薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
116 (7) 519-532 (1996)

高分子薬物のデリバリーシステムの開発に関する研究

高倉喜信

京都大学薬学部, 〒606-01 京都市左京区吉田下阿達町 46-29

Development of Drug Delivery Systems for Macromolecular Drugs

Yoshinobu TAKAKURA

*Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University,
Sakyo-ku, Kyoto 606-01, Japan*

(Received March 21, 1996)

With a rapid progress in biotechnology, a variety of endogenous macromolecular substances have become a novel class of therapeutic agents. This review will focus on the development of delivery systems for macromolecular drugs. Current status and future perspectives in this research field are reviewed mainly based on the results obtained in our laboratory.

First of all, we studied pharmacokinetic characteristics of macromolecules in relation to their physicochemical properties such as molecular weight and electric charge. Based on this information, we first developed macromolecular prodrugs as a delivery system for low molecular weight drugs. An antitumor antibiotic, mitomycin C (MMC) were covalently conjugated with dextran and various types of macromolecular prodrug of MMC were developed for tumor targeting. Secondly, delivery systems for protein drugs such as soybean trypsin inhibitor, uricase, and recombinant superoxide dismutase (SOD) were developed. In particular, successful targeting of SOD to the liver, kidney and blood circulation was achieved by chemical modification of the protein drug. Finally, we have been trying to develop delivery systems for nucleic acid drugs involving antisense oligonucleotides and plasmid DNA. Prior to the development of delivery systems, we found that the pharmacokinetics of the nucleic acid drugs are decided by their physicochemical properties as polyanions even if these materials contain genetic information. Several approaches were tested to control the *in vivo* behavior of the oligonucleotides and plasmid DNA based on the finding.

Thus, we have established the strategy for rational design of delivery systems for various types of macromolecular drugs based on the pharmacokinetic considerations. This methodology can be a formidable tool for the development of clinically applicable macromolecular drugs.

Key words—drug delivery system; pharmacokinetics; mitomycin C; superoxide dismutase; antisense oligonucleotide; plasmid DNA

1. はじめに

近年の生命科学の飛躍的な発展により、様々な疾病の原因や生体恒常性の維持に関する分子機構などが次々に解明されてきている。また、本来生体内に微量しか存在せず強い生理活性を示す生体高分子が、遺伝子組み替え技術を応用して容易に大量生産されるようになった結果、薬物治療に対する基本的な概念は大きく様変わりした。すなわち、従来の薬物治療においては、生体にとっては異物であるものの適用を基本としてきたが、生理活性タンパクに代表される種々の内因性生理活性高分子が治療に応用されるようになった。インターフェロンや各種細胞増殖因子などのサイトカインをはじめ多数の遺伝子組み替え型タンパク質が、既にバイオテクノロジー応用医薬品として実用化されている。さらに、最近では最も基本的な生命現象である遺伝子発現を調節することのできる高分子物質が全く新しい概念に基づいた医薬品の候補物質と考えられるようになり、“遺伝子医薬品”として治療に応用しようとする試みも進められている。

Drug delivery system (DDS) は、薬物の生体内動態を精密に制御するための新しい投与形態の総称であり、薬物治療の最適化を実現できる有用な方法論として期待されている。筆者らは、種々の高分子薬物を対象に取り上げ、これらの体内動態を制御し、標的作用部位に選択的に送達することのできる DDS の開発を行ってきた。本総説では、高分子薬物の DDS 開発について筆者らの研究成果を紹介すると共に、本研究分野の最近の動向を概説する。

2. 抗癌剤の高分子化プロドラッグの開発

細胞毒作用を作用機序とする抗癌剤は、その標的である癌細胞のみならず分裂の盛んな正常細胞にも重篤な副作用を示すため、临床上使用が大きく制限されている。この一因として、一般に抗癌剤の多くは低分子薬物であるため、基本的には投与後全身に一樣に分布してしまうことが考えられる。このように体内動態に選択性を持たない抗癌剤に、腫瘍細胞に対する標的指向性を賦与することが、癌化学療法において最も重要な課題の1つとなっている。なかでも、高分子キャリアを用いた腫瘍ターゲティングは有用なアプローチと考えられる。¹⁻³⁾

1) 高分子化プロドラッグの設計 筆者らは、抗癌剤の効果の増強と副作用の軽減を達成することのできるデリバリーシステムの開発を目的に、抗癌性抗生物質マイトマイシン C (MMC) を取り上げ、これを種々の高分子運搬体に共有結合させた各種高分子化プロドラッグを合成した。^{4,5)} Fig. 1 は、研究の中心に用いた MMC-dextran 結合体 (MMCD) の構造式を示したもので、dextran の分子量や spacer の種類や結合様式を選択することにより MMCD の分

