

is not known which physical property (hydrophobicity or rigidity) contributes more to changes in the core during phase transition, chemical structure of the core is nevertheless very important, as confirmed by drug release experiments described below.

In vitro temperature responsive drug release from P(NIPAM-DMAA)-PLA and PNIPAM-PBMA micelles (but not for PNIPAM-PS micelles), was examined, and the results agreed well with fluorescence measurements discussed above. These two polymeric micelles proved successful in terms of temperature responsive drug release versus changes in core hydrophobicity, while the unsuccessful example PNIPAM-polystyrene (PNIPAM-PS) did not show temperature responsive drug release. Figure 15 shows thermoresponsive release of anticancer drug DOX from P(NIPAM-DMAA)-PLA and PNIPAM-PBMA micelles. P(NIPAM-DMAA)-PLA micelles have an LCST of 40 °C, and show enhanced drug release and cytotoxic activity at 42.5 °C (above LCST). Enhancement of drug release was approximately 6-fold.

For PNIPAM-PBMA micelles, and after the initial burst of up to 10% of the incorporated DOX, no drug release was observed below phase transition temperature (32 °C). In contrast, drug was rapidly released above transition temperature [73]. In this case, drug release enhancement was more marked than in P(NIPAM-DMAA)-PLA micelles. Drug release could be almost completely switched on-and-off by heating, and about 80% of the drug was released in 6 h above the LCST [73]. This drug release behavior is consistent with the changes in micelle core hydrophobicity in a narrow temperature range observed by turbidity measurement (see Figure 13).

Both P(NIPAM-DMAA)-PLA and PNIPAM-PBMA micelles have higher cytotoxicity to cultured cells above their LCST than those below the LCST. The sharper thermal response of PNIPAM-PBMA micelles than that of P(NIPAM-DMAA)-PLA micelles may be due to its more favorable hydrophobicity, or higher mobility, of the core forming polymer segment. But more careful analysis of correlations between physicochemical properties (e.g. hydrophobicity-hydrophilicity and flexibility-rigidity) and thermoresponsive drug release are needed to better define the design of ideal drug targeting polymeric micelles.

5 Concluding Remarks

Block copolymer assemblies (micelles, supramolecular structures) have a number of features such as uniform nanometer size (50–100 nm), high

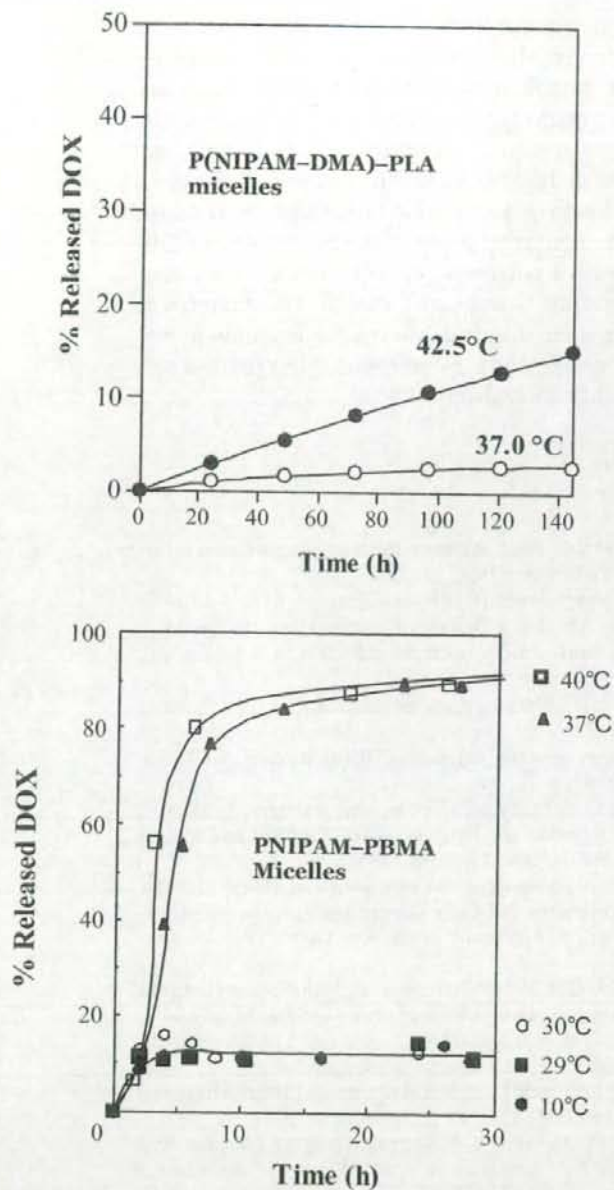


Figure 15: Thermoresponsive drug release from two types of polymeric micelles, P(NIPAM-DMA)-PLA and PNIPAM-PBMA.

structural stability, and high water dispersibility, all of which are favorable for targetable drug delivery systems. They are also of potential interest for target selective drug delivery in combination with other therapy regimens. Conventional polymeric micelles carrying the anticancer drug, doxorubicin, have markedly enhanced drug release and antitumor activity in vivo, and have entered Phase 2 clinical trials in 2003 in Japan. But drug delivery by conventional polymer micelles involves nonspecific targeting, which means part of the drug also reaches the nontarget areas of the body with undesirable side effects. Thermoresponsive polymeric micelles release their drug contents in response to temperature change, and can thus be targeted to diseased sites before triggering their drug release by, for example hyperthermia. Work on thermoresponsive polymeric micelles is in progress particularly for active targeting of anticancer drugs.

6 References

- 1 Yokoyama M, Okano T, Targetable drug carriers: Present status and a future perspective, *Adv. Drug Delivery Reviews* 1996, 21, 77-80
- 2 Sugiyama Y, Importance of pharmacokinetic considerations in the development of drug delivery systems, *Adv. Drug Delivery Reviews* 1996, 19, 333-34
- 3 Tuzar Z, Kratochvil P, Block and graft copolymer micelles in solution, *Advances in Colloid and Interface Science* 1976, 6, 201-32
- 4 Bader H, Ringsdorf H, Water soluble polymers in medicine, *Angew. Makromol. Chem.* 1984, 123/124, 457-85
- 5 Yokoyama M, Block copolymers as drug carriers, *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems* 1992, 9, 213-48
- 6 Yokoyama M, Site specific drug delivery using polymeric carriers, in Ikano T (Ed), *Advances in Polymeric Systems for Drug Delivery*, Gordon and Breach Science Publishers, Yverdon, Switzerland 1994, pp 24-66
- 7 Yokoyama M, Novel passive targetable drug delivery with polymeric micelles in Okano T (Ed), *Biorelated Polymers and Gels: Controlled Release and Applications in Biomedical Engineering*, Academic Press, San Diego 1998, pp 193-230
- 8 Lavasanifar A, Samuel J, Kwon G S, Poly(ethylene oxide)-block-poly(L-amino acid) micelles for drug delivery, *Adv. Drug Delivery reviews* 2002, 54, 169-90
- 9 Yokoyama M, Inoue S, Kataoka K, Yui N, Okano T, Sakurai Y, Molecular design for missile drug: Synthesis of adriamycin conjugated with IgG using poly(ethylene glycol)-poly(aspartic acid) block copolymer as intermediate carrier, *Makromol. Chem.* 1989, 190, 2041-54
- 10 Kabanov A V, Chekhonin V P, Alakhov V Y, Batrakova E V, Lebedev A S, Melik-Nubarov N S, Arzhakov S A, Levashov A V, Morozov G V, Severin E S, Kabanov V A, The neuroleptic activity of haloperidol increases after its solubilization in surfactant micelles; Micelles as microcontainers for drug targeting *FEBS Lett.* 1989, 258, 343-45
- 11 Yokoyama M, Fukushima S, Uehara R, Okamoto K, Kataoka K, Sakurai Y

