リン脂質の医薬品応用への展望

難波幸弘^{*1)}, 奥 直人^{*2)}*Phospholipids in clinical applications*

Phospholipids are noticed not only as components of biomembranes, but also as materials for clinical applications. Liposomes have been used as carrier vehicles of drugs, such as antifungal and anticancer drugs, and are expected for a new drug delivery system. Many clinical trials of these drugs encapsulated in liposomes have been progressed in the world wide area. Liposomes encapsulating hemoglobin have been investigated as an artificial blood. Specific drugs for infant respiratory distress syndrome using dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC), which is known as a main component of lung surfactant, have been developed, and some of these drugs have already come on market. Alkyl lysophosphatidylcholine derivatives have a unique antineoplastic function.

In this review, we described recent progress and a prospect for the medical applications using phospholipids.

Yukihiro Namba^{*1)}, Naoto Oku^{*2)}

key words : phospholipids, liposomes,
drug delivery, artificial blood, surfactant

リン脂質は、生体膜の主要な構成成分であり、その機能についてはある程度解明されている。近年、高純度なリン脂質が容易に入手できるようになり、生体内で特殊な機能を持つリン脂質の機能解明、およびその医学的利用がさかんに検討されている。さらに、高度に精製されたリン脂質は、ドラッグデリバリーシステム (DDS) の手段としてのリポソームおよびリピッドマイクロフェアーの原料として利用されつつある。

本稿では、これら医薬品として開発が進んでいるドラッグキャリアとしてのリポソームの応用と、その他のリン脂質の医薬への応用、開発状況について述べる。

薬物カプセルとしてのリポソーム

リポソームは、内部に水相を含むリン脂質二重層の微小ベシクルで、脂質を相転移温度以上で、

十分な量の水で水和することにより形成される。このベシクルは、水溶性薬剤をその内水相へ、油溶性のものは二重膜部分へ取り込む。リポソームに内封された薬剤は、遊離の薬剤とまったく違った体内分布を示す。

静脈内投与されたリポソームは、肝・腎・肺・脾・骨髄・リンパ節に集積するが、炎症部位や固形癌が存在すると、そこに選択的に蓄積する。

リポソームの体内分布、および動態は主に、①脂質組成、②リポソームのサイズ、③投与量、の三つの要因によって影響を受ける。たとえばコレステロールが二重層に含まれていない場合、水相の内封物の遊離がはやい。また静脈内投与した場合、小さなリポソームは大きなものに比べ血中からの半減期がながい。

リポソームに薬剤を封入した場合、一般のカプセル剤にみられるように、薬物の体内分布変化、副作用の軽減、除放化などの効果に加え、つぎのような利点がある。

① リポソームを構成するリン脂質は、生体膜の主要構成成分であるため毒性が低い。

^{*1)} Nippon Fine Chemical Co., Ltd. Lipid Project 日本精化(株)リビッド推進部

^{*2)} University of Shizuoka, School of Pharmaceutical Sciences 静岡県立大学薬学部

② 投与の目的, 方法により粒子サイズをコントロールすることが出来る。

③ 粒子表面に官能基を導入することにより抗原, 抗体, 糖鎖などを導入することが出来, 標的部位へのターゲティングが可能である。

しかし, リポソームを DDS に広く有効利用するためには, 解決すべき数多くの問題も残っている。本稿では現在検討されているリポソームの製剤化の状況と, リポソームが抱えている克服すべき問題点, 解決のためのアプローチについて, その一端を紹介する。

リポソームの応用例

リポソームの性質をうまく利用したアンフォテリシン B を用いた重度真菌感染症の治療は, 現在もっとも開発が進んでいる。またドキソルビンなどの抗癌剤を封入したリポソーム薬剤も開発が進んでいる。この両者は, すでに臨床試験が進行しており, 数年以内に市場に出る見通しである。その他にも, 免疫抑制剤ムラミン酸誘導体や, TNF などのリポソーム化薬剤の検討が進んでいる。以下に, 代表的な応用について簡単に述べる。

(1) 感染症に対する治療

アンフォテリシン B は強力な抗真菌作用を有しているが, 以下に述べるナイスタチンと同様, 膜のステロールに作用して抗菌性をあらわすため, 投与量を上げると, 溶血活性など強い毒性があらわれる。また腎毒性が強く, 治療効果が十分にあがる量が投与出来なかった。これをリポソーム化することにより, その毒性がいちじるしく低下し, 投与量を増加できるため, 全身性真菌感染症に対しいちじるしい治療効果を示す。実際に, 通常のアンフォテリシン B 投与により, まったく改善のみられない 12 人の患者に 0.82~1 mg/kg のリポソーム化アンフォテリシン B を, 毎日静脈内投与したところ, 8 人に病状の改善がみられた¹⁾。また, 遊離のアンフォテリシン B を投与したときにみられる, 発熱および悪寒などの毒性も示さなかった。