Fig. 1. Chemical Structures of Mitomycin C-Dextran Conjugates with Anionic Charges (MMCDan) and Cationic Charges (MMCDcat)

子量や電荷, MMC の遊離速度を任意に制御することができる.⁶⁾ 検討の結果, これらは, 生体内で加水分解により MMC を徐放する高分子化プロドラッグとして, 種々のマウス実験腫瘍に対し優れた抗腫瘍効果を示すことが明らかとなった.⁷⁻⁹⁾

2) 全身投与による腫瘍ターゲティング 一般に, 腫瘍組織においては毛細血管の透過性が亢進している一方で, リンパ系が未発達であることから高分子物質が蓄積しやすいことが知られている (Fig. 2). この現象をうまく利用し, 適当な高分子化プロドラッグを設計すれば抗癌剤の受動的ターゲティングが実現できると考えられる. 担癌マウスを用いて体内動態を解析した結果, 高分子化プロドラッグの分子量, 電荷などの物理化学的性質とその全身投与時の薬物動態学的特性と腫瘍組織移行性との関連を明らかにすることができた.¹⁰⁻¹²⁾ 本目的には, 弱い負電荷を持ち分子量 7 万の MMCDan が, 血中滞留性に優れ, 固形腫瘍に高い蓄積を示す結果, 優れた腫瘍増殖抑制効果を発現することが明らかとなった. 本研究は, さらにモノクローナル抗体を利用した免疫ミサイル療法の開発にも発展し, ヒト大腸癌細胞に対するモノクローナル抗体 A7 と MMCDan との結合体 (Fig. 3) がヌードマウスに移植した標的癌細胞の増殖を顕著に抑制することが示された. 以上の結果より, 標的組織に対する親和性のみならず全身レベルでの動態特性を考慮した DDS 開発の重要性が示された.^{13,14)}

3) 局所投与による腫瘍ターゲティング 抗癌剤の細胞毒作用を腫瘍選択的に働かせるために, 腫瘍内あるいは腫瘍が増殖している体腔内に直接注入する方法が臨床的に試みられる. しかしながら, 低分子抗癌剤は速やかに消失するのみならず, 局所毒性が強いためこうした適用は難しい. 本研究において開発された高分子化プロドラッグはこのような問題を解決するための DDS としても有用であることが明らかとなった.¹⁵⁻¹⁷⁾ とりわけ正電荷を持つ MMC-Dcat は, 局所投与後長時間投与部位に滞留す

Fig. 2. Anatomical and Physiological Characteristics of Normal and Tumor Tissues

A7-MMCDan

Fig. 3. Schematic Chemical Structure of Mitomycin C-Monoclonal Antibody (A7) Conjugate Using Anionic Dextran as an Intermediate

ると共に、リンパ行性に吸収されるため、癌のリンパ節転移にも有効であることも示された。本プロドラッグについては、京都大学医学部附属病院第二外科との共同研究として臨床応用が試みられ、優れた治療成績が得られ臨床的にも有用な DDS であることが証明された。^{18,19)}

3. タンパク質医薬品の細胞特異的ターゲティング

バイオテクノロジーの発展に伴い、生体の恒常性維持のために複雑なネットワークを構築して働いている生理活性タンパクが容易に生産されるようになり、各種サイトカインなど既に市販されているバイオテクノロジー応用医薬品も少なくない。しかしながら、これらは種々の問題点を抱えており実用化における大きな障害となっている (Table 1)。とりわけ生体内安定性や標的細胞への到達性など体内動態に関する問題は重要課題であり、これらを克服できる DDS の開発が望まれている。

1) 高分子物質の体内動態と物理化学的、生物学的特性との関連 筆者らは、タンパク質医薬品の体内動態を精密に制御できる DDS 開発を目指し、その研究の第一段階として、タンパク質医薬品を含む種々のモデル高分子を対象に行った基礎的検討により、高分子薬物の物理化学的、生物学的特性と薬物速度論的な体内動態特性との関連を体系的に整理することを試みた。²⁰⁾ Fig. 4 は、その検討結果をまとめたもので、分子量、電荷の異なるタンパク質、多糖類など各種モデル高分子の静脈内投与後の体内動態を主として規定する肝臓取り込みクリアランスと尿中排泄クリアランスの値をプロットしたものである。これより、腎臓における糸球体濾過

Table 1. Characteristics of Biologically Active Proteins as Medicines

1. Strong biological activities at very low concentrations
2. Complicated actions
3. Endogenous substances
4. Difficulty in handling (chemical degradation, aggregation, polymerization, adsorption)
5. Susceptibility to proteases and/or peptidases
6. Short biological half-life
7. Undesirable characteristics in transport across the cell membranes (molecular weight, solubility)
8. Immunogenicity and antigenicity

