●特集 エマルションの新展開

脂質エマルションの医薬品製剤への応用

関 純 造

日本新薬株式会社 薬剤研究部 ☎ 601-8550 京都市南区西大路通り八条下る

Lipid Emulsions as a Drug Carrier

Junzo Seki

Pharmacy Labs., Nippon Shinyaku Co., Ltd.
Nishiohji Hachijo, Minami-ku, Kyoto 601-8550, Japan

Conventional lipid emulsions (LM), with a mean diameter of 0.2-0.3 μm and consisting of soybean oil and lecithin, are used for parenteral carriers for site-specific drug delivery as well as for parenteral nutrition. Plasma lipoproteins are well known as endogenous colloidal lipid particles which have physiological roles to deliver many lipids to specific sites in the body and as a potential carrier of drugs. If a lipophilic drug joins with plasma lipoproteins, the amount of the drug entering tissues may vary widely because each lipoprotein has different metabolic fate. One might also expect that lipid emulsions with different size and/or compositions may show different characteristics of drug carriers. For example, a small lipid emulsion of particles, Lipid Nano-Sphere (LNS[®]), with a mean diameter of 25-50 nm, are characterized by lower uptake by the liver, prolonged plasma half-lives of drugs, and good distribution into sites of inflammation, tumor, etc. as compared with LM. The difference between them is explained by the affinities to apolipoprotein C-II and E. LM has high affinity to these apolipoproteins and rapidly enters into the liver like chylomicrons. In the both emulsions, they are in dynamic pathways of lipoprotein metabolism in the circulation. Several types of lipid emulsion with different properties as drug carrier are under investigations.

Key words : lipid emulsion/plasma lipoprotein/drug carrier/lipid nanosphere/drug delivery system

1. はじめに

近年、医薬品の開発研究において、Drug Delivery System (DDS) という製剤学的なアプローチが注目を集めている。吸収・分布・代謝・

排泄といった薬物の体内動態を、「製剤」により、時間的・空間的に制御し、よりよい医薬品を提供することを目的としている。この中で、リポソームやエマルションといった脂質微小分散系製剤に対する期待は大きく、多方面において活発な研究

Fig. 1 Schematic drawings of lipid formulations

がなされ、従来より高カロリー輸液として用いられてきた静注用の脂肪乳剤に薬物を包含させた製剤が既に数種類製品化されている¹⁾。我々は、血漿中に存在する乳化系であるリポタンパクに興味を持ち、薬物動態や薬効発現に血漿リポタンパクの関与を認めたことをきっかけとして、生体内コロイドであるリポタンパクの生理的な脂質運搬体としての機能・特質に着目し、薬物運搬体(DDS製剤)への応用を探ってきた。この一連の研究の中から、ダイズ油と精製卵黄レシチンよりなる粒子径が25-50 nmの極めて微細な脂質エマルション(Lipid Nano-Sphere, LNS®)を作製し、このものを中心にリポタンパクとの関係、種々の脂質微小分散系製剤の特異な生物学的機能およびその粒子径の影響などについて検討を続けてきた。

2. 薬物動態・薬効発現への血漿リポタンパクの関与

我々は植物性ステロール配糖体(SG)の体内動態と薬効の関係(ファーマコダイナミクス)に関する研究において、SGの経口投与後の血中濃度と止血効果の時間的推移の不一致、即ち、薬物の血中濃度はかなり長時間持続するのに対し、薬効は比較的短時間で消失してしまうという現象の

Fig. 2 Gel filtration of the plasma containing [³H] β -sitosteryl- β -D-glucoside on Sepharose CL-6B column

解明に取り組んでいた。

周知のごとく、血漿リポタンパクはその構造、脂質組成、アポタンパク組成、粒子径等が異なる数種に分類され、脂質の運搬体としてそれぞれが特徴ある体内動態を示すことが知られている。現在では非常に複雑な脂質代謝系のなかで、種々のレセプター・酵素の存在等の詳細が明らかとなっているが、当時、悪玉コレステロールとして有名な「LDL」は末梢細胞にコレステロールを運ぶ役割を有しており、一方、善玉と呼ばれる「HDL」は末梢から肝臓にコレステロールを戻す機能を有しているなど基本的なことは既に明らかとなっていた。

そこで、薬物がある特定のリポタンパクに選択的に結合する性質があるならば、薬物の分布・送達先がリポタンパクの生理的な挙動に支配されるのではないかと考えた。

3. 特定のリポタンパクに結合している薬物のみが薬効を有した

上記のような仮説のもと、SGの経口投与後の血清を分画し、それぞれのリポタンパク画分中の薬物定量を実施した。その結果、血清中にいわゆる遊離のSGは検出されず、また、アルブミンへの結合も認められず、全てのSGはリポタンパクに結合して血中に存在していることが判明した

