リポソーム構成材料

小田雄介*・鈴木 亮*・丸山一雄*

Materials for liposome preparation

1. はじめに

リポソームは脂質二重膜からなる閉鎖小胞であり、1965年に Bangham らによって発見されて以来、生体膜モデルや DDS キャリアとして幅広い分野で注目されている。特に DDS キャリアとしての応用に関しては、大量生産法や薬物の封入方法などが開発され、現在では医薬品のみならず化粧品にも広く用いられるようになってきた。

2. リン脂質

リポソーム構成脂質には、グリセリン脂質を利用することが多い。ホスファチジルコリン(PC)やホスファチジルエタノールアミン(PE)は、分子内に正負の電荷が1つずつ存在するため、中性を示す。一般に、リポソーム調製時や粒子径制御を行う際に、相転移温度以上に加温することがあるため、リポソーム構成脂質には、室温に近いジミリスチル PC(DMPC)、ジパルミトイル PC(DPPC)、ジステアシル PC(DSPC) が汎用されている。これらの合成リン脂質は純度が高く、99%以上の試薬が多い。25mg~100kg以上までさまざまな規格が販売されているが、研究室レベルでは数g程度に小

分けされているものが使用しやすい。また、クロロホルムに溶解した状態でも販売されているが、溶媒が気化すると濃度が変化するため、注意が必要である。多種類の PC を含有したものとして、卵黄由来 PC や大豆由来 PC がある。さらに、これらの PC に水素を添加して不飽和 PC を飽和させた水素添加卵黄由来 PC や水素添加大豆由来 PC などを用いられている。このような天然由来リン脂質は、さまざまな純度の試薬が販売されており、目的に応じた純度のものを使用するとよい。試薬は -20℃ で保存するほか、不飽和リン脂質を含有する場合には、窒素やアルゴンなどの不活性ガスで置換して保存するとよい。

PE は PC よりも極性基が小さく、特に不飽和脂質からなる PE は円錐型(コーン型)となる。コーン型脂質は膜融合などのダイナミクスに関与すると考えられており、リポソームに膜融合能を付与する目的でジオレオイル PE(DOPE)などが汎用されている。また、PE は親水基のエタノールアミンに機能性分子を修飾可能であり、ポリエチレングリコール(PEG)やマレイミドなどが修飾されたものが販売されている。ホスファチジン酸(PA)、ホスファチジルセリン(PS)、ホスファチジルグリセロール(PG)は、負電荷を有しているためアニオン性の性質を示す。アニオン性脂質を用いたリポソーム表

面電位はマイナスを示すため、静電的相互作用によるリポソームの凝集抑制や核酸-カチオン性高分子複合体などをリポソーム表面に搭載する目的で使用される。また、グリセリン脂質以外にもスフィンゴリン脂質(セラミド、スフィンゴミエリンなど)を使用することもあり、化粧品に汎用されている。

3. その他のリポソーム構成材料

カチオン性脂質の多くは、2つのアシル基またはアルキル基と4級アンモニウムカチオンからなる脂質を模倣した構造を有している。カチオン性脂質は、核酸などのトランスフェクションを目的としたリポソームに用いられており、4級アンモニウムカチオンは pH に影響されず、常に正の電荷を有する。一方で、3級アミンを有するカチオン性脂質(DODAP など)では、pH に依存して中性からカチオン性に変化するため pH 感受性をリポソームに付与できる。

コレステロールは、リン脂質からなる二重層の膜物性に影響を与えることが知られている。不飽和脂質からなる二重層の場合には、コレステロールを添加すると condensing 効果により流動性が下がり、ゲル相の飽和脂質では fluidizing 効果により流動性が上がる。一般的に、安定な組成として PC:コレステロール = 2:1(モル比)程度のリポソームが用いられている。

リポソームは、生体に投与すると異物として認識され、細網内皮系(RES)に捕獲される。PE に PEG を修飾した脂質をリポソームに添加することで、リポソーム表面を固定水相で覆うことが可能と考えられており、RES を回避するため長期血中滞留性を示す。長期血中滞留性を獲得する PEG 濃度は、PEG の鎖長や

* Yusuke Oda, Ryo Suzuki,
Kazuo Maruyama
帝京大学 薬学部 薬物送達学研究室
Laboratory of Drug Delivery System,
Faculty of Pharma-Sciences,
Teikyo University

リポソーム表面電位などにより変化するが、おおむね5~10mol%程度を添加することが多い。PEGの末端は化学的に不活性なメトキシ基が一般的だが、アクティブターゲティング分子を修飾することを目的としたN-ヒドロキシスクシニミド基やマレイミド基も販売されている。

蛍光ラベルしたリポソームは、リポソームの生体内動態や細胞内動

態などの実験に使用されている。NBDやローダミンなどの蛍光物質をアシル基や親水基に修飾したリン脂質が販売されている。また、リポソームは細胞膜と同様に脂質二重層を形成しているため、DiIなどの細胞膜ラベル用の蛍光物質も使用できる。発光・蛍光インビボイメージング装置を用いた生体イメージングを行う際は、DiRなどの近赤外蛍光試

薬を用いることで生体組織による蛍光の吸収・散乱を低減できる。

近年では、リポソームの生体内動態・細胞内動態の制御を目的として、さまざまな機能性リポソームが開発されており、高機能化が進んでいる。上述のようにリポソーム構成材料にはリン脂質をベースに、脂質以外の両親媒性分子など、用途に応じたさまざまな分子が添加されている。