リポソーム化アンフォテリシン B は, ジミリス トイルフォスファチジルコリン(DMPC)/ジミリス トイルフォスファチジルグリセロール(DMPG)¹⁾, あるいはジステアロイル PC

(DSPC)/ジステアロイル PG(DSPG)²⁾ の二つの系で, 現在, アメリカで, 第 II 相の臨床試験中である。どちらも非常によい結果が出ている。

アンフォテリシン B と同様の抗菌剤ナイスタチンについても, 同様の効果が, 動物実験で認められている。ナイスタチンもリポソーム化により毒性が大幅に減少する。そのため許容最大投与によって生存改善が認められなかったカンジタ感染のマウスに, リポソーム化ナイスタチンを投与することにより, 生存数は顕著に改善された³⁾。ゲンタマイシンのリポソーム製剤についても臨床試験が行われている。

血管内投与されたリポソームは, 肝臓および脾臓のマクロファージにより捕捉される。リポソームに内封された抗菌剤は, 細網内皮系(RES)に感染する細胞内バクテリア, レイシュマニア寄生虫, ウイルスなどに対して活性を示す。その代表的な例としては, RES の寄生虫であるリーシュマニアの治療に使用されるアンチモン製剤をあげることが出来る⁴⁾。本剤は, 水溶性が高く非常に半減期が短いため, 120 日以上連続投与が必要であるが, 心臓, 肝臓, 腎臓に重大な副作用をもたらす可能性がある。また, 骨髄などの深部からの寄生虫の完全な除去はむずかしい。リポソーム化は, この問題点を解決する一つの有力な方法と考えられている。

(2) 癌治療への応用

リポソームは, 制癌剤のキャリアとして薬剤の安定化, 除放化, 毛細管を持つ組織へのターゲティング, さらには毒性の軽減の目的で検討されてきた。この 2~3 年の間に, 新しい薬剤の封入法⁵⁾や, リポソーム化に適した薬剤の選択が進展し, すでに 3 種の処方第 II 相までの臨床試験が進んでいる。

この内二つはドキソルビンを含むものであり, 他の一つはシスプラチン誘導体, シス-ビス-ネオデカン酸-トランス-R, R-1, 2-ジアミノシクロヘキサンプラチナ(II)(NDDP)⁶⁾である。これは, リポソーム化を目的として開発された制癌剤誘導体である。前臨床試験では, これらの処方は遊離タイプよりも毒性が低く, 肝転移モデルにおいて活性が高かった。現時点では, リポソーム化制癌剤はその地位を確立してはいないが, 治療成

図1 リポソーム化ドキソルビシンの制癌効果⁷⁾

P815 マストサイトーマに対する遊離およびリポソーム化ドキソルビシンの抗腫瘍活性。DBA/2J マウスに 1,500 個の P815 細胞を接種，遊離およびリポソーム化ドキソルビシンを 1, 4, 8 mg/kg 静脈内投与した。対照として生理食塩水，ブランクとして空のリポソームを用いた。生存率は，遊離およびリポソーム化ドキソルビシンの両者により上昇したが両者の間に差はみられなかった。

績の向上，既存の制癌剤の適用範囲の拡大などが期待できそうである。

つぎに，代表的なリポソーム化制癌剤について説明を加える。

ドキソルビシン，ダウノルビシンは，固形癌や白血病の治療によく用いられているが，心毒性，脱毛，悪心，免疫抑制，繰り返し治療による耐性化などが，治療上の問題点となっている。リポソーム化することにより，治療上の効果は同等またはそれ以上に保ちながら，毒性を軽減させることが出来ることが動物実験で判明している。

遊離ドキソルビシンを，25 mg/kg マウスに投与すると，単球浸潤，心筋細胞壊死が起こり，LD₅₀ は 26 mg/kg であった。一方，リポソーム化ドキ

ソルビシンの LD₅₀ は，40 mg/kg であり，遊離ドキソルビシンの約 2 倍高かった。リポソーム化ドキソルビシンの場合，壊死はまったく認められず，わずかな浮腫が認められたのみであった⁷⁾。つぎに，P 815 マストサイトーマ担癌マウスに，リポソーム化ドキソルビシンを与えた場合には，遊離のドキソルビシンと同等の効果を示した(図 1)⁷⁾。この実験では，卵黄 PC とコレステロールよりなり，直径約 200nm のリポソームを用いている。この場合，リポソームが RES に捕えられ，リポソーム膜が細胞内で破壊され，結果として，ドキソルビシンが少量ずつ血液中に洩れ出すため毒性が軽減されると考えられている。

