ドラッグデリバリーシステムとマイクロマシン

高倉喜信^{*1)}, 丸山一雄^{*2)}, 横山昌幸^{*3)}*Drug delivery systems and micromachines*

This review explains correlation between drug delivery systems and micromachines with focusing on drug targeting. Micromachines are mm order-sized or smaller machinery for functions in microscopic scales. "Drug targeting machine" has been described in the micromachine field as one "dream machine" working in living bodies. On the other hand, this dream has been achieved to a considerable extent in the DDS field using nano-sized carrier systems such as liposomes, synthetic and natural polymers. These carriers can be recognized as molecular machines that made from macromolecules or made by association of molecules. This review summarizes recent advances in nano-sized drug carriers and the future perspective of drug carrier research and its developments in terms of nanotechnologies.

Yoshinobu Takakura^{*1)}, Kazuo Maruyama^{*2)}, Masayuki Yokoyama^{*3)}*key words : drug delivery, drug targeting, micromachine, nano technology, drug carrier*

ドラッグデリバリーとマイクロマシン

マイクロマシン¹⁾とは通常メートルやセンチメートルオーダーの機械のサイズを大幅に小さくし、大きさ数 mm 以下の高度な機能要素から構成された微小な機械のことである。このような微小な機械をつくる目的は ① 微細な作業を行う、② 省エネルギーである。① の微細な作業のなかで、体腔内や血管内で用いる医療分野への応用には大きな期待がかけられている。このマイクロマシンとドラッグデリバリーとの接点を検討し、そこから将来の研究・開発の展望をまとめたのが本総説である。

ドラッグデリバリーシステムの研究と開発に係わる大部分の者にとって、通常はあまり係わることの

ないマイクロマシンとの関連を今回探索するきっかけとなったのは、2000 年 11 月 8 日(水)～10 日に行われた第 11 回マイクロマシン展²⁾に日本 DDS 学会としてのパネル展示を行ったことによる。ドラッグデリバリーとマイクロマシンの両領域が共有する接点として、本著者がリストアップしたのは以下の 3 項目である。

- (a) ミクロなカテーテルからの血管内、組織内への薬物放出
- (b) 半導体マイクロパターンングを利用したミクロな薬物放出デバイス
- (c) ナノキャリアを利用した薬物ターゲティング

本著者らは、この 3 項目のうち、研究がもっとも盛んに行われており、かつマイクロマシン展の来場者にもっとも興味を引きやすいと考えられた、(c) についてのパネル展示を行った。本総説はマイクロマシンという観点から薬物のターゲティングを再整理し、さらに未来の研究・開発の展望を探った。

マイクロマシンの一つの未来構想あるいは夢として語られることの多いもののひとつが“薬物ターゲティングマシン”である。もし、1966 年に作製された SF 映画“ミクロの決死圏”をご存じの方は、そこ

^{*1)} Department of Biopharmaceutics and Drug Metabolism, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606-8501 京都大学大学院薬学研究科病態情報薬学分野

Offprint requests to : Yoshinobu Takakura, Ph. D.

^{*2)} Department of Pharmaceutics, School of Pharmaceutical Sciences, Teikyo University, 1091-1 Suarashi Sagami-cho, Tsukui-gun, Kanagawa 199-0195 帝京大学薬学部薬剤学教室

Offprint requests to : Kazuo Maruyama, Ph. D.

^{*3)} Institute of Biomedical Engineering, Tokyo Women's Medical University Kawada-cho 8-1, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8666 東京女子医科大学医工学研究施設

Offprint requests to : Masayuki Yokoyama, Ph. D.