Fig. 4. Hepatic Uptake and Urinary Excretion Clearances of Model Macromolecules in Mice after Intravenous Injection: Effect of Molecular Weight (Left) and Effect of Electric Charge (Right)

が基本的には分子量に依存した限外濾過現象であるため²¹⁾ 分子量約 50000 以下の高分子の消失には尿中排泄が大きく寄与することが分かる。また、強い負電荷を持つもの^{22,23)} は非実質細胞に存在するスカベンジャーレセプターを介したエンドサイトーシスの機構により、また正電荷を持つもの²⁴⁾ は静電的な相互作用に基づく吸着性エンドサイトーシスにより肝臓により速やかに取り込まれることが示されている。さらに、糸球体濾過速度、肝血漿流速、肝臓の *fluid-phase endocytosis* の速度などの生理学的パラメータとこれらの値の関係も明らかになった。

以上の結果より、分子量、電荷といった物理化学的性質を制御することでタンパク質医薬品の体内動態をコントロールできることが明らかとなった。この情報に基づき、化学修飾によりタンパク質医薬品の物理化学的性質を改変することによる体内挙動の制御を試みた。例えば、大豆トリプシンインヒビター (STI; 分子量約 20000) など分子量が小さいため尿中に速やかに排泄されてしまうタンパク質に対しては、デキストランやポリエチレングリコール (PEG) で高分子化することで糸球体濾過を抑制することにより血中滞留性が大きく改善できた。^{25,26)} STI に関してはトリプシンショックや急性膵炎に対する治療効果にもつながることを併せて示すことができた。さらに、微生物由来の酵素ウリカーゼ (分子量約 120000) に対しては、デキストランに荷電官能基を導入した誘導体を用いて修飾を施すことで修飾素材の動態特性を反映した体内動態パターンをつくれること及び免疫学的特性も改善できることが明らかとなった。²⁷⁻²⁹⁾

2) SOD の細胞特異的ターゲティング 次に筆者らは、活性酸素の関与する種々の疾病の治療薬として期待されながら速やかに尿中排泄を受けるため使用が制限され実用化に至っていないスーパーオキシドジスムターゼ (SOD; 分子量約 32000) を取り上げ、種々の分子構造修飾型 DDS の開発を試みた。ここでは、既に表示したように SOD の分子サイズや静電的な性質を改変したり、さらに標的細胞による特異的認識素子として適当な糖鎖構造を導入した誘導体设计了 (Fig. 5, Table 2)。その結果、Fig. 6 に示したように、SOD が生体内で活性酸素消去

Fig. 5. Design of Delivery Systems for Human Recombinant Superoxide Dismutase (SOD) by Chemical Modification

Table 2. Physicochemical Properties and Enzymatic Activity of SOD and SOD Derivatives

Compound	Number of NH ₂ ^{a)}	Molecular weight (HPLC)	Activity ^{b)} (% of SOD)	Molecular charge
SOD	24.0 ^{c)}	32000	100	—
SOD-CMD	18.0	150000	50.0	—
SOD-DEAED	15.0	150000	55.0	+
SOD-PEG ₂	14.5	270000	47.0	—
Cat-SOD	35.0	34000	47.0	+ (pI > 9.0) ^{d)}
Suc-SOD	2.0	34000	55.0	— (pI < 4.0) ^{d)}
Gal-SOD	2.7	35000	79.4	—
Man-SOD	3.8	34000	70.2	—

a) Determined by trinitrobenzene sulfonic acid method. b) Determined by nitroblue tetrazolium reduction method. c) Calculated value. d) Determined by chromatofocusing method.

Fig. 6. Control of Pharmacokinetic Profiles of Human Recombinant Superoxide Dismutase (SOD) by Chemical Modification: Effect on Hepatic Uptake and Urinary Excretion Clearances

酵素として機能し、治療効果を発現するために必要な種々の体内動態パターンを創り出せることが証明できた。³⁰⁻³⁴⁾ すなわち、1) PEG や負電荷を有する CM-デキストランで高分子化することにより血中滞留性を数十倍から数百倍改善できる、2) ガラクトース (Gal-SOD) 及びマンノース (Man-SOD) 分子を導入することにより各糖鎖を認識する肝臓の実質細胞及び非実質細胞 (血管内皮細胞, Kupffer 細胞) の細胞内にレセプター介在性エンドサイトーシスの機構により千倍以上の速度でターゲティングできる、3) 正電荷を有する DEAE-デキストラン修飾により肝臓の細胞表面に局在化できる、4) 負電荷を導入する (Suc-SOD) ことによりポリアニオンを特異的に認識するスカベンジャーレセプターを介して肝非実質細胞に送達できる、5) 正電荷を導入する (Cat-SOD) ことで腎臓への選択的移行が得られることが示された。