ベスター社では，同じアントラサイクリン系制癌剤である，ダウノルビシンを含有したリポソームを用いているが，その効果は異なる考えかたに基づいている。すなわち，DSPC のような硬いリン脂質を用い，血中での安定性を増し，リポソームの粒径を 50～80nm と小さくすることにより RES を回避し，癌細胞にリポソーム化ダウノルビシンを集積させる。このことにより，副作用を減少しつつ治療効果をあげようとするものである。図 2 に示すように，確かに腫瘍部のダウノルビシン量が増加している⁸⁾。

前述のものが，リポソーム化による薬剤のスローリリースへの応用と考えられ，後者は受動的なターゲティングと考えられる。

シスプラチンは，前述のドキソルビシン，ダウノルビシンとならぶ代表的な制癌剤であるが，嘔吐，腎毒性，神経毒性を示すことが知られている。これらの毒性を軽減し治療効果を増強するために，リポソーム化の検討が進められている。

シスプラチンのリポソーム化は二つの方向で進められており，一つは既存の薬剤をリポソーム化する方法で，これはさらに温熱療法を加味した方法として検討が進んでいる。すなわち，DPPC と DSPC を混合し，相転移温度を体温より数度高く設定したリポソームにシスプラチンを封入し，静脈内へ投与する。一方，癌の患部を高周波により加温し，癌細胞付近にリポソームが近づいたときに，リポソームからシスプラチンを高濃度に遊離させる。この方法は，温熱療法とリポソームの機能を併せた治療法として注目されている⁹⁾。

図2 リポソーム化ダウノマイシンの体内動態⁸⁾

CD2F1 マウス P-1798 を接種し、6 日後に遊離およびリポソーム化ダウノルビシン、20 mg/ml を静脈内投与し、経時的に組織中のダウノルビシン量を測定した。

図3 NDDP の化学構造⁹⁾

R, R', R'', はエチル基, プロピル基などの脂肪鎖をあらわす。全体で C₁₀ H₁₀ O₂⁻ のネオデカン酸基となっている。

もう一方の方法は、シスプラチンをリポソーム化に適した構造に修飾し用いるものである¹⁰⁾。前述の NDDP (図3) のような修飾シスプラチンは、交叉耐性を示さず、腎毒性も軽減する。これらの修飾シスプラチンは、リポソーム化することにより安定性が向上し、癌転移がよく生じる肝をターゲットに出来るなどの利点がある。

リポソーム化 NDDP は、L1210 白血病細胞に対して、シスプラチンと同様の活性を持ち、M5076

細胞のマウス肝転移に対する阻害活性が、シスプラチンよりも高かった^{6,10,11)}。マウスにおける LD₅₀ は 60.5 mg/kg であり、遊離シスプラチンの 17 mg/kg より高い値を示した。また、リポソーム化 NDDP を用いると、顆粒球への毒性が 1/10 に減少し、腎毒性は観察されなかった。イヌへの最大許容投与量は、150 mg/m² であり、これ以上の投与は重い副作用を示した。実験には、DMPC : DMPG = 7 : 3 の、MLV (粒径 1 ~ 3 μm) が使用されている。リポソーム化 NDDP は、癌の RES への転移を抑制し、転移癌の治療に有効であると考えられる¹¹⁾。

シトシンアラビノシド誘導体のリポソーム化も検討されている。N4-オレイル-シトシンアラビノシド (OAraC) 含有リポソームを用いた臨床試験について述べよう。

通常の制癌剤治療に対して、抵抗性を示す骨髄性白血病患者に対し、リポソーム化 OAraC を投与した¹²⁾。すなわち、サイズ 80 ~ 100 nm のリポソーム (420 mg O-Ara-C, 220 mg Ara-C 相当を

含む)を、1, 4, 7日のサイクルで投与し、血中の O-Ara-C と、Ara-U の濃度経時的に測定した。Ara-U は、期間を通じて、一定のレベルを示し、患者は本剤の適用により軽快化を示した。

(3) 人工赤血球

輸血に対する需要は、近年増加の途上にある。しかし、血液型の適合、慢性的な血液の不足、血液を介した肝炎、エイズ感染の問題がある。このような点から人工血液、特に人工赤血球が待望されている。