図1 ドラッグターゲティングマシンの概念

で描かれた $5\mu\text{m}$ 程度に縮小化された潜水艦が血液や体液中を移動して脳内の血栓を治療する場面が思い起こされることと思う。この映画では治療にレーザー光線を用いているのだが、これを薬物としたのがまさに“薬物ターゲティングマシン”である。実際に金属を用いた可動性薬物カプセルをつくらうとするマイクロマシンの研究は行われることはなかったが、図1の“薬物ターゲティングマシン”の概念図に示したシステムは金属ではなく、高分子や脂質などのマテリアルを用いることでかなりの要素が現実のものとなっている。次節以降で、図1に描かれた“薬物ターゲティングマシン”を念頭に、現時点までの実現と将来展望をまとめた。

薬物ターゲティングマシンに必要な因子^{3,4)}

マイクロマシンが薬物を搭載して生体内の標的にたどり着くために必要な基本的因子としては、① 大きさ、② 生体適合性の二つがあげられる。

全身投与されたマシンがその活躍の場である生体内において標的組織に向う際には、主に全身に張り巡らされている血管内を血流に乗って移動することが想定される。生体内を自由に移動するためには、第一にマシンの大きさが各組織に存在する毛細血管の内径より小さいことが必要条件となる。毛細血管

は組織によらずほぼ直径が $5\mu\text{m}$ 程度といわれており、基本的にはこの値がマシンの上限サイズとなるが、上述の“ミクロの決死圏”に登場する潜水艦はちょうどこのくらいの大きさに設定されていた。

このディメンションは、血液細胞の大きさに対応しており、代表的な赤血球は直径約 $7.5\mu\text{m}$ 、厚さ $2\mu\text{m}$ の大きさをもつ円盤状の細胞であるが(図2)、毛細血管部分を通る際にはその直径より若干大きいため血管壁に接触するが、柔軟性を有するため多少の変形を伴い通過することが知られている。これより大きいサイズで硬いマシンを用いた場合には、毛細血管床に塞栓を起してしまうが、これは原始的な方法ではあるものの癌の化学塞栓療法に代表されるターゲティングが可能である。この場合には、マシンは塞栓すべき臓器のすぐ上流の動脈から投与すればよい。しかしながら、より遠隔部位にある標的を目標とする場合にはもっとサイズの小さいマシンが必要となる。 $5\mu\text{m}$ より小さい場合には、血液中に保持されうるが、多くの場合、異物として肝臓、脾臓等の細網内皮系に速やかに補足されてしまうため長時間血管内を循環することができない。後述するようにこれを左右するのはマシンの生体適合性である。

一方、標的組織でマシンが血管外へ出て標的細胞にアクセスするためには、さらに毛細血管の隙間よ

図 2 ドラッグキャリアのサイズ

図 3 ドラッグキャリアの表面材料の生体適合性

り小さいサイズが要求されるが、肝臓類洞のフェネストラ(窓)のサイズは約 100~200 nm, 毛細血管の透過性が亢進している腫瘍組織においても最大数百 nm 程度であるため、ナノスケールの大きさが必要である。図 2 に示した既存の薬物キャリアのサイズを参照して頂きたい。

もう一つの重要な因子である生体適合性はマシンの表面特性に大きく依存している(図 3)。血管内に投与されたあと、最初に遭遇する血液成分との相互

作用は回避すべきもっとも重要な因子と考えられる。たとえば、補体などによるオプソニン化などは細網内皮系による貪食を促進してしまうので絶対避けなくてはならない。細網内皮系の細胞による直接認識もなるべく受けにくいように設計する必要がある。このためには、ナノマシン表面の疎水性や電荷などの物理化学的性質の最適化を実現しなくてはならない。サイズが多少大きくても血液中を安定に循環する赤血球の表面が弱い負電荷に帯電している現

象, ポリエチレングリコール修飾が高分子や微粒子のステルス化を可能としている事実などが, こうした薬物ターゲティングナノマシンを開発する際の何らかの指針となるかもしれない。

ドラッグターゲティングの現状⁵⁾

現在, 薬物ターゲティングに利用される微粒子型キャリアは, 調製に用いられる素材の面から, 脂質分子の集合体(リポソーム, リピッドマイクロスフィア)と高分子マトリックスからなるマイクロスフィアや高分子ミセルに大別できる。これら微粒子型キャリアの体内動態は, キャリアの物理化学的性質と先に述べた生体各部位の形態的・生理的特性とのバランスによって規定される。

つまり, こうしたキャリアのターゲティングは, 血液循環作用, 拡散および容積流輸送という生体の機能を受け身に利用していることになり, “パッシブターゲティング(passive targeting)”⁶⁾とよばれる。これに対して, このようなキャリアにさらに特殊な仕組みを付け加え, 体内動態を積極的に制御するターゲティングを, “アクティブターゲティング(active targeting)”とよんでいる。後者には, 抗体やレクチンなど特定細胞に親和性を有する物質を利用する方法や, 磁力のような体外から作用する物理的な力を利用してキャリアを誘導する方法がある。

