薬物キャリアの血中相互作用とターゲティング

西川元也・橋田 充*

Interaction of drug carriers with blood components and their application to drug targeting

Drug carriers are useful tools for controlling the *in vivo* disposition of drugs. The distribution of carriers are determined by their tissue interaction depending on the anatomical and physiological characteristics of each tissue and the physico-chemical and biological properties of carriers. Once these properties of carriers are quantitatively correlated with their tissue distribution, a proper drug carrier can be rationally developed. However, this is not the case for carriers which interact with blood components, such as blood cells and plasma proteins, before reaching to their targets. The properties of carriers will be altered by such interactions, which leads to various changes of the biofates of carriers. Carriers interact with plasma proteins in different ways: nonspecific interaction (adsorption), recognition by immune proteins, and metabolism and exchange of lipids. In general, the more plasma proteins bind to carriers, the faster they are eliminated from the blood circulation. Positively-charged carriers like cationic liposomes interact with negatively-charged plasma proteins, which sometimes leads to the aggregation of carriers and the embolization of blood vessels after intravascular administration. When drug carriers are recognized as non-self, they are removed by the mononuclear phagocyte system (MPS). The binding of immunoglobulins and complements to carriers extremely facilitates their removal by MPS. Mannan binding protein, an immune protein which recognize mannose or N-acetylglucosamine residue on virus-infected cells, can interact with carriers possessing mannose moieties. In addition, binding of apolipoproteins triggers the metabolism of o/w emulsions followed by their uptake by hepatocytes *via* apolipoprotein E-specific receptors. To regulate *in vivo* distribution of drug carriers, therefore, their interactions with plasma proteins should be suppressed. Coating of carriers with hydrophilic macromolecules, such as poly (ethylene glycol) and ganglioside G_{M1}, is a promising approach to suppress such interactions. In conclusion, we can theoretically develop a well-designed drug carrier system by considering its interactions with blood components as well as with tissues.

Makiya Nishikawa・Mitsuru Hashida*

key words : drug carrier, plasma protein, physicochemical property,
drug targeting, mononuclear phagocyte system

薬物ターゲティングは、標的部位になんらかの親和性を有する物質を薬物キャリアに用い、薬物の標的以外への移行を抑制するとともに、標的部位へ選択的に送達することにより達成される。こ

うした目的に利用可能な薬物キャリアは、その性状から大きく高分子性キャリアと微粒子性キャリアに分類できる。いずれの場合にも薬物の体内分布は、薬物/キャリア複合体の体内分布特性と、ここからの薬物放出特性により決定される。放出された薬物は、その薬物固有の体内挙動をとると考えられるため¹⁾、キャリアを利用した薬物ターゲティングにおいては、体内各組織への薬物/キャリ

* Department of Drug Delivery Research, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University, 46-29 Yoshida-shimoadate-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8501 京都大学大学院薬学研究科薬品動態制御学分野
Offprint request to : Mitsuru Hashida, Ph. D.

ア複合体の集積性を制御することが必要不可欠である。薬物キャリアの体内挙動は薬物の場合と同様、各生体組織とキャリアとの相互作用の結果として得られるため、各組織固有の解剖学的・生理学的特徴とキャリアの物理化学的・生物学的特性とが体内挙動を決定する重要な要因となる²⁾。