人工赤血球は、① 毒性、抗原性のないこと、② 大量生産が出来ること、③ 粒径は末梢血管を十分に通過する大きさであること、④ 赤血球と同等の酸素運搬能があること、⑤ 血液中において安定であり、他の血液成分に影響を与えないこと、⑥ 適当な半減期を持つこと、⑦ 人工血液の粘性と浸透圧が生理的条件に近いこと、などの条件を満たす必要がある。

赤血球と、リポソームの構造は類似しており、両者とも水溶液を内封する、リン脂質とコレステロールよりなる膜を有している。ヘモグロビンを内封したリポソームは、構造的にも機能的にも多くの点において赤血球と同じ性質を示すことが認められており、人工赤血球としての臨床応用検討が進められている。

現在、日本にて開発が進められている人工赤血球、ネオレッドセル(NRC)について述べる。

NRC の性能を表 1 に示す。NRC は、ヘモグロビンを、水添レシチン/コレステロール/ミリスチン酸/ビタミン E = 7/7/2/0.28 の脂質組成を持つリポソームに内封することによって得られる平均粒径 200nm のオリゴメラ構造を有しており、約 45wt% のヘモグロビンを内封している¹³⁾。

ウサギやイヌを用いて全血交換実験を行ったところ、85%の血液交換後も良好な酸素運搬能を示し、しかも重要な臓器に対する毒性が認められなかった¹⁴⁾。ただしウサギに投与した際には、肺、腎、脾臓において血管内凝固が認められた。そこでさらにポリエチレングリコール(PEG)誘導体によりNRC 表面を修飾し、凝集しにくくする工夫もなされている¹⁵⁾。

人工赤血球の持つ重要な問題点は、投与後に RES による免疫が抑制されることである。RES

表 1 赤血球、ヘモグロビンとネオレッドセル(NRC) 溶液との比較¹³⁾

特 性	NRC	赤血球	ヘモグロビン
平均直径 (μm)	0.2	5-8	—
総脂質量 (g/dl)	9.3	0.5	0
内封率 (%)	51	45	—
粘度 ^{*1)} (37 度) (cp)	4.3	3.8	10
メトヘモグロビン比 (%)	5>	1>	1>
酸素分圧 ^{*2)} (mmHg)	40	28	11
ヒル係数 (n)	1.9	2.8	2.7
動静脈 O ₂ 格差 ^{*3)} (ml/dl)	7.7	5.6	0.6

*1): ずり速度

*2): 50%のヘモグロビンが飽和されときの酸素分圧

*3): 組織に運搬された酸素の体積は動脈血と静脈血の酸素分圧をそれぞれ 100, 40 mmHg と仮定して計算

は、人工赤血球量を捕獲するが、人工赤血球は多量に使用するため、最終的には RES は飽和に達する。その結果、人工赤血球の半減期は延びるが、感染に対する防御能力は低下する。今後は、人工赤血球の RES による取り込みを低下させ、感染に対する防御力を保たせる工夫が必要であろう。

(4) 体内診断薬への応用

放射性インジウムを封入した SUV リポソームが、癌診断用の γ 線のイメージング剤としてすでに市場に出ている。このリポソームは、高度に精製された DSPC とコレステロールからなり、粒径は 50~80nm に制御されている。そのため、リポソームの血中での半減期が延長し、腫瘍への取り込みが上昇する。

また、核磁気共鳴イメージング(MRI) を用い、肝臓、脾臓の鮮明なコントラストを得るための方法が探索されている¹⁶⁾。これらのイメージング剤は目的とする組織に高い集積性があり、なおかつ測定後には速やかに組織から消失、排泄されることが望ましい。リポソームの利用により肝、脾へのイメージング剤の集積は 2~12 倍となったと報告されている¹⁷⁾。しかし、一般にイメージング剤は、リポソームから漏出しやすい。そこでリポソームからの漏出を防止するため、キレート剤である、DTPA(diethylenetriamine pentaacetic acid) にステアリン酸を結合させ、リポソーム膜に固定する方法が試みられている。このような、修飾リポ

ソームを用いると、肝、脾へのガドリニウム(Gd)やマンガンの速やかな集積が起こり、RESの鮮明なイメージングが可能となる。さらに24時間後には、肝臓に集積したイメージング剤の80%以上が排泄されることも明らかとなった¹⁸⁾。

RES回避リポソームの開発

リポソームはRESに集積しやすいので、RESを標的部位とするときや、そこからのスローリリースを期待する場合には有効に働きやすい。

一方、標的部位がRES以外の場合には、リポソームがRESから免れることが必要となってくる。RESからリポソームを回避させるために、種々の試みがなされている。

リポソームの血中半減期と体内分布は、大きさが一定であれば(約100~200nm)、脂質組成により決まる。またRESへの取り込み減少にしたがい、リポソームの血中半減期が伸びる。DSPCやスフィンゴミエリンを用いたいわゆる硬い脂質から構成されるリポソームは、血液での半減期がながくなる。

