

## 論文要旨

区分	甲	氏名 岡本侑子
<p data-bbox="150 566 256 598">論文題名</p> <p data-bbox="150 613 959 645">アルブミン内包リポソームの創製と新規 DDS キャリアとしての有用性評価</p> <p data-bbox="150 710 284 741">論文の要旨</p> <p data-bbox="150 757 1452 1317">           生体適合性の高いリポソームは、薬物や生理活性物質等、様々な物質を封入することが可能であり、DDS キャリアとして汎用されている。一般的に薬物をリポソームに担持させる場合、水溶性薬物は内水相に、難水溶性薬物は脂質二重膜に封入されるが、DDS キャリアとして薬物の保持安定性と充填率の高いリポソームを作製するには薬物を内水相に封入することが望まれる。しかしながら、難水溶性薬物をリポソーム内水相へ封入することは、その溶解度の低さから非常に困難である。そこで、難水溶性薬物をリポソーム内水相に封入する方法として血清中に最も多く存在するアルブミンに着目した。アルブミンはその分子上に疎水ポケットを有しており、多くの内因性及び外因性物質と非共有結合することが知られている。このアルブミンが有する薬物結合能を利用したアブラキサン<sup>®</sup> は、ヒト血清アルブミンに難水溶性のパクリタキセル (PTX) が結合することで PTX の溶解度が向上することに着目して開発された製剤である。私は、この難水溶性薬物の溶解性がアルブミンと結合することで上昇する特性を利用することで、リポソーム内水相への難水溶性薬物の封入が可能になると考えた。本研究では、ウシ血清アルブミン (BSA) をリポソーム内水相に封入した BSA 内包リポソーム (BSA-リポソーム) を作製し、その物理化学的特性と難水溶性薬物の DDS キャリアとしての有用性を評価した。以下に得られた知見を要約する。         </p> <p data-bbox="150 1382 687 1413"><b>1. BSA-リポソームの調製と物理化学的評価</b></p> <p data-bbox="150 1429 1452 1749">           最も BSA を内包する BSA-リポソームの調製条件を検討した。その結果、水和溶液として 200 mg/mL の BSA 溶液、脂質膜組成を egg PC : コレステロール : DSPE-PEG<sub>2000</sub> が 12 : 6 : 1 (モル比) の条件下で作製した時に最も BSA を封入した粒子径約 160 nm の電荷的に中性の BSA-リポソームを得た。詳細な BSA-リポソーム構造を小角 X 線散乱 (SAXS) で解析したところ、BSA-リポソームは球状の単層リポソームであり、BSA がリポソームの内水相に保持されていた。さらに、BSA-リポソームは1ヶ月以上にわたり物理化学的に安定であることに加え、リポソーム内包後の BSA は構造及び機能を十分に保持していた。また、BSA-リポソームは非常に高い生体適合性と十分な体内動態特性を有していた。         </p> <p data-bbox="150 1814 871 1845"><b>2. 難水溶性薬物封入 BSA-リポソームの調製と有用性評価</b></p> <p data-bbox="150 1861 1452 2078">           アルブミンに結合する5つの難水溶性薬物 (ワルファリン、ジアゼパム、シリビニン、PTX、タクロリムス) の 200 mg/mL BSA 溶液に対する溶解度は水と比較して、著しく高くなった。この溶解度の上昇に伴い、空リポソームと比較して BSA-リポソームでは難水溶性薬物の充填率が劇的に増加した。また、潰瘍性大腸炎モデルマウスにタクロリムス内包 BSA-リポソームを静脈内投与した結果、タクロリムスの薬理効果に起因する治療効果 (大腸の炎症及び大腸組織傷害の抑制) を示した。         </p>		

### 3. エタノール溶液を用いた改良型 BSA-リポソームの作製

難水溶性薬物のリポソーム内水相への充填率のさらなる向上を目指し、溶解補助剤としてエタノールを用いて改良型 BSA-リポソームの作製を行った。モデル薬物として PTX を用いた検討において、20%エタノールを含む BSA 溶液 (200 mg/mL) 中における PTX の溶解度はエタノールを含まない BSA 溶液 (200 mg/mL) と比べて著しく増加していた。この溶液を水和溶液として使用することで、PTX の BSA-リポソーム内水相への充填率を劇的に増加させることに成功した。

### 4. 乳がん細胞に対する PTX-BSA-リポソームの有用性評価

ダンシルアスパラギン (DNSA) をモデル薬物とした DNSA-BSA-リポソームを用いて乳がん細胞である MCF-7 細胞への取り込みを観察した結果、DNSA-BSA-リポソームはリポソーム構造を保持した状態で細胞内に取り込まれ、内包されている BSA 及び薬物は細胞内に取り込み後にリポソームから放出されていた。また、PTX-BSA-リポソームは 2 次元培養した乳がん細胞 (MCF-7 細胞及び MDA-MB-231 細胞) に対して PTX 濃度依存的な抗腫瘍効果を示し、PTX 及びアブラキサン<sup>®</sup>と同程度の IC<sub>50</sub> を示した。さらに、*in vivo* の擬似モデルである MCF-7 スフェロイド及び MDA-MB-231 スフェロイドに対しても PTX-BSA-リポソームは、PTX 及びアブラキサン<sup>®</sup>と同等の細胞増殖抑制効果を示した。

### 5. 膵臓がんに対する PTX-BSA-リポソームの抗腫瘍効果

膵臓がん細胞である AsPC-1 細胞を用いて PTX-BSA-リポソームの *in vitro* 及び *in vivo* における抗腫瘍効果をアブラキサン<sup>®</sup>と比較検討した。2 次元培養した AsPC-1 細胞に対して PTX-BSA-リポソームは PTX 濃度依存的な抗腫瘍効果を示したが、その効果はアブラキサン<sup>®</sup>と比較して減弱していた。次に、PTX-BSA-リポソームの生体内分布を AsPC-1 担がんモデルマウスを用いて評価したところ、投与 6 時間後から PTX-BSA-リポソームの腫瘍部位への集積性が確認された。さらに、AsPC-1 担がんモデルマウスに対する抗腫瘍効果を評価した結果、PTX-BSA-リポソームはアブラキサン<sup>®</sup>より高い抗腫瘍効果を示すことに加え、頻回投与しても PTX に起因する明らかな副作用は観察されなかった。

以上、本研究では、アルブミンの薬物結合能を利用することで内水相への封入が困難であった難水溶性薬物の溶解度を上昇させ、リポソーム内水相に難水溶性薬物を高封入することを可能とした BSA-リポソームの作製に成功した。また、高い生体適合性を持つ BSA-リポソームは、炎症疾患や固形腫瘍を対象とした難水溶性薬物の DDS キャリアとして有用であると考えられた。本研究で得られた知見は、様々な疾患治療に応用可能な新規製剤開発の一助になるものと考えられる。

#### [作成要領]

1. 用紙は A 4 判上質紙を使用すること。
2. 文字の大きさは 10 ポイント程度とすること。
3. 要旨は、2,000 字程度にまとめること。
4. 本様式によりワープロ浄書すること。