リポソームの機能と医薬への応用

菊池 寛

エーザイ株式会社 製剤研究部 DDS 研究室
〒300-2635 茨城県つくば市東光台 5-1-3

Unlimited Potential of Liposomes and Their Application to Medical Field

Hiroshi Kikuchi

DDS Research, Formulation Research Laboratories, Eisai Co., Ltd.,
5-1-3, Tokodai, Tsukuba-shi, Ibaraki 300-2635, Japan

It was previously considered that the practical application of liposomal medicines was very difficult. The pharmaceutical technologies for mass production, long term stability during storage, encapsulation efficiency of the drug, etc. were seemed big problems to be solved, and it was well known that the liposomal particles are apt to be entrapped *in vivo* by the reticuloendothelial system (RES) such as liver, spleen, etc. Fortunately, owing to the progress of science, about 10 liposomal medicines containing the anticancer agents, the antifungal agents, etc. were launched out and are now contributed to medical treatment in the world.

Recently liposomes are expected to be useful as the vectors for *in vivo* nucleic acid (plasmid DNA, siRNA, etc.) therapy and as the tools for target validation in the area of drug discovery. There are already many liposomal reagents for transfection, and some clinical trials are performed using liposomes.

It is considered that liposomes, the membrane-structure particles, have unlimited potential in the medical field.

Key words : liposomes / DDS (drug delivery system) / targeting / slow release / EPR (enhanced permeability and retention) effect / nucleic acid delivery

1. はじめに

リン脂質を水に分散させ、ゲル・液晶相転移温度 (T_c) 以上に温めると、Fig. 1に示すようなミエリン像¹⁾が出現し (この段階では、脂質二分子膜の枚数は数千枚である)、更に機械的エネルギーにより攪拌すると、内部に水相を有する閉鎖小胞を調製することができる。これがいわゆるリポソームであり、1964年に英国のA.D.Bangham博士が発見した。

このリポソームは、生体膜由来のリン脂質を主成

分としていること、細胞膜と同じく脂質二分子膜を有し膜中に膜タンパク等を再構成できること、リポソーム構造そのものが細胞に似ていることなどから、当初は生体膜モデルとして利用されていた。その後、1970年代に入り、このリポソームの内水相あるいは膜中に薬物を封入することにより、薬物そのものの体内動態が変わり、主薬理効果を高めたり副作用を軽減したりすることがわかり、ドラッグキャリアー (当時はまだDDS, drug delivery systemという言葉はなかった) として注目されるようになった。リポソームのDDSとしての歴史は比較的長く、多くの紆余曲折があったが、現在では10個のリポソーム医薬品が世界で発売され、今後も続々と医薬品として実用化されようとしている。

本稿では、リポソームの特徴（種類と機能）、リポソーム医薬品、核酸導入用リポソームおよびリポソーム化粧品の簡単な紹介をしたい。なお、調製方法の詳細については他の総説²⁻⁵⁾を参照していただければ幸いである。

2. リポソームの種類

リポソームは構造的には多枚膜リポソーム（①脂質二分子膜が玉ねぎ状に重なった多重層リポソーム, MLV (multilamellar vesicle), ②膜枚数が数枚のオリゴラメラリポソーム, OLV (oligolamellar vesicle), ③リポソーム内に更に数個のリポソームが内包された multivesicular liposome) がある）と一枚膜リポソーム（①小さな一枚膜リポソーム, SUV (small unilamellar vesicle), ②大きな一枚膜リポソーム, LUV (large unilamellar vesicle), ③細胞の大きさに近い巨大一枚膜リポソーム, GUV (giant unilamellar vesicle) がある）に大別される。SUVとLUVの境は100nm (0.1 μm) とされており、後述のEPR (enhanced permeability and retention) 効果⁶⁾による腫瘍組織等の病変組織へのターゲティングには粒子径50~100 nmのSUVが用いられる。また、リポソームは徐放性製剤としての利用も可能であり、後述のリポソーム医薬品、DepoCyt / SavedarやDepoDur / DepoMorphineでは粒子径20 μm 前後の multivesicular liposomeが用いられている。

なお、調製方法由来の名称として逆相蒸発法リポソーム, REV (reverse-phase evaporation vesicle) が使われたり、膜成分由来の名称として不飽和脂肪酸 (unsaturated fatty acid) を用いた ufasome, 非イオン性界面活性剤 (nonionic surfactant) を用いた nio-some, ウイルスの抗原サブユニットを用いた viro-some などが使われたりすることもある。

更に、リポソームの有する機能から pH 感受性リポソーム、温度感受性リポソーム、抗体修飾リポソーム (immuno-liposome)、血中滞留型リポソーム (long-circulating liposome) などの名称が使われることもある。

3. リポソームのDDSとしての機能

リポソームは膜組成を自由に変えることができるので、DDSとしての様々な機能を持っている。低分子薬物から核酸などの高分子薬物まで保持可能な薬物が多いこと、様々な膜組成、すなわち物性を有するリポソーム調製が可能であること（このことがリポソームの処方設計を難しくしているともいえる

Fig. 1 Typical myelin figure of phospholipid dispersed in water.