微粒子キャリアの場合, 固形癌へのパッシブターゲティングの戦略となっているのが, EPR 効果である。これは Enhanced Permeability and Retention effect の略で, 1986 年に熊本大学の前田, 松村が提唱したものである^{7,8)}。EPR 効果とは, 腫瘍における微小脈管レベルでの特異性(次の①から④)にもとづく高分子やリピッド・リポソーム・高分子微粒子などの特異的な動態で, それらは血中から癌組織間質へ漏出し, いったん出たものは管腔側に戻りにくく蓄積する現象である。

① 新生血管の増生

② 腫瘍血管の機能と構造上の欠陥: 腫瘍血管は血管作動性ペプチドであるアンジオテンシンII に応答しない(これが, 昇圧化学療法の基礎となっている。電子顕微鏡レベルでも指摘されて

いるように, 腫瘍血管は異常な分岐と歪曲をもつ不規則で脆弱な構造をしている。

③ 血管透過性の著明な亢進と高分子物質の腫瘍血管を介する回収の欠如

④ リンパ系を介する回収の欠如: 腫瘍組織は非常にリンパ管に乏しい。

実用化されている脂質分子の集合体からなる微粒子キャリアには, 脂肪輸液製剤の分散相である油滴微粒子をプロスタグランジンやステロイド剤などの脂溶性薬物のキャリアに利用したりリピッドマイクロスフィアと, リン脂質を基本とする脂質二重層からなる閉鎖型小胞のリポソームに抗真菌剤アムホテリシン B や抗癌剤ドキシソルビシンを包含させたりリポソーム製剤がある。ところで, 微粒子キャリアは, 異物処理機構によって肝臓を中心とする細網内皮系細胞による貪食を受けるため, 全身レベルでのターゲティングを期待する場合, 積極的な異物処理機構の回避が非常に重要な因子である。リポソームでは表面をポリエチレングリコールで被覆する試みが行われ成功を収めている^{9,10)}。

このようなポリエチレングリコール修飾リポソームは“ステルスリポソーム”あるいは“ニンジャ(忍者)リポソーム”と名付けられている。100 nm 前後のステルスリポソームは細網内皮系による取り込み回避の結果, 血中滞留性が高まり, 血管透過性が亢進している炎症部位, 感染部位など, 特に EPR 効果によって癌組織に集積するようになる。また, 集積したリポソームからハイパーサーミアなどの熱処理によって包含薬物が高濃度に放出されるように工夫された温度感受性のステルスリポソームも開発されている¹¹⁾。ステルスリポソームの表面に抗体を付加したステルスイムノリポソームでは, 血中滞留性を損なわないように抗体の Fab' フラグメントが使用され, “パッシブターゲティング”で癌組織に集積させ, そこで癌細胞を認識して細胞表面に結合あるいは細胞内にエンドサイトーシスで取り込ませる“アクティブターゲティング”が可能である¹²⁾。アンテナに相当する抗体の Fab' フラグメント組み込み, 生体適合性を具備したステルスイムノリポソームは, ターゲティングナノマシンのプロトタイプといえるもので, 生理活性蛋白や遺伝子などを細胞内に送達

キャリアとして、今後重要なシステムになるものと考えられる。現在、ドキソルビシンを封入したステルスイムノリポソームが、前臨床試験評価段階にある。

合成高分子を用いながら、高分子を会合させることでよりサイズの大きいサイズのキャリアシステムとしたのが高分子ミセルである^{13,14)}。二つの高分子鎖が直列につながった形のブロックコポリマーを用いて、薬物を導入した内核と、それを取りまく外殻の2相構造を形成させるものである。高分子ミセルは通常20~100 nmの直径という、癌へのパッシブターゲティングに必要とされるサイズである。図1のドラッグターゲティングマシンの概念図で考えると、高分子ミセルは薬物保持する内側の機構と生体による異物認識を受けない外側の表面がナノスケールで明確に分離できている構造となっている。横山と片岡らの研究グループ^{15,16)}は、抗癌剤ドキソルビシンを内包した高分子ミセルを用いて、著しい*in vivo* 抗癌活性の増進を得、癌組織への選択性高い集積を確認した。この高分子ミセルは、現在、前臨床試験評価を目前にした開発が進行中である。