とりわけ、糖修飾誘導体 (Gal-SOD 及び Man-SOD) に関しては、ラットにおける肝虚血再灌流障害に対して優れた治療効果を示すことが見いだされており、³⁰⁾ 虚血性疾患の予防や治療の

ための有用な DDS となる可能性が示されている。一方、腎臓ターゲティング型の Cat-SOD に関しても、腎虚血再灌流障害における顕著な薬理効果が認められている。³³⁾ 以上のような、分子構造修飾型 DDS は種々のタンパク質医薬品に応用可能と思われる。³⁵⁾

4. 遺伝子医薬品のデリバリーシステムの開発

さらに最近では、生命現象のより上流である遺伝子発現を制御できる物質が全く新しい概念に基づく医薬品の候補物質として考えられており、癌、エイズなど種々の難治性疾患の新しい遺伝子レベルでの治療法として期待されている。³⁶⁾

遺伝子レベルで疾病を治療する試みは、オリゴヌクレオチドを用いるアンチセンス法と遺伝子そのものを“薬物”として利用する遺伝子治療に大別できる。アンチセンス法は、mRNA あるいは DNA に相補的な塩基配列を持つアンチセンス DNA を細胞に作用させることにより特定の遺伝子発現をブロックすることを基本原理とするもので、化学合成により得られる 15—30 程度のオリゴマーが用いられる。一方、遺伝子治療は目的とするタンパク質をコードする遺伝子を標的細胞に導入・発現させることで治療の達成を図るもので、既に臨床応用が進められている *ex vivo* 法に加え、遺伝子を通常の医薬品と同様に直接患者に投与する *in vivo* 法の確立が望まれている。この場合、発現効率の良いウイルスベクターが繁用されるが、安全性の観点からは一般にプラスミド DNA を用いる方法が望ましいと考えられている。

1) 遺伝子医薬品の基本的体内動態特性 本アプローチは、薬物治療という視点からは全く新しい概念に基づくものと考えられるが、ここで薬物として用いられる核酸が、遺伝情報をパッケージした高分子物質であることに着目し、既に展開してきた抗癌剤の腫瘍ターゲティングやタンパク質医薬品の DDS 開発における経験、情報の蓄積に基づきその体内動態制御法の開発に取り組むこととした。

現在、様々な分野の研究者が、遺伝子医薬品を用いた有効な治療法確立を最終目的として研究を展開しており、デリバリーシステムの開発が最重要課題であることが共通の認識ではあっても、各研究は各論的あるいは試行錯誤的に行われ十分な成果は得られていない。これは、最終的な生物活性発現のみに主眼が置かれ、医薬品として生体に適用した際の体内動態を十分に考慮した DDS の設計が行われていないことが一因であると思われる。しかしながら、核酸の体内動態に関する情報は極めて乏しいのが現状である。

そこで筆者らは、以上の状況を踏まえ、まず最初に遺伝子医薬品の基本的な体内動態を明らかにすることを試みた。^{23, 37)} 実験には、種々の遺伝子医薬品のモデルを用いたが、plasmid DNA のモデルとしては分子量約 285 万の chloramphenicol acetyltransferase (CAT) をコードした pCAT (Fig. 7)、アンチセンス DNA のモデルとしては分子量約 3500 の thymidine 10-mer の 3',5'末端修飾体 (3'M,5'B-T10) (Fig. 8) 及び癌遺伝子 *c-myc* に対するアンチセンス配列を持つ分子量約 6000 の 3 種の 20-mer (Fig. 9) を用いた。その結果、これらはマウス静脈内に投与後、速やかに血中より消失すると共に、これと並行してヌクレアーゼによる分解を受けることが示された。この分解速度は、マウスの血液を用いた *in vitro* 実験の結果から予測されるよりもはるかに速く、血液プール以外のコンパートメントに存在するヌクレアーゼにより分解が起こっている可能性が示唆され、既に指摘されている生体内安定性の問題に関して新たな知見を得ることができた。

Fig. 10 は、分解の影響を無視できる投与後初期のデータに対して薬物速度論的解析を行った結果をまとめたものである。これより、3'M,5'B-T10 が糸球体濾過速度に近い速度で尿中に排泄されると共に、肝臓に高い移行性を有することが分かる。一方、プラスミド DNA (pCAT) は

4752 b.p.
M.W. $\approx$ 2,850,000
plasmid DNA encoding chloramphenicol
acetyltransferase (pCAT)

Fig. 7. Schematic Structure of Model Plas-
mid DNA (pCAT)

Fig. 8. Chemical Structure of Model Oligo-
nucleotide

Human <i>c-myc</i> gene sequence	5'.....(ATGCCCCTCAACGTTAGCTT).....3'
PO	3' (TACGGGGAGTTGCAATCGAA) 5'
PS ₃	3' (TsAsCsGGGGAGTTGCAATCGAA) 5'
PS	3' (TsAsCsGsGsGsGsGsGsTsTsGsCsAsTsCsGsAsA) 5'

Antisense is complementary to the initiation codon and the next 17 bases of *c-myc* cDNA (PO).
Three internucleosides are phosphorothioated from 3' terminus (PS₃) and all are phosphorothioated (PS).