が)、生体由来の脂質を主成分とするので生体適合性がよいこと、全身投与から局所投与まで考えられる全ての投与ルートが可能であることなど、リポソームの利点は数多くあるが、詳細は他の総説^{2-5, 7, 8)}を参照されたい。ここでは脂質の会合体形成能と薬物保持、脂質二分子膜のバリアー能と薬物保持、温度感受性あるいはpH感受性リポソーム、アクティブターゲティングとパッシブターゲティングについて少し詳しく紹介する。

3.1 脂質の会合体形成能と薬物保持

界面活性剤やリン脂質などの両親媒性物質には臨界ミセル濃度 (cmc) があるが、通常の界面活性剤の場合には $10^{-2} \sim 10^{-4}$ Mであるのに対して、リン脂質の場合には $10^{-8} \sim 10^{-10}$ Mである³⁾。このことは、リン脂質を主成分とするリポソームにとって大きなメリットになっている。何故ならば、リポソームはリン脂質濃度で5~20 mMで調製するが多いが、これを生体内に投与して血液や体液で希釈されても十分にそのcmc濃度以上を維持することになり、結果としてその構造を体内で維持すること（即ち、封入した薬物を安定に保持すること）になる。また、血中で滞留している間、あるいはEPR効果で病変組織に分布した後は、血液・体液に曝されることにより（希釈効果により）、単分子分散⇄分子会合体（リポソーム状態）の平衡状態がずれながらリポソーム構造を消失させ、封入していた薬物を放出することになる。一方、通常の界面活性剤の場合には（注：いわゆる高分子ミセルの場合にはcmcはもっと低いと思われるので、これには当てはまらない）、例えば難水溶性薬物を可溶化した状態で製剤としてはミセル構造（分子会合体）を形成していても、血液・体

液で希釈されることにより速やかにその構造を消失させて薬物を放出することになる。したがって、両親媒性物質が分子会合体として薬物を保持していても、通常の界面活性剤ミセルの場合には、保持した薬物本来の体内動態を変えることはない。

なお、上記分子会合体の挙動は物理化学的側面からのものであり、実際には血液・体液中のリパーゼ等の酵素の影響も受けるので、もう少し複雑なものとなる。

3.2 脂質二分子膜のバリアー能と薬物保持

用いる脂質の種類（アルキル基の長さ、その不飽和度、時に極性基の種類によりTcが異なる）や膜安定化物質であるコレステロールの有無により、二分子膜のバリアー能（物質透過性）は異なるが、一般論としては、分子量1,000前後が二分子膜（生体膜も含む）透過性における物質の大きさの境界とされている。つまり、分子量1,000以下の物質（水分子や種々の電解質、あるいは薬物も含めて）であれば、二分子膜が液晶状態（流動性を有する状態）の時には膜を透過することになるが、膜がゲル状態（流動性の無い状態）の時には物質透過は起きにくくなる。

また分子量が1,000以上の物質の場合には、その分子の大きさのために膜の流動性にかかわらず膜透過は起きにくくなる。つまり、何らかの手段で分子量1,000以上の薬物をリポソーム内水相に封入できれば、リポソーム膜が物理的エネルギー（希釈効果も含む）や酵素反応等で破壊されない限り、内封された薬物は緩衝液・血液・体液中でリポソーム外水相には漏れないことになる。

この脂質二分子膜のバリアー能を利用すれば、リポソームの内外水相のpHを変えることも可能である。例えば、内水相pHを酸性に、外水相pHを中性にすることも容易であり、これを利用したpHリモートローディング法⁹⁾という塩基性薬物のリポソーム内水相への高保持率化方法が開発され、実際のリポソーム医薬品のいくつかで利用されている。

3.3 温度感受性リポソーム

Tcが41℃のジパルミトイルホスファチジルコリン(DPPC)を主体とした膜成分でリポソームを調製すると、体温である37℃では膜がゲル状態であるために内封した薬物を放出せず、42℃以上になるとリポソーム膜が液晶状態になって膜透過性が高まり、内封した薬物を濃度勾配によってリポソーム外に放出させることができる。これが温度感受性リポソームである。温熱療法と組み合わせることが期待されるが、まだ医薬品としては実用化されていない。膜安

