ポリマーミセルを用いた新たなドラッグキャリアシステム

横山昌幸・岡野光夫・桜井靖久^{*1)}、片岡一則^{*2)}*A novel drug carrier system with polymeric micelles*

Concept and methodology of micelle-forming polymeric drug is reviewed. Drug targeting using drug carriers had been studied with three types of carriers; liposomes, microspheres, and polymers. Now however, a successful example of drug targeting using any drug carrier has not been obtained because of low performance of drug carriers. A novel type of drug carrier system, micelle-forming polymeric drug is presented here. Polymeric micelles were constructed by amphiphilic structure of drug-polymer conjugate using a block copolymer. Expected superior features of the polymeric micelles as a drug carrier are long half-life in bloodstream, high water solubility, no long term-accumulation, high stability etc. Furthermore, functions which are needed for the ideal drug carrier can be shared by different polymer segments which become outer shell and inner core of the micelle.

This separated functionality is favorable to get highly functionalized drug carrier system. Several unique characters and superior performance of the micelle-forming polymeric drug to the conventional drug carrier systems are described by the authors' work which is a conjugate of anticancer drug, adriamycin and poly(ethylene glycol)-poly(aspartic acid) block copolymer.

Masayuki Yokoyama・Teruo Okano・
Yasuhisa Sakurai^{*1)}, Kazunori Kataoka^{*2)}

key words : polymeric micelle,
polymeric drug, drug targeting, drug carrier

ドラッグターゲティングのためのドラッグキャリアシステムの中核で、従来にはない新しい形態であるポリマーミセル(高分子ミセル)を用いたシステムについて、その方法論を中心に実例を交えてまとめている。

図1 ドラッグターゲティングの方法

ドラッグターゲティングとドラッグキャリア

ドラッグターゲティングとは、病変臓器、組織、細胞にのみ選択的に薬物を運び、そこでの、薬効を選択的に高めて、他の正常部位への副作用をなくす方法論である。これは、図1に示すように、標的部位への運搬能力を持つキャリアと薬理作用

を有する薬物とを組み合わせ、選択的な薬効を得るというものである。この考えかたそのものは非常に単純で明解であり、また、これに関する研究例の多さ(特に最近15年間)と歴史の深さ(源はP. Ehrlichにまで遡れる)にもかかわらず、1990年現在において実用化に至ったものはない。その理由は、現在までに得られているキャリアの性能が低いためである。ドラッグキャリアとして求められる性能・性質は、図2に示すように数多く、キャリアの設計は複雑なものに思われる。

^{*1)} Institute of Biomedical Engineering, Tokyo Women's Medical College 東京女子医科大学医工学研究施設

^{*2)} Department of Materials Science and Technology, Faculty of Industrial Science and Technology, Science University of Tokyo 東京理科大学基礎工学部材料工学科

図2 ドラッグキャリアの満たすべき要件と設計方針

しかし、ながら、視点を変えてみると、ドラッグキャリアの設計方針は図2の下側に示すように、無選択的な浪費の抑制と標的への選択的な薬効の増大とに集約される。現在までのドラッグキャリアの研究の多くは②の方針にのみ重点が置かれ、①についての研究は少ない。無選択的な浪費が十分に少なくなったときにはじめて、標的への選択性向上の検討が有効なものになると考えられる。

ドラッグキャリアの種類

ドラッグキャリアとして従来から研究されてきたものを大別すると、リポソーム、ミクロスフィア、ポリマー(天然および合成)となり、それぞれ長所とともに少なからず欠点を抱えている。リポソームでは *in vivo* 環境下での不安定性¹⁻⁴⁾、ミクロスフィアでは細網内皮系による取り込み⁵⁾、ポリマーでは疎水性薬物導入による水溶性の低下^{6,7)}などである。

ここにあげた欠点はいずれも前節で述べた無選択的な浪費につながるものであり、この克服のためには各キャリアの性質の改善とともに、新しいタイプのキャリアによる不連続的な飛躍が望まれるところである。