Fig. 9. Sequence of Model Antisense Oligonucleotides for Human *c-myc* Oncogene

ほぼ肝血流に近い速度で肝臓に効率よく除去されることが示されている。

以上の結果より、遺伝子医薬品の体内動態も主として肝臓及び腎臓により規定されていることが示されたので、臓器灌流実験を行いこれらの現象をさらに詳細に臓器レベルで検討した。ラット灌流肝を用いた検討の結果、プラスミド DNA は肝臓の非実質細胞に優先的に取り込まれていることが明らかとなり、³⁸⁾ 一方、オリゴヌクレオチド (PS₃) は、実質細胞、非実質細胞の両者に非特異的に取り込まれることが示された³⁹⁾ (Fig. 11)。さらに、このプラスミド DNA の肝非実質細胞による取り込みは、ポリアニオンの立体構造を特異的に認識するスカベンジャーレセプターを介することが、阻害実験により明らかになった (Fig. 12)。

一方、オリゴヌクレオチドに関しては、3種類のタイプの異なるもの (Fig. 9) を用いて腎臓における動態も臓器レベルで検討した。^{40,41)} Fig. 13 はその結果を、まとめたものである。いずれのオリゴヌクレオチドも、糸球体濾過後再吸収されると共に、血管側から直接腎組織に移行することが分かる。天然体 (PO) のヌクレアーゼに対する安定性の問題を解決する目的で、リン酸基の酸素原子の1つを硫黄原子に置換した誘導体 (フォスフロチオエート体) が用いられるが、この修飾の程度によりこうした腎臓内での動態が異なることも示されている。とりわけすべてに修飾を施した PS は著しい腎組織移行性を示すことが明らかとなった。既に米国においては、フォスフロチオエート体が癌やエイズなどに対するアンチセンス医薬品として臨

Fig. 10. Hepatic Uptake and Urinary Excretion Clearances of Model Oligonucleotide and Plasmid DNA and Other Macromolecules in Mice after Intravenous Injection: Effect of Macromolecular Conjugation (Carboxymethyl Dextran (CMD)) and Complexation with Cationic Liposomes (Lipofectin, LipofectACE)

床治験も行われているが、アンチセンス効果とは全く関係のない作用を示すことや副作用の問題が指摘されている。⁴²⁾ また重篤な腎毒性が報告されているが、⁴³⁾ 本検討で得られた結果はこうした問題を克服するための基礎的情報となると考えられる。さらに、血管側からの取り込みに関しては、ポリアニオンを認識するスカベンジャーレセプターを介する機構の関与が示唆された (Fig. 14)。

2) 遺伝子医薬品のデリバリーシステムの開発

発 以上の結果より、遺伝子医薬品は遺伝情報をコードする物質であっても基本的には負電荷を有する水溶性高分子（ポリアニオン）としての物理化学的性質がその体内動態を規定していることが明らかとなった。したがって、遺伝子医薬品の標的組織へのデリバリーを実現するためには、こうしたポリアニオンとしての体内動態プロセスを制御することが重要と考えられる。筆者らはこうした考えに基づき、現在遺伝子医薬品の動態制御のための DDS 開発を進めている。Fig. 10 には、その成果の一部を示した。

3'M,5'B-T10 に対しては、血中滞留型の高分子キャリアー（CM-デキストラン）に結合させることにより、その動態特性を反映して長時間循環血液中に滞留させることができる。一方、pCAT に関しては、遺伝子導入に繁用されるカチオニックリポソーム Lipofectin 及び LipofectACE と複合体を形成させることでポリアニオンとしての体内動態特性がコントロールされること (Fig. 10), さらにこの複合体投与による遺伝子発現と体内動態の関連も明らかにしている。^{44,45)}

Fig. 11. Hepatic Cellular Localization of Radioactivity of [³²P]pCAT and [³²P]PS₃ in the Single-Pass Rat Liver Perfusion Experiments

PC, parenchymal cells; NPC, non-parenchymal cells. Results are expressed as the mean ± S.D. of three rats.