定化剤であるコレステロールを添加すると温度感受性が鈍くなること、米国では温熱療法そのものが医療現場でそれほど汎用されていないことなどが理由として挙げられるが、新たな脂質原材料の創出や別の医療機器との組合せなどが期待される。

3.4 pH感受性リポソーム

ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン(DOPE)は、他のリン脂質と異なり、極性部（親水部）よりも非極性部（疎水部）の方が大きいコーン型分子²⁾に属し、周りの環境のpHやイオン強度により会合状態が変化する。このDOPEを主成分とするリポソームはpH感受性リポソームとよばれ、弱酸性領域（正常組織よりややpHが低い病変組織、あるいは細胞内小器官であるリソソーム内）で膜透過性が高まって内封した薬物を放出したり、膜融合性が高まったりする。後述の核酸導入リポソームの多くはこのDOPEを含んでいるが、リポソームが細胞にエンドサイトーシス（多くのリポソームの場合、細胞との融合は起こらないようである）で取り込まれた後、エンドソーム膜あるいはリソソーム膜と相互作用し、内封した核酸を細胞質に放出する際にこのDOPEが重要な役割を果たしている。

3.5 アクティブターゲティング

細胞は種々の受容体（レセプター）を有しており、これに対するリガンドでリポソーム膜表面を修飾すれば、アクティブターゲティングが可能となる。ここでは簡単に例示するが、リポソーム膜表面上での各膜修飾物質の立体配置や密度などが重要な因子となっている。また、リポソームが受容体認識で細胞内に取り込まれる場合には、リポソーム内に封入された薬物はリポソームごと細胞内に取り込まれることになる。即ちリポソームがエンドソーム、リソソーム経路で消化されてから、封入された薬物は細胞質内に入り込む経緯をとる。

3.5.1 ガラクトース修飾リポソーム

肝実質細胞にはガラクトース受容体があるので、リポソーム膜を乳糖モノ脂肪酸アミド/エステル¹⁰⁾で修飾することにより、静注後、肝実質細胞に到達させることができる。なお、肝実質細胞入り口にはsinusoidal wallという内皮細胞の壁があり、この壁にある隙間（孔）を通過して肝実質細胞に到達させることになるので、リポソームの粒子径は最大でも200 nm以下にする必要がある。

3.5.2 マンノース修飾リポソーム

肝クッパー細胞やマクロファージにはマンノース受容体があるので、リポソーム膜をマンノビオース

Table 1 Liposomal medicines launched out in the world (September 2009)

商品名	開発・販売会社	薬剤	脂質組成 (製剤の形態)	世界での 上市時期	日本での 上市時期	備考
AmBisome	Vestar/NeXstar/Gilead	Amphotericin B	HSPC/cholesterol/ DSPG/ α -tocopherol (凍結乾燥製剤)	1990年	2006年 (16年遅れ)	世界初のリポソーム製剤。世界45ヶ国以上で 上市。日本では大日本住友製薬が開発。
Amphotec/ Amphocil	LTI/Sequus/ALZA,J&J/ Zeneca	Amphotericin B	cholesteryl sulfate ¹⁾ (凍結乾燥製剤)	1993年	—	cholesteryl sulfateとのモル比1:1のコンプ レックス製剤。世界20ヶ国以上で上市。
Abelcet	TLC/Elan/Enzon	Amphotericin B	DMPC/DMPG ¹⁾ (水分散製剤)	1995年	—	脂質(DMPC/DMPG = 7:3)とのモル比1:1の コンプレックス製剤。世界26ヶ国以上で上 市。
DaunoXome	Vestar/NeXstar/Gilead/ Diatos	Daunorubicin	DSPC/cholesterol (水分散製剤)	1995年	—	DSPC/cholesterol 処方リポソーム。世界34ヶ 国以上で上市。カボジ肉腫での1st-line treatment。
Doxil/ Caelyx	LTI/Sequus/ALZA,J&J/ Ortho, Schering-Plough	Doxorubicin	HSPC/cholesterol/ MPEG-DSPE (水分散製剤)	1995年	2007年 (12年遅れ)	ステルスリポソーム。世界80ヶ国以上で上 市。米国ではOrtho(Tibotec)がDOXILで、欧 州ではSchering-PloughがCAELYXで販売。
DepoCyt/ Savedar	SkyePharma/Enzon(US), Mundipharma(EU)	AraC	DOPC/cholesterol/ DPPG/triolein (水分散製剤)	1999年	—	マルチベジクルリポソームで2週間に一度投 与の徐放性製剤。CSFへの直接注入によるリン パ腫性髄膜炎治療。欧米加で上市。
Myocet	TLC/Elan	Doxorubicin	eggPC/cholesterol (3バイアルキット製品)	2001年	—	eggPC/cholesterolリポソーム。欧州主要国で上 市。主薬ドキソルビシンの封入はpH勾配法を使 用し、ベッドサイドで調製する方法。
Visudyne	QLT/Novartis	Verteporfin	eggPG/DMPC (凍結乾燥製剤)	2001年	2004年 (3年遅れ)	加齢黄斑変性治療薬で、世界70ヶ国以上で上 市。日本で初めて上市(2004年)されたリポ ソーム医薬品。
DepoDur/ DepoMorphine	SkyePharma/Endo	Morphine	DOPC/cholesterol/ DPPG/triolein (水分散製剤)	2004年	—	粒子径17-23 μ mのマルチベジクルタイプの徐 放性リポソーム医薬品。手術時の硬膜外注射 (麻酔剤)。欧米で認可。
Marqibo	Hana Biosciences	Vincristine	SM/cholesterol	2008年	—	粒子径100nmのスフィンゴミエリン/コレステロールのPEG無 し血中滞留型リポソーム(Optisome)。急性性リン パ性白血病を対象。欧州で認可。