- Okano T, Characterization of physically entrapment and chemically conjugation of adriamycin in polymeric micelles and their design for in vivo delivery to a solid tumor, *J. Controlled Release* 1998, 50, 79–92
- 12 Yokoyama M, Satoh A, Sakurai Y, Okano T, Matsumura Y, Kakizoe T, Kataoka K, Incorporation of water insoluble anticancer drug into polymeric micelles and control of their particle size, *J. Controlled Release* 1998, 55, 219–29
- 13 Li Y, Kwon G S, Methotrexate esters of poly(ethylene oxide)-block-poly(2-hydroxyethyl-L-aspartamide). Part 1: Effects of the level of methotrexate conjugation on the stability of micelles and on drug release, *Pharm. Res.* 2000, 17, 607–11
- 14 Lavasanifar A, Samuel J, Kwon G S, The effect of fatty acid substitution on the in vitro release of amphotericin B from micelles composed of poly(ethylene oxide)-block-poly(N-hexyl stearate-L-aspartamide), *J. Controlled Release* 2002, 79, 165–72
- 15 Allen C, Han J, Yu Y, Maysinger D, Eisenberg A, Polycaprolactone-b-poly(ethylene oxide) copolymer micelles as a delivery vehicle for dihydrotestosterone, *J. Controlled Release* 2000, 51, 275–86
- 16 Trubetskoy V S, Torchilin V P, Poly(ethylene glycol) based micelles as carriers of the therapeutic and diagnostic agents, *S.T.P. Parma Science*, 1996, 6, 79–86
- 17 Zhang X, Burt H M, Von Hoff D, Dexter D, Mangold G, Degen D, Oktaba A M, Hunter W L, An investigation of the antitumor activity and biodistribution of polymeric micellar paclitaxel, *Cancer Chemother. Pharmacol.* 1997, 40, 81–86
- 18 Rolland A, O'mullane J, Goddard P, Brookman L, Petrak K, New macromolecular carriers for drugs. I. Preparation and characterization of poly(oxyethylene-b-isoprene-b-oxyethylene) block copolymer aggregates, *J. Appl. Polym. Sci.* 1992, 1195–203
- 19 Inoue T, Chen G, Nakamae K, Hoffman A S, An AB block copolymer of oligo(methyl methacrylate) and poly(acrylic acid) for micellar delivery of hydrophobic drugs, *J. Controlled Release* 1998, 221–29
- 20 Rapoport N Y, Herron J N, Pitt W G, Pitina L, Micellar delivery of doxorubicin and its paramagnetic analog, ruboxyl, to HL-60 cells: effect of micelle structure and ultrasound on the intracellular drug uptake, *J. Controlled Release* 1999, 58, 153–162
- 21 Benahmed A, Ranger M, Leroux J-C, Novel polymeric micelles based on the amphiphilic diblock copolymer poly(N-vinyl-2-pyrrolidone)-block-poly(D,L-lactide), *Pharm. Res.* 2001, 18, 323–28
- 22 Nishiyama N, Yokoyama M, Aoyagi T, Okano T, Sakurai Y, Kataoka K, Preparation and characterization of self-assembled polymer-metal complex micelle from cis-dichlorodiamine platinum (II) and Poly(ethylene glycol)-poly(α,β -aspartic acid) block copolymer in an aqueous medium, *Langmuir* 1999, 15, 377–83
- 23 Kkataoka K, Togawa H, Harada A, Yasugi K, Matsumoto T, Katayose S, Spontaneous formation of polyion complex micelles with narrow distribution from antisense oligonucleotide and cationic block copolymer in physiological saline, *Macromolecules*, 1996, 29, 8556–57
- 24 Harada A, Kataoka K, Novel polyion complex micelles entrapping enzyme molecules in the core: Preparation of narrowly-distributed micelles from lysozyme and poly(ethylene glycol)-poly(aspartic acid) block copolymer in aqueous medium, *Macromolecules*, 1998, 31, 288–94

- 25 a) Arshady R, Monshipouri M, Targeted delivery of particulate carriers, in Arshady R (Ed), *Microspheres, Microcapsules & Liposomes*, the MML Series Vol 2, Citus Books, London, 1999, pp 403-32
b) Litzinger D C, Buiting A M J, van Rooijen N, Huang L, Effect of liposome size on the circulation time and intraorgan distribution of amphipathic poly(ethylene glycol)-containing liposomes. *Biochim. Biophys. Acta* 1994 1190, 99-107
- 26 a) Sawa T, Sahoo S K, Maeda M, Water soluble polymers in medicine: Polymer-drug conjugates in chemotherapy, in Arshady R (Ed), *Introduction to Polymeric Biomaterials*, The PBM Series, Vol 1, Citus Books, London 2003 233-61
b) Seymour L W, Miyamoto Y, Maeda M, Brereton M, Strohalm J, Ulbrich K Duncan R, Influence of molecular weight on passive tumor accumulation of a soluble macromolecular drug, *Eur. J. Cancer* 1995, 31A, 766-70
- 27 Calderara F, Hruska Z, Hurtrez G, Larch J-P, Nugay T, Riess G, Investigation of polystyrene-poly(ethylene oxide) block copolymer micelle formation in organic and aqueous solutions by nonradiative energy transfer experiments *Macromolecules*, 1994, 27, 1210-15
- 28 Wang Y, Kaush C M, Chun M, Quirk R P, Mattice WL, Exchange of chains between micelles of labeled polystyrene-block-poly(oxyethylene) as monitored by nonradiative singlet energy transfer, *Macromolecules*, 1995, 28, 904-11
- 29 Wilhelm M, Zhao C-L, Wang Y, Xu R, Winnik R A, Poly(styrene-ethylene oxide) block copolymer micelle formation in water: A fluorescence probe study *Macromolecules*, 1991, 24, 1033-40
- 30 Desjardins A, Eisenberg A, Colloidal properties of block ionomers. I Characterization of reverse micelles of styrene-*b*-metal methacrylate diblocks by size exclusion chromatography, *Macromolecules*, 1991, 24, 5779-90
- 31 Hoes C J T, Potman W, van Heeswijk W A R, Mud J, de Groot B G, Grave J Feijen J. Optimization of macromolecular prodrugs of the antitumor antibiotic adriamycin. *J. Contr. Rel.* 1985, 2, 205-13
- 32 Duncan R, Kopeckova-Rejmanova P, Strohalm J, Hume I, Cable H C, Pohl J Lloyd J B, Kopecek J. Anticancer agents coupled to N-2-hydroxypropyl methacrylamide copolymers I. Evaluation of daunomycin and puromycin conjugates in vitro. *Br. J. Cancer*, 1987, 55, 165-74
- 33 Endo N, Umemoto N, Kato Y, Takeda Y, Hara T, A novel covalent modification of antibodies at their amino groups with retention of antigen-binding activity *J. Immunol. Methods*, 1987, 104, 253-58
- 34 Zunino F, Pratesi G, Micheloni A. Poly(carboxylic acid) polymers as carrier for anthracyclines, *J. Contr. Rel.* 1989, 10, 65-73
- 35 Hirano T, Ohashi S, Morimoto S, Tsukada K, Kobayashi T, Tsukagoshi S, Synthesis of antitumor-active conjugates of adriamycin or daunomycin with the copolymer of divinyl ether maleic anhydride, *Makromol. Chem.* 1986, 187 2815-24
- 36 Tsukada Y, Kato Y, Umemoto N, Takeda Y, Hara T, Hirai H, An anti-fetoprotein antibody-daunorubicin conjugate with a novel poly-L-glutamic acid derivative as intermediate drug carrier, *J. Natl. Cancer. Inst.* 73, 1984, 721-29
- 37 Yokoyama M, Kwon G S, Okano T, Sakurai Y, Seto T, Kataoka K, Preparation of micelle-forming polymer-drug conjugates, *Bioconjugate Chemistry*, 1992 3, 295-301