合成高分子を用い、静脈内投与による全身レベルでのパッシブターゲティングでもっとも進んでいるのは、Kopecek, Duncanらによって研究されている、ビニル系の水溶性合成高分子である PHPMA をベースにしたシステムである。PHPMA に四つのアミノ酸からなるスパーサーを介して抗癌剤を結合させたものである。この抗癌剤を高分子に固定している化学結合は血液中では安定で、細胞に取り込まれたあとリソゾーム内の酵素で開裂されて抗癌剤を放出し、殺細胞効果を発揮するように設計されている。この設計は図1のドラッグターゲティングマシンの概念図のターゲット探索装置および薬物放出装置に対応する。この PK 1 は、イギリスにおいて第1相が終了し、臨床第2段階を実施中である^{17,18)}。

スマンクス/リポドール[®]はわが国で開発され、肝細胞癌の肝動注による治療薬として実用化に至った最初のターゲティング型 DDS である。これは、抗癌性抗生物質ネオカルチノスタチンにブチルエステル化したスチレン-マレイン共重合体を結合させ分子量と疎水性を高めた高分子化医薬スマンクスを油

性造影剤リポドールに懸濁させた DDS である。この場合、腫瘍の新生血管の組織学的、機能的な特性に従い支配動脈より動注後腫瘍組織内に数カ月にとり滞留する性質を有するリポドールがターゲティングマシンとして機能していると考えられるが、いわゆる EPR 効果をうまく利用したパッシブターゲティングに分類される。またリポドールとの相性を改善する目的で抗癌剤の物理化学的性質を化学修飾により改変し、スマンクスという形にしてリポドールというマシンに薬物を搭載した点も成功の要因と考えられる。

第2節で述べたように、全身投与で積極的に標的を狙い撃ちするためにはサイズが小さい必要があるが、むしろリポドールという非常に大きな油滴を用い、選択的カテーテル法という医療技術を応用して肝癌細胞が存在するすぐ上流の肝動脈から投与することで腫瘍組織への選択性を達成したアプローチと考えられる。

未来展望

本総説でマイクロマシンと薬物ターゲティングの接点を探索したのであるが、最後にこれからの研究・開発で重要となるであろうと考えられる二つのキーワードを書き留め、その展望を記しておきたい。まずその第1が“ナノテクノロジー”である。本総説第2節に書いたように、薬物キャリアにはナノスケールの大きさが必要とされ、近年のナノテクノロジーに対する熱望の到来を待つまでもなく、まさにマテリアルを用いたナノテクノロジーを実行してきたのが薬物キャリアの研究そのものであった。事実、2000年2月にアメリカのクリントン大統領によって唱えられた“Nanotechnology Initiative”¹⁹⁾にはナノサイズのキャリアを用いた薬物ターゲティングが1項目として盛り込まれている。ナノスケールで機能する“マシン”を作製するには、もはや既存の機械をミニチャ化するのは通用せず、マテリアルや分子を用いたいわば“モレキュラマシン”が不可欠である。21世紀の開始に当り、ナノテクノロジーの大きな潮流のなかで、ドラッグターゲティングをナノテクノロジーの重要な要素であり、もっとも付加

価値の高い応用の一つとして認識し、研究と開発を進めてゆく必要があると確信される。

第2のキーワードは、“推進力”である。図1に示した“薬物ターゲティングマシン”の概念は本総説の第2および第3節に記したとおり、そのほとんどの要素が実現している。しかし、ターゲティングマシンを任意の部位に運搬するための推進力を得ることは実現していないといつてよからう。誤解のないように確認すると、抗体などの active targeting のキャリアは、そのキャリア自体が抗原などの標的部位に推進力をもって自発的に向かって行くのではなく、血液や体液中を拡散や容積流輸送によって移動し、偶然に標的に達したものが結合してその部位にとどまるだけである。また、磁性微粒子を利用したターゲティングでも、磁力を与えた部位にキャリアが流されず留まるというのがその本質である。