1) 当初リポソーム製剤として臨床開発していたが、AmBisomeの特許との関係で、途中からコンプレックス製剤に切り替えた。

モノ脂肪酸アミド/エステル¹¹⁾で修飾することにより、静注後、これら細胞に到達させることができる。なお、こちらの場合には、粒子径は大きめの方が細胞への取り込みは効率がよいとされている。

3.5.3 ホスファチジルセリン修飾リポソーム

同様に、肝クッパー細胞やマクロファージにはリン脂質の一つであるホスファチジルセリン (PS) 受容体があるので、PS主体のリポソームは静注後に単球やマクロファージへの取り込みが増大する。実用化には至らなかったが、1980年代には免疫賦活剤であるムラミルペプチド誘導体封入PSリポソームの研究が外資系大手製薬企業により盛んになされた。

3.5.4 アミノ酸・ペプチド修飾リポソーム

リポソーム表面をアルギニンで修飾すると腫瘍細胞に取り込まれやすいことは以前からわかっていた¹²⁾が、近年はアルギニンが8個結合したポリアルギニンが注目されており、これが核酸の細胞内導入や薬物のミトコンドリアへの送達¹³⁾に有用であることが示唆されている。また、腫瘍新生血管に親和性のあるペプチド修飾リポソーム¹⁴⁾の研究も興味深いところである。

3.5.5 トランスフェリン修飾リポソーム

多くの腫瘍細胞にはトランスフェリン受容体があ

るので、これを利用したトランスフェリン修飾リポソーム¹⁵⁾の研究もなされている。近年、国内ベンチャー企業によりこのリポソームの臨床試験が米国でなされており、その結果が注目される。

3.5.6 葉酸修飾リポソーム

トランスフェリンと同様、腫瘍細胞には葉酸受容体があることもわかっており、これを利用した葉酸修飾リポソーム¹⁶⁾の研究も行われている。

3.5.7 抗体修飾リポソーム

上記のアクティブターゲティング用リポソームの場合には、必ずしも標的とする細胞だけがその受容体を有しているわけではなく、他の細胞にも同じ受容体が存在するために、ターゲティング効率は必ずしも高いわけではない。一方、抗体修飾リポソーム(イムノリポソーム)の場合には、更なるターゲティング効率の増加が期待されており、抗体そのものの工夫もなされている^{17,18)}。

3.6 パッシブターゲティング

リポソーム膜をグリコホリンやガングリオシドなどの末端にシアル酸を有す糖タンパク質や糖脂質¹⁹⁾、あるいはポリグリセリン脂質誘導体²⁰⁾やポリエチレングリコール脂質誘導体²¹⁾で修飾すると、リポソー

ム膜表面に水和層を形成させることができる。このリポソームは静脈内投与後もこの水和層のために異物認識されにくくなり、肝臓や脾臓などの細網内皮系 (RES; reticuloendothelial system) に取り込まれにくくなって、結果的には血中滞留性を示すことになる。これを血中滞留型リポソーム (long-circulating liposome) と呼ぶが、更にその粒子径を 50~100 nm に制御すると腫瘍組織、感染組織、炎症組織などの病変組織にターゲティングすることができるようになる。正常組織では血管内皮細胞が密に並んでおり、リポソームのような微粒子は正常組織にはなかなか入り込むことができない (副作用の軽減につながる) が、多くの固形腫瘍組織においては、①新生血管による高い腫瘍内血管密度、②不完全な血管構造 (血管内皮細胞同士の間隙が 100~200 nm といわれている)、③様々な血管透過性因子による血管透過性の亢進、④リンパ系回収機能不全が起きており、これによりリポソームなどの微粒子あるいは高分子化医薬などが腫瘍組織に集積し、また長期間にわたってとどまる (抗腫瘍効果の増強につながる) ことが知られている²²⁾。これを EPR 効果⁶⁾ とよぶが、マウス、ラット、ヒトでその存在の確認がなされている。