Fig. 3 Hemostatic time and concentration of β -sitosterol- β -D-glucoside (SG) in serum and its subfractions after oral administration of SG

(Fig. 2). そして、投与後、薬効の認められる時間帯にほぼ対応して LDL を代表とする低密度のリポタンパク群中に SG が検出された。一方、薬効の消失した後に血中に存在する SG は、HDL (高密度リポタンパク) に結合していた (Fig. 3)。

そこで、ブランク血清より各リポタンパクを分離精製し、*in vitro* で SG を添加して調製した SG 含有リポタンパクを静脈内投与し、薬効を評価した。その結果、期待通り HDL に結合した SG には薬効は認められず、LDL を代表とする低密度のリポタンパク群に結合した SG が薬効を示した。驚いたことに、静脈内投与実験に用いていた界面活性剤 (HCO-60) による可溶化製剤の有効用量に比べ 1/100 以下の投与量で同等の有効性が確認された (Fig. 4)²⁻⁴⁾。

これらの実験結果は、それぞれの血漿リポタンパクの特徴的な血中動態を踏まえると、薬物の組織標的化がリポタンパクにより達成されていることを示唆するものであった。

4. 脂質微小分散系製剤を用いた DDS

天然の界面活性剤であるリン脂質を用いた各種の製剤が、従来よりその特異な性質や安全性の観点から注目されている。代表的なリン脂質である

Fig. 4 Hemostatic activity of SG-lipoprotein complexes
Each complex prepared *in vitro* was administered intravenously to mice, and hemostatic time was determined. (mean $\pm$ S.E., $n=5$)

精製卵黄レシチンは、合成の界面活性剤に比し、静脈内投与においても生体適合性が高く安全に用いることができる乳化剤である。例えば、ダイズ油を卵黄レシチンで乳化した平均粒子径約 $0.2 \mu\text{m}$ の静注用脂肪乳剤 (リピッドマイクロスフェア、LM) はカロリー補給の目的で用いられているが、このものは近年、数種の脂溶性薬物の DDS 担体としても用いられるようになった¹⁾。さらに、従来静脈内投与に用いられてきた HCO-60 等の界面活性剤に対して、ショック等を誘発する危険が持たれており、これらをリン脂質に置き換える試みもなされている。

一方、前述の様に、ヒトの血液中には、リン脂質による脂質微小乳剤系であるリポタンパク粒子が存在し、このものはコレステロールや中性脂肪等の脂質を特定の部位から特定の部位へ輸送するといった生理的役割を担っている。これはまさに生理的な標的部位指向型 DDS のひとつのお手本であると考えられる。

リポタンパクを薬物担体として利用する試みは、数多く行われている。特に、増殖の盛んな癌細胞はその膜成分として多量のコレステロール等の脂質を要求しており、LDL レセプター活性が亢進していることが数多く報告されている。しかしながら、*in vivo* では良い成績がなかなか得られていないのが現状である。これは内在性のリポ

Fig. 5 Plasma concentration of dexamethason palmitate (DMP) after intravenous administration of LNS and LM to rats

Fig. 6 Tissue distribution of dexamethason palmitate (DMP) after intravenous administration to rats (0.5 mg/kg, mean $\pm$ SD, n=3)

する部位への到達性が極めて低いことが問題となり、いかにして RES を回避するかが最大の課題となっている。リポソームや LM を代表とする従来の脂質微小分散系製剤においても全く同様に、投与後その大半が肝臓や脾臓に移行するため、ポリエチレングリコール等でその表面を修飾して RES 回避性を賦与することなどが活発に研究されている。

我々は、前述のリポタンパクの生理的な標的的部位指向性を利用した DDS 製剤を検討する中で、リン脂質と単純脂質のみからなり、血漿リポタンパクと同じ粒子径 (25-50 nm) を有するエマルション (Lipid Nano-Sphere, LNS[®]) を作製し、このものをリポタンパクを用いた DDS の「negative control」として実験に用いていた⁴⁻⁷⁾。LNS は LDL と異なりレセプターに認識されるアポタンパクを持たないため、細胞への選択的な移行性は極めて低く、SG を含有させた LNS では薬効も認められなかった (Fig. 4)。このように当初は、リポタンパクの薬物担体としての優位性を評価するための LNS であったが、LM を用いた DDS 製剤開発が水島らにより報告されるようになり、これらを比較検討したところ、LNS は LM に比べて包含する薬物の血中濃度が非常に高いことが判明した (Fig. 5)。すなわち、LNS は RES への移行性が低く (Fig. 6)、静注後長時間血中に滞留・循環し、炎症反応を呈している部位や腫瘍等の血管透過性が亢進している部位等で選択的に血管から漏出し組織内に移行することを見出した (Fig. 7)⁶⁻¹²⁾。