- 38 Matsumura Y, Maeda H, A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: Mechanism of tumoritropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs, *Cancer Res.* 1986, 46, 6387-92
- 39 Maeda H, Seymour L W, Miyamoto Y, Conjugates of anticancer agents and polymers: Advantages of macromolecular therapeutics in vivo, *Bioconjugate Chem.* 1992, 3, 351-61
- 40 Maeda H, Wu J, Sawa T, Matsumura Y, Hori H, Tumor vascular permeability and epr effect in macromolecular therapeutics: a review, *J. Controlled Release* 2000, 65, 271-84
- 41 Dvorak H F, Nagy J A, Dvorak AM, Structure of solid tumors and their vasculature: Implications for therapy with monoclonal antibodies, 1991, *Cancer Cells*, 3, 77-85.
- 42 Jain R K, Delivery of novel therapeutic agents in tumors: Physiological barriers and strategies, *J. Natl. Cancer. Inst.* 1989, 81, 570-76
- 43 Jain R K, Transport of molecules in the tumor interstitium: A review, *Cancer Res.* 1987, 47, 3039-51
- 44 Kohn S, Nagy J A, Dvorak, H F, Dvorak A M, Pathways of macromolecular tracer transport across venules and small veins, *Lab. Invest.* 1992, 47, 596-607
- 45 Yuan F, Dellian M, Fukumura D, Leunig M, Berk D A, Torchilin V P, Jain R K, Vascular permeability in a human tumor xenograft: Molecular weight dependence and cutoff size, *Cancer Res.* 1995, 55, 3752-56
- 46 Yuan F, Leunig M, Huang S K, Berk D A, Papahadjopoulos D, Jain R K, Microvascular permeability and interstitial penetration of sterically stabilized (stealth) liposomes in a human tumor xenograft, *Cancer Res.* 1994, 54, 3352-56
- 47 Jain R K, Transport of molecules across tumor vasculature, *Cancer and Metastasis reviews*, 1987, 6, 559-93
- 48 Dvorak H F, Brown L F, Detmar M, Dvorak A M, Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyper-permeability, and angiogenesis, *Am. J. Pathol.* 1995, 146, 1029-39
- 49 Dvorak H F, Nagy J A, Berse B, Brown L F, Yeo K-T, Yeo T-K, Dvorak A M, Van de Water L, Sioussat T M, Senger D R, Vascular permeability factor, fibrin, and the pathogenesis of tumor stroma formation, *New York Acad. of Sci.* 1992, 4, 667, 101-11
- 50 Folkman J, Clinical applications of research on angiogenesis, *New Eng. J. Med.* 199, 333, 1757-63
- 51 Folkman J, Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease, *Nature Medicine* 1995, 1, 27-31
- 52 Senger D R, Galli S J, Dvorak A M, Perruzzi C A, Harvey V S, Dvorak H F, Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid, *Science* 1983, 219, 983-85
- 53 Ferrara N, Henzel W J, Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1989. 161, 851-58
- 54 Takakura Y, Hashida M, Macromolecular carrier systems for targeted drug delivery: Pharmacokinetic consideration on biodistribution, *Pharm. Res.* 1996, 13, 820-31
- 55 Ilum L, Davis S S, Miller R H, Mak E, West P, The organ distribution and circulation time of intravenously injected colloidal carriers sterically stabilized with a block copolymer - Poloxamine 908. *Life Sci.* 1987, 40, 367-74

- 56 Yokoyama M, Inoue S, Kataoka K, Yui N, Sakurai Y, Preparation of adriamycin-conjugated poly(ethylene glycol)-poly(aspartic acid) block copolymer. A new type of polymeric anticancer agent, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* 1987, 8, 431-35
- 57 Yokoyama M, Inoue S, Kataoka K, Yui N, Sakurai Y. Molecular design for missile drug: Synthesis of adriamycin conjugated with IgG using poly(ethylene glycol)-poly(aspartic acid) block copolymer as intermediate carrier, *Makromol. Chem.* 1989, 190, 2041-2054
- 58 Yokoyama M, Miyauchi M, Yamada N, Okano T, Sakurai Y, Kataoka K, Inoue S, Characterization and anti-cancer activity of micelle-forming polymeric anticancer drug, adriamycin-conjugated poly(ethylene glycol)-poly(aspartic acid) block copolymer, *Cancer Res.* 1990, 50, 1693-700
- 59 Yokoyama M, Yamada N, Okano T, Sakurai Y, Kataoka K, Inoue S, Toxicity and antitumor activity against solid tumors of micelle-forming polymeric drug and its extremely long circulation in blood, *Cancer Res.* 1991, 51, 3229-36.
- 60 Kwon G S, Suwa S, Yokoyama M, Okano T, Sakurai Y, Kataoka K, Enhanced tumor accumulation and prolonged circulation times of micelle-forming poly(ethylene oxide-aspartate) block copolymer-adriamycin conjugates, *J. Contr. Rel.* 1994, 29, 17-23
- 61 Kwon G S, Naito M, Kataoka K, Yokoyama M, Sakurai Y, Okano T, Block copolymer micelles as vehicles for hydrophobic drugs, *Colloids and Surfaces, B: Biointerfaces*, 1994, 2, 429-34
- 62 Yokoyama M, Okano T, Sakurai Y, Kataoka K, Improved synthesis of adriamycin-conjugated poly(ethylene oxide)-poly(aspartic acid) block copolymer and formation of unimodal micellar structure with controlled amount of physically entrapped adriamycin, *J. Contr. Rel.* 1994, 32, 269-77
- 63 Kwon G S, Naito M, Yokoyama M, Okano T, Sakurai Y, Kataoka K, Physical entrapment of adriamycin in AB block copolymer micelles, *Pharm. Res.* 1995, 12, 192-95
- 64 Yokoyama M, Fukushima S, Uehara R, Okamoto K, Kataoka K, Sakurai Y, Okano T, Characterization of physically entrapment and chemically conjugation of adriamycin in polymeric micelles and their design for in vivo delivery to a solid tumor, *J. Controlled Release* 1998, 50, 79-92
- 65 Yokoyama M, Okano T, Sakurai Y, Fukushima S, Okamoto K, Kataoka K, Selective Delivery of Adriamycin to a Solid Tumor Using A Polymeric Micelle Carrier System, *J. Drug Targeting* 1999, 7, 171-86
- 66 Yokoyama M, Satoh A, Sakurai Y, Okano T, Matsumura Y, Kakizoe T, Kataoka K, Incorporation of water insoluble anticancer drug into polymeric micelles and control of their particle size, *J. Controlled Release* 1998, 55, 219-29
- 67 Matsumura Y, Yokoyama M, Kataoka K, Okano T, Sakurai Y, Kawaguchi T, Kakizoe T, Reduction of the adverse effects of an antitumor agent, KRN 5500 by incorporation of the drug into polymeric micelles, *Jap. J. Cancer Research* 1999, 90, 122-28
- 68 Mizumura Y, Matsumura Y, Yokoyama M, Okano T, Kawaguchi T, Moriyasu F, Kakizoe T, Incorporation of the anticancer agent KRN 5500 into polymeric micelles diminishes the pulmonary toxicity *Jap. J. Cancer Research*, 2002, 93, 1237-43
- 69 Wu X Y, Zhang Q, Arshady R, Stimuli sensitive hydrogels: Polymer structure and phase transition, in Arshady R (Ed), *Introduction to polymeric Biomate-*