なお、この EPR 効果は全ての固形癌に適用できるわけではなく、肉腫・皮膚癌、卵巣癌、乳癌、肝臓癌では適用しやすく、消化器癌では中程度に適用でき、また血管から実組織までの距離が長く周りに結合組織の多いすい臓癌では適用しにくいといわれている。また、感染組織や炎症組織でも EPR 効果は適用できるが、近年、動脈硬化にも適用できる可能性が見出されている²³⁾。

後述のドキソルビシン封入 PEG 修飾リポソーム、DOXIL は代表的なパッシブターゲティング製剤である。

4. リポソーム医薬品

リポソームは 1970 年代からドラッグキャリアーとして注目された (当時も論文数、出願特許数は最も多かった) が、大量生産方法 (均一性・再現性保証、無菌性保証も含む)、長期保存安定性保証、水溶性薬物の高保持率化などの製剤工学的問題点、あるいは RES に捕捉されやすいという生物学的問題点のために医薬品としての実用化は不可能であろうといわれていた。しかしながら、現在ではこれらの問題点はほぼ解決されて、Table 1 に示すリポソーム医薬品が世界で発売されて医療に貢献している。

どのように製剤工学的問題点が解決されたのか、その詳細は他の総説^{2~5)}に譲るが、ここではリポソ

Fig. 2 Liponizer® for control of liposomal particle size. These are for 90 mm ϕ , 90 mm ϕ (with 500mL tank), 142 mm ϕ and 293 mm ϕ membrane filter from the left.

ームの粒子径を制御するために筆者らが開発した高圧整粒器リポナイザー (Fig. 2 参照; 野村マイクロサイエンス (株) 製造、日油 (株) 販売) の紹介をしたい。リポソームの粒子径を制御することはその体内動態制御の観点からも重要な要素である。薬物や脂質が熱や機械的せん断力に安定な場合には、通常の高圧ホモジナイザーで粗乳化したリポソーム分散液を更にマントンガウリン型乳化機のような高圧ホモジナイザーを使用すればよいが、そうでない場合には、均一孔径を有するメンブランフィルターにリポソーム分散液を高圧下で通す extrusion 法²⁴⁾ が便利であるが、Fig. 2 のリポナイザーはそのための装置である。

Table 1 に示す個々のリポソーム医薬品の詳細は他の総説^{25, 26)}を参照していただきたいが、既に 10 個の医薬品が実用化されている。ここで気づくのは、1) 加齢黄斑変性治療薬 Visudyne を除くと、いずれも既存薬をリポソームで DDS 化し、初期は大学発のベンチャー企業が開発し、途中から大手製薬企業が引き継いだこと、2) 日本の場合には、承認されたりポソーム医薬品が 3 品目しかなく、また新薬をリポソーム化した Visudyne を除くと、世界の上市から 16 年 (AmBisome) ないし 12 年 (Doxil) も遅れて日本で承認されたことである。

後者の原因としては、①創薬研究の大きなパラダイムシフト、②外資系グローバル企業の日本への攻勢、③日本はベンチャー企業が育ちにくい環境、④日本はパイロット的な臨床薬理試験 (探索的薬理試験) が実施しにくい環境、⑤市場性・国民性の違い、⑥薬価制度の問題、⑦新規添加物の安全性試験の問題、⑧混合診療の問題、⑨ガイドライン/ガイダンス

Table 2 Liposomal reagents for delivery of nucleic acids (September 2009)