図3 ミセル形成型ポリメリックドラッグの概念

ドラッグキャリアとして的高分子ミセル：ミセル形成型ポリメリックドラッグ

高分子ミセル型ドラッグキャリアシステムは、図3に示すように、二つのポリマーセグメントよりなるAB型のブロックコポリマーのうち、片方のセグメントにのみ薬物を導入し、その薬物導入セグメントを疎水性に、もう一つのセグメントを親水性にした薬物-ブロックコポリマー複合体によって構成される。この複合体は両セグメントの両親媒性により、水系の溶媒中で疎水性の薬物導入セグメントを内核に、親水性セグメントを外殻にした高分子ミセルを形成する。薬物導入セグメントの疎水性は、導入する薬物または疎水性のポリマーセグメントによって与えられる。また、高分子ミセルを形成させるための必要条件は高分子の不均質な構造であることなので、図3の構造のほかに、グラフトコポリマーも有力な候補となる。ただし、エントロピー的なミセル形成のしやすさと、ポリマーの構造と形成するミセルの構造(大きさなど)の対応性を考慮すると、ブロックコポリマーの方が好ましいと思われる。

さて、このミセル形成型ポリメリックドラッグの特長はなにかについて考えてみたい。この命題を別の言葉でいえば、1本1本遊離した形態では、たんなるポリマードラッグであるものがミセルを形成する意義がなんであるかということになる。この点を表1にまとめる。

表 1 ミセル形成型ポリメリックドラッグの特長

- ながい血中半減期のための適切な粒子径
- 長期での非蓄積性
- 高い水溶性
- 高い薬物安定性
- 構成ポリマーセグメントへの機能分化
- その他

まず第一にあげられるのが、ミセルの粒子径である。高分子ミセルは、その構成ポリマーが1本1本遊離して存在する場合にくらべて、はるかに大きな粒子として血液中などに存在する。この粒子径を適切に調節することにより、腎臓における排出を抑えてながい血中半減期を達成する。加えて、構成ポリマーの分子量の設計において、ミセルの状態と平衡関係で存在する遊離ポリマーの形が体外へ排出されるようにしておけば、長期的な蓄積による毒性も防ぐことができる。

つぎに良好な水溶性があげられる。一般に、疎水性の薬物を高分子鎖に導入する場合は、薬物と高分子の複合体の水溶性が失われやすい。それは、高分子鎖に沿って疎水基が局在化することにより、高分子鎖内および高分子鎖間での疎水性相互作用が起りやすく、その結果、凝集・沈殿生成に結びつくためである。高分子ミセルの場合には、疎水性の内核同志が凝集して不溶の沈殿になることを親水性の外殻が抑制する。つまり、通常のポリマーの場合には水溶性を失なわせる“悪玉”である疎水性が、高分子ミセル型ドラッグの場合には、良好な水溶性を有する安定なミセル構造を構築する推進力になるという“善玉”として利用されることになる。

さらに、ミセルの内核に保持された薬物は、体内の酵素などによる不活性化から免れるために、薬物としての高い安定性が得られる。

また、構成ポリマーセグメントへの機能分化とは図4に示すように、ドラッグキャリアとして果たす役割のうち、ミセルの内核を形成するセグメントは薬物の結合と放出の役割を果たし、外殻を構成するセグメントには蛋白質、細胞やその他の生体成分との相互作用を担わせる。これらの相互作用は、このミセルの生体内での動態を決定し、内核はその動態に基づいて標的に到達したあとの

図4 高分子ミセルによる機能分化

薬効発現を行うことになる。このような機能の各セグメントへの分担は、より高機能のドラッグキャリアの設計・作製を可能にする。

以上述べてきたような高分子ミセルのドラッグキャリアとしての特長のいくつかはすでに実証されているので、つぎに触れたい。

ドラッグキャリアとしての高分子ミセルの研究例

高分子ミセルの形態を薬物の徐放に利用しようとするアイデアは、1984年に Ringsdorf ら^{8,9)}によって発表されていたが、ミセル形成の証拠が希薄で、ミセルの形態を生体内でのドラッグデリバリーに応用するまでは到らなかった。

また、Kopeček^{7,10)} らは、疎水性の薬物を親水性のホモポリマーの側鎖に結合させることでも、この薬物-ポリマーの複合体が数分子会合してミセル構造を形成することを報告している。しかしながら、ミセル形成型のポリメリックドラッグという明確な概念の下の仕事は現在まで筆者らのグループ¹¹⁻¹⁵⁾のものだけである。そのなかの結果のいくつかをまとめてみたい。