Fig. 12. Inhibitory Effects of Polyanions and SITS on Hepatic Uptake of [³²P]pCAT in the Single-Pass Rat Liver Perfusion Experiments

DS, dextran sulfate; poly [I], polyinosinic acid; poly [C], polycytidylic acid; suc-BSA, succinylated bovine serum albumin. Results are expressed as the mean ± S.D. of three rats.

Fig. 13. Schematic Representation of Renal Disposition Profiles of Oligonucleotides, Inulin and BSA in the Rat Kidney Perfusion Experiments

Values are expressed as percentage of dose.

5. デリバリーシステムの評価系の確立

DDSの開発研究においては、システム製造の方法論の開発と併行して、各DDSの機能特性に対する正確な評価方法を確立しそれを用いて得られた情報をシステム設計にフィードバックすることが重要である。筆者らは、こうした観点より各種高分子薬物に対するデリバリーシステムの開発に関する研究と共に、既に述べたような成果を得ることを可能にしたデリバリーシステムの機能性の評価に関しても種々の方法論を確立した。

1) 全身レベルでの評価系 まず、高分子薬物の体内動態を議論する上で最も基本的かつ重要な系と考えられる全身レベルでの動態評価法に関しては、クリアランスの概念に基づく薬物速度論の手法を用いた評価方法を研究の初期に確立した^{12,20)} (Fig. 15)。その後、幅広い高分子薬物を対象として本評価系を適用し、高分子物質の体内動態に関する基礎的情報を体系化することができた。

2) 臓器レベルでの評価系 また、全身レベルにおけるDDSの体内動態制御機能をより詳細に臓器レベルで検討できる各種臓器灌流実験とモーメント解析を組み合わせた実験評価系を確立した。Fig. 16は、高分子薬物の消失臓器として最も重要な肝臓における評価系の概略を示した。^{46,47)} 腎臓に関しても同様の系を確立している。⁴⁸⁾

Fig. 14. Inhibitory Effects of Polyanions and SITS on Renal Uptake of $[^{32}\text{P}]\text{PS}_3$ in the Single-Pass Rat Kidney Perfusion Experiments under Non-filtering Condition

DS, dextran sulfate; poly [I], polyinosinic acid; poly [C], polycytidylic acid. Results are expressed as the mean $\pm$ S.D. of three rats.

Fig. 15. Physiological Pharmacokinetic Model for Evaluating *in Vivo* Disposition Characteristics of Macromolecular Drugs

Fig. 16. Diagram of the Single-Pass Rat Liver Perfusion Experiment and Summary of Moment Analysis

一方、抗癌剤や遺伝子医薬品の標的臓器として重要な腫瘍についても、臓器灌流実験法を確立した。^{49,50)} とりわけ腫瘍組織における高分子薬物の動態のみを評価できる単離腫瘍を用いた評価系は有用性が高いと考えられ、動脈内投与あるいは腫瘍内直接注入した高分子薬物の腫瘍組織内動態の解析に用いている (Fig. 17)。^{51,52)}

3) 細胞レベルでの評価系 さらに、種々の培養細胞を用いた *in vitro* 実験系を高分子薬物のデリバリーシステムの細胞レベルでの評価系として導入した。たとえば、高分子薬物を全身的に投与した場合に、常時に接触するとともに組織への移行バリアーとして働く毛細血管内

皮細胞⁵³⁻⁵⁶⁾や消失に大きく関与するマクロファージや肝実質細胞の系,^{57,58)}尿細管における高分子薬物の再吸収特性を評価するための系⁵⁹⁾などを確立した。これらの系は、各種高分子薬物の細胞取り込み特性、薬理効果、毒性さらにそのメカニズムを詳細に検討するための実験系としての有用性が証明されている。また最近では、本評価系に、共焦点レーザー顕微鏡を組み合わせ、高分子薬物の細胞内での動態の精密制御を目的としたデリバリーシステムの評価にも研究を展開している。

6. おわりに

以上、種々のタイプの高分子薬物の体内動態を自由に制御できるDDSを、高分子薬物の“構造-物性-動態”の相関に基づき演繹的に開発する方法を確立することができた。この手法は広く種々の高分子薬物のDDS開発に応用可能と思われる。

DDSは、従来既存の医薬品の装いを新たにし、適用時の弊害あるいは限界を解決することで医薬品に価値を付加できるものとして位置づけられてきた。しかし、遺伝子医薬品に象徴されるような高分子薬物を利用した新しい概念に基づく薬物治療法が提唱されてきた現在、DDSの開発は医薬品の創生そのものとも意義づけることができる。今後、基礎的情報が蓄積され新しい薬物治療の道が開かれることを期待したい。

