ蛍光色素で標識することとした。この蛍光標識リン脂質あるいは蛍光標識コレステロールを用いて調製したリポソームの粒子径及びゼータ電位を測定した結果、全て粒子径約 110nm、表面電荷は約 0mV となっていた。

リン脂質あるいはコレステロールをそれぞれ蛍光標識したリポソーム 2 種を別々に細胞内に取り込ませ、取り込 24 時間後の細胞内局在を HeLa 細胞を

用いて評価したところ、ともに初期 / 後期エンドソームマーカーである Alexa 標識トランスフェリンとの共局在が認められ、エンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれることが示唆された。細胞内小器官としては脂質の輸送に関わる小胞体とゴルジ体に着目し、リポソームの細胞内局在について検討した結果、リン脂質は小胞体及びゴルジ体に集積した一方、コレステロールは小胞体のみを集積することが示され、両成分の細胞内局在が異なることが示された。本知見はエンドソーム / ライソゾーム到達後の過程でリポソームのベシクル構造が崩壊し、リポソームの各構成成分が異なる機構で細胞内輸送されることを示唆している。本実験では有効成分を内包していないが、有効成分を内包した場合はエンドソーム / ライソゾーム到達後の過程で有効成分が放出されることが予想された。リン脂質及びコレステロールの細胞内輸送機構に関してさらに検討した結果、それぞれ脂質の輸送に関わるタンパク質である ORP1 (oxysterol-binding protein-related protein1)^{19,20)} 及び NPC1 (Niemann-Pick C1)²¹⁾ によりエンドソーム / ライソゾームから細胞質中に引き抜かれることが示された。

さらに、リン脂質及びコレステロールの細胞外排出過程について評価した。まず、リポソーム由来のリン脂質及びコレステロールの小胞体膜 / ゴルジ体膜から細胞膜への膜間輸送は、内因性のリン脂質及びコレステロールの膜間輸送に関与している PITP (phosphatidylinositol transfer protein)^{22,23)} 及び ORP2 (oxysterol-binding protein-related protein 2)²⁴⁾ にそれぞれ制御されることが示され、両成分は異なる経路で細胞膜上に移行することが示唆された (図 5)。またリポソーム構成成分の細胞外排出経路に関して、ABC トランスポーター及びエキソサイトーシスに着目し、内因性脂質成分の細胞外排出に関わる ABC トランスポーター²⁵⁾ を含む複数の ABC トランスポーターの関与を検討した。その結果、図 6 に示すように、リン脂質は ABCG1 を介して細胞外排出される一方、コレステロールは ABCA1 及び B1 を介して主に排出されることが示唆され、両成分は異なるトランスポーターによって細胞外排出されることが示唆された。また、リン脂質の細胞外

排出は主として ABCG1 を通して行われたが、コレステロールを含有しないリポソームを投与した場合は、図 6C に示すように ABCA1 及び ABCB1 も細胞外排出に関与することが示唆され、リポソームの構成成分とその組成によりそれぞれが排出されるトランスポーターが変わり得ることを示している。

また細胞外排出に対するエキソサイトーシスの関与についても評価した結果、HeLa 細胞ではリン脂質及びコレステロールのエキソサイトーシスによる細胞外排出の関与が認められたが、HT-29 細胞では認められなかったことから、リポソーム構成成分の細胞外排出に対するエキソサイトーシスの関与の程度は細胞種によって異なると推察された。

おわりに

本稿では、医薬品添加物とその評価に関して概説、

及び考察するとともに、ナノ DDS 製剤に用いられる医薬品添加物であるキャリア成分の細胞内動態及びトランスポーターの関与に関し、基礎的な研究成果ではあるが、筆者らの最近の知見を紹介した。今後は、有効成分を内包させ、キャリア成分の動態とトランスポーターをはじめとする内因性物質が有効成分の動態にどのように影響(あるいは制御)し得るのか、また、医薬品総体としての安全性にどのようなインパクトを持ちうるのかについて確認していきたい。

これまでに、原子や分子、あるいはマイクロサイズ以上のバルク物質が有する特性とは異なる、ナノスケールサイズの物質が有する生体との特異的な相互作用に関して多くの知識が蓄積されてきた。例えば、EPR 効果 (Enhanced Permeation and Retention Effect)²⁶⁾、組織への効率的な浸透や細胞への効率的な取り込み²⁷⁾、あるいはバイオアベイラビリティの向上²⁸⁾ などである。これらの知見を巧

図5 想定されるリポソーム構成成分の細胞内輸送経路

図6 リン脂質及びコレステロールの細胞外排出に関わるトランスポーターの解析

みに利用し、標的性や生体内での安定性の向上を意図して多くのナノ DDS 製剤が開発され、また臨床応用されつつある。今後はさらに標的細胞、あるいは標的細胞小器官への有効成分の送達を目的とした医薬品開発が増していくと思われる。ADME を指標とした体内動態とともに、細胞内という微小空間における製剤の動態に関するデータや情報の蓄積が重要になっていくものと思われる²⁹⁾。

本研究は、厚生労働科学研究費補助金 政策創薬総合研究事業(官民共同研究)、及び厚生労働科学研究費補助金 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス総合研究事業による研究成果であり、ここに感謝の意を表します。また、政策創薬総合研究事業(官民共同研究)において多くのご助言をいただいた東

京大学大学院薬学系研究科 楠原洋之教授、東京大学大学院医学系研究科 西山伸宏准教授、日本化薬株式会社 中西 健先生、エーザイ株式会社 石原比呂之先生をはじめ、共同研究の先生方に感謝申し上げます。

