

author, Opanasopit, and colleagues successfully incorporated camptothecin into polymeric micelles at a very high yield [31–33]. They also found that a slight change in chemical structure of the inner core-forming polymer chain had substantial effects on the incorporation behavior and the stability of incorporation. This indicates that molecular design of the hydrophobic inner core-forming block is an important key for successful drug targeting using polymeric micelle drug carriers.

REFERENCES

- Z. Tuzar and P. Kratochvil, *Adv. Colloid Interface Sci.*, **6**, 201 (1976).
- M. Yokoyama, S. Inoue, K. Kataoka, N. Yui, T. Okano, and Y. Sakurai, *Makromol. Chem.*, **190**, 2041 (1989).
- A. V. Kabanov, V. P. Chekhonin, V. Y. Alakhov, E. V. Batrakova, A. S. Lebedev, N. S. Melik-Nubarov, S. A. Arzhakov, A. V. Levashov, G. V. Morozov, E. S. Severin, and V. A. Kabanov, *FEBS Lett.* **258**, 343 (1989).
- Y. Li and G. S. Kwon, *Pharm. Res.* **17**, 607 (2000).
- C. Allen, J. Han, Y. Yu, D. Maysinger, and A. Eisenberg, *J. Controlled Release* **51**, 275 (2000).
- A. Rolland, J. O'Mullane, P. Goddard, L. Brookman, and K. Petrak, *J. Appl. Polym. Sci.* **44**, 1195 (1992).
- T. Inoue, G. Chen, K. Nakamae, and A. S. [Last name?], *J. Controlled Release* **51**, 221 (1998).
- N. Y. Rapoport, J. N. Herron, W. G. Pitt, and L. Pitina, *J. Controlled Release* **58**, 153 (1999).
- A. Benahmed, M. Ranger, and J.-C. Leroux, *Pharm. Res.* **18**, 323 (2001).
- M. Yokoyama in "Drug and Pharmaceutical Sciences" (G. S. Kwon, Ed.), Vol. 148, p. 533. Polymeric Drug Delivery Systems. Taylor & Francis, Boca Raton, FL, 2005.
- Y. Bae and K. Kataoka in "Drug and Pharmaceutical Sciences" (G. S. Kwon, Ed.), Vol. 148, p. 491. Polymeric Drug Delivery Systems. Taylor & Francis, Boca Raton, FL, 2005.
- N. Nishiyama, M. Yokoyama, T. Aoyagi, T. Okano, Y. Sakurai, and K. Kataoka, *Langmuir* **15**, 377 (1999).
- K. Kataoka, H. Togawa, A. Harada, K. Yasugi, T. Matsumoto, and S. Katayose, *Macromolecules* **29**, 8556 (1996).
- A. Harada and K. Kataoka, *Macromolecules* **31**, 88 (1998).
- F. Calderara, Z. Hruska, G. Hurtrez, J.-P. Lerch, T. Nugay, and G. Riess, *Macromolecules* **27**, 1210 (1994).
- M. Wilhelm, C.-L. Zhao, Y. Wang, R. Xu, and R. A. Winnik, *Macromolecules* **24**, 1033 (1991).
- Y. Wang, C. M. Kausch, M. Chun, R. P. Quirk, and W. L. Mattice, *Macromolecules* **28**, 904 (1995).
- C. J. T. Hoes, W. Potman, W. A. R. van Heeswijk, J. Mud, B. G. de Grooth, J. Grave, and J. Feijen, *J. Controlled Release* **2**, (1985).
- N. Endo, N. Umemoto, Y. Kato, Y. Takeda, and T. Hara, *J. Immunol. Methods* **104**, 253 (1987).
- F. Zunino, G. Pratesi, and A. Micheloni, *J. Controlled Release* **10**, 65 (1989).
- T. Hirano, S. Ohashi, S. Morimoto, K. Tsukada, T. Kobayashi, and S. Tsukagoshi, *Makromol. Chem.* **187**, 2815 (1986).
- Y. Tsukada, Y. Kato, N. Umemoto, Y. Takeda, T. Hara, and H. [LAST NAME?], *J. Natl. Cancer Inst.* **73**, 721 (1984).
- L. W. Seymour, K. Ulbrich, P. S. Steyger, M. Brereton, V. Subr, J. Strohalm, and R. Duncan, *Br. J. Cancer* **70**, 636 (1994).