謝辞 本研究は、京都大学薬学部薬剤学教室において行われたものであり、研究を遂行するにあたり終始御指導御鞭撻を賜りました京都大学名誉教授、摂南大学薬学部教授 瀬崎 仁先生並びに京都大学薬学部教授 橋田 充先生に衷心より感謝申し上げます。また、研究に御協力いただいた教室員の皆様に心より御礼申し上げます。

引用文献

- 1) Sezaki H., Hashida M., *CRC Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, **1**, 38 (1984).
- 2) Sezaki H., Takakura Y., Hashida M., *Adv. Drug Delivery Rev.*, **3**, 247 (1989).
- 3) Takakura Y., Hashida M., *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, **18**, 207 (1995).
- 4) Kojima T., Hashida M., Muranishi S., Sezaki H., *J. Pharm. Pharmacol.*, **32**, 30 (1980).
- 5) Takakura Y., Kitajima M., Matsumoto S., Hashida M., Sezaki H., *Int. J. Pharmaceut.*, **37**, 135 (1987).
- 6) Takakura Y., Matsumoto S., Hashida M., Sezaki H., *J. Controlled Release*, **10**, 97 (1989).
- 7) Kato A., Takakura Y., Hashida M., Kimura T., Sezaki H., *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 2951 (1982).
- 8) Hashida M., Kato A., Takakura Y., Sezaki H., *Drug Metab. Dispos.*, **12**, 492 (1984).
- 9) Matsumoto S., Yamamoto A., Takakura Y., Tanigawa N., Hashida M., Sezaki H., *Cancer Res.*, **46**, 4463 (1986).
- 10) Takakura Y., Atsumi R., Hashida M., Sezaki H., *Int. J. Pharmaceut.*, **37**, 145 (1987).

Fig. 17. Scheme of Perfusion Experiments Using Tissue-Isolated Tumor Preparation of Walker 256 Carcinoma

- 11) Takakura Y., Kato A., Hashida M., Honda K., Arimoto A., Satomura K., Sezaki H., *J. Pharmacobio-Dyn.*, **8**, 357 (1985).
- 12) Takakura Y., Takagi A., Hashida M., Sezaki H., *Pharm. Res.*, **4**, 293 (1987).
- 13) Noguchi A., Takahashi T., Yamaguchi T., Kitamura K., Takakura Y., Hashida M., Sezaki H., *Bioconjugate Chem.*, **3**, 132 (1992).
- 14) Noguchi A., Takahashi T., Yamaguchi T., Kitamura K., Takakura Y., Hashida M., Sezaki H., *Jpn. J. Cancer Res.*, **82**, 219 (1991).
- 15) Takakura Y., Matsumoto S., Hashida M., Sezaki H., *Cancer Res.*, **44**, 2505 (1984).
- 16) Takakura Y., Mori K., Hashida M., Sezaki H., *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 1775 (1986).
- 17) Takakura Y., Hashida M., Sezaki H., "Lymphatic Transport of Drugs," Eds. Stella V. J., Charman W. N. A., CRC Press, 1991, p. 251.
- 18) 本田和男, 里村紀作, 橋田 充, 瀬崎 仁, 癌と化学療法, **12**, 530 (1985).
- 19) 里村紀作, 本田和男, 有本 明, 菊池俊二, 橋田 充, 瀬崎 仁, *Ther. Res.*, **2**, 311 (1985).
- 20) Takakura Y., Fujita T., Hashida M., Sezaki H., *Pharm. Res.*, **7**, 339 (1990).
- 21) Brenner B. M., Hostetter T. H., Humes H. D., *Am. J. Physiol.*, **234**, F455 (1978).
- 22) Takakura Y., Fujita T., Furitsu H., Nishikawa M., Sezaki H., Hashida M., *Int. J. Pharm.*, **105**, 19 (1994).
- 23) Kawabata K., Takakura Y., Hashida M., *Pharm. Res.*, **12**, 825 (1995).
- 24) Nishida K., Mihara K., Takino T., Nakane S., Takakura Y., Hashida M., Sezaki H., *Pharm. Res.*, **8**, 437 (1991).
- 25) Takakura Y., Kaneko Y., Fujita T., Hashida M., Maeda H., Sezaki H., *J. Pharm. Sci.*, **78**, 117 (1989).
- 26) Takakura Y., Fujita T., Hashida M., Maeda H., Sezaki H., *J. Pharm. Sci.*, **78**, 219 (1989).
- 27) Fujita T., Yasuda Y., Takakura Y., Hashida M., Sezaki H., *J. Controlled Release*, **11**, 149 (1990).
- 28) Yasuda Y., Fujita T., Takakura Y., Hashida M., Sezaki H., *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 2053 (1990).
- 29) Fujita T., Yasuda Y., Takakura Y., Hashida M., Sezaki H., *J. Pharmacobio-Dyn.*, **14**, 623 (1991).
- 30) Fujita T., Furitsu H., Nishikawa M., Takakura Y., Sezaki H., Hashida M., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **189**, 191 (1992).
- 31) Fujita T., Nishikawa M., Tamaki C., Takakura Y., Hashida M., Sezaki H., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **263**, 971 (1992).
- 32) Takakura Y., Mihara K., Hashida M., *J. Controlled Release*, **28**, 111 (1994).
- 33) Mihara K., Sawai K., Takakura Y., Hashida M., *J. Drug Targeting*, **2**, 317 (1994).
- 34) Nishikawa M., Miyazaki C., Yamashita F., Takakura Y., Hashida M., *Am. J. Physiol.*, **268**, G849 (1995).
- 35) Takagi A., Masuda H., Takakura Y., Hashida M., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **275**, 537 (1995).
- 36) 高倉喜信, 橋田 充, *Drug Delivery System*, **10**, 391 (1995).
- 37) Miyao T., Takakura Y., Akiyama T., Yoneda F., Sezaki H., Hashida M., *Antisense Res.*