rials, PBM Vol 1, Citus Books, London 2003, pp 157-94

- 70 a) Hamse I M, Topp M D C, Dijkstra P J, Feijen J, Entrapment of hydrophilic molecules in PEG-PNIPAAm block copolymers, *J. Controlled Release* 2000, 64, 273-74
- b) Topp M D C, Dijkstra P J, Tapsma H, Feijen J, *Macromolecules* 1997, 30, 359-73
- 71 Neradovic D, van Nostrum C F, Hennink W E, thermosensitive degradable polymeric micelles for controlled drug delivery, *Proceedings of the 28th International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials*, 2001, #5060
- 72 Raucher D Chilkoti A, Enhanced uptake of a thermally responsive polypeptide by tumor cells in response to its hyperthermia-mediated phase transition, *Cancer Res.* 2001, 61, 7163-70
- 73 Meyer D E, Shin B C, Kong G A, Dewhirst M W, Chilkoti A, Drug targeting using thermally responsive polymers and local hyperthermia, *J. Controlled Release* 2001, 74, 213-24
- 74 Chung J E, Yokoyama M, Aoyagi T, Sakurai Y, Okano T, Effect of molecular architecture of hydrophobically modified poly(N-isopropylacrylamide) on the formation of thermoresponsive core-shell micellar drug carriers *J. Controlled Release* 1998, 53, 119-30
- 75 Kohori F, Sakai K, Aoyagi T, Yokoyama M, Sakurai Y, Okano T, Preparation and characterization of thermally responsive block copolymer micelles comprising poly(N-isopropylacrylamide-b-DL-lactide), *J. Controlled Release* 1998, 55, 87-98
- 76 Chung J E, Yokoyama M, Yamato M, Aoyagi T, Sakurai Y, Okano T, Thermoresponsive drug delivery from polymeric micelles constructed using block copolymers of poly(N-isopropylacrylamide) and poly(butyl methacrylate), *J. Controlled Release* 1999, 62, 115-27
- 77 Kohori F, Sakai K, Aoyagi T, Yokoyama M, Yamato M, Sakurai Y, Okano T, Control of Adriamycin Cytotoxic Activity Using Thermally Responsive Polymeric Micelles Composed of Poly(N-isopropylacrylamide-co-N,N-dimethylacrylamide)-b-poly(DL-lactide), *Colloids and Surfaces, B: Biointerfaces*, 1999, 16, 195-205
- 78 Chung J E, Yokoyama M, Okano T, Core segment design for drug delivery control of thermoresponsive polymeric micelles, *J. Controlled Release* 2000, 65, 93-103
- 79 Kohori F, Yokoyama M, Sakai K, Okano T, Process design for efficient and controlled drug incorporation into polymeric micelle carrier systems, *J. Controlled Release* 2002, 78, 155-63

ドラッグデリバリーシステム (ターゲティング, 安定化)

本章は、ドラッグデリバリーシステム (DDS)¹¹⁻³¹のうち、ターゲティングと安定化について述べる。ターゲティングはDDSでは不可欠の概念であるのに対し、安定化はDDSではあまり使われることのない語句である。再生医療では、生理活性が強い反面、その活性が短時間で失活するタンパク質・ペプチドを使用する場合がきわめて多いことを考慮し、あえて、安定化という概念を設けて解説するものである。

11.1 ターゲティング

11.1.1 ターゲティングとは

一般に、薬物を生体に投与（静脈内注射や経口摂取）すると、血流を通じて全身に行きわたり、薬効を発現させたい部位にも副作用を引き起こす部位にも無選択に分布するのが通例である。これに対し、ドラッグターゲティングとは「薬物治療が必要な部位に選択的に薬物を送りこみはたらかせること」と定義される。

図 11.1 に、ターゲティングの概念を示した。この図では、ターゲティング製剤は体内に注射したものの 100% すべてが、治療部位（標的部位）に集まるさまを示しているが、これは理想的な場合であって、必ずしもこのような完璧な場合である必要はなく、治療部位に何らかの選択性をもって高い濃度の薬物が運搬されればよいのである。

ドラッグターゲティングの目的は

- ① 薬物治療が必要な部位（標的部位）での薬物濃度を上げることで、薬物の主作用を増強する。
- ② 標的部位以外の部位への送達量を少なくすることで、副作用を軽減すること。

である。ただし、ターゲティングの実現のために、薬物をキャリアー（運搬体）に結合したり内包したりすることで、この2項目以外で薬物治療のメリットとなる事柄が得られることがある。これについては 11.1.5 項の実例のなかで触れる。

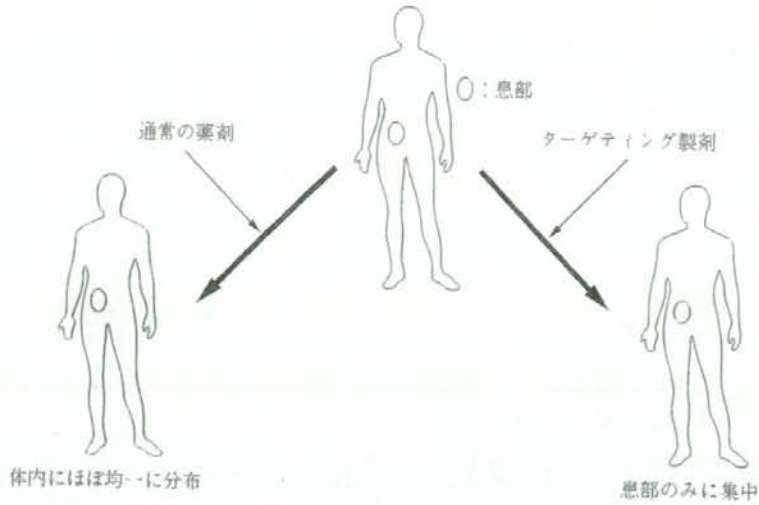


図 11.1 ドラッグターゲティングの概念

11.1.2 ターゲティングの方法論

(1) 投与方法によって分類した方法論 まず、ターゲティングをその投与方法に基づいて分けると、表 11.1 に示すように、局所投与と全身投与に分類できる。その第 1 の局所投与は、注射針やカテーテルを用いて治療部位局所に直接注入したり、留置したりするものである。抗がん剤を例にとると、脳腫瘍の外科手術切除部位に抗がん剤をゆっくりと放出（徐放）する生分解性高分子でできたシートを留置して、残存するがん細胞を殺すシステムや、膀胱内に薬剤液を一定時間入れておく方法、カテーテルで肝臓がんの上流の支配動脈に抗がん剤をゆっくり注入する方法などがある。

表 11.1 投与方法によるターゲティングの分類

| |
|-------------------------------|
| (1) 局所投与 (local injection) |
| 治療部位に直接留置，注入する。例としては |
| ・脳腫瘍付近の抗がん剤コントロールドリリースシステム |
| ・患部への直接注入 |
| ・カテーテルによる支配動脈注入 |
| (2) 全身投与 (systemic injection) |
| 血液あるいはリンパ液循環を通して標的に運搬される |