(1) ミセル形成

図5に示す構造を有する薬物-ブロックコポリマー複合体 PEG-P(Asp(ADR)) は、親水性のポリエチレングリコールセグメントを外殻に、抗癌剤アドリアマイシン結合したポリアスパラギン酸セグメントを疎水性の内核とした高分子ミセルを形成する。その様子を示したのが図6で、pH7.4のリン酸等張液中で数平均約 50 nm の粒子として

図5 ミセル形成型ポリメリックドラッグ

PEG-P(Asp(ADR))の構造式

分子量 PEG: 4300, P(Asp): 1900

 β -アミド化率: $X/(X+Y)=80 \text{ mol}\%$

存在していることがわかる。界面活性剤ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)の添加によりミセルのピークはすべて低分子量側にシフトすることから、このミセルが設計どおり非共有結合的な相互作用によって形成されていることがわかる。

また、なんの精製操作なしで、単一で狭い分布のミセル径で得られたのは、この高分子ミセルのすぐれた特長といえる。というのは、同じく分子の集合体であるリポソームの場合には、さまざまな形態の混合物で粒径分布の広いものとして得られるのがつねだからである。

(2) 水溶性¹⁴⁾

図5に示した PEG-P(Asp(ADR))は、疎水性の強いアドリアマイシンを多く導入しているにもかかわらず、きわめて良好な水溶性を有している。アドリアマイシン自体がゲル状になる高濃度、高イオン環境下においても PEG-P(Asp(ADR))の水溶性は失なわれず、まだ凍結乾燥後も再び水溶液に戻すことが可能である。

一般に、ポリメリックドラッグでは、キャリアへの結合の際にドラッグが極性基を失なううえに、キャリアに沿って疎水基が局在するために結合前の薬物よりも水に溶けにくくなる。この高分子ミセルの場合は逆にもとの薬物よりもすぐれた水溶性を示すようになる。これは、ミセル構造をとることによって、疎水性部分を一定領域に隔離しとどめることが安定してできるためと考えられ、ミセル形成型ポリメリックドラッグの利点の一つに数えられる。

(3) セグメントへの機能分化^{14,16)}

ミセル形成型ポリメリックドラッグ PEG-P(Asp(ADR))に使用されている抗癌剤アドリアマ

図6 PEG-P(Asp(ADR))

の粒径分布

pH 7.4 リン酸等張液中,

[ADR]=0.1 mg/ml

a: SDS 無添加

b: 1% SDS添加

イシンは疎水性が強く、血中投与した際の分布体積が大きい。つまり、血中では体内の組織にすばやく分配・吸収され、血中濃度は投与量に対して非常に少ない(静脈投与5分後で投与量の2~3%程度しか血中に見出せない)。さらに血中では、その強い疎水性のためにその多く(50~90%の程度)がアルブミンに結合した形で存在している。このアドリアマイシンの性質をブロックコポリマーに結合させて、複合体 PEG-P(Asp(ADR))にすることで劇的に変化させることができる。

すなわち、PEG-P(Asp(ADR))は、アルブミンとはまったく相互作用せずにミセルとして存在することが観察されている。また、静脈注射において、血中での高い濃度がみられた。アドリアマイシン換算 20 mg/kg 投与量で投与5分後に、血中ではその投与量の約60%に相当する量が確認された。これは、アドリアマイシンの場合の量の30倍ほどに達する。さらに、血中半減期も70分とアドリアマイシンの数倍になった。

以上のように、高分子ミセル PEG-P(Asp(ADR))は、アルブミン結合と血中での挙動にお

いてアドリアマイシンとまったく異なる性質を有することが見出された。この大きな変化は、ミセルの外殻が、アドリアマイシンの結合した内核を覆うことで、血液成分とアドリアマイシンの相互作用を抑制したためにもたらされたと考えられる。

アルブミン結合能や血中濃度などは体内での動態・分布を決める重要な因子であり、これを制御することは *in vivo* drug delivery を行ううえできわめて大切な事項である。そして、この制御を行うに際して、外殻と内核という二つの独立した構造を有する高分子ミセルは有力な手段を与えるのである。

