



Title	血漿リポタンパクと脂質ナノ微粒子を担体とする薬物送達に関する研究
Author(s)	関, 純造
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/44634">https://hdl.handle.net/11094/44634</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	せき 関 純造
博士の専攻分野の名称	博士(薬学)
学位記番号	第 18883 号
学位授与年月日	平成16年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	血漿リポタンパクと脂質ナノ微粒子を担体とする薬物送達に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 真弓 忠範 (副査) 教授 前田 正知 教授 山元 弘 教授 松田 敏夫

### 論文内容の要旨

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。静脈内投与によるターゲティング型 DDS のデバイスとして、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、例えば、脂質のコロイド粒子である「ダイズ油を卵黄レシチン等で乳化した平均粒子径 200-300 nm の静注用脂肪乳剤 (Lipid Microsphere、LM)」は、既に種々の脂溶性薬物の DDS 担体として応用されている。一方で、生体内にも多くのコロイド粒子が存在する。その代表的なものとして、血液中で脂質の運搬という生理的機能を担っている血漿リポタンパクがある。血漿リポタンパクはその構造と機能により数種に分類され、血流を介した組織・細胞間の脂質の輸送や交換等の脂質代謝において重要な役割を担っている。薬物の体内動態を支配する要因として、血漿中のアルブミンや  $\alpha_1$  酸性糖蛋白等との薬物の結合は良く知られているが、血漿リポタンパクと薬物の相互作用に関しては未知な部分が多かった。

そこで本研究では、血漿リポタンパクと薬物の結合に注目し、この結合が薬物動態や薬物の効果に影響を与えるか否かを明らかにした。次に、血漿リポタンパクとほぼ同じ粒子径 (25-50 nm) の極めて微細な脂質ナノ微粒子製剤 (Lipid Nano-Sphere, LNS) を調製し、LNS の薬物送達能とリポタンパク代謝経路との関係を、LM と比較研究することで LNS の薬物送達能の特徴およびそのメカニズムを生理的な観点からも明らかにした。

(1) 植物性ステロール配糖体 (SG) の血中濃度と薬効との不一致事例を基に、低密度リポタンパク (LDL) の特徴的な生理機能により、SG の組織標的化がなされ薬理効果 (止血効果) が発現することを示した。即ち、血漿リポタンパクが薬物の担体 (運搬体) として、薬物動態のみならず薬理学的にも大きな役割を有していることを明らかにした。

(2) リン脂質 (精製卵黄レシチン・薬添規) と単純脂質 (ダイズ油・日局) のみからなり、血漿リポタンパクと同程度の粒子径 (25-50 nm) を有する人工の脂質ナノ微粒子 (LNS) を製造し、既存の脂肪乳剤 (LM) と薬物送達能を比較し、以下の結論を得た。

- a) LNS は、in vitro で腫瘍細胞に活発に取り込まれる性質を有する LDL とほぼ同等の腫瘍部位への移行性を in vivo で示すことを明らかにした。
- b) LNS は、肝臓や脾臓への移行性が低く、その結果として、静注後長時間血中に滞留することを明らかとした。Apo E レセプター活性を阻害するラクトフェリンの前処置を施したラットを用いて血中動態を評価したところ、

LM の血中滞留性は AUC 比で約 2 倍に改善し、肝移行クリアランスのみに劇的な減少がみられた。一方、LNS の血中濃度と組織移行性にその影響はみられなかった。ヒト血清中で求めた Apo E に対する LNS の解離定数は、LM に比し 50 倍以上の差があることを明らかとした。また、リポタンパクリパーゼ (LPL) 活性を阻害する Triton WR-1339 の前処置を施したラットを用いて血中動態を評価したところ、LM の血中滞留性はラクトフェリン前処置の場合と同様に大幅に改善したが、LNS の血中濃度と組織移行性に影響は認めなかった。また、LPL の活性化に必須の Apo C-II に対する LNS の解離定数は、LM に比し 70 倍以上大きいことを明らかとした。即ち、LNS の血中滞留性は Apo E や Apo C-II の結合性が著しく低いため、Apo E レセプターを介した肝への取り込みや LPL による加水分解が少ないことに由来することを明らかとした。