歯科での麻酔を治療部位の歯茎に直接注射することもこの分類に含まれる。ただし、このような直接注射によって高いターゲティング効果を得ることはむしろ例外的といえることに注意が必要である。例えば、固形がんを直接、抗がん剤を注射針を用いて注入することは一見選択性の高い治療法に思えるが、実際にはこの方法は行われていない。注入直後はがん局所であっても、抗がん剤はそれが低分子であることによってきわめてすみやかに静脈を通し

て、がん局所から排出されてしまうからである。抗がん効果を発揮するには、数時間というオーダーでがん組織に抗がん剤がとどまる必要があるが、直接注入によって得られる選択性は、この時間オーダーよりも桁違いに短い（数分）貯留性を示すにすぎない（例外は、きわめて短時間で殺細胞作用を及ぼし得る、肝臓がんへのエチルアルコール注入法の場合である）。さらに、直接注入では治療対象としたいがん細胞すべてに抗がん剤が行きわたらない可能性が大きい。対照的に、経口あるいは血液中に投与することで、血流を介して抗がん剤を効かせようとする場合には、すべてのがん細胞に抗がん剤が到達し得る。正常細胞も含めてすべての細胞が血流を介した栄養補給によって生存しているからである。

第2の方法は、血液またはリンパ液を通して標的部位に運搬する全身投与である（リンパ液は各組織・臓器から血液の静脈への体液循環を行っているものである。血流によって一度、各組織・臓器に入ってからリンパ液を介したターゲティングが始まるので、投与方法としては血液を介したターゲティングと同じである）。血液内に注射・点滴（通常静脈内）する場合と、経口投与や筋肉内投与など投与部位は血液ではないが、投与後の吸収過程を通して血液中に移行してから標的組織へ運搬される場合がある。両方の場合とも、標的部位への選択的デリバリーを担う運搬体（キャリアー）に薬物を結合あるいは封入することによってターゲティングが達成される。本章で扱うターゲティングはこの薬物キャリアーを用いた全身投与である。

〔2〕 標的選択性を得る方法によって分類した方法論 ターゲティングは標的選択性を得る方式によって、アクティブターゲティング（active targeting）とパッシブターゲティング（passive targeting）の二つの方法論に分類される。表 11.2 にこれらの方法を対比させて示した。その第1の方法論のアクティブターゲティングは、標的との明確な特異的相互作用を利用してターゲティングを行うものである。具体的には、生物学的に特異な相互作用や標的に与えられた物理信号（熱、磁気など）を利用して選択的な薬物移行を達成する方法で、抗体や磁性微粒子などを利用するアプローチがこの範疇に入る。

一方、パッシブターゲティングは、物理的・化学的な性質と生体側の解剖学的・生理学的特性とのバランスで受動的に規定される現象をうまく利用してデリバリーを行うもので、標

表 11.2 薬物ターゲティングの方法論（標的選択性を得るための方式による分類）

| | 利用する性質 | 制御する対象 |
|--------------|--|---|
| アクティブターゲティング | <ul style="list-style-type: none"> ・生体の特異的な相互作用 ・外部からの物理的信号 (例：抗体、磁気含有微粒子) | <ul style="list-style-type: none"> ・標的部位での相互作用 |
| パッシブターゲティング | <ul style="list-style-type: none"> ・キャリアーの物理的、化学的性質 (例：合成高分子、リポソーム、微粒子) | <ul style="list-style-type: none"> ・おもに非標的部位（特に 細網内皮系）での相互作用 |

的との特異的な相互作用は利用しない。例えば合成高分子をキャリアーとしてターゲティングを行うもので、合成高分子の分子量、親水性/疎水性、荷電状態といった物理的・化学的要素が血液内からどのように標的組織・臓器に移行するか、腎臓や肝臓での代謝・排出作用を受けるかというターゲティングの現象（これを体内分布、または体内動態という）を決定することとなる。

以上の分類は、別の見方をすると、標的部位での相互作用を考慮して設計するものがアクティブターゲティングであり、おもに非標的部位（特に細網内皮系）での相互作用を考慮して設計するものがパッシブターゲティングといえる。

ドラッグターゲティングシステムの研究・開発では、歴史的にはアクティブターゲティングのほうが数多くなされてきた。特に、モノクローナル抗体の作成技術が普及した1980年以降ではモノクローナル抗体をキャリアーとするアクティブターゲティングが圧倒的に多く研究されてきた。標的との特異的な相互作用を利用するアクティブターゲティングのほうが、パッシブターゲティングよりもターゲティング効率が高いものと暗黙のうちに信じられていたように思える。しかしながら、1980年代後半ごろから、むしろパッシブターゲティングの重要性が認識され始め、認可を得たターゲティングシステムではパッシブなキャリアーシステムのほうが多い。

アクティブターゲティングとパッシブターゲティングの二つの方法論の関係は、従来は図11.2 (a) に示すように、それぞれを独立した位置づけで捉えられてきた。すなわち、アクティブとパッシブの重なる部分に位置するのは、例えばリポソーム（単独ではパッシブターゲティングに分類される）表面にモノクローナル抗体を結合させたイムノリポソームのように両者の要素を兼ね備えたものである。これに対して近年では、図(b)に示す関係であると認識するほうがよいと考えられている。その第1の理由は、個体のなかでは標的となる組織・臓器は個体のごく一部であるため、残りの大部分の非標的部位での取り込みをいかに少なくするかというパッシブな側面がアクティブターゲティングでもキーポイントとなるからである。第2の理由は、アクティブターゲティングで固形がんなどの血液外の標的に達するには、まず血管から組織間質へ移動することが必要であるが、多くの場合、この移動過

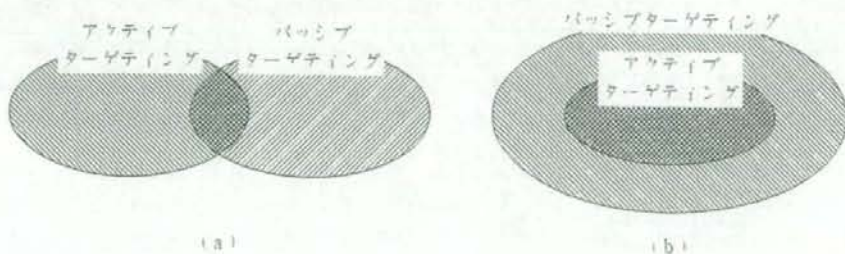


図11.2 アクティブターゲティングとパッシブターゲティングの位置づけ

程はパッシブな段階である。したがって、よりよきアクティブターゲティングシステムを設計・構築するためにはパッシブターゲティングの側面が不可欠である。以上のことから、パッシブターゲティングがより広範で包括的な方法論で、そのなかにアクティブターゲティングが含まれる図 (b) の位置づけが適切であると考えられる。

アクティブとパッシブのどちらが優れているかではなく、両者はいずれもドラッグターゲティングを構成する重要な方法論であると筆者は考える。

11.1.3 ターゲティングの原理、システム的设计論

本項では、どのような原理でターゲティングが達成されるのかということと、ターゲティングシステムをどのように設計するかという事柄を、年代順で紹介する。

(1) Ehrlich による魔法の弾丸 (19 世紀末) 時代は 19 世紀末にさかのぼる。最初の薬物ターゲティングのアイデアは、Ehrlich によって提唱された「魔法の弾丸」である。図 11.3 に示すように、特定の種類の細胞にのみ選択的に結合する物質、これをキャリアーとして薬物と結合させ、標的細胞だけに選択的にはたらく薬効を得るアイデアである。