現在得られている薬物キャリアの移動は血液循環作用、拡散および容積流輸送という受け身的な現象に頼らざるを得ない状況である。よって、体内でのキャリアの位置、方向をリアルタイムで測定する技術を伴って、薬物キャリアの推進力が得られれば、ターゲティングの大きなブレークスルーとなることであろう。ナノスケールの薬物キャリアであるので、モーターのようなマクロな機械をマイクロ化することで実現することは不可能である。現時点では薬物キャリアに推進力を与える手段は存在しないが、次世代のナノテクノロジーの発展に期待するところである。(たとえば微生物のもつ鞭毛は直径 10 nm の大きさのモーターとして、微生物の移動推進力となっている。現時点では鞭毛モーターの機能解析を目指した生科学的、分子生物学的研究が行われ、これをナノスケールの人工物の移動手段とする研究は行われるには至っていない。)

文 献

- 1) マイクロマシンセンターホームページ <http://www.ijj-net.or.jp/MMC/>
- 2) 第11回マイクロマシン展ホームページ <http://www.mesago-messefrankfurt.com/micro/>
- 3) 橋田 充, 高倉喜信: 生体内薬物送達学, 産業図書, 1994.
- 4) 高倉喜信: 高分子を利用したパッシブターゲティング, *Drug Delivery System* 14: 427-431, 1999.
- 5) 橋田 充: ドラッグデリバリーシステム, 化学同人, 京都, 1995.
- 6) 高倉喜信, 丸山一雄, 横山昌幸: パッシブターゲティングの意義, *Drug Delivery System* 14: 425-426, 1999.
- 7) Matsumura Y, Maeda H: A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: Mechanism and antitumor agent smancs, *Cancer Res* 46: 6387-6392, 1986.
- 8) Maeda H, Wu J, Sawa T, Matsumura Y, Hori K: Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review, *J Control Release* 65: 271-284, 2000.
- 9) Klibanov AL, Maruyama K, Huang L: Amphipathic polyethyleneglycols effectively prolong the circulation time of liposomes, *FEBS Lett* 268: 235-237, 1990.
- 10) Allen TM, Hansen C, Martin FL et al.: Liposomes containing synthetic lipid derivatives of poly(ethylene glycol) show prolonged circulation half-lives *in vivo*, *Biochim Biophys Acta* 1066: 29-36, 1991.
- 11) 丸山一雄: リポソームによるパッシブターゲティング, *Drug Delivery System* 14: 433-447, 1999.
- 12) Maruyama K, Takahashi N, Tagawa T et al.: Immunoliposomes bearing polyethyleneglycol-coupled Fab' fragment show prolonged circulation time and high extravasation into target solid tumors *in vivo*, *FEBS Lett* 413: 177-180, 1997.
- 13) 横山昌幸: 微粒子キャリアによるパッシブターゲティング, *Drug Delivery System* 14: 449-457, 1999.
- 14) 横山昌幸: 高分子ミセドラッグキャリアによる固形ガンのターゲティング治療, *生体材料* 16: 276-281, 1998.
- 15) Yokoyama M, Okano T, Sakurai Y, Ekimoto H, Shibazaki C, Kataoka K: Toxicity and antitumor activity against solid tumors of micelle-forming polymeric anticancer drug and its extremely long circulation in blood, *Cancer Res* 51: 3239-3236, 1991.
- 16) Yokoyama M, Okano T, Sakurai Y, Fukushima S, Okamoto K, Kataoka K: Selective Delivery of Adiramyacin to a Solid Tumor Using A Polymeric Micelle Carrier System, *J Drug Targeting* 7: 171-186, 1999.
- 17) Cassidy J: Abstracts of 4th International Symposium on Polymer Therapeutics, 2000 p22.
- 18) Duncan R, Seymour LW, O'Hare KB, Flanagan PA, Wedge S, Hume IC, Ulbrich K, Strohalm J, Subr V, Spareafico F, Grandi M, Ripamonti M, Farao M, Suarato A: Preclinical evaluation of polymer-bound doxorubicin, *J. Contr Rel* 19: 331-346, 1992.
- 19) http://www.whitehouse.gov/WH/New/html/20000121_4.html
<http://www.nano.gov/>