薬物キャリアの体内動態を支配する生体側特性としては、血流、毛細血管の構築、単核食細胞系細胞による捕捉、糸球体濾過、生物学的認識機構の認識特性・局在性などがあげられる。循環血液中に到達した薬物は、血流によって各組織に運搬されることから、各組織に流入する動脈血の流量および動脈血中濃度が、組織へのキャリア移行速度を決定する因子となる。移行先の各組織では、キャリアは毛細血管壁の透過性に依存して血管外へ漏出するが、毛細血管壁の構造は組織によって異なり、連続型、有窓型および不連続型の3種類に分類される³⁾。微粒子性キャリアの場合には、比較的サイズが大きいいため、不連続内皮からなる毛細血管網を有する肝臓、脾臓、骨髄などの組織以外では、血管外への漏出は起こりにくい。また、毛細血管壁を介する物質透過は病態によって大きく変化し、たとえば固形腫瘍では新生血管の物質透過性が高く、血中の比較的大きな物質も血管外へ漏出可能であり、高分子性キャリアに限らず微粒子性キャリアも血管外へ漏出する⁴⁾。こうした血管壁透過に加え、単核食細胞系細胞による貪食、糸球体濾過による消失、レセプターなどの認識機構を介する特異的結合などにより、それぞれキャリア固有の分布特性が形成される。このように生体各組織は、薬物キャリアをその物理化学的・生物学的特性に基づいて認識・処理を行うため、キャリアの体内動態はこれら特性を制御することにより最適化することが可能であると考えられる。その一例として、物性の異なる各種高分子性キャリアの体内動態特性を、肝臓への取り込みクリアランスと糸球体濾過クリアランスに基づいて整理した結果を図1に示す。ここでは、各高分子性キャリアの体内動態は、その分子量や電荷あるいはガラクトース、マンノースといった糖鎖構造を反映しており、キャリアの物性を厳密に制御すること

図1 高分子性キャリアの体内分布特性

各化合物のマウス静脈内投与後の肝臓取り込みクリアランスと糸球体濾過クリアランス、inulin, [¹⁴C]イヌリン, Dex(T-10), [¹⁴C]デキストラン(平均分子量約10,000), Dex(T-70), [¹⁴C]デキストラン(平均分子量約70,000), CMD(T-70), [¹⁴C]カルボキシメチル化デキストラン, DEAE(T-70), [¹⁴C]ジエチルアミノエチル化デキストラン, apoNCS, [¹¹¹In]ネオカルチノスタチン, lysozyme, [¹¹¹In]卵白リゾチーム, SOD, [¹¹¹In]ヒト型遺伝子組換えスーパーオキシドディスムターゼ, BSA, [¹¹¹In]牛血清アルブミン, Cat-BSA, [¹¹¹In]カチオン化牛血清アルブミン, Gal-BSA, [¹¹¹In]ガラクトース修飾牛血清アルブミン, Man-BSA, [¹¹¹In]マンノース修飾牛血清アルブミン, IgG, 牛免疫グロブリン, PLL, ポリリジン(平均分子量約59,000)。

電気的な特性はシンボルの色(中性:灰色, 負電荷:白, 正電荷:黒)で示し、多糖類は△, 蛋白質・ポリペプチドは○, 糖修飾体は□で示した。

により、その体内挙動を制御可能であることが示されている⁵⁾。

しかしながら、投与されたキャリアが血流によって各組織へ分布する際に、血液中において血球や血漿蛋白質などと相互作用し、物性が大きく変化する場合には、状況が変化することが予想される。こうした血中相互作用の様式には、① 非特異的吸着、② 免疫系蛋白質による認識、③ 脂質分子の代謝・交換反応などがあげられるが、いずれの場合にも、相互作用によりキャリア固有の物性の変化が考えられ、その場合キャリア固有の物

図2 薬物キャリアの体内動態と血中相互作用

図3 正電荷リポソームおよびその遺伝子複合体の血中相互作用

性に依存せず、相互作用の結果生じたキャリア/血液成分(多くの場合、血漿蛋白質)複合体の物理化学的・生物学的性質を反映した体内挙動を示す可能性が生じる(図2)。

そこで本稿においては、薬物キャリアの体内挙動に影響を及ぼす主な血中相互作用について整理し、あわせてこうした相互作用を回避あるいは積極的に利用することによる薬物ターゲティングのアプローチについても概説する。

非特異的相互作用

血液は細胞成分と液体成分から構成され、血漿中には多種多様な血漿蛋白質が含まれている。したがって、血中に到達した薬物キャリアは、標的部位へ到達する前にこれら血液構成成分と遭遇する。このとき、特異的な分子認識を介することなく非特異的に血漿蛋白質がキャリアと吸着(相互作用)することがある。特に、リポソームやエマルションなどの微粒子性キャリアは顕著な相互作用を示す。Chonnらは、脂質組成の異なるリポソームを用い、リポソームに結合した血漿蛋白質量とリポソームの血中消失半減期との間に良好な負の相関を見出している⁹⁾。このように、血中での相互作用はキャリアの体内動態に大きな影響を及ぼ