また、糖鎖、特にシアル酸を含有するGM₁でリポソームを修飾すると、マウスにおいて従来までにながいが血中半減期を示すようになる^{19,20)}。GM₁による効果は、大きな親水性をリポソーム表面に持つことにより血漿蛋白質が結合しにくくなり、結果としてRESによる認識を防いでいるためと考えられる。また、表面の親水性と負電荷により、血漿中でのリポソームの凝集も生じにくくなる。

GM₁を持つリポソームは他のリポソームと比較して、血漿中のHDLとの結合が少ないことが認められている²¹⁾。GM₁を含有するリポソームの担癌マウスにおける体内分布を表2に示した¹⁹⁾。RESへの取り込み率が低いリポソームほど、腫瘍組織に移行しやすいことがわかる。マーカーに用いた⁶⁷Ga-デフェロキサミンは遊離の状態で投与されると、腫瘍への取り込みは0.1%以下であることから、リポソーム化により薬物の腫瘍への到達性が改善できる可能性が示された²³⁾。

筆者らは、GM₁よりもはるかに構造の簡単な、グルクロン酸誘導体で、リポソーム表面を修飾することにより、GM₁と同等の血中滞留時間が得ら

表2 担癌マウスへのリポソームの取り込みに対するリポソーム脂質組成の影響

リポソーム組成	モル比	g 当りの 取り込み% 腫瘍 肝臓	取り込み比 肝臓/腫瘍
卵黄 PG/卵黄 PC/CH	1:9:5	0.2 36.4	182.0
SU/卵黄 PC/CH	1:10:5	10.8 13.6	17.0
DSPC/CH	10:5	2.1 36.5	17.4
SU/DSPC/CH	1:10:5	2.1 32.1	15.3
CS/DSPC/CH	1:10:5	2.5 29.7	11.9
GM ₁ /卵黄 PC/CH	1:10:5	3.5 20.7	5.9
DPPG/DSPC/CH	1:10:5	4.1 38.3	9.3
HPI/DSPC/CH	1:10:5	4.1 37.8	9.2
GM ₁ /DSPC/CH	1:10:5	5.3 31.7	6.0

BALB/cマウスの後脚に10⁶のJ6546腫瘍細胞を接種し、2~3週間後にマウス当りリン脂質として1 μ molのリポソームを静脈注射、24時間後に解剖した。腫瘍の平均重量は0.5~2gの範囲であった。死体グラム当りのリポソーム残存量は0.3~0.6%の範囲であった。

PG:ホスファチジルグリセロール、PC:ホスファチジルコリン、CH:コレステロール、SU:牛脳サルファチド、CS:硫酸コレステロール、HPI:水素添加大豆ホスファチジルイノシトール。(文献¹⁹⁾より改変)

図4 ラット静脈内投与後のリポソームの消失と安定性²⁵⁾

DPPC、コレステロール、パルミチルグルクロニド(○)、およびDPPC、コレステロール、DPPG(●)よりなる³Hイヌリン含有リポソームを調製し、ラットに静脈内投与した。

aは血液中濃度の経時変化を示す。またbは³H-イヌリンと¹⁴C-コレステロールで二重標識したリポソームをラットに静脈内投与し、血清中の³Hと¹⁴Cの比率の経時変化を測定した。パルミチルグルクロニド含有リポソーム(○)、DPPG含有リポソーム(●)。

れることを見出している(図4)^{22,23)}。この誘導体で修飾されたりポソームは、血漿中で凝集しにくく、また、マクロファージ由来の J774 細胞による貪食も GM_1 と同等以上に受けにくいことが判明した(図5)。

一定の基準を満たす糖鎖がリポソームに結合していれば、かなりの程度 RES を逃れうる可能性がある。また PEG を用いた RES 回避リポソームも検討されている。

図5 脂質組成の異なるリポソームの J774 細胞への結合

蛍光標識された各種脂質組成(モル比: DPPC/コレステロール/蛍光色素/両親媒性物質=40/40/5/20)のリポソームを、J774 細胞に添加し、0°Cおよび37°Cで4時間インキュベーションした。結合していないリポソームを洗浄したあと、細胞画分から回収されるリポソームを、蛍光分析により測定した。PGlcUA: パルミチルグルクロニド、PGalUA: パルミチルガラクトクロニド、PS: ホスファチジルセリン、PMan: パルミチルマンノシド