- R. Duncan, S. Dimitrijevic, and E. G. Evagorou, *S. T. P. Pharm. Sci.* **6**, 237 (1996).
- M. Yokoyama, G. S. Kwon, T. Okano, Y. Sakurai, T. Seto, and K. Kataoka, *Bioconjugate Chem.* **3**, 295 (1992).
- M. Yokoyama, A. Satoh, Y. Sakurai, T. Okano, Y. Matsumura, T. Kakizoe, and K. Kataoka, *J. Controlled Release* **55**, 219 (1998).
- Y. Matsumura, M. Yokoyama, K. Kataoka, T. Okano, Y. Sakurai, T. Kawaguchi, and T. Kakizoe, *Japanese J. Cancer Res.* **90**, 122 (1999).
- Y. Mizumura, Y. Matsumura, M. Yokoyama, T. Okano, T. Kawaguchi, F. Moriyasu, and T. Kakizoe, *Japanese J. Cancer Res.* **93**, 1237 (2002).
- T. Hamaguchi, Y. Matsumura, M. Suzuki, K. Shimizu, R. Goda, I. Nakamura, I. Nakatomi, M. Yokoyama, K. Kataoka, and T. Kakizoe, *Br. J. Cancer* **92**, 1240 (2005).
- X. Zhang, H. M. Burt, D. Von Hoff, D. Dexter, G. Mangold, D. Degen, A. M. Oktaba, and W. L. Hunter, *Cancer Chemother. Pharmacol.* **40**, 81 (1997).
- M. Yokoyama, P. Opanasopit, Y. Maitani, K. Kawano, and T. Okano, *J. Drug Targeting* **12**, 373 (2004).
- P. Opanasopit, M. Yokoyama, M. Watanabe, K. Kawano, Y. Maitani, T. Okano, *Pharm. Res.* **21**, 2003 (2004).
- P. Opanasopit, M. Yokoyama, M. Watanabe, K. Kawano, Y. Maitani, T. Okano, *J. Controlled Release* **104**, 313 (2005).
- M. Yokoyama and T. Okano, *Adv. Drug Delivery Rev.* **21**, 77 (1996).
- Y. Sugiyama, *Adv. Drug Delivery Rev.* **19**, 333 (1996).
- Y. Takakura, K. Maruyama, and M. Yokoyama, (in Japanese) *Drug Delivery System* **14**, 425 (1999).
- Y. Matsumura and H. Maeda, *Cancer Res.* **46**, 6387 (1986).
- H. Maeda, L. W. Seymour, and Y. Miyamoto, *Bioconjugate Chem.* **3**, 351 (1992).
- L. W. Seymour, Y. Miyamoto, H. Maeda, M. Brereton, J. Strohalm, K. Ulbrich, and R. Duncan, *Eur. J. Cancer* **31A**, 766 (1995).
- P. G. Tardi, N. L. Boman, and P. R. Cullis, *J. Drug Targeting*, **4**, 129 (1996).
- O. Ishida, K. Maruyama, K. Sasaki, and M. Iwatsuru, *Int. J. Pharm.* **190**, 49 (1999).
- G. S. Kwon, S. Suwa, M. Yokoyama, T. Okano, Y. Sakurai, and K. Kataoka, *J. Controlled Release* **29**, 17 (1994).
- M. Yokoyama, T. Okano, Y. Sakurai, S. Fukushima, K. Okamoto, and K. Kataoka, *J. Drug Targeting* **7**, 171 (1999).
- Huang, L., et al., *Biochim. Biophys. Acta* **1190**, 99 (1994).
- O. Ishida, K. Maruyama, K. Sasaki, and M. Iwatsuru, *Int. J. Pharm.* **190**, 49 (1999).
- Y. Takakura and M. Hashida, *Pharm. Res.* **13**, 820 (1996).
- S. S. Davis, et al., *Life Sci.* **40**, 367 (1987).
- J. E. Chung, M. Yokoyama, K. Suzuki, T. Aoyagi, Y. Sakurai, and T. Okano, *Colloids Surf., B: Biointerfaces* **9**, 37 (1997).
- J. E. Chung, M. Yokoyama, T. Aoyagi, Y. Sakurai, and T. Okano, *J. Controlled Release* **53**, 119 (1998).
- F. Kohori, K. Sakai, T. Aoyagi, M. Yokoyama, Y. Sakurai, and T. Okano, *J. Controlled Release* **55**, 87 (1998).
- J. E. Chung, M. Yokoyama, M. Yamato, T. Aoyagi, Y. Sakurai, and T. Okano, *J. Controlled Release* **62**, 115 (1999).
- F. Kohori, K. Sakai, T. Aoyagi, M. Yokoyama, M. Yamato, Y. Sakurai, and T. Okano, *Colloids Surf., B: Biointerfaces* **16**, 195 (1999).