す。

血漿蛋白質の多くはアルブミンなど負電荷蛋白質であり、またその濃度も高いことから、正電荷を有するキャリアの場合にはこうした蛋白質が非特異的に大量に結合すると考えられる。最近では、各種細胞への遺伝子導入用キャリア(ベクター)として正電荷リポソームの利用が盛んに検討されているが、その *in vivo* 応用を検討する際には、血中成分との非特異的相互作用を考慮する必要がある(図3)。実際、こうした正電荷リポソームを血清中に添加することにより、大きな凝集体が形成されることが示されている⁷⁾。さらに、遺伝子医薬品との複合体として静脈内投与された場合には、肺の毛細血管を塞栓するとの報告もある⁸⁾。 *in vitro* の検討においても、正電荷リポソームによる各種細胞への遺伝子導入効率は、血清添加により低下する場合が多く⁹⁾、負電荷蛋白質の吸着による正電荷の中和や凝集塊の形成によるサイズ増大による細胞取り込みの低下がその原因と考えられている。したがって、正電荷リポソームは非ウイルスベクターとして有望ではあるが、遺伝子医薬品/正電荷リポソーム複合体が示すこうした血中相互作用・体内動態は、一般に制御困難であるため、遺伝子医薬品の体内動態制御・ターゲティングの観

図 4 マンノース修飾キャリアの体内動態概念図

点からは、リガンドを結合した高分子性キャリアのほうがすぐれていると考えられる¹⁰⁾。

免疫系蛋白質による認識・排除

薬物キャリアは生体にとっては異物であり、生体防御系によって異物として認識されると、速やかに排除されてしまう。微粒子性キャリアは単核食細胞系細胞(組織マクロファージなど)に貪食されやすく、したがって静脈内投与後には単核食細胞系細胞が多い臓器(肝臓、脾臓)に集積する。マクロファージは元来、細菌などの微生物に直接結合する能力を有しているが、その貪食能は免疫グロブリン(IgG, IgM)あるいは補体系蛋白質の一種であるC3bが、微生物表面に結合することでいちじるしく促進される(オプソニン化)。微粒子性キャリアの場合にも、これらオプソニンとよばれる血漿蛋白質が結合することで単核食細胞系細胞による貪食が加速され、血中から速やかに消失する¹¹⁾。

また、薬物キャリアに抗体やC3bが結合することで補体が活性化される場合がある。リポソームのように膜構造を有するキャリアの場合には、補体活性化により膜表面で膜侵襲複合体が形成され、内容薬物が漏出するとともにキャリア構造が破壊される¹²⁾。こうした補体活性化の経路としては、免疫複合体が関与する古典的経路と、C3bの結合により開始される第二経路が知られていたが、これらに加え、レクチン経路の存在が最近知られるようになっていく。この経路の特徴は、一連の補体活性化を引き起こす最初の成分がマンナン結合蛋白質(MBP)であることである。MBPはマンノースおよびN-アセチルグルコサミンに特

異的なレクチンであり、ウイルス感染細胞表面にあらわれる高マンノース型糖鎖を認識し、補体活性化を引き起こすことが知られている¹³⁾。したがって、マンノース修飾キャリアは、肝臓の血管内皮細胞やマクロファージへの細胞選択的ターゲティングのための有望なキャリアであるが¹⁴⁾、一方で血清中のMBPがこうしたキャリアの体内動態に影響を及ぼすことも考えられる(図4)。筆者らは、肝臓の非実質細胞への選択的薬物ターゲティングの方法論として、マンノース修飾の利用を検討してきた¹⁵⁻¹⁸⁾。この一連の検討において、修飾率の異なるマンノース修飾牛血清アルブミン(Man-BSA)の体内動態を薬動的に解析した結果、マンノース残基数の増加につれてMan-BSAのMBPへの結合親和性が強くなり、結果としてマンノースレセプターを介した肝臓による取り込みが遅延することを明らかにしている¹⁹⁾。

キャリアに対し抗体が産生される場合には、そのキャリアに対する特異的抗体が2回目以降の投与時にキャリアに結合し、複合体を形成する。こうして形成された複合体は、Fcレセプターを介して主にマクロファージにより貪食されるため、速やかに血漿中から消失する。