肺表面活性物質

3億個といわれる肺胞の表面には、気-液界面の表面張力をいちじるしく低下させる物質があり、肺表面活性物質と呼ばれている。この物質が欠如すると、肺は進行的に衰弱し、肺胞は拡大し、収縮する能力を失う。この物質はリン脂質、脂肪酸、蛋白質、コレステロールなどからなっているが、その主成分は DPPC である。

DPPC は肺胞の気相-液相界面にあり、規則正しく並び単層を形成している。この気-液界面を通して、血中の CO_2 と取り入れた O_2 の交換がスムーズに行われる。未熟性、仮死、肺循環不全などが発症関連因子となる IRDS(未熟児呼吸窮迫症候群)は肺表面活性物質の欠如、あるいは低下した状況のもとに生じる。

近年、DPPC を主成分とした、各種の人工肺サーファクタントが開発され、主にウサギを使ったテストで効果が確かめられ、臨床試験が進められている。哺乳類より抽出精製された肺胞蛋白質と DPPC、脂肪酸を外部より肺に導入すると、新生児の肺のガス交換を改善し、死亡率が減少する。この際、重大な気管支・肺形成障害は認められなかった。

これらのサーファクタントは、本質的には抗原性が存在するが、特別な毒性は示さなかった。一般的には 60~200 mg/kg のサーファクタントが最初の呼吸前、または RDS の発症の場合に用いられる²⁴⁾。アポ蛋白質をまったく用いない人工サーファクタントも開発されており、DPPC と PG のリン脂質のみからなるものと²⁵⁾、DPPC、ヘキサデシルアルコール、界面活性剤のチロキリポールからなる人工サーファクタントがある²⁶⁾。これらも

表3 代用肺胞サーファクタント

型	原料	長所	欠点	企業
天然品	ヒト羊水	きわめて効果的	希少、エイズ感染などの危険性	
天然品	ウシ肺、ブタ肺	安価、効果的	抗原性あり	Ony Inc., Boehringer, Chiesi
半合成	ウシ・ブタ肺とリン脂質	安価、より効果的	抗原性あり	Abbott, Tokyo Tanabe
合成品	リン脂質	調製容易、安全	効果がやや劣る	Wellcome Enzymatix
遺伝子工学	ヒト肺胞蛋白質 リン脂質	きわめて効果的、安全、高再現性	高価	Genentech

前述の蛋白質を含有する人工サーファクタントと同様の効果を示している。

また、新生児のみでなく、大人の RDS への適用の可能性も示唆されている²⁷⁾。大人の RDS は頻呼吸、動脈血中酸素減少、肺収縮、広範囲な肺胞浸潤などの障害を生じる。表 3 にサーファクタント製剤の特徴を示したので参照されたい。

レシチン誘導体の抗癌活性

アルキルリゾホスファチジルコリン誘導体 (ALP, 図 6) は 2 位にメトキシ基などを有する天然 PC の誘導体で、新しい部類の抗癌機能を有している^{28,29)}。正常ヒト骨髓細胞と、HL-60 白血病細胞に対する各種の ALP の効果を調べた結果、癌細胞に対して、選択的な細胞毒性が認められた。実際、16 μ g/ml 濃度において、HL-60 細胞のコロニー形成は完全に阻害された。1-チオエーテル体、2-アセトアミド体も同様の活性を示した。

白血病細胞に対する細胞毒性の強さは、ET-18-OMe (1-O-オクタデシル-2-O-メチル-PC) > TLP (1-チオ-オクタデシル-2-O-メチル-PC) > 1-オクタデシル-2-アセトアミド PC の順であった³⁰⁾。白血病細胞と骨髓腫の間には大きな差はなかった³¹⁾。

代表的化合物である ET-18-OMe の抗腫瘍活性を調べた結果³⁰⁾、低濃度 (<1 μ g/ml)、1 時間のインキュベーション後では、実質的な効果は得られなかった。しかし、濃度が上昇するにつれて (1~10 μ g)、穏やかな効果が認められ、60% の細胞が反応を示した。乳癌、卵巣癌、肺癌および中皮腫に対しても、コロニー減少を引き起こした。しかし、感受性は腫瘍の種類によって 5 倍もの開きがあった。