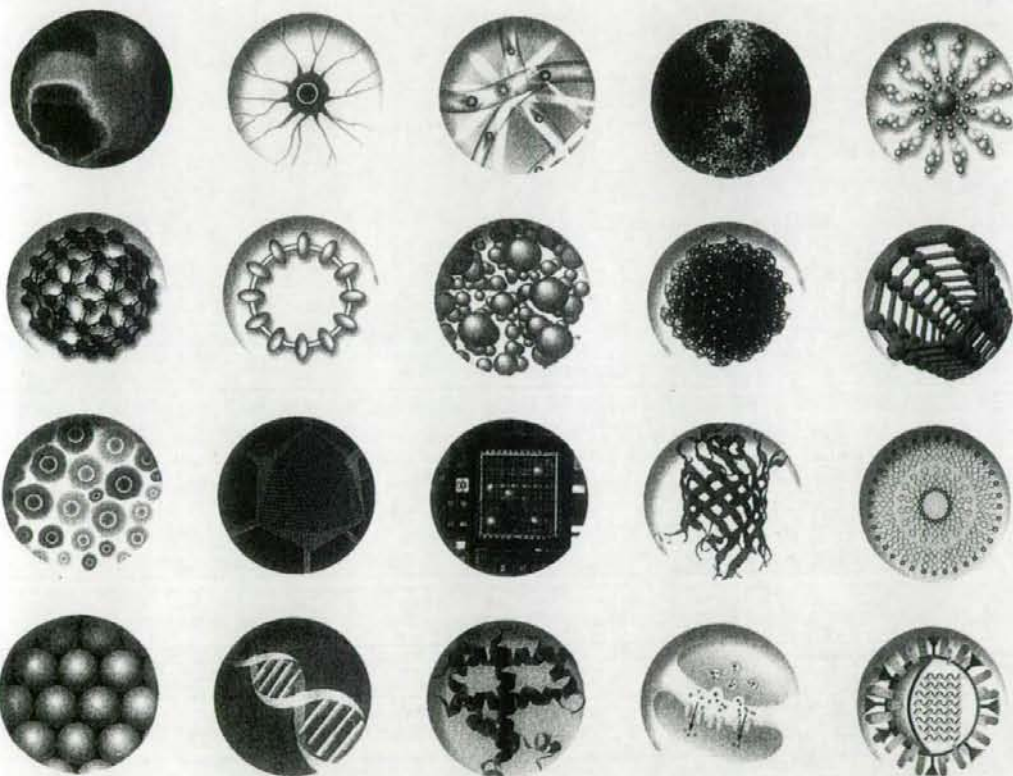
53. J. E. Chung, M. Yokoyama, and T. Okano, *J. Controlled Release* 65, 93 (2000).
54. M. Yokoyama in "Supramolecular design for biological applications" (N. Yui, Ed.), p. 245. CRC Press, Boca Raton, 2002.
55. M. Nakayama and T. Okano, *Biomacromolecules* 6, 2320 (2005).
56. I. M. Hamse, M. D. C. Topp, P. J. Dijkstra, and J. Feijen, *J. Controlled Release* 64, 273 (2000).
57. M. D. C. Topp, P. J. Dijkstra, H. Tapsma, and J. Feijen, *Macromolecules* 30, 359 (1997).
58. G. S. Kwon, M. Naito, K. Kataoka, M. Yokoyama, Y. Sakurai, and T. Okano, *Colloids Surf., B: Biointerfaces* 2, 429 (1994).
59. M. Yokoyama, T. Okano, Y. Sakurai, and K. Kataoka, *J. Controlled Release* 32, 269 (1994).
60. G. S. Kwon, M. Naito, M. Yokoyama, T. Okano, Y. Sakurai, and K. Kataoka, *Pharm. Res.* 12, 192 (1995).
61. M. Yokoyama, S. Fukushima, R. Uehara, K. Okamoto, K. Kataoka, Y. Sakurai, and T. Okano, *J. Controlled Release* 50, 79 (1998).
62. M. Yokoyama, A. Satoh, Y. Sakurai, T. Okano, Y. Matsumura, T. Kakizoe, K. Kataoka, *J. Controlled Release* 55, 219 (1998).
63. Y. Matsumura, M. Yokoyama, K. Kataoka, T. Okano, Y. Sakurai, T. Kawaguchi, and T. Kakizoe, *Japanese J. Cancer Res.* 90, 122 (1999).
64. Y. Mizumura, Y. Matsumura, M. Yokoyama, T. Okano, T. Kawaguchi, F. Moriyasu, and T. Kakizoe, *Japanese J. Cancer Res.* 93, 1237 (2002).
65. N. Nishiyama, M. Yokoyama, T. Aoyagi, T. Okano, Y. Sakurai, and K. Kataoka, *Langmuir* 15, 377 (1999).
66. N. Nishiyama, Y. Kato, Y. Sugiyama, and K. Kataoka, *Pharm. Res.* 18, 1035 (2001).
67. N. Nishiyama, S. Okazaki, H. Cabral, M. Miyamoto, Y. Kato, Y. Sugiyama, K. Nishio, Y. Matsumura, and K. Kataoka, *Cancer Res.* 63, 8977 (2003).
68. A. Lavasanifar, J. Samuel, S. Satari, and G. S. Kwon, *Pharm. Res.* 19, 418 (2002).
69. A. Lavasanifar, J. Samuel, and G. S. Kwon, *J. Controlled Release* 77, 155 (2001).
70. M. L. Adams and G. S. Kwon, *J. Controlled Release* 87, 23 (2003).
71. Y. Li and G. S. Kwon, *Pharm. Res.* 157, 607 (2000).