脂質分子の代謝・交換反応

血液中で脂質分子は主にアルブミンやリポ蛋白質により運搬される。脂質を構成成分として含有するリポソームやエマルションなどでは、生体内でその構成脂質を欠失し、またリポ蛋白質などから生体由来の脂質を獲得する。こうした脂質の交換は、キャリアの物理化学的特性を変化させ、ひいては体内挙動を変動させる要因となる。

エマルション(o/w型)は、アポリポ蛋白質を含まないことを除けば、生体内のリポ蛋白質と構造的特徴が類似している。したがって、エマルションは血中に到達後、アポリポ蛋白質を獲得すると生体内の脂質代謝経路に組み込まれると考えられ、実際、投与後速やかに各種アポリポ蛋白質がエマルションに吸着・結合することが報告されている²⁰⁾。なかでも、アポリポ蛋白質CIIが結合することによりリポ蛋白質リパーゼによる脂質代謝が促進され、エマルションの粒径が小さくなるとともに²¹⁾、アポリポ蛋白質E(apo-E)が結合することで肝実質細胞により apo-E に対する特異的レセプターを介して速やかに取り込まれる²²⁾。この apo-E を介する取り込みは肝細胞選択的であることから、能動的薬物ターゲティングへの応用が考えられる。Rensen らは、エマルションに apo-E を添加することにより、抗ウイルス剤の肝細胞へのターゲティングに成功している²³⁾。

血中相互作用の制御

上述のように、薬物キャリアは血液中でさまざまな相互作用を示し、その結果生じるキャリア/血液成分複合体の特性を反映した体内動態を示す。したがって、キャリアを利用するアプローチにおいては、生体各組織の生理学的・解剖学的特徴を考慮するだけでなく、血液成分との相互作用をも考慮したキャリア設計をする必要がある。

薬物キャリアが血漿蛋白質と相互作用を示す場合、その機構・特性が十分把握できれば薬物ターゲティングへの積極的な応用が可能と考えられる。しかしながら、その応用範囲・標的部位は普遍的ではなく、多くの場合(たとえば薬物/キャリア複合体の血中滞留化による標的への受動的ターゲティングなど)においてはむしろ障害となる。こうした場合には、キャリアの血中相互作用を抑制することがその体内動態制御における第一段階となる。これは、製剤学的にはキャリアを親水的高分子により被覆することで実現可能であり、ポリエチレングリコール(PEG)鎖を含有する化合物やガングリオシド G_{M1}などが用いられている。こうした試みは、特にリポソームに関して活発に検

図5 微粒子性キャリアを用いて投与した薬物の肝臓取り込みクリアランスと薬物の脂溶性との関係

各化合物をリポソーム (egg yolk phosphatidylcholine : egg yolk phosphatidylserine = 0.7 : 0.3, 120 nm) あるいはエマルション (egg yolk phosphatidylcholine : egg yolk phosphatidylserine : soybean oil = 0.7 : 0.3 : 1, 100 nm) を用いて投与し、薬物固有の動態とキャリアの動態 ($[^{14}\text{C}]$ cholesteryl oleate で標識) を同時に評価した。○：リポソーム，●：エマルション。用いた化合物は $[^3\text{H}]$ prostaglandin E₁ (clogP=2.15), $[^3\text{H}]$ retinoic acid (6.61), $[^{14}\text{C}]$ cholesterol (9.46), $[^{14}\text{C}]$ probucol (10.7), $[^{14}\text{C}]$ cholesteryl oleate (18.3) である。

討されており²⁴⁾、ドキシソルピシンの血中滞留型リポソーム製剤(Doxil[®], Sequus)などがすでに上市されている。また、エマルションに関しても同様に、poloxamine, poloxamer あるいは HCO-60 のような PEG 鎖を有する化合物の添加によって、エマルションの血中滞留性は向上する²⁵⁾。こうした血中相互作用の抑制に基づく体内動態制御のアプローチは、微粒子性キャリアだけでなく蛋白質医薬品にも応用されており、PEG をはじめとする水溶性高分子修飾により、抗原性の低下・血中滞留化が達成されている²⁶⁾。また、PEG 修飾により血中相互作用の回避・単核食細胞系による捕捉を回避するとともに、モノクローナル抗体を利用して積極的に標的に送達する試みも行われている²⁷⁾。一方、PEG と比較すると、ガングリオシド G_{M1}の効果には種差があることが報告されており^{28,29)}、ヒトへの応用は困難と思われる。