また、TLP も 8 種の白血病細胞と、12 種の固形癌細胞の 3H-チミジンの取り込みを阻害することが判明した。TLP も ET-18-OMe と同様に、その効果は投与量とインキュベーション時間に依存していた。19 種の骨髓細胞と、9 種の白血病細胞について TLP の細胞毒性を調べた結果、正常細胞にくらべ、白血病細胞に対していちじるしく高い細胞毒性を示した。白血球芽状は 5 μ g/ml 以上の濃度で、48 時間後に完全に破壊されたが、固形癌には 10~20 μ g/ml の濃度が必要であった。

X: O, S

R: $-\text{OCH}_3$, $-\text{NHCOCH}_3$

図 6 アルキルリゾ PC 誘導体の構造

一方、エステル結合型のリゾレシチンは、同濃度においてまったく効果を示さなかった。この事実は、リゾレシチン誘導体の抗癌活性発現のためには、sn-1 のアルキルエーテルグループ、および安定な sn-2 位の置換基が必要であることを示唆している。

ではどのような機構で、アルキルエーテルリゾレシチン誘導体は選択的な抗癌活性を示すのであろうか。その理由として、つぎのことが考えられている。正常細胞に比較して癌細胞には、吸着した ALP を分解するためのアルキル基分解酵素が欠落している。ALP が集積するに伴い、癌細胞膜のリン脂質のターンオーバーを阻害し、最終的には細胞膜機能の破壊を引き起こし、癌細胞の死滅に至ると考えられている³⁰⁾。

臨床試験として、白血病治療用の骨髓移植の際に、寛解状態の骨髓から白血病細胞を除くために ET-18-O-Me が用いられた。ここ数年は、ALP の抗癌剤への応用例があまりみられなくなった。その理由の一つとして、*in vivo* での効果に問題があると考えられる。ALP に限らず、今後も、機能を有する脂質が発見される可能性は十分あると思われる。

文 献

- 1) Lopez-Berestein, G.: Liposomal amphotericin B for the treatment of systemic fungal infections in patients with cancer. *J. Infect. Dis.* 151: 704-710, 1985.
- 2) Coune, A.: Liposome as drug delivery system in the treatment of infectious disease. Potential applications and clinical experience. *Infection* 16: 141-