商品名	開発・販売会社	脂質組成	備考
Lipofectin	Invitrogen ^{a)}	DOTMA ¹⁾ :DOPE ²⁾ = 1:1 (重量比)	水分散製剤, 血清存在下で不安定.
Lipofectamine	Invitrogen	DOSPA ³⁾ :DOPE = 3:1 (重量比)	水分散製剤, 血清存在下で不安定.
DIMRIE-C	Invitrogen	DIMRIE ⁴⁾ :cholesterol = 1:1 (モル比)	水分散製剤, 血清存在下で使用可.
Lipofectamine2000	Invitrogen	組成は不詳	水分散製剤, 血清存在下で使用可.
Oligofectamine	Invitrogen	組成は不詳	水分散製剤, アンチセンスオリゴ用.
Lipofectamine LTX / RNAiMAX	Invitrogen	組成は不詳	水分散製剤, 血清存在下で使用可.
Invivofectamine	Invitrogen	組成は不詳	水分散製剤, 血清存在下で使用可.
DOTAP	Roche Applied Science	DOTAP ⁵⁾	水分散製剤, 血清存在下で不安定.
DOSPER	Roche Applied Science	DOSPER ⁶⁾	水分散製剤, 血清存在下で不安定.
Transfectam	Promega	DOGS ⁷⁾	脂質粉末, 血清存在下で不安定.
PerFectin	Genlantis / フナコシ	カチオン脂質は不詳, DOPEは含まれている	脂質粉末, 血清存在下で使用可.
GeneSilencer	Genlantis / フナコシ	組成は不詳	水分散製剤, 血清存在下で使用可.
HilyMax	同仁化学	組成は不詳	水分散製剤, 血清存在下で使用可.
Genettransfer <i>lyo</i>	名古屋大学 / 和光純薬	TMAG ⁸⁾ :DLPC ⁹⁾ :DOPE = 1:2:2 (モル比)	凍結乾燥製剤, 血清存在下で使用可.
COATSOME EL-01-D	第一製薬 / 日本油脂	DC-6-14 ¹⁰⁾ :DOPE:cholesterol = 4:3:3 (モル比)	凍結乾燥製剤, 血清存在下で使用可.
LipoTrust SR / PE / CH	第一製薬 / 北海道システム・サイエンス	DC-6-14:DOPE:cholesterol = 4:3:3, 5:2:0, 5:0:2 (モル比)	凍結乾燥製剤, 血清存在下で使用可.
LipoTrust EX Gene / Oligo	第一製薬 / 北海道システム・サイエンス	組成は不詳	凍結乾燥製剤, 血清存在下で使用可.

a) Invitrogen社とApplied Biosystems社が2008年11月に合併し, Life Technologies社に社名変更

1) N-[1-(2,3-dioleoyloxy)propyl]-N,N,N-trimethylammonium chloride, モノカチオン脂質

2) dioleoylphosphatidylethanolamine

3) 2,3-dioleoyloxy-N-[2(spermine carboxamido)ethyl]-N,N-dimethyl-1-propanammonium trifluoroacetate, ポリカチオン脂質

4) 1,2-dimyristyloxypropyl-3-dimethyl-hydroxy ethylammonium bromide, モノカチオン脂質

5) Lipofectin 原料の DOTMA の chloride が methyl-sulfate に変わったもの, モノカチオン脂質

6) 1,3-dioleoyloxy-2-(6-carboxy-spermyl)-propylamid tetraacetate, ポリカチオン脂質

7) dioctadecylamidoglycyl spermine trifluoroacetate, ポリカチオン脂質

8) N-(α -trimethylammonioacetyl)-didodecyl-D-glutamate chloride, モノカチオン脂質

9) dilauroylphosphatidylcholine

10) O,O'-ditetradecanoyl-N-(α -trimethylammonioacetyl)diethanolamine chloride, モノカチオン脂質

が無いこと, などの日本特有の問題点が挙げられる^{27, 28)}. このうち④, ⑥, ⑦, ⑧, ⑨はレギュレーション関係の問題であるが, 「ナノテクノロジー」のキーワードのもと, 日本政府の努力により近年これらはかなり改善されてきており, 今後は日本でも既存薬のDDS (特にリポソームはナノテクノロジーの代表格である) は積極的に開発されていくことが期待される.

5. 核酸導入用リポソーム

プラスミドDNA, siRNAなどの核酸を細胞内に導入するベクターとしては, 種々のウイルスのほかに非ウイルス系と呼ばれるものがある. 非ウイルス系はウイルスに比べて安全性では優るものの, 細胞内導入効率の面ではウイルスに劣るとされていた. しかしながら, 近年は種々の改良が施され, 非ウイルス系も細胞内導入効率の面でウイルス並みになったとされる. 非ウイルス系の中で最も盛んに検討されているのがリポソームである. Table 2に代表的な核酸導入用リポソーム試薬を示すが, 基本的にはモノカチオン脂質あるいはポリカチオン脂質が主成分と

して使われ, 更に前述のDOPEが含まれる場合が多い. 核酸が電氣的に負電荷を有し, また細胞膜表面自体も負電荷であるために, カチオン脂質が広く利用されている.