- Develop.*, **5**, 115 (1995).
- 38) Yoshida M., Mahato R. I., Kawabata K., Takakura Y., Hashida M., *Pharm. Res.*, **13**, 597 (1996).
- 39) Takakura Y., Mahato R. I., Yoshida M., Kanamaru T., Hashida M., *Antisense Nucl. Acid Drug Develop.*, in press.
- 40) Sawai K., Miyao T., Takakura Y., Hashida M., *Antisense Res. Develop.*, **5**, 279 (1995).
- 41) Sawai K., Mahato R. I., Oka Y., Takakura Y., Hashida M., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, submitted.
- 42) Stein C. A., *Nature Med.*, **1**, 1119 (1995).
- 43) Sarminento U. M., Frez J. R., Becker J. M., Narayanan R., *Antisense Res. Develop.*, **4**, 99 (1994).
- 44) Mahato R. I., Kawabata K., Takakura Y., Hashida M., *J. Drug Targeting*, **3**, 149 (1995).
- 45) Mahato R. I., Kawabata K., Nomura T., Takakura Y., Hashida M., *J. Pharm. Sci.*, **84**, 1267 (1995).
- 46) Sato K., Itakura K., Nishida K., Takakura Y., Hashida M., Sezaki H., *J. Pharm. Sci.*, **78**, 11 (1989).
- 47) Nishida K., Eguchi Y., Takino T., Takakura Y., Hashida M., Sezaki H., *Pharm. Res.*, **8**, 1253 (1991).
- 48) Mihara K., Hojo T., Fujikawa M., Takakura Y., Sezaki H., Hashida M., *Pharm. Res.*, **10**, 823 (1993).
- 49) Atsumi R., Endo K., Kakutani T., Takakura Y., Hashida M., Sezaki H., *Cancer Res.*, **47**, 5546 (1987).
- 50) Ohkouchi K., Imoto H., Takakura Y., Hashida M., Sezaki H., *Cancer Res.*, **50**, 1640 (1990).
- 51) Imoto H., Sakamura Y., Ohkouchi K., Atsumi R., Takakura Y., Sezaki H., Hashida M., *Cancer Res.*, **52**, 4396 (1992).
- 52) Saikawa A., Nomura T., Yamashita F., Takakura Y., Sezaki H., Hashida M., *Pharm. Res.*, in press.
- 53) Takakura Y., Kuentzel S. L., Raub T. J., Davis A., Baldwin S. A., Borchardt R. T., *Biochim. Biophys. Acta*, **1070**, 1 (1991).
- 54) Takakura Y., Trammel A. M., Kuentzel S. L., Raub T. J., Davis A., Baldwin S. A., Borchardt R. T., *Biochim. Biophys. Acta*, **1070**, 11 (1991).
- 55) Takakura Y., Audus K. L., Borchardt R. T., *Adv. Pharmacol.*, **22**, 137 (1991).
- 56) Tokuda H., Masuda S., Takakura Y., Sezaki H., Hashida M., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **196**, 18 (1993).
- 57) Takakura Y., Masuda S., Tokuda H., Nishikawa M., Hashida M., *Biochem. Pharmacol.*, **47**, 853 (1994).
- 58) Choksakulnimitr S., Masuda S., Tokuda H., Takakura Y., Sezaki H., Hashida M., *J. Controlled Release*, **34**, 233 (1995).
- 59) Takakura Y., Morita T., Fujikawa M., Hayashi M., Sezaki H., Hashida M., Borchardt R. T., *Pharm. Res.*, **12**, 1968 (1995).