NANOMEDICINE

ナノメディシン

ナノテクの医療応用

宇理須 恒雄 編



OHM
Ohmsha

2-2 高分子ミセルを用いたナノメディシン

横山昌幸 神奈川科学技術アカデミー

高分子ミセルを用いた薬物ターゲティングについて、ナノメディシンとの関連を重点的に盛り込みながら述べてゆく。

1 高分子ミセルとは

高分子ミセルとはその名の通り、高分子からなるミセル構造のことである。ある分子中に、溶媒に溶けやすい部分（ここではAとする）と溶けにくい部分（Bとする）が共存した場合に、Bの部分が会合して形成する構造がミセルである。高分子ミセルの場合には、高分子構造中にAとBの構造が含まれていれば形成し得るのであるが、明確な構造を取りやすいのはグラフトコポリマーやブロックコポリマーのように、AとBが高分子鎖になっている場合である。

図2-2-1に、AB型のブロックコポリマーからなる高分子ミセル型薬物キャリアーシステムの例を示す。これは直鎖状の高分子鎖であるA鎖とB鎖が直列につながった形のブロックコポリマーであり、高分子ミセル型薬物キャリアーシステムとして最も典型的なものである。薬物キャリアーとしては生体の体液中で使うため、溶媒は水あるいは緩衝液であるので、A鎖は親水性鎖、B鎖は疎水性鎖になる。このAB型ブロックコポリマーが数十～数百個会合して、B鎖が疎水性の内核を、A鎖は親水性の外殻を構成した球状のミセル構造を形成する。

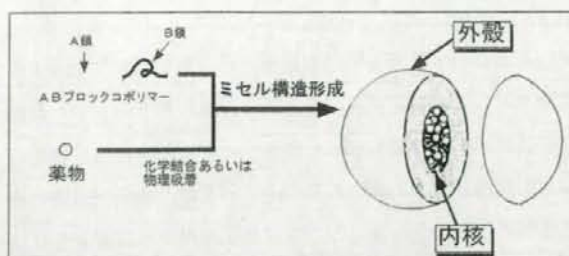


図2-2-1 典型的な高分子ミセル薬物キャリアーシステムの構造

ミセルに導入する薬物は、B鎖に化学的に結合するか、B鎖が形成するミセル内核に物理的に主に疎水性相互作用で封入される。1つのミセルを形成するポリマー鎖の数は、A鎖とB鎖の化学構造と長さによって規定される。古典的には、ミセル構造を含む溶液にはミセル構造と、この構造を形成しないで単独で溶媒に溶けているブロックコポリマー（ユニマーと呼ぶ）が共存し、このときのユニマー濃度を臨界ミセル濃度（Critical Micelle Concentration: CMC）と呼ぶ。ユニマー濃度がCMC以上となるとミセル構造を形成し始め、高分子濃度が増加してもミセルの濃度が増加するだけで、ユニマー濃度はほぼCMCに一定に保たれる。

ここで、「古典的」と断ったのは、次項で説明するように内核が固体の性質を有し、ミセル構造がユニマーへと解離してゆく速度がゼロになるときは、ミセルとユニマーの間に平衡が成り立っている「古典的」なミセルでなくなるからである。薬物キャリアーではこの「非古典的」な高分子ミセルが重要であり、このことは次項²⁾で詳しく説明する。

得られる高分子ミセルの平均直径は、通常10~100nmの範囲内にある。また、ここでは球形ミセル構造を得ているが、棒状ミセルやポリマーゾーム構造（高分子からリポソームのような2分子膜構造が形成されるもの）も形成し得るが、本誌説では省略する。棒状ミセルはいまだ薬物キャリアーに応用されている例がなく、ポリマーゾームも薬物キャリアーシステムのモデル研究のための基礎研究にとどまっているのが現状であるからである。