なお, 初期の頃の核酸導入用リポソームは, *in vitro* 核酸導入時にいったん無血清培地に置換え, 一定時間後に再び血清添加培地に置き換えるという煩雑な作業を必要とし, また *in vivo* での効果も期待できなかった. 筆者らは, 核酸そのものが血清で分解されるためではなく (むしろ, カチオンリポソームとコンプレックスを形成することにより, 血清に対して安定化する), リポソーム構造そのものが血清により破壊されること, これを防ぐには膜安定化剤であるコレステロールを添加すればよいことを明らかにした^{29, 30)}. 最近のリポソーム試薬はみなコレステロールが添加されているために, 血清存在下でも使用可となっている.

また筆者らは, 凍結乾燥空リポソーム法³¹⁾ という新規なりポソーム調製方法を以前から開発していたが, これが核酸含有リポソームの調製には非常に有用であることも見出した³²⁾ が, この方法はTable 2掲載のリポソーム試薬のいくつかでも利用されて

Fig. 3 Liposomal cosmetic named COSME DECORTE, “MOISTURE LIPOSOME”.

(This photograph was kindly supplied from Kose Corporation)

いる。

核酸導入用リポソームは、①標的のバリレーション等の創薬のツールとして、あるいは②核酸治療薬のベクターとして用いられるが、現在リポソームを用いた臨床試験も多くなされており、近い将来、核酸医薬の世界でもリポソーム医薬品が実用化されることが期待される。

6. リポソーム化粧品

リポソームは内水相を有し（したがって水を保有したマイクロカプセルともいえる）、細胞の大きさ（一般的には10 μm 前後である）と比べるとはるかに小さい。したがって、これを皮膚に適用すると皮膚表面での保湿効果の増強や延長効果が期待でき、また更に、内水相や二分子膜中に栄養成分を添加することによりプラス α の効果も期待される。このために、1980年代から欧米を中心にリポソーム化粧品と銘打った製品が発売されていたが、当時のものは純度の低い（油分の多い）レシチンを用いている場合が多く、サイエンティフィックにみるとO/Wエマルションであった。その後、1990年前後からは化粧品の世界でも本物のリポソーム化粧品が発売されるようになったが、Fig. 3は1992年に発売になった国産のリポソーム化粧品である。

7. まとめ

脂質二分子膜により形成され内部に水相を有する閉鎖小胞、即ちリポソームは、生体膜モデルとして

ばかりでなく、DDSの一つとしても注目され、既に医薬品あるいは化粧品としても実用化されている。今は核酸の細胞内導入用試薬としても用いられているが、この核酸医薬の領域でも近い将来、リポソーム医薬品が実用化され、医療に貢献するであろう。

謝 辞

遺伝子導入用試薬のリスト作りでご協力をいただいた北海道システム・サイエンス（株）DDS部長中野善郎工学博士、化粧品リポソームの写真をご提供くださいました（株）コーセー執行役商品開発部長荒金久美薬学博士、並びに同取締役研究所長内藤昇工学博士に感謝いたします。

文 献

- 1) 菊池 寛：Food & Food Ingredients Journal of Japan, **210**, 426-436 (2005)
- 2) 菊池 寛, 井上圭三：細胞工学, **2**, 1136-1150 (1983)
- 3) 山内仁史, 菊池 寛：フレグランス・ジャーナル, No.87, 68-76 (1987)
- 4) 菊池 寛：PHARM TECH JAPAN, **19**, 99-110, 419-433 (2003)
- 5) 菊池 寛：注射剤（特殊製剤）, 『20周年記念版 製剤機械技術ハンドブック（製剤機械技術研究会編集）』, 地人書館, 印刷中
- 6) Matsumura Y, Maeda H : *Cancer Res.*, **46**, 6387-6392 (1986)
- 7) 菊池 寛, 井上圭三：油化学, **34**, 784-798 (1985)
- 8) 菊池 寛：リポソーム製剤, 『ドラッグデリバリーシステムの新展開：究極の薬物治療を目指して（永井恒司監修）』, シーエムシー出版, pp.173-184 (2004)
- 9) Mayer LD, Bally MB, Cullis PR : *Biochim. Biophys. Acta*, **857**, 123-126 (1986)
- 10) Yamauchi H, Kikuchi H, Sawada M, Tomikawa M, Hirota S : *J. Microencapsulation*, **11**, 179-188, 287-296 (1994)
- 11) Yachi K, Kikuchi H, Yamauchi H, Hirota S, Tomikawa M : *ibid.*, **12**, 377-388 (1995)
- 12) 富川宗博, 広田貞雄, 山内仁史, 菊池 寛, 川戸康義：日本国特許第2786482号
- 13) Yamada Y, Akita H, Kamiya H, Kogure K, Yamamoto T, Shinohara Y, Yamashita K, Kobayashi H, Kikuchi H, Harashima H : *Biochim. Biophys. Acta*, **1778**, 423-432 (2008)
- 14) 浅井知浩, 奥 直人 : *Drug Delivery System*, **19**, 488-494 (2004)
- 15) 丸山一雄, 柳衛宏宣, 安藤秀一, 菊池 寛：特願平11-172176号
- 16) Gabizon A, Horowitz AT, Goren D, Tzemach D, Shmeeda H, Zalipsky S : *Clinical Cancer Res.*, **9**, 6551-6559 (2003)
- 17) Hatakeyama H, Akita H, Ishida E, Hashimoto K, Kobayashi H, Aoki T, Yasuda J, Obata K, Kikuchi H, Ishida T, Kiwada H, Harashima H : *Int. J. Pharm.*, **342**,