リポソームやエマルションの場合には、その組成を変化させることによっても血漿蛋白質との相互作用は大きく変動する。ジステアリルフォス

図 6 薬物キャリアを利用したターゲティングの考えかた

ファチジルコリン(DSPC)のみから調製されたりリポソームと比較すると、DSPCとコレステロールからなるリポソームでは結合する血漿蛋白質の量が少なく、その結果、血中滞留性が良好であると考えられる³⁰⁾。また微粒子性キャリアでは、粒子サイズによっても血中相互作用は大きく変動する²⁵⁾。

薬物放出

薬物ターゲティングによる治療効果の改善には、標的部位での有効薬物濃度が重要な意味をもつ。したがって、有効な薬物ターゲティングの実現には、キャリア単独、あるいは薬物/キャリア複合体の体内動態を制御するだけでは不十分であり、活性を保持した薬物そのものの体内動態制御、選択的送達が求められる。すなわち、キャリアの動態を厳密に制御できたとしても、投与後生体内でキャリアから薬物が速やかに放出されてしまう場合には、効率的な薬物ターゲティングの実現は不可能である。

図5には、脂溶性の異なるモデル薬物をリポソームまたはエマルション製剤として投与した際の、肝臓取り込みクリアランスを示す³¹⁾。用いた薬物はいずれも脂溶性が高く、したがってリポソームやエマルションに容易に組み込まれる。しかしながら、静脈内投与後には prostaglandin E_1 や retinoic acid はキャリアとは異なる体内動態パターンを示しており、こうした相対的に脂溶性が低い薬物の場合には、生体内でキャリアから速や

かに放出されていることが推察される。これに対し、probucol 程度あるいはそれ以上の脂溶性を有する薬物の場合には、キャリアとほぼ等しい体内動態を示す。したがって、脂溶性薬物の体内動態をこうしたキャリアを用いて制御するためには、少なくとも薬物が十分に高い脂溶性を有することが必須であり、それには脂溶性を増大するプロドラッグ化が有望なアプローチとなる³²⁾。

また、高分子性キャリアへ薬物を共有結合するアプローチにおいても、標的における薬物放出性は、その薬物ターゲティングの有効性を決定する重要な問題である。筆者らは、水溶性高分子であるデキストランやポリアミノ酸を骨格とし、ガラクトースあるいはマンノース構造の特異的認識に基づく細胞選択的ターゲティングを可能とするデリバリーシステムの開発を行ってきた^{17,33-35)}。肝細胞への prostaglandin E_1 のターゲティングにおいては、薬物の結合様式により薬理効果が大きく異なる結果を得ており、薬物放出の重要性を実証している³⁶⁾。

おわりに

以上、キャリアを利用した薬物体内動態制御・ターゲティングにおける血中相互作用の重要性について概説した。キャリアを利用した DDS 製剤としては、すでに数種類の薬物に関してリポソーム、エマルション製剤が市販され、その有用性が評価されている^{37,38)}。また、生理活性蛋白質や遺伝子医薬品の投与においても、PEG 修飾あるいは各種デリバリーシステムの利用が進められている^{26,39)}。こうしたアプローチをより効率よく進展させていくためには、生体各組織との相互作用に加え、血液成分との相互作用をも考慮したキャリアデザインをすることが必須である(図6)。今後、本概念に基づいてデリバリーシステムを開発することにより、効果的な薬物ターゲティングが実現されるものと考えられる。

文 献

- 1) Hunt CA, MacGregor RD, Siegel RA: Engineering targeted *in vivo* drug delivery. I. The physiologi-