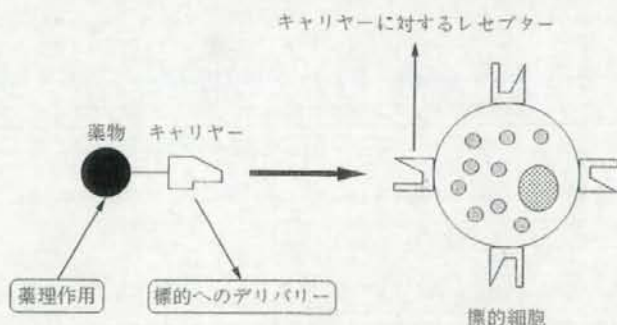


図 11.3 「魔法の弾丸」のアイデア

当初、このキャリアーとして想定されたのは、特定の細胞に結合する低分子有機化合物である。19 世紀末は、有機合成化学の発展により繊維を染める合成染料が数多く開発された時期であったが、この染料は顕微鏡観察の際に特定の種類の細胞を染めて観察することへも応用された。その後、その機能と性質が明らかになるにつれ、このキャリアーとして最適と考えられるようになったのは抗体である。抗体をキャリアーとして薬物や放射性同位元素をターゲティングする研究はそれぞれ 1950 年代にさかのぼるが、臨床試験を見据えて研究と開発が本格化するのは 70 年代である。

この「魔法の弾丸」が提示する概念は、現在では古典的なものとなったが、その本質はいさかかも重要性を失ってはいない。この概念は現在でも、アクティブターゲティングの主要をなすものである。また、この「魔法の弾丸」の概念を工学的に解釈すると、標的までの運

搬と標的での薬理効果発現の二つの機能を、キャリアーと薬物に別々に担わせる、つまり機能分化がその本質である。

〔2〕 de Duve による lysosomotropic agent (1973年) 図 11.4 に示すように、de Duve は、細胞中のリソゾームに選択的に取り込まれて薬効を発揮するシステムを考案した⁴⁾。このアイデアは、細胞膜を透過して2次リソゾームにたどり着く図中の (b) の経路をとる低分子の薬物 (その多くはターゲティングシステムではない) をも含むものであるが、薬物ターゲティングでは図中の (a) の経路が重要である。高分子などのキャリアーを用いた薬物ターゲティングは、その分子量が大きいために、細胞膜を透過することはできず、もっぱら (a) のエンドサイトーシスが標的細胞に入る唯一の手段となる。エンドサイトーシスされると、消化酵素を含んだリソゾームと融合して2次リソゾームとなる。よって、薬物ターゲティングでは細胞内に薬物を送達させて薬効を発揮しようとする場合には、ほぼ必然的に (a) の経路を経ることになるので、2次リソゾームの pH や消化酵素などを積極的に活用する lysosomotropic agent の概念は重要といえるのである。de Duve は、この概念の DNA をキャリアーにした抗がん剤のデリバリーシステムも開発していた⁵⁾。

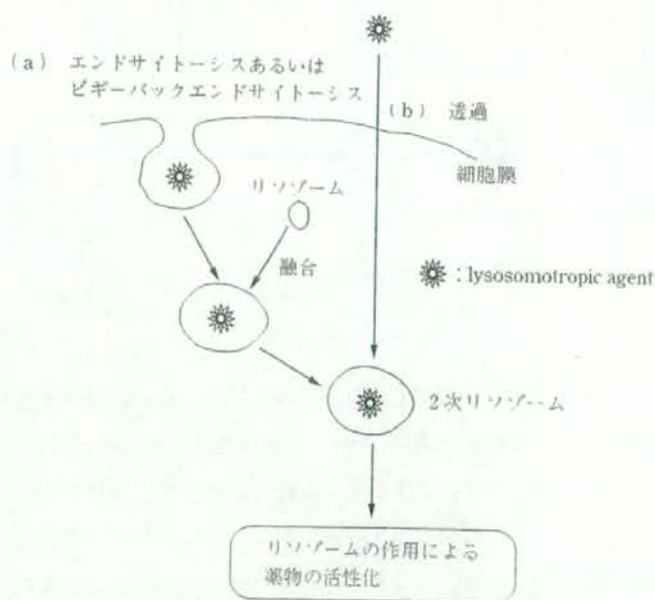


図 11.4 lysosomotropic agent の概念

〔3〕 Ringsdorf による高分子医薬モデル (1975年) Ringsdorf は、1975年に図 11.5 に示す高分子をキャリアーとしたターゲティングシステムの設計論を提示した⁶⁾。このモデルの提唱以前は、「魔法の弾丸」での薬物とキャリアーの二つの要素による設計論であったが、高分子医薬モデルでは五つの要素に増えている。薬物ターゲティングシステムに必要

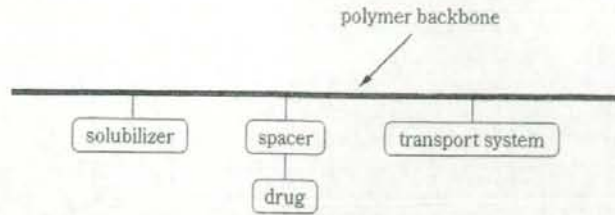


図 11.5 Ringsdorf の高分子化医薬のモデル

な性質が考慮されたもので、より実用的といえる。図 11.5 に示すように、polymer backbone, transport system, spacer, drug, そして solubilizer からなっている。

transport system とは「魔法の弾丸」でのキャリアーに相当するもので、特異抗体やホルモンなど標的細胞への結合を担う“homing device”と、“nonspecific resorption enhancer”に分かれている。後者はパッシブターゲティングの機能と、皮膚などの生体の障壁の透過を容易にする吸収改善の役割を果たすとしている。

polymer backbone は「魔法の弾丸」に比べると新たに加わった要素で、ほかの要素を結合する土台が用意されることで、工学的なキャリアーシステムの設計が可能となる。

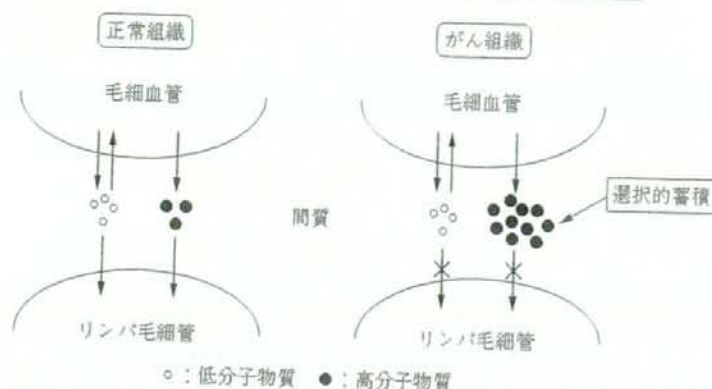
薬物 (drug) は spacer を介して、あるいは介さないで polymer backbone に結合する。spacer は生体内で分解する場合と分解しない場合がある。分解しない場合は、polymer backbone と drug の間の距離を適切に保つことによって、drug の活性発現を保障する。分解する場合 spacer は、drug の polymer backbone からの放出速度制御を担うことで、効果的な薬効発現を実現するものである。

solubilizer とは疎水性薬物が多く結合してシステムが水に溶けにくくなった場合に、その水溶性を改善する役割を担うものと、その逆に細胞との相互作用を増加させるために疎水性を与える役割を担う二つの場合がある。