先に、高分子ミセル薬物キャリアーシステムは疎水性の内核を有すると記述した。これは、正確には疎水性内核には限定されず、水系の溶媒中、内核でB鎖が会合を起こすような相互作用を起こせばミセルを形成し得るということである。この相互作用としては、上述の疎水性相互作用のほかには、静電相互作用、水素結合などがあるが、薬物キャリアーシステムの場合には疎水性相互作用が一般的である。理由は、薬物には疎水性部分を含むものが多いので、疎水性相互作用を利用することが、最も適用範囲が広いからである。逆にいえば、低分子薬物の場合、ミセル形成および薬物の封入に十分なほどの静電相互作用や水素結合を及ぼす化学構造ではないということである。

ただしこれは、封入すべき薬物が高分子である場合には状況が異なってくる。DNAのように、荷電が密度高く配置された高分子では、静電相互作用によ

表2-2-1 ミセル内核の疎水性由来による分類

ミセル内核疎水性の由来	疎水性の化学構造 ⁽¹⁾	文献番号
高分子	バルチミン酸	3, 4
	ベンジルアルコール	5, 6
	高分子主鎖 ⁽²⁾	7
	アドリアマイシン ⁽³⁾	8, 9, 10
薬物	メソトレキセート	11
	SN-38	12
	シスプラチン	13, 14

(1) 文献 [6] を除き、高分子鎖に結合した疎水性化学物質で示す

(2) 高分子鎖がポリ (ε-カプロラクタム)

(3) アドリアマイシンをポリアスパラギン酸に結合して疎水化し、結合したアドリアマイシンは薬物としては活性を示さない

でミセル構造が容易に形成し得る^[1]。荷電を密度高く含むタンパクも同様である^[2]。

ここで再び、低分子薬物の場合の疎水性内核に話を戻す。そのミセル内核の疎水性としては、(1) 高分子鎖に由来する場合と、(2) 高分子鎖に結合する薬物自体に由来する場合とがある。表2-2-1 に代表的な例をまとめた。

(1) の高分子鎖に由来する場合^[3-9]では、薬物は高分子鎖との疎水性相互作用で物理的に封入する場合がほとんどで、例外はRingsdorfらの例^[1]である。文献 [9, 10] では、薬物のアドリアマイシンを親水性のポリ (アスパラギン酸) 鎖に結合させることで、この高分子鎖を疎水性化して、内核形成鎖としている。一般に、薬物は水に溶けにくい、すなわち疎水性が高い場合が多い。また、薬物が水溶性である場合にも、その分子構造に何らかの疎水性構造が含まれていることが多い。よって、疎水性相互作用を利用して物理的に高分子ミセル内核に封入することは、多数の薬物に適用できる利点がある。

(2) の薬物の疎水性に由来する場合^[10-14]は、薬物を高分子鎖に化学結合することによって、内核の疎水性を獲得する。当然、化学結合のための官能基が薬物分子に含まれている必要がある。たとえば、アミノ基、カルボキシル基、水酸基である。これらの官能基を含むという条件によって、適用できる薬物が限られるという点も多少の問題ではあるが、それよりも導入に使った結合の開裂の制御が技術的に難しいことが重要である。標的とする臓器・組織に到達したところで、薬効を発揮するには薬物分子を高分子鎖から放出する必要があり、そのために薬

物と高分子間の結合を開裂させるが、その速度が大きすぎても（たとえば投与後1時間以内にほとんどの薬物が放出される様な状態）、小さすぎても（投与後24時間経過しても5%も放出されない状態など）ターゲティングによる薬効の増大は得られない。薬物-高分子間の結合が血液環境にさらされている状態に比べて、この結合がミセル内核に存在する場合は、pHや酵素による結合の開裂は大幅に遅くなる。

この速度制御については、まだ検討があまり進んでいないのが現状である。この(2)に含まれる研究例で、ほかのものと性質の違うものとして、金属錯体の抗がん剤であるシスプラチンを結合させた高分子ミセルシステム^[13, 14]がある。結合させたシスプラチン自身、ある程度の疎水性を有するが、ミセル形成の中心的な役割を果たしているのが高分子鎖間の架橋構造であることがほかの場合と異なっている。シスプラチン分子中心の白金イオンに複数の高分子側鎖が配位結合して、高分子間に架橋構造が生ずることでミセル内核が形成している。

高分子科学での高分子ミセルに関する基礎研究の歴史は古く、1970年代にはすでにかなり広範に研究がなされるようになっていたが、後述するように薬物キャリアーとして応用する研究は1980年代から開始された。