- c) LNS はナノサイズの微粒子であるため、肝の Disse 腔にも分布し、炎症や腫瘍病巣等の血管透過性が亢進した部位から選択的且つ効率良く病巣内に受動的に移行することを明らかとした。即ち、カラゲニンの胸腔内投与により惹起したラット胸膜炎モデル系において、静脈内投与後の貯溜している胸水中への薬物移行性は LNS > LM であり、その差は約 10 倍であった。また、同じくカラゲニンにより惹起したラット足蹠浮腫モデルでの浮腫部位の薬物濃度も LNS > LM であり、その差は約 5 倍であった。このラット足蹠浮腫モデルを用いてパルミチン酸デキサメタゾンの抗炎症効果の 50% 浮腫抑制用量 (ED<sub>50</sub>) を求めたところ、LNS は LM に対し有効用量換算で約 3 倍浮腫抑制効果が強いことが明らかとなった。
- d) LNS は、脂質代謝の過程で生じるリグレシチン (LPC) に基づく溶血毒性などの危惧が無く生体適合性が高い安全な薬物担体であることを明らかとした。即ち、LM を投与した後の血漿中 LPC 濃度とラット赤血球に対する LPC の溶血性 (in vitro) に相関が認められた。一方、LNS は LPC の生成や溶血性を全く示さなかった。LNS は上述のように Apo C-II の結合性が低いため LPL による代謝を受け難く nascent HDL 様粒子を生成し難いので、レシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼの作用により LPC を生成しない。このため、急速大量投与によっても溶血を引き起こさないことを明らかとした。
- e) 脂質微粒子製剤の構成成分や包含される薬物は、内在性の脂質と動的な関係にあり、脂質微粒子製剤からアルブミンへの移行や脂質輸送タンパク (LTP) を介したリポタンパクへの移行が生じることを明らかとした。即ち、脂肪酸やリン脂質、コレステロールの蛍光誘導体を含有する LNS をヒト血清と混合した後、各リポタンパクを分画して各マーカーの LNS からリポタンパク等の血清成分への移行性を検討した結果、脂肪酸誘導体はアルブミンへ移行し、リン脂質誘導体は血漿中に存在する LTP により血漿リポタンパクに移行することを確認した。脂質微粒子製剤によるターゲティングの成功のためには、投与後も脂質微粒子中に薬物が包含される必要があり、適応する薬物を選択する際には、薬物の脂溶性のみならず LTP の基質とならないことが重要であることを明らかとした。

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成分を用いて工業的に大量生産が可能である。更に、ろ過滅菌や凍結乾燥も可能としたため、熱に不安定な薬物への応用や長期の保存性にも優れている。これらは医薬品化に欠かせない重要な性質であり、今後、脂質ナノ微粒子製剤が種々の医薬品に応用されるものと期待される。本研究は LNS の薬物担体としての性質の一端を明らかとし、DDS 製剤の開発に対して貴重な情報をえたと考える。

#### 論文審査の結果の要旨

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。とりわけ静脈内投与によるターゲティング型 DDS 開発における製剤学上のデバイスとして、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がなされている。一方で、生体内にも多くのコロイド粒子の存在が知られており、その代表的なものとして、血液中で脂質の運搬という生理的機能を担っている血漿リポタンパクがある。また一方、薬物の体内動態を支配する要因として、血漿中のアルブミン

や $\alpha_1$  酸性糖蛋白等との薬物の結合は良く知られているが、血漿リポタンパクと薬物の相互作用に関しては未知な部分が多くかった。そこで著者は、血漿リポタンパクと薬物の結合に注目し、薬物動態ひいては薬物の効果に影響を与えるか否かの検討を行った。次に、LDL とほぼ同じ粒子径を有する極めて微細な脂質ナノ微粒子製剤 (Lipid nano-sphere、LNS) を調製し、DDS 製剤として薬物送達能の検討を行った。加えて、LNS の薬物送達能とリポタンパク代謝経路との関係を、LM と比較研究することで LNS の薬物送達能およびそのメカニズムを生理的な観点からも検討した。その結果、以下の結論を得た。

1. 血漿リポタンパクが薬物の担体（運搬体）として、薬物動態のみならず薬理学的にも極めて重要な役割を有していることを明らかにした。
2. LNS は LDL とほぼ同等の腫瘍部位への移行性を *in vivo* で示すことを明らかとした。
3. LNS の優れた血中滞留性は、Apo C-II や Apo E の結合性が著しく低いため、LPL による加水分解や Apo E レセプターを介した肝への取り込みが少ないと由来することを明らかとした。
4. LNS はナノサイズの超微粒子であるため、肝の Disse 腔にも分布し、炎症や腫瘍病巣等の血管透過性が亢進した部位から選択的且つ効率良く病巣内に受動的に移行することを明らかとした。
5. LNS は、脂質代謝の過程で生じるリゾレシチンに基づく溶血毒性などの危惧が無く生体適合性が高い安全な薬物担体であることを明らかとした。
6. 脂質微粒子製剤の構成成分や薬物は、内在性脂質と動的な関係にあり、その性質によりアルブミンへの移行やリン脂質交換タンパクを介してリポタンパク間を移動することを示し、薬物送達能への影響を明らかにした。

本研究成果は LNS の薬物担体としての性質の一端を明らかとし、優れた DDS 製剤開発に対して貴重な情報を与えている点、博士（薬学）の学位を授与するにふさわしいと考える。