このモデルの提唱は、薬物ターゲティングシステムの工学的な設計論と、パッシブターゲティングの意義を提示した点で、歴史的にも重要であり、提唱からすでに四半世紀を過ぎている。現在でもなお、このモデルは一つのスタンダードとして活用されている。

〔4〕 EPR 効果 (Enhanced Permeability and Retention effect) 1986 年、熊本大学の前田、松村によって発見された高分子物質一般が固形がんを選択的に集積し、保持されるという性質で⁷⁷⁻⁸⁰⁾、固形がん組織へのパッシブターゲティングが高分子や微粒子キャリアー一般で可能となる。

図 11.6 に示すように、血液中からがん細胞に達するには、まず血管内皮細胞を透過して細胞間質に入ることが第 1 ステップとなる。そして、細胞間質中を移動してがん細胞にたどり着く。また、細胞間質にはリンパ系への排出経路が存在する。低分子物質の場合は、第 1



○：低分子物質 ●：高分子物質

図 11.6 がん組織における EPR 効果

の血管内皮細胞の透過過程は、すみやかで両方向性であることが特徴である。

高分子物質の場合は、この透過過程の速度が小さく、薬物の移動、効果発現を考慮する時間スケールにおいては移動が血管から細胞間質への一方方向に近似できることが特徴である。正常の組織ではリンパ管への排出があるため、低分子物質、高分子物質ともに細胞間質に著しく集積することはない。これに比して、がん組織はつぎの二つの特徴を有する。

第1に、血管から細胞間質への高分子物質の透過速度が選択的に大きくなっていることである。これは、キニン¹⁰⁾や VPF¹¹⁾ (vascular permeability factor) などが固型がん部位の血管内皮細胞に作用することで、細胞間の間隙が広がったり細胞内の透過チャネル経由の透過作用が亢進したりするため¹²⁾、高分子物質の透過性が3~10倍ぐらいに増加するのに対し、低分子物質の場合には、細胞の脂質二分子膜を直接透過する経路に大きく依存するため、亢進作用はない。

第2の特徴として、リンパ系による排出が抑制されていることである。以上の特徴を総合すると、固型がん組織の細胞間質でのみ、高分子物質が選択的に集積することとなる。ここで重要なことは、この選択的な高分子物質の集積には特別な高分子 (特異抗体など) である必要がないことである。高分子物質が固型がんを選択性が高く集積することは EPR 効果以前にも知られてはいたが、リンパ系による排出の欠如と組み合わせた点、パッシブターゲティングの新しい方法論として明確に提示された点に、EPR 効果の提唱の大きな功績があったといえる。1986年の EPR 効果の最初の論文⁷⁾では、図 11.7 に示すように、モデル高分子として天然高分子のアルブミンを用いている。アルブミンをエバンスブルーという色素で染めることで、正常皮膚および、その上に形成させた固形がん S-180 での蓄積量を測定した。正常皮膚に比べ、固形がんでは約 10 倍もの量が蓄積し、その高い濃度が投与後 6 日まで維持されていた。EPR 効果は、1986年の論文⁷⁾に記された天然高分子のみではなく、合成の高分子¹³⁾を含むのはもちろんのこと、エマルション、リポソーム、ナノスフィアなど

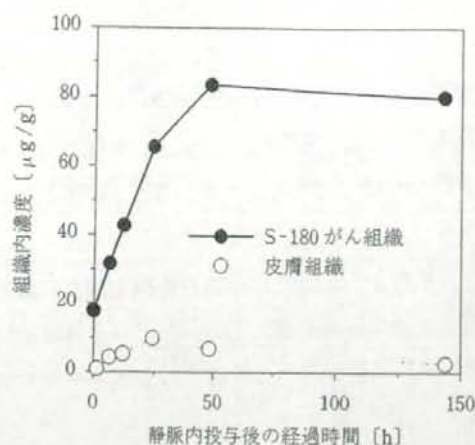


図 11.7 静脈投与後のエバンスブルー-アルブミン複合体の組織内蓄積

の微粒子系統のキャリアーシステムにも適用できる。

それでは、抗がん剤のキャリアーが細胞膜の脂質二分子膜を透過しない大きさ以上であればよいのだろうか。答えは「否」である。まず、大きさの上限がある。EPR 効果を示す上限としては、200~300 nm との報告がある^{14)~16)}。このような上限が存在するのは、ある一定の大きさ以上の粒子は、細網内皮系の細胞に取り込まれる速度が急上昇するのが第 1 の理由である。細網内皮系の肝臓や脾臓に多量に分布し、がんに対する選択性は失われることとなる。第 2 の理由としては、固形がんの局所の血管に開いた透過経路の大きさである。Jain ら¹⁷⁾は、固形がんの透過経路を 400 nm までの大きさのリボソームは通ることができている。現在、透過経路の種類（細胞内チャネルなのか、細胞間隙なのか）、大きさ、密度について一致した見解はないが、キャリアーの直径は 200 nm 以下のもの、特に 100 nm あるいはそれより小さい直径のものをを用いることが主流となっている。

キャリアーの大きさのほかに、EPR 効果を示すために必要な要件として挙げられるのは、キャリアーの親水性/疎水性と荷電状態の物理化学的性質である。もし、キャリアーの物理化学的性質が細胞との積極的な相互作用を誘起するものであると、この相互作用の結果、粒子の細胞への吸着、細胞によるエンドサイトーシスが起ることとなる。その結果、細胞間の間隙を通ったり、細胞内の透過チャネル経由の透過する割合が小さくなり、これらに依存した EPR 効果は失われていく。このような望ましくない相互作用を生み出す要因として代表的なものは、疎水性と正荷電である。

疎水性の表面（例えばポリスチレンの細胞培養皿）に細胞が粘着しやすい事実は広く知られている。また、細胞表面は全体として負に荷電しているため、正荷電をもつ表面に結合しやすいことも知られている。以上の相互作用の薬物キャリアーへの影響を解析した研究を二つ紹介する。第 1 の研究例は水溶性の高分子キャリアーに正荷電、負荷電の修飾を行って体

内での動態を測定した, 橋田, 高倉らの研究¹⁹⁾である。彼らは, デキストランや血清アルブミンを負電荷修飾, 正電荷修飾し, 腎臓での排出速度, 肝臓での取込み速度を測定した。電氣的に中性のデキストランに負電荷修飾することで肝臓での取込み, 腎臓での排出ともに低下する。正電荷修飾の場合には逆に両者ともに増加する。また, もともと電氣的には弱負電荷であるアルブミンに負電荷を加えた場合, また, 逆に正電荷にした両方の場合に, 腎臓排出, 肝臓取込みともに増加した。以上の結果から, 細胞との相互作用を減らし血液中を安定に循環させるには, 中性または負電荷をもつことが必要である。ただし, 負電荷が多すぎる場合には, 肝臓のスカベンジャーレセプターに認識されて肝臓での取込みが増加するなどして, 血液中を安定に循環しなくなる。

第2の研究例は Davis ら¹⁹⁾のポリスチレンミクロスフィアを用いたもので, ミクロスフィアを両親媒性のポリマーでコーティングして疎水性のポリスチレン表面を親水化することで, 肝臓での取込みを減少させることができるというものである。

以上の結果を総合すると, EPR 効果を示すための必要条件は, キャリヤーシステムが 200 nm より小さい粒径で, 親水性であり, 非荷電か負荷電であることである。また, 血流中で, 標的以外の部位に対する強い生物学的な結合 (リガンドとレセプター相互作用) を有しないことも要件となる。そのほかの化学的要因については (例えば水素結合を形成する構造は減らしたほうがよいかどうか) よくわかっていない。