2 薬物キャリアーとしての特長、短所^[15]

高分子ミセルが薬物キャリアーとして有する特長を表2-2-2にまとめた。これらの中には、すでに実証されたもの、これから実証を待つものが混在している。

第一の特長は、10~100nmの直径の超微粒子が容易に得られることである。高分子ミセルとしてはこの範囲の粒径が得られることは当然のことであるが、一般的にこのナノサイズの範囲の微粒子を得ることは技術的に困難である。また、こ

表2-2-2 高分子ミセル薬物キャリアーシステムの特長

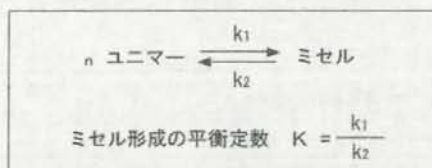
- | |
|---|
| <ol style="list-style-type: none"> 1. 小さな粒径（直径10nm~100nm） 2. 高い構造安定性 3. 機能分離性 4. 大きな薬物容量 5. 高い水溶性 6. 体内非蓄積性 |
|---|

の範囲の粒径は、**図2-2-1**で述べる固形がん組織へのターゲティングで有用な大きさである。以上のことを総合すると、高分子ミセルは薬物キャリアーのためのナノテクノロジーとして生来の利点を有しているといえる。

第二の特長である構造安定性とは、体液中でキャリアーの機能を果たすのに十分な時間、ミセル構造を保つことである。静的と動的な安定性の2つの側面がある。静的な安定性とは、高分子ミセルとユニマー（ミセルを形成せずに単独で溶けている高分子鎖）との間に成り立つ平衡での、臨界ミセル濃度が小さいことである。高分子ミセルでは、内核が高分子鎖間の複雑な絡み合いと相互作用により構築されていることによって、臨界ミセル濃度は通常 $1\sim 10\mu\text{g}/\text{mL}$ と小さな値を取ることが知られている。

ここで少し、計算を試みる。臨界ミセル濃度が $10\mu\text{g}/\text{mL}$ で、投与量 $10\text{mg}/\text{kg}$ の薬物を、薬物含有量 $10\text{wt.}\%$ の高分子ミセルで投与する場合を想定する。これを血液中に投与すると血液中の高分子濃度は $10\text{mg}/\text{kg}\times 10/70=1.4\text{mg}/\text{mL}$ 位となる（血液量は体重 1kg 当たり 70mL とした）。この値は臨界ミセル濃度よりも100倍以上高い濃度であることから、血液内に投与してからその濃度が $1/100$ 未満に減衰するまでの十分に長い時間、（ユニマーではなく）高分子ミセルとしてデリバリーを実現することができる。投与量 $1\text{mg}/\text{kg}$ の薬物に対しても、臨界ミセル濃度が小さくなるように設計することで十分に対応できる。

一方の動的な安定性とは、ミセルがユニマーに解離する速度定数が小さいこと



1. 静的安定性が高い = ミセル形成の平衡定数 K が大きい

→ 臨界ミセル濃度（ミセル形成が観測し得た時のユニマー濃度）が小さい

2. 動的安定性が高い = ミセル解離の速度定数 k_2 が小さい

特に、ミセル内核が完全に固体状態になると $k_2 = 0$ となりユニマーと平衡関係のない固体粒子となる

図2-2-2 高分子ミセルの構造安定性

である。前述の静的な安定性とともにもとめたのが図2-2-2である。もし、内核が完全な固体の性質を示してユニマーに解離しなくなったときには、ミセル構造はユニマーとの間の平衡ではなく、解離しない粒子として振る舞うことになる（平衡であったり平衡でなかったりと奇妙に思われるかも知れないが、たとえばミセル形成過程ではミセル内核が液体状態の高温で行い、その後低温にしてミセル内核を固体にする場合などが考えられる）。一般に、生体内では血液内濃度を下げる排出経路は数多くある。ここでミセルが完全な平衡関係にある場合を想定してみる。投与したときの高分子の濃度はCMCよりも圧倒的に高くても、ユニマーが腎臓や肝臓から急激に排出された場合に平衡がミセルからユニマーに急速に移行することも考えられる。その場合には、ミセル構造は短時間で失われることとなる。このときに、もしミセル内核が固体性を示して解離の速度がゼロではないにしても、相対的に小さなものであれば、長い時間血液内でミセル構造でのデリバリーが可能となるのである。