文 献

- Gregoriadis, G., Kirby, C., Large, P.: Targeting of Liposomes: Study of Influencing Factors. Targeting of Drugs., Plenum Press, 1982, p 155-184.
- Gregoriadis, G., Senior, J.: Fate of Liposomes in vivo: Control Leading to Targeting. Receptor Mediated Targeting of Drugs., Plenum Press, 1984, p 243-266.
- Gabizon, A., Papahadjopoulos, D.: Liposome formulations with prolonged circulation time in blood and enhanced uptake by tumors. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 6949-6953, 1988.
- Allen, T.M., Chonn, A.: Large Unilamellar Liposomes with Low Uptake into the Reticuloendothelial System. FEBS Letters 223: 42-46, 1987.
- Davis, S.S., Illum, L.: Colloidal Delivery Systems: Opportunities and Challenges. Site-Specific Drug Delivery. John Wiley & Sons, 1986, p 93-110.
- Endo, N., Umemoto, N., Kato, Y., Takeda, Y., Hara T.: A Novel Covalent Modification of Antibodies at Their Amino Groups with Retention of Antigen-Binding Activity. J. Immunol. Methods 104: 253-258, 1987.
- Duncan, R., Kopečková-Rejmanová, P., Strohalm, J., Hume, I., Cable, H.C., Pohl, J., Lloyd, J.B., Kopeček, J.: Anticancer Agents Coupled to N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide Copolymers. I. Evaluation of Daunomycin and Puromycin Conjugates *in vitro* Br. J. Cancer 55: 165-174, 1987.
- Bader, H., Ringsdorf, H., Schmidt, B.: Watersoluble Polymers in Medicine., Angew. Makromol. Chem. 123/124: 457-485, 1984.
- Pratten, M.K., Lloyd, J.B., Hörpel, G., Ringsdorf, H.: Micelle-forming block copolymers: Pinocytosis by macrophages and interaction with model membranes., Makromol. Chem. 186: 725-733, 1985.
- Ulbrich, K., Konak, C., Tuzar, Z., Kopeček, J.: Solution Properties of drug carriers based on poly [N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide] containing biodegradable bonds, Makromol. Chem. 188: 1261-1272, 1987.
- Yokoyama, M., Inoue, S., Kataoka, K., Yui, N., Sakurai, Y.: Preparation of Adriamycin-conjugated poly(ethylene glycol)-poly(aspartic acid) block copolymer, Makromol. chem. Rapid, Commun. 8: 431-435, 1987.
- Yokoyama, M., Inoue, S., Kataoka, k., Yui, N., Okano, T., Sakurai, Y.: Molecular design for missile drug: Synthesis of Adriamycin conjugated with IgG using poly(ethylene glycol)-poly(aspartic acid) block copolymer as intermediate carrier. Makromol. Chem. 190: 2041-2054, 1989.
- Yokoyama, M., Miyauchi, M., Yamada, N., Okano, T., Sakurai, Y., Kataoka, K., Inoue, S.: Polymer Micelles as Novel Drug Carrier: Adriamycin-conjugated Poly(ethylene glycol)-poly(aspartic acid) Block Copolymer. J. Contr. Rel. 11: 269-278, 1990.
- Yokoyama, M., Miyauchi, M., Yamada, N., Okano, T., Sakurai, Y., Kataoka, K., Inoue, S.: Characterization and Anticancer Activity of the Micelle-forming Potymeric Anticancer Drug Adriamycin-conjugated Polycethylene glycoll-Poly(aspartic acid) Block Copolymer. Cancer Res. 50: 1693-1700, 1990.
- 横山昌幸, 山田則子, 岡野光夫, 桜井靖久, 片岡一則, 井上祥平: 新規ブロックコポリマーを用いた合成したミセル形成能を有するポリマードラッグ. 人工臓器 19: 1239-1242, 1990.
- 横山昌幸, 岡野光夫, 桜井靖久, 片岡一則: ブロックコポリマーと抗ガン剤アドリアマイシンより成る高分子ミセルドラッグの血中挙動. 第6回日本 DDS 学会予稿集. DDS 5: 169, 1990.