- cal and physicochemical principles governing opportunities and limitations. *Pharm. Res.* 3 : 333-344, 1986.
- 2) 橋田 充, 高倉喜信 : 生体内薬物送達学. 産業図書, 東京, 1994.
 - 3) Bennett HS, Luft JH, Hampton JC : Morphological classification of vertebrate blood capillaries. *Am. J. Physiol.* 196 : 381-390, 1959.
 - 4) Yuan F, Dellian M, Fukumura D, Leunig M, Berk DA et al. : Vascular permeability in a human tumor xenograft : molecular size dependence and cutoff size. *Cancer Res.* 55 : 3752-3756, 1995.
 - 5) Takakura Y, Mahato RI, Nishikawa M, Hashida M : Control of pharmacokinetic profiles of drug-macromolecule conjugates. *Adv. Drug Delivery Rev.* 19 : 377-399, 1996.
 - 6) Chonn A, Semple SC, Cullis PR : Association of blood proteins with large unilamellar liposomes *in vivo*. Relation to circulation lifetimes. *J. Biol. Chem.* 267 : 18759-18765, 1992.
 - 7) Oku N, Tokudome Y, Namba Y, Saito N, Endo M et al. : Effect of serum protein binding on real-time trafficking of liposomes with different charges analyzed by positron emission tomography. *Biochim. Biophys. Acta* 1280 : 149-154, 1996.
 - 8) Litzinger DC, Brown JM, Wala I, Kaufman SA, Van GY et al. : Fate of cationic liposomes and their complex with oligonucleotide *in vivo*. *Biochim. Biophys. Acta* 1281 : 139-149, 1996.
 - 9) Yang J-P, Huang L : Overcoming the inhibitory effect of serum on lipofection by increasing the charge ratio of cationic liposome to DNA. *Gene Ther.* 4 : 950-960, 1997.
 - 10) Nishikawa M, Takemura S, Takakura Y, Hashida M : Targeted delivery of plasmid DNA to hepatocytes *in vivo* : optimization of the pharmacokinetics of plasmid DNA/galactosylated poly(L-lysine) complexes by controlling their physicochemical properties. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 287 : 408-415, 1998.
 - 11) Moghimi SM, Patel HM : Serum-mediated recognition of liposomes by phagocytic cells of the reticuloendothelial system—The concept of tissue specificity. *Adv. Drug Delivery Rev.* 32 : 45-60, 1998.
 - 12) Szebeni J : The interaction of liposomes with the complement system. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 15 : 57-88, 1998.
 - 13) Turner MW : Mannose binding protein. *Biochem. Soc. Trans.* 22 : 88-94, 1994.
 - 14) 橋田 充, 西川元也 : 糖鎖とDDS. 糖鎖ハイブリッド. (稲田祐二, 川崎敏祐・編), 共立出版, 東京, 1995, p 242-259.
 - 15) Nishikawa M, Ohtsubo Y, Ohno J, Fujita T, Koyama Y et al. : Pharmacokinetics of receptor-mediated hepatic uptake of glycosylated albumin in mice. *Int. J. Pharm.* 85 : 75-85, 1992.
 - 16) Fujita T, Nishikawa M, Tamaki C, Takakura Y, Hashida M et al. : Targeted delivery of human recombinant superoxide dismutase by chemical modification with mono- and polysaccharide derivatives. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 263 : 971-978, 1992.
 - 17) Nishikawa M, Kamijo A, Fujita T, Takakura Y, Sezaki H et al. : Synthesis and pharmacokinetics of a new liver-specific carrier, glycosylated carboxymethyl-dextran, and its application to drug targeting. *Pharm. Res.* 10 : 1253-1261, 1993.
 - 18) Akamatsu K, Imai M, Yamasaki Y, Nishikawa M, Takakura Y et al. : Disposition characteristics of glycosylated poly(amino acids) as liver cell-specific drug carrier. *J. Drug Targeting* 6 : 229-239, 1998.
 - 19) Nishikawa M, Opanasopit P, Shiraishi K, Takakura Y, Hashida M : Pharmacokinetic analysis of mannose receptor-mediated hepatic targeting of proteins : capacity-limited hepatic uptake and saturable binding in plasma. *Proc. Int. Symp. Controlled Release Bioact. Mater.* 25 : 506-507, 1998.
 - 20) Erkelens DW, Brunzell JD, Bierman EL : Availability of apolipoprotein CII in relation to the maximal removal capacity for an infused triglyceride emulsion in man. *Metabolism* 28 : 495-501, 1979.
 - 21) Goldberg IJ, Scherardi CA, Yacoub LK, Saxena U, Bisbaier CL : Lipoprotein apoC-II activation of lipoprotein lipase. *J. Biol. Chem.* 265 : 4266-4272, 1990.
 - 22) Mahley RW, Hussain MM : Chylomicron and chylomicron remnant catabolism. *Curr. Opin. Lipidol.* 2 : 170-176, 1991.
 - 23) Rensen PCN, van Dijk MCM, Havenaar EC, Bijsterbosch MK, Kruijt JK et al. : Selective liver targeting of antivirals by recombinant chylomicrons—a new therapeutic approach to hepatitis B. *Nat. Med.* 1 : 221-225, 1995.
 - 24) 丸山一雄 : PEG-リボソームによるDDSと臨床応用. *日本臨床* 56 : 632-637, 1998.
 - 25) Nishikawa M, Takakura Y, Hashida M : Biofate of fat emulsions. Submicron emulsions in drug targeting and delivery. (ed. Benita S), Harwood Academic Publishers, The Netherlands, 1998, p 99-118.
 - 26) Monfardini C, Veronese FM : Stabilization of substances in circulation. *Bioconjugate Chem.* 9 : 418-450, 1998.
 - 27) Maruyama K, Takizawa T, Yuda T, Kennel SJ, Huang L et al. : Targetability of novel immunoliposomes modified with amphipathic poly(ethylene glycol)s conjugated at their distal terminals to monoclonal antibodies. *Biochim. Biophys. Acta* 1234 : 74-80, 1995.
 - 28) Liu D, Hu Q, Song YK : Liposome clearance from blood : different animal species have different mechanisms. *Biochim. Biophys. Acta* 1240 : 277-284, 1995.
 - 29) Liu D, Song YK, Liu F : Antibody dependent, complement mediated liver uptake of liposomes containing GM₁. *Pharm. Res.* 12 : 1775-1780, 1995.
 - 30) Semple SC, Chonn A, Cullis PR : Influence of cholesterol on the association of plasma proteins with liposomes. *Biochemistry* 35 : 2521-2525, 1996.
 - 31) Takino T, Nakajima C, Takakura Y, Sezaki H,