- 194-200 (2007)
- 18) Atohe K, Ishida T, Ishida E, Hashimoto K, Kobayashi H, Yasuda J, Aoki T, Obata K, Kikuchi H, Akita H, Asai T, Harashima H, Oku N, Kiwada H : *Biol. Pharm. Bull.*, **30**, 972-978 (2007)
 - 19) Yamauchi H, Kikuchi H, Yachi K, Sawada M, Tomikawa M, Hirota S : *Int. J. Pharm.*, **90**, 73-79 (1993)
 - 20) Maruyama K, Okuizumi S, Ishida O, Yamauchi H, Kikuchi H, Iwatsuru M : *ibid.*, **111**, 103-107 (1994)
 - 21) Allen TM, Hansen C, Martin F, Redemann C, Yau-Young A : *Biochim. Biophys. Acta*, **1066**, 29-36 (1991)
 - 22) 菊池 寛 : *Biotherapy*, **18**, 353-360 (2004)
 - 23) Takahama H, Minamino T, Asanuma H, Fujita M, Asai T, Wakeno M, Sasaki H, Kikuchi H, Hashimoto K, Oku N, Asakura M, Kim J, Takashima S, Komamura K, Sugimachi M, Mochizuki N, Kitakaze M : *J. American College Cardiology*, **53**, 709-717 (2009)
 - 24) Olson F, Hunt CA, Szoka FC, Vail WJ, Papahadjopoulos D : *Biochim. Biophys. Acta*, **557**, 9-23 (1979)
 - 25) 菊池 寛 : リポソーム製剤の最近の動向, 『リポソーム応用の新展開: 人工細胞の開発に向けて (秋吉一成, 辻井薫監修)』, エヌ・ティー・エス, pp.632-642 (2005)
 - 26) 菊池 寛 : 実用化されたりポソーム医薬品と今後の展望, 『DDS治療システムの設計と評価: 未来医療の開拓に向けて (橋田充編集)』, じほう, 2009年11月発行予定
 - 27) 菊池 寛 : ファルマシア, **42**, 337-342 (2006)
 - 28) 菊池 寛 : ナノDDSの実用化と課題, 『ソフトナノテクノロジー: バイオマテリアル革命 (田中順三監修)』, シーエムシー出版, pp.278-283 (2005)
 - 29) Kikuchi H, Suzuki N, Morita H, Ishii Y : *J. Liposome Res.*, **8**, 68-69 (1998)
 - 30) 菊池 寛 : *Drug Delivery System*, **19**, 530-538 (2004)
 - 31) Yachi K, Harashima H, Kikuchi H, Sudoh R, Yamauchi H, Ebihara K, Matsuo H, Funato K, Kiwada H : *Biopharm. Drug Dispos.*, **17**, 589-605 (1996)
 - 32) Kikuchi H, Suzuki N, Ebihara K, Morita H, Ishii Y, Kikuchi A, Sugaya S, Serikawa T, Tanaka K : *J. Control. Release*, **62**, 269-277 (1999)

(Received 30 September 2009 ;

Accepted 2 October 2009)

著者略歴

菊池 寛 (きくち ひろし)

1977年3月 東京大学薬学部薬学科卒業

1977年～2007年 第一製薬(株)勤務

2007年～現在 エーザイ(株)に転職, 現在に至る

1992年～現在 東京大学薬学部非常勤講師兼任

2007年～現在 九州大学大学院薬学研究院薬物送達システム学講座 客員教授兼任

2000年～現在 日本薬剤学会評議員, 理事 (2008年～)

2001年～現在 日本DDS学会評議員, 監事 (2009年～)

2002年～現在 日本シクロデキストリン学会 評議員

1991年2月 薬学博士号取得 (東京大学)

1993年～1994年 ミシガン大学薬学部留学

1995年～2009年 北海道大学大学院, 京都大学大学院, 岡山大学医学部, 徳島大学大学院, 九州大学薬学部等の非常勤講師歴任