- 147, 1988.
- 3) Metha, R. T., Hopfer, R. L., Gunner, L. A. : Formulation, toxicity and antifungal activity *in vitro* of liposome encapsulated nystatin as therapeutic agent for systemic candidiasis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 31 : 1897-1900, 1987.
- 4) Carter, K. C., O' Grady, J. : Direct comparison of sodium stibogluconate treatment in two animal models of human visceral leishmaniasis, mouse and hamster. *Int. J. Pharmaceut.* 53 : 129-137, 1989.
- 5) Mayer, L. D., Tai, L. C. L., Bally, M. B., Mitlenes, G. N., Ginsberg, R. S., Cullis, P. R. : Characterization of liposomal systems containing doxorubicin entrapped in response to pH gradients. *Biochim. Biophys. Acta* 1025 : 143-151, 1990.
- 6) Perez-Soler, R., Lautersztain, J., Stephens, L. C., Wright, K., Khokhar, A. R. : Preclinical toxicity and pharmacology of liposome-entrapped cis-bis-neodecanoato-trans-R, R-1, 2-diaminocyclohexane platinum (II). *Cancer Chemother. Pharmacol.* 24 : 1-8, 1989.
- 7) Balazsovits, J. A. E., Mayer, L. D., Bally, M. B., Cullis, P. R., McDonell, M. et al. : Analysis of the effect of liposome encapsulation on the vesicant properties, acute and cardiac toxicities, and antitumor efficacy of doxorubicin. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 23 : 81-86, 1989.
- 8) Forssen, E. A. : Chemotherapy with anthracycline-liposomes. *Liposomes as Drug Carriers.* (ed. Gregoriadis, G.), John Wiley & Sons, New York, 1988, p355-364.
- 9) Iga, K., Hamaguchi, N., Shimamoto, T. : Heat-specific drug release of large unilamellar vesicle as hyperthermia-mediated targeting delivery. *Int. J. Pharmaceut.* 57 : 241-251, 1989.
- 10) Perez-Soler, R., Yang, L. Y., Drewinko, B., Lautersztain, J. R., Khokhar, A. R. : Increased cytotoxicity and reversal of resistance to cis-diaminedichloroplatinum (II) with entrapment of cis-bis-neodecanoato-trans-R, R-1, 2-diaminocyclohexaneplatinum (II) in multilamellar lipid vesicles. *Cancer Res.* 48 : 4509-4512, 1988.
- 11) Perez-Soler, R., Khokhar, A. R., Lopez-Berestein, G. : Treatment and prophylaxis of experimental liver metastases of M5076 reticulosarcoma with cis-bis-neodecanoato-trans-R, R-1, 2-diaminocyclohexane platinum (II) encapsulated in multilamellar vesicles. *Cancer Res.* 47 : 6462-6466, 1987.
- 12) Pestalozzi, B., Sauter, C., Schott, H., Hengartner, H., Schwendener, R. : Acute myelogenous leukemia : Treatment with liposome containing N4-oleyl-cytosine-arabioside. *Proc. Annu. Meet. Am. Soc. Clin. Oncol.* 7 : A690, 1988.
- 13) Yosioka, H., Suzuki, K., Miyauchi, Y., Takahashi, A. : Characteristics of NEO RED CELL and their *in vivo* oxygen transport capacity. The 9th International Meeting of Artificial Organs, Tokyo, Japan, 1989, p1-7.
- 14) 鈴木一比好, 宮内雄二 : 人工血液の開発. *機能材料* 10 : 43-49, 1990.
- 15) 坂口圭介, 宮内雄二, 鈴木一比好, 高橋 晃 : ネオレッドセルの血液凝固系. 補体系に及ぼす影響. *人工臓器* 20 : 620-625, 1991.
- 16) Glazzer, G. M. : MR imaging of the liver, kidneys, and adrenal glands. *Radiology* 166 : 303-312, 1988.
- 17) Kabalka, G., Buonocore, E., Hubner, K., Moss, T., Norley, N., Huang, L. : Gadolinium-labeled liposomes : targeted MR contrast agents for the liver and spleen. *Radiology* 163 : 255-258, 1987.
- 18) Schwendener, R. A., Wuthrich, R., Duewell, S., Westera, G., von Schulthess, G. K. : Small unilamellar liposomes as magnetic resonance contrast agents loaded with paramagnetic Mn²⁺, Gd³⁺ and Fe-DTPA-stearate complexes. *Int. J. Pharmaceut.* 49 : 249-259, 1989.
- 19) 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.
- 20) Allen, T. M., Hansen, C., Rutledge, J. : Liposomes with prolonged circulation times : factors affecting uptake by reticuloendothelial and other tissues. *Biochim. Biophys. Acta* 981 : 27-35, 1989.
- 21) Allen, T. M. : A study of phospholipid interactions between high-density lipoprotein and small unilamellar vesicles. *Biochim. Biophys. Acta* 640 : 385-397, 1981.
- 22) Namba, Y., Sakakibara, T., Masada, M., Ito, F., Oku, N. : 1-O-Palmityl glucuronate endows liposomes with long half lives *in vivo*. *Chem. Lett.* 1989 : 2145-2148, 1989.
- 23) Namba, Y., Sakakibara, T., Masada, M., Ito, F., Oku, N. : Glucuronate-modified liposome with prolonged circulation time. *Chem. Pharm. Bull.* 38 : 1663-1666, 1990.
- 24) Reynolds, M. S., Wallander, K. A. : Use of surfactant in the prevention and treatment of neonatal respiratory distress syndrome. *Clin. Pharm.* 8 : 559-576, 1989.
- 25) Liberator, A., Carrera, G., Calciolari, G., Coccia, C., Coppalini, B. : Substitutive therapy with surfactants in premature infants with respiratory distress syndrome. *Ann. Osp. Maria Vittoria Torino* 30 : 28-35, 1987.
- 26) Clements, J. A. : Lung Surfactant Compositions. United States Patent 4, 826, 821, 1989.
- 27) Mason, R. J. : Surfactant in adult respiratory distress syndrome. *Eur. J. Respir. Dis. (Suppl.)* 153 : 229-236, 1987.
- 28) Hoffman, D. R., Hoffman, L. H., Synder, F. : Cytotoxicity and metabolism of alkyl phospholipid analogues in neoplastic cells. *Cancer Res.* 46 : 5803-5809, 1986.
- 29) Harmann, D. B., Neumann, H. A. : Cytotoxic ether

- phospholipids. Different affinities to lysophosphocholine acyltransferases in sensitive and resistant cells. *J. Biol. Chem.* 261 : 7742-7747, 1986.
- 30) Berdel, W. E., Von Hoff, D. D., Unger, C., Schick, H. D., Fink, U. et al. : Ether lipid derivatives : antineoplastic activity *in vitro* and the structure-activity relationship. *Lipids* 21 : 301-304, 1986.
- 31) Schick, H. D., Berdel, W. E., Fromm, M., Fink, U., Eible, H., Unger, C. : Cytotoxic effects of ether lipids and derivatives on human nonneoplastic bone marrow cells and leukemia cells *in vitro*. *Lipids* 22 : 904-910, 1987.