表2-2-2に記した特長の第三は、薬物キャリアーとして必要な機能が分離して設計できる点である。この機能分離性を図2-2-3で説明する。ミセル外殻はタンパク質や細胞などの生体成分と相互作用を通して体内動態・分布を決定する。一方、内核は薬物を封入し、標的に到着した後の薬効発現を担う。ブロックコポリマーのA鎖が外殻を構成し、B鎖は内核を構成する。すなわち、ブロックコポリマーのそれぞれの鎖に合目的な機能を与え、それを最適化するように化学構造を選択することができる。このように、機能分離性はシステム設計の観点から見ると大きな利点となり、内核を構成する高分子鎖と外殻を構成する高分子鎖とに薬物

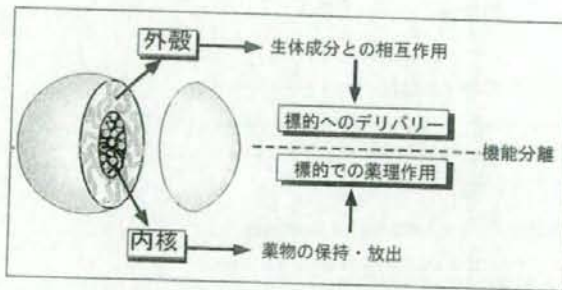


図2-2-3 高分子ミセルによる薬物キャリアーの機能分離

キャリアーシステムとして必要とされる機能を分割して付与することで、より高性能のシステムが達成可能となる。

第四と第五の特長は互いに関連し合うもので、高分子鎖の凝集により形成されるミセル内核に多量の疎水性薬物を導入できると同時に、水溶性の外殻が複数の内核同士の凝集を抑制し、このために良好な水溶性が保たれる。血液中に投与する製剤は水、すなわち血液に溶けることが求められる。疎水性の薬物を大量に封入するとキャリアーシステムが水に不溶となる問題の発生をよくみるが、高分子ミセルではその問題が起こる割合が圧倒的に少ない。

最後に記した特長の体内非蓄積性とは、構造的に安定とはいえ、長期的に見れば高分子ミセルは1本1本の高分子鎖に解離するため、生体に蓄積して毒性を及ぼす心配がないことをいう。ミセルから解離したブロックコポリマーが腎臓ら排出されるように設計することは、その分子量を3万程度以下に抑えることで達成できる。ミセルのままでも肝臓から排出される可能性はあるが、腎臓からの排出が保証されていることは臨床に向かうためには大きなメリットであると受け取られるのが現状である。

次に、高分子ミセル薬物キャリアーとしての短所について述べてみたい。高分子ミセル特有の課題は、合成高分子としては珍しい部類のブロックコポリマーが必要なことである。特に、ターゲティングを達成するには単にブロックコポリマーであるのみならず、その化学構造と鎖長が厳密に制御されて合成される必要がある [16, 22]。

また、高分子ミセルに限らずナノサイズのキャリアーシステムで共通の問題は、薬物の放出速度制御である。リポソームは、ターゲティングに最適な速度よりかはるかに大きな薬物放出速度であるか、まったく放出しないかのどちらかになりやすい。薬物-抗体の複合体では、設計されたように標的の細胞に取り込まれてから結合が切れるのではなく、がん組織などで加水分解されている可能性が議論され始めている。高分子ミセルの場合には、ミセル内核からの薬物放出速度の得られる幅が広いことが特長と考えられる（数分から数十時間の時間スケールで）。しかし、その速度をターゲティングに最適なものに制御する、システムチックな方法論が未確立であるのが現状である。

3 高分子ミセル薬物キャリアー研究の歴史

ここで、高分子ミセル薬物キャリアー研究の歴史、特に初期の頃の歴史を振り返る。理由は、そこに高分子ミセル構造のDDSへの利用の考え方が凝集されているからである。現在、薬物キャリアーとしての高分子ミセルはかなり一般的に知られるようになり、研究数も多くなってきた。しかし、1992年までは表2-2-3に示すものが研究のすべてであった。

1984年にドイツMainz大学のH. Ringsdorfは、高分子ミセルを薬物キャリアーに用いる最初の研究例を報告した。抗がん剤のシクロフォスファミドの誘導体を、化学的にブロックコポリマーに結合させたものである。この誘導体は親水的であるので、ミセル形成は高分子鎖の疎水性によっている。彼らは、ミセル内核の疎水的環境の影響で、化学結合が解裂することによる薬物放出がゆっくりとしたものとなっていることを示した。高分子ミセルを唱えながら、光散乱などのミセル形成の直接的証拠がなく、*in vivo*でのキャリアーとしての意義を追求しておらず(*in vitro*での薬物除放のみの検討にとどまる)、これ以上発展することはなかった。しかし、高分子ミセル薬物キャリアー最初の提唱者としての価値は十分に高い研究であったと筆者は信じる。