- Hashida M : Controlled biodistribution of highly lipophilic drugs with various parenteral formulations. *J. Drug Targeting* 1 : 117-124, 1993.
- 32) Sasaki H, Takakura Y, Hashida M, Kimura T, Sezaki H : Antitumor activity of lipophilic prodrugs of mitomycin C entrapped in liposome or o/w emulsion. *J. Pharmacobio-Dyn.* 7 : 120-130, 1984.
- 33) Hirabayashi H, Nishikawa M, Takakura Y, Hashida M : Development and pharmacokinetics of galactosylated poly-L-glutamic acid as a biodegradable carrier for liver-specific drug delivery. *Pharm. Res.* 13 : 880-884, 1996.
- 34) Hashida M, Hirabayashi H, Nishikawa M, Takakura Y : Targeted delivery of drugs and proteins to the liver via receptor-mediated endocytosis. *J. Controlled Release* 46 : 129-137, 1997.
- 35) Akamatsu K, Nishikawa M, Takakura Y, Hashida M : Synthesis and biodistribution study of liver-specific prostaglandin E 1 polymeric conjugate. *Int. J. Pharm.* 155 : 65-74, 1997.
- 36) Hashida M, Akamatsu K, Nishikawa M, Yamashita F, Takakura Y : Design of polymeric prodrugs of prostaglandin E 1 having galactose residue for hepatocyte targeting. *J. Controlled Release*, (in press).
- 37) Lasic DD : Novel applications of liposomes. *TIB Tech.* 16 : 307-321, 1998.
- 38) Klang S, Benita S : Design and evaluation of submicron emulsions as colloidal drug carriers for intravenous administration. *Submicron emulsions in drug targeting and delivery*. (ed. Benita S), Harwood Academic Publishers, The Netherlands, 1998, p 119-152.
- 39) Mahato RI, Takakura Y, Hashida M : Nonviral vectors for *in vivo* gene delivery : physicochemical and pharmacokinetic considerations. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 14 : 133-172, 1997.