さて, 抗体等を用いたアクティブターゲティングに比べた場合の, EPR 効果に基づくパッシブターゲティングを用いた化学療法の特徴は何であろうか。一つだけはっきりしている点は, 非あるいは低い免疫原性である。抗体を抗がん剤のキャリヤーとする場合には, 遺伝子組換えを用いてヒト化抗体を用いても, 抗イデオタイプ抗体の出現は理論上阻止し得ない。また, 抗体と抗がん剤の複合体の多くの場合, 1回の投与量は抗体重量にしてグラムオーダーと大量のものとなる。2回目以降の投与では, 中和抗体の作用で薬効が下がっていくことは定性的には不可避となる。実際の治療においては, この中和抗体による薬効低下がどの程度小さく抑えることができるかが重要な点となる。これに比して, 脂質や合成高分子を用いたパッシブターゲティングの薬物キャリヤーは, 非抗原性が存在してもきわめて低い抗原性であることが知られており, 現在の化学療法で行われていると同様に, 複数回, 複数ケールの投与が可能になる点で, 実用性が高いと考えられる。

11.1.4 ドラッグキャリヤーの形態

キャリヤーを構造で分類すると, 図 11.8 に示すように五つのタイプに分類される。まず, 天然あるいは合成の水溶性高分子に薬物を化学結合させたものが第1のタイプである。第2のエマルションは, 水と混じり合わない油滴を界面活性剤などで安定化させたものである。

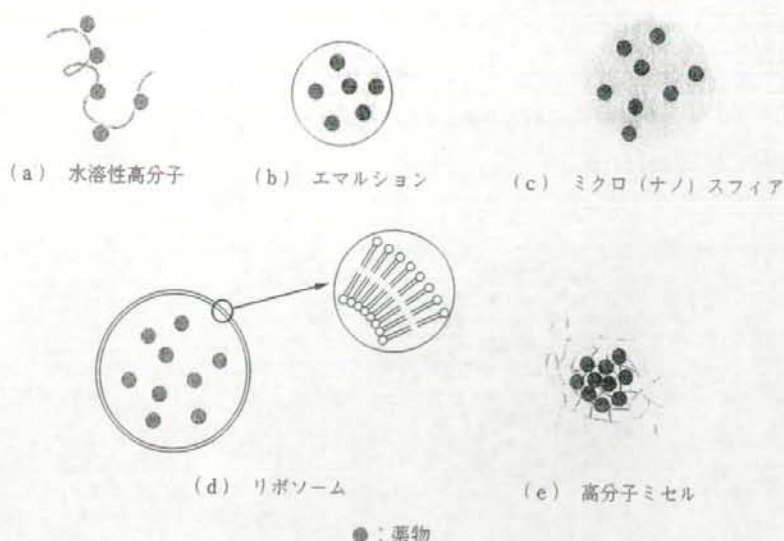


図 11.8 薬物キャリアーの形態

第3のミクロスフィア（微粒子）は、水に不溶の合成あるいは天然高分子から作製した微粒子で、その直径が $1\ \mu\text{m}$ 未満のときにはナノスフィアと呼ばれることが多い。もともと水溶性の高分子を化学架橋処理などで微粒子とする場合もある。エマルジョンとの違いは、ミクロスフィアでは粒子が固体状態であるのに対し、エマルジョンは油滴などの液体状態のものからなることである。第4のリポソームは人工の細胞膜モデルともいえるもので、リン脂質の二重膜からなる閉じた小胞である。第5の高分子ミセルは、複数の高分子鎖が会合して形成するミセル構造である。

11.1.5 ターゲティングの実例

抗がん剤をターゲティングする例を中心に、いくつかの代表的研究例を紹介し、薬物ターゲティングの現状を展望してみたい。

(1) リピッドマイクロスフィア 図 11.8 (b) に示したエマルジョンは、水と混じり合わない油滴を界面活性剤などで安定化させたものである。このタイプのキャリアーシステムの代表的な成功例が、リピッドマイクロスフィア（商品名パルクス[®]、リプル[®]）である²⁰⁾。「スフィア」の語句が使われているが、エマルジョンタイプであり、「マイクロ」の名がついているが、ナノサイズのキャリアーシステムである（このシステムが研究・開発されたのが、まだ「ナノテクノロジー」の語句が普及する以前の1980年代であったことによる）。レチシン層で安定化した大豆油の200 nmのエマルジョンに、プロスタグランジン-E₁が含有されたもので、1988年に使用承認が得られて慢性動脈閉鎖症などの虚血性疾患に用

いられている。これは世界初のターゲティング製剤の認可例である。パッシブターゲティングによってこのキャリアシステムが患部に多く集積する性質が利用されている。さらに、ターゲティング性能を高めるために内側の層に生分解性の高分子を加えたシステムも臨床試験中である (図 11.9)。

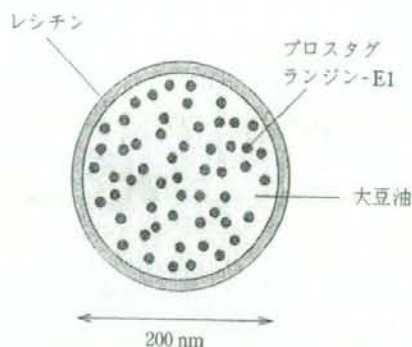


図 11.9 リピッドマイクロスフィア

[2] スマンクス タンパク質抗がん剤ネオカルチノスタチン (NCS) とスチレンマレイン酸コポリマー (SMA) との結合物スマンクス (SMANCS) (構造は図 11.10) はもとの NCS に比べて、長い血液中安定性を達成し、静脈注射でマウスの固形がんにおける長い延命効果を得ている。よってスマンクスは、ターゲティング製剤であり、11.2 節で述べる安定化した製剤の例でもある。これは 1993 年に認可された世界初の高分子抗がん剤の例である。ただし、その使用はリポドールという油製剤化し、肝臓の動脈内投与という方式

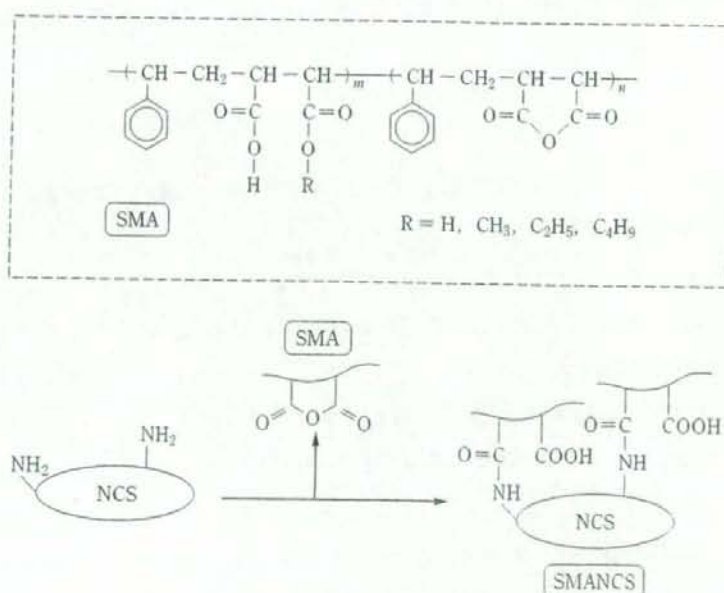


図 11.10 スマンクス (SMANCS) の構造