Fig. 7 Passive targeting with LNS to tumor and inflamed sites

タンパクによる希釈の影響や *in vitro* でのハンドリングによる過酸化等の変性などが原因ではないかと考えられる。さらに、リポタンパクや脂質代謝の種差の克服、工業的製造法の開発等をはじめとして、実用化に向けたハードルはまだ高いのが現状である。

6. リピッド ナノスフェア (LNS[®])

標的部位指向型 DDS 製剤の開発において、特定の部位を認識する為のリガントとしてモノクローナル抗体を中心に研究がなされてきた。しかしながら、静注等で全身適応した際、肝臓や脾臓の異物処理機構 (細網内皮系, RES) による非特異的貪食処理を受け、その結果として、目的と

Fig. 8 Possible elimination pathway of LNS and LM from the circulation

これらの現象は、「受動的ターゲティング」と呼ばれるようになり、なんら積極的な標的指向性リガンドを持たないが、結果的に優れた組織選択性が得られることより、現在の DDS 研究の中心として位置づけられている。

LNS は、臨床での十分な使用実績がありヒトに対する安全性が確認されている LM と同じ成分（ダイズ油と精製卵黄レシチン）を用いて製造可能であり、更に、ろ過滅菌や凍結乾燥も可能であるため、熱に不安定な薬物への応用や長期の保存性に関しても優れた性質を有している。

7. LNS の血中滞留メカニズム

LNS と LM の最大の物理化学的相違点は粒子径にある。これら両者の生物学的な薬物担体としての特徴は、内在性のリポタンパクとの類似性に基づき、それぞれの乳剤が異なったリポタンパク代謝経路により処理される結果としてその特徴が発揮されている。脂質代謝は極めて複雑であるが、中でもアポリポタンパクの乳剤粒子への結合性が血中動態を決定する最大の要因であると考えられる¹³⁻¹⁴⁾。

LM は血中に投与されると、血中に存在するアポリポタンパク (Apo C-II や Apo E) が直ちに粒子表面に結合し、リポタンパクリパーゼ (LPL) の作用を受け、ダイズ油が加水分解を受ける。これと並行して Apo E-receptor を介して肝臓 (RES) への取込みが起り、比較的速やかに血

漿中より消失することが確かめられた¹³⁻¹⁴⁾。これはカイロミクロンと類似した代謝パターンである (Fig. 8)。また、LPL の作用により生じた nascent HDL が成熟する際に、lecithin-cholesterol acyltransferase によりリゾレシチンが生成する。従って、LM の急速大量投与時には溶血等の危惧がある。

これに対し LNS は、Apo C-II や Apo E の結合性が低く、LPL による脂肪の代謝（加水分解）や Apo E レセプターを介した肝臓への移行・取り込みが少ない。このことにより、長時間血中を循環する性質を有するものと考えられる。これは LDL の性質と類似点が多い。また、LNS は急速大量投与によっても溶血性は認められない¹⁵⁾。

また、これら脂質微小分散系製剤中の外因性のレシチンやダイズ油は、投与後、アルブミンへの移行や血漿中の内在性のリン脂質や中性脂質等と極めて動的な関係におかれている。例えばレシチンは「リン脂質交換タンパク (PTP)」により血漿リポタンパク等と脂質交換を行うことも明らかとなった¹²⁻¹⁴⁾。

さらに、LM は LNS に比べ投与後、内因性のコレステロールの粒子表面への動員・結合が大きく、このことはアポタンパクの結合性を更に高める結果となり、血中滞留性が低下する要因であることも明らかとなった¹⁶⁾。投与された外因性のエマルション粒子は、生体内でのこのような生理的な物質交換等により、刻々と粒子状態の変化が生じていると考えられる。

8. 脂質微小分散系製剤による DDS の課題

これまで述べてきたように、LM や LNS をはじめとしリボソームと呼ばれるものも含めてこれら脂質微小分散系製剤による医薬品製剤への応用を試みるとき、多くの課題に遭遇する。

まず、乳化系の安定性に悪影響を与えることなく十分な濃度の薬物が包含可能かどうかが挙げられる。我々が経験した範囲内においても、水に難溶で脂溶性の高い薬剤を候補として検討したなか、界面活性を有したり、ダイズ油やレシチンに

