S1-11

シミュレーションによるリポソーム封入ドキソルビシンの
抗腫瘍効果の最適化とその実験的検証○土橋麻理、飯田慎也、原島秀吉、際田弘志
徳島大学薬学部薬剤学教室Simulation study on the optimum conditions of liposomes for antitumor
effect of doxorubicin and its experimental validationMari TSUCHIHASHI, Shinya IIDA, Hideyoshi HARASHIMA, and
Hiroshi KIWADAFaculty of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokushima, 1-78-1,
Sho-machi, Tokushima 770, Japan

【目的】リポソームをドラッグキャリアーとして抗腫瘍効果の増強と副作用の軽減の試みが行われており、欧米においてはすでに臨床でも用いられている。しかしながら、リポソームの最適な条件の定量的予測と評価はなされていない。そこで、我々はモデル薬物としてタイプ I 型の抗癌剤ドキソルビシン (DOX) を選択し、殺細胞モデルを導入した生理学的モデルを用いて、リポソームあるいは癌細胞の性質等を変化させたときの DOX 封入リポソームの抗腫瘍効果への影響をシミュレーションにより定量的に予測することを試みた¹⁾。また、リポソームの脂質組成やコレステロール含量を変えることで、*in vivo* における DOX の放出速度 (k_{rel}) の異なるリポソームを調製し、 k_{rel} による抗腫瘍効果の違いをサバイバル実験により定量的に評価し、シミュレーションの妥当性を検討することを目的とした。

【方法】モデルの構築：生理学的モデルに殺細胞モデル²⁾をリンクさせ (Fig.1)、リポソームの細胞内皮系への取り込み速度定数である k_{RES} と、リ

リポソームからの薬物放出速度定数である k_{rel} を変化させたときの癌細胞数をシミュレートした。シミュレーションにおける抗腫瘍効果の判定基準は、癌の増殖を最も速くかつ最も強く抑制するのが最適であると考えた。

リポソームの調製：リポソームの脂質組成は PEG-DSPE : HEP3 (又はEPC) : CHO = 5 : 60 : 35 又は 5 : 90 : 5 で、リポソームの内水相の pH を 4 又は 2 とし、DOX は pH-gradient 法³⁾により封入した。粒子径は 100-200 nm に調整した。

in vivo における k_{rel} の測定：DOX 封入リポソームを CDF1 マウスに尾静注後、脂質 (^3H -cholesteryl hexadecyl ether) と DOX の血清中濃度を測定した。Lipid、DOX 濃度それぞれの血清中濃度 (%dose/ml) 推移に対し、1 または 2 コンパートメントモデルでフィッティングを行い、モーメント理論に基づき、 k_{RES} を求めた。次に、DOX と lipid の濃度の比を latency として表し、同様にして k_{rel} を算出した。

Fig.1 Pharmacokinetic/pharmacodynamic model of liposomal doxorubicin.

Fig.2 Effect of alteration of k_{RES} and k_{rel} on the antitumor effect of liposomal doxorubicin. The lines which represent k_{rel} is described below : (1) Control, (2) Free DOX, (3) $k_{rel}=0.006$, (4) $k_{rel}=0.06$, (5) $k_{rel}=0.6$

抗腫瘍効果：P388 マウス白血病細胞を CDF1 マウス腹腔に移植し、DOX 封入リボソームを DOX 濃度6mg/kgで尾静脈より投与し、その生存曲線より抗腫瘍効果を測定した。

【結果及び考察】シミュレーションにより抗腫瘍効果の促進に、血中滞留性のリボソームが有用で、 k_{rel} には $0.06 \text{ (hr}^{-1}\text{)}$ という最適な値が存在することが示唆された (Fig.2)。この結果は、癌細胞の増殖速度 (k_s)、DOXへの感受性 (k)、癌組織への血流速度 (Q) などを変えても同様であった¹⁾。次に、この実験的検証を行うために、*in vivo* での k_{rel} の測定とその制御を行った。リボソームの脂質組成を変化させ k_{rel} を求めたところ、HEPC より EPC が、また CHO 含量を下げることで k_{rel} は大きくなり、 k_{rel} の制御が可能

Fig.3 Effect of liposome composition and inner pH on the rate of drug release from liposomes.

● PEG/HEPC/CHO=5/60/35 (pH4), ▲ PEG/EPC/CHO=5/60/35 (pH2), ▼ PEG/EPC/CHO=5/60/35 (pH4), ■ PEG/EPC/CHO=5/90/5 (pH4)

であった (Fig.3)。また、これらのリボソームはいずれも同程度の血中滞留性を示した。さらに、異なる k_{rel} のリボソームを用いてサバイバル実験を行ったところ、 k_{rel} の最も遅い PEG : HEPC : CHO = 5 : 60 : 35 (pH4) リボソームにおいて、最も抗腫瘍効果が増強され (Fig.4)、 k_{rel} は $0.06 \text{ (hr}^{-1}\text{)}$ が最適というシミュレーション結果とは異なった。

シミュレーションと実験の結果が異なった理由として、抗腫瘍効果の判定基準、腫瘍移植部位の違い、担癌動物の種差、癌細胞外スペース中と血中での k_{rel} の差等種々の要因が考えられる。現在サバイバル実験と同条件での、マウス腹腔癌でのシミュレーションを行い、この原因について検討中である。

Fig.4 Survival curves for CDF1 mice inoculated i.p. with P388 cells treated by i.v. injection of DOX in liposomes with different k_{rel} .

---■--- Control ---●--- Free —●— PEG/HEPC/CHO=5/60/35 (pH4)
---▲--- PEG/EPC/CHO=5/60/35 (pH4) ---■--- PEG/EPC/CHO=5/90/5 (pH4)

【Abstract】 To estimate quantitative information of antitumor effect, simulations were performed by the physiological model linked with a cell kill kinetic model. Antitumor effect of liposomal DOX was increased with the increase of blood circulating time. There was the optimum rate of drug release (k_{rel}) from long circulating liposomes. To examine this model, we prepared liposomes with different k_{rel} , which can be made by changing lipid composition such as HEPC, EPC and CHO. Antitumor effect of liposomal DOX with different k_{rel} was evaluated by survival experiments. Liposomes with the lowest k_{rel} showed the highest antitumor effect. This result was different from our prediction based on the computer simulations, which required some corrections of our model.

【References】

- 1) 飯田慎也ら、第11回日本薬物動態学会 (金沢、10月、1996年)
- 2) S. Ozawa, et al. *Cancer Research*, 49, 3823-3828 (1989)
- 3) L. D. Mayer, et al. *Biochim. Biophys. Acta*, 1025, 143-151 (1990)