文献

- 1) 第16改正 日本薬局方 (厚生労働省)
- 2) 医薬品製造販売指針 2010 (株式会社じほう)
- 3) 医薬品添加物事典 2007 (薬事日報社)
- 4) 「医薬品の承認申請について」 (平成17年3月31日付薬食発第0331015号)
- 5) 「医薬品添加物事典に掲載されていない医薬品添加物の使用前例について」 (平成18年2月14日審査管理課事務連絡)
- 6) 「医薬品の承認申請に際し留意すべき事項について」 (平成17年3月31日付薬食発第0331009号)
- 7) 「特定の製剤や特定の条件下においてのみ使用が認められた添加物の取扱いについて」 (平成21年6月3日 審査管理課事務連絡)
<http://www.pmda.go.jp/operations/shonin/info/additive.html> (Accessed September 2012)
- 8) Bangham AD, Standish MM, Watkins JC: Diffusion of Univalent Ions across the Lamellae of Swollen Phospholipids. *J Mol Biology* 13: 238-252, 1965.
- 9) 医薬品の開発第13巻 薬物送達法 廣川書店 瀬崎仁 1989
- 10) ドキシル注 20mg 審議結果報告書 (平成21年2月13日医薬食品局審査管理課)
- 11) Draft Guidance, Liposome Drug Products-Chemistry, Manufacturing, and Controls; Human Pharmacokinetics and Bioavailability; and Labeling Documentation, US Food and Drug Administration, 2002
- 12) Nishiyama N, Kataoka K.: Current state, achievements, and future prospects of polymeric micelles as nanocarriers for drug and gene delivery. *Pharmacol Ther.* 112: 630-648, 2006.
- 13) Sakai-Kato K, Ishikura K, Oshima Y, Tada M, Suzuki T, et al.: Evaluation of intracellular trafficking and clearance from HeLa cells of doxorubicin-bound block copolymers. *Int J Pharm* 423: 401-409, 2012.
- 14) Nakanishi T, Fukushima S, Okamoto K, Suzuki M, Matsumura Y, et al.: Development of the polymer micelle carrier system for doxorubicin. *J Control Release* 74: 295-302, 2001.
- 15) Ikonen E.: Cellular cholesterol trafficking and compartmentalization. *Nat Rev Mol Cell Biol* 9:125-138, 2008.
- 16) Cirrito JR, Deane R, Fagan AM, Spinner ML, Parsadanian M, et al.: P-glycoprotein deficiency at the blood-brain barrier increases amyloid- β deposition in an Alzheimer disease mouse model. *J Clin Invest.* 115: 3285-3290, 2005.
- 17) Lam FC, Liu R, Lu P, Shapiro AB, Renoir J-M, et al.: β -Amyloid efflux mediated by p-glycoprotein. *J Neurochem* 76: 1121-1128, 2001.
- 18) Un K, Sakai-Kato K, Oshima Y, Kawanishi T, Okuda H.: Intracellular trafficking mechanism, from intracellular uptake to extracellular efflux, for phospholipid/cholesterol liposomes. *Biomaterials* 33: 8131-8141, 2012.
- 19) Xu Y, Liu Y, Ridgway ND, McMaster CR.: Novel members of the human oxysterol-binding protein family bind phospholipids and regulate vesicle transport. *J Biol Chem* 276:18407-18414, 2001.
- 20) Suchanek M, Hynynen R, Wohlfahrt G, Lehto M, Johansson M, et al.: The mammalian oxysterol-binding protein-related proteins (ORPs) bind 25-hydroxycholesterol in an evolutionarily conserved pocket. *Biochem J* 405: 473-480, 2007.
- 21) Koivusalo M, Jansen M, Somerharju P, Ikonen E.: Endocytic trafficking of sphingomyelin depends on its acyl chain length. *Mol Biol Cell* 18: 5113-5123, 2007.
- 22) Wirtz KW.: Phospholipid transfer proteins revisited. *Biochem J* 324: 353-360, 1997.
- 23) Ségui B, Allen-Baume V, Cockcroft S.: Phosphatidylinositol transfer protein beta displays minimal sphingomyelin transfer activity and is not required for biosynthesis and trafficking of sphingomyelin. *Biochem J* 366: 23-34, 2002.
- 24) Hynynen R, Suchanek M, Spandl J, Bäck N, Thiele C et al.: OSBP-related protein 2 is a sterol receptor on lipid droplets that regulates the metabolism of neutral lipids. *J Lipid Res* 50: 1305-1315, 2009.
- 25) Kimura Y, Morita SY, Matsuo M, Ueda K.: Mechanism of multidrug recognition by MDR1/ABCB1. *Cancer Sci* 98: 1303-1310, 2007.
- 26) Matsumura Y, Maeda H.: A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumorotropic accumulation of proteins and the antitumor agent Smancs. *Cancer Res* 46: 6387-6392, 1986.
- 27) Cabral H, Matsumoto Y, Mizuno K, Chen Q, Murakami M, et al.: Accumulation of sub-100 nm polymeric micelles in poorly permeable tumours depends on size.: *Nat Nanotechnol* 23: 815-823, 2011.
- 28) Shegokar R, Müller RH.: Nanocrystals: Industrially feasible multifunctional formulation technology for poorly soluble actives. *Int J Pharm* 399: 129-139, 2010.
- 29) Akita H, Hatakeyama H, Harashima H.: siRNA delivery by multifunctional envelope-type nanodevice (MEND). *Drug Delivery System* 25: 590-597, 2010.