高分子ミセルを生体内で用いる薬物キャリアーとしての研究は1989年に、日本とロシア(当時はソビエト)の2つのグループによって同時期に、互いに独立に発表された。ロシアのKabanov^[17]は、脳神経に作用する薬物ハロペリドールを高分子ミセルに物理的に封入することで、その薬理作用が増大すること(ここでは致死量小さくなること)を報告した。これは高分子ミセルキャリアーによる、*in vivo*での初めての薬理効果亢進の例である。彼らは、この薬理効果の亢進は、高分子ミセルの外殻に結合させた特異抗体による薬物作用部位へのターゲティングによるものとした。しかし後日、彼らが報告したように、この高分子ミセルを形

表2-2-3 高分子ミセルキャリアー初期の研究例

研究室	代表研究者	発表年	文献番号
マインツ大学(ドイツ)	Ringsdorf	1984	2
東京女子大学・東京大学	横山、片岡	1989	10
ソビエト保健省	Kabanov	1989	16
チバガイギー社	Petrak	1992	25

成するブロックコポリマーは、生体膜の薬物透過性を亢進させる作用がある^[18]。よって、彼らが得たものは薬物のターゲティングではなく、ブロックコポリマーが標的近くでの薬物の生体膜輸送（血液から脳組織へ）を増加させたものと考えられる。彼らは、このブロックコポリマーが薬物の生体膜輸送を増加させる性質を、抗がん剤の多剤耐性克服研究に発展させた。現在、アメリカで臨床第II段階が行われているこのシステムは、がんへのターゲティングではないが、DDSであり、かつ現在のがん化学療法で大きな問題である多剤耐性へ挑んでいることから注目に対する研究・開発であるといえよう。

これと同時に発表されたのが、筆者を含む日本の研究であった^[19]。抗がん剤アドリアマイシンをがんターゲットにするもので、明快にターゲティングを目的とし、*in vivo*でターゲティングを実証した初めての例である。明確なミセル形成の証拠^[10]と白血病モデルでの抗がん活性を示した^[10]のに続き、固形がんへのターゲティングの前提条件となる（なぜ前提条件となるかは次項を参照）安定な血液循環^[20]と、固形がんに対する高い*in vivo*抗がん活性^[20, 21]を示した。また、疎水性内核内に薬物を保持することによって薬物の不活性化がかなり抑制できること^[10]も示した。当初は、高分子鎖に化学的に結合したアドリアマイシンが放出することによって抗がん作用を示すと考えられていたが、後に物理的に封入された薬物分子が放出されて薬理作用が発揮されることが判明し^[8, 9, 22]、臨床開発へと進行した。

1980年代には、上述した3つのグループのみが高分子ミセルの研究結果を発表していたが、その状態は1990年代前半まではほとんど変化がなかった。例外は、1992年にPetraらによって発表された論文^[23]が唯一あるのみである。ただし、この論文は薬物を封入していない高分子ミセルの報告であった。上述のグループ以外から高分子ミセル薬物キャリアーの研究が発表されるのは、1990年代後半になってからである。現在では、DDSの専門誌である*J. Controlled Release*に2006年のみで16報の論文が掲載されるまでに研究例が多くなっている。

4 抗がん剤ターゲティングへの応用

4-1 薬物ターゲティングとは

ここでまず、ターゲティングについて短く解説したい。高分子ミセルを用いた

固形がんへのターゲティングを理解するのに、必須な事柄であるからである。薬物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とパッシブターゲティングの2つの方法論に分類される。

第一の方法論の、アクティブターゲティング (active targeting) 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。具体的には抗体や磁性微粒子などをキャリアーとして、生物学的に特異な相互作用や磁気を利用して選択的な薬物の体内分布を達成する方法である。第二の方法論はパッシブターゲティング (passive targeting) で、これは物理的、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、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場合、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、化学的要素によって、このキャリアーシステムの体内動態・分布を制御するのである。

高分子ミセルをキャリアーに用いる場合には、パッシブターゲティングが基本になる。その際に重要となる事項は、先の図2-2-3に示した機能分離である。そこで示すように、体内分布・動態をミセルの粒径と外殻を形成する高分子鎖の物理化学的性質によって、薬理作用の発揮を内核構成高分子鎖によって設計する。薬物を封入する内核とは異なった高分子鎖を外殻に用いることができるために、パッシブな面での分布・動態制御のための分子設計が容易である点が、キャリアーとしての特長である。

アクティブターゲティングを行う場合には、抗体などのリガンドを外殻形成高分