なじみが悪いことが原因で安定な製剤が調製できないことがある。

次に、たとえ満足される製剤が調製可能であったとしても、投与後、ただちに乳剤粒子から薬物が遊離し、期待した DDS 効果が全く得られない場合もある。この点については、薬物の分配係数等から基礎的な現象を説明する研究報告がなされているが、その他、アルブミン等の血清タンパクへの親和性の有無や乳剤粒子を構成する脂質と薬物との相互作用、さらに、種々の脂質代謝系のなかでそれらの基質となり得るかどうかなど極めて多くの要因が複雑に絡み合っており、残念ながら現在でも「Try and Error」が最も現実的な評価手段でしかない。

9. おわりに

商品化のための製剤化検討のみならず、スクリーニング段階においても難溶性化合物の乳化・可溶化技術の重要性が増している。難溶であるため、

1. *In vitro* のスクリーニングにおいて、培地中で析出し評価不能となる。

2. 経口吸収が悪く、個体差や食事の影響が大きい。

3. 注射剤化が困難である。

といった大きな欠点を有し、従来であれば切り捨てられてきたような化合物も、製剤化技術の発展によりその化合物自身が持つ医薬としての貴重な性質を生かすことが可能になりつつある。また、冒頭で述べたように、「製剤」により薬物の体内動態を制御し医薬品としての有用性を確保・改善することも、医薬品メーカーの製剤研究を担当する者の使命となっている。

しかし、特に乳化系製剤の物理化学的性質と医薬品としての生物学的な性質の関係については、まだまだ不明な点が多いのが現状である。

すなわち、脂質エマルションに関しては、生体がどのような機構でエマルションの粒子径などを認識しているか、また構成成分と体内動態の関係など基礎的な研究課題が多く残されている。また、

「ナノメーターの世界」の物性に関しては未解明の部分が多く、評価法も一般化していない。粒子径の評価を例にとってもまだまだ問題点が多く、あらゆる面での評価技術のレベルアップが必要である。

一方、種々の脂質エマルション製剤に、薬物担体として今後どのような機能を追加賦与し、その有用性を更に高めていくかということにも興味を持たれている。中鎖脂肪酸トリグリセリド¹⁷⁾やジグリセリド¹⁸⁾を構成成分とした脂肪乳剤の研究も進められており、脂質エマルションの医薬品への応用は、今後、ますます発展していくことが期待される。

文 献

- 1) Y. Mizushima : *Advanced Drug Delivery Reviews*, **20**, 113-115 (1996)
- 2) 関 純造ら : 日本薬学会第 104 年会 (1984) 仙台
- 3) J. Seki, A. Okita, M. Watanabe, T. Nakagawa, K. Honda, N. Tatewaki, and M. Sugiyama : *J. Pharm. Sci.*, **74**, 1259-1264 (1985)
- 4) M. Sugiyama and J. Seki : In "Lipoproteins as Carriers of pharmacological agents" Ed : J. M. Shaw, Marcel-Dekker Inc., N.Y. (1991)
- 5) 佐々木秀樹ら : 日本薬学会第 115 年会 (1995) 仙台
- 6) 関 純造ら : 日本薬学会第 108 年会 (1988) 広島
- 7) J. Seki et al. : 第 2 回国際薬物動態学会 (ISSX) (1988) 神戸
- 8) 関 純造ら : 日本薬学会第 6 年会 (1990) 千葉
- 9) 関 純造ら : 日本薬学会第 111 年会 (1991) 東京
- 10) 土井正治ら : 日本薬学会第 113 年会 (1993) 大阪
- 11) J. Seki, H. Sasaki, M. Doi, H. Yoshikawa, Y. Takahashi, S. Yamane, H. Fukui, S. Sonoke, H. Yamamoto, M. Hirose, Y. Ezure, T. Ando, K. Ushimaru, and M. Sugiyama : *J. Controlled Release*, **28**, 352-353 (1994)
- 12) H. Fukui, et al. : The 7th Japanese-American Conference on Pharmacokinetics and Biopharmaceutics (1994) Hiroshima
- 13) S. Sonoke, et al. : 23rd Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater., (1996) Kyoto
- 14) 園家 暁ら : 日本薬学会第 114 年会 (1994) 東京
- 15) 佐伯 憲ら : 第 13 回日本 DDS 学会 (1997) 札幌
- 16) 五島隆志ら : 日本薬学会第 118 年会 (1998) 京都
- 17) 入山圭三 : 医学のあゆみ, **183**, 743-746 (1997)
- 18) 入山圭三 : 医学のあゆみ, **183**, 747-751 (1997)

(受付 1998 年 2 月 28 日 掲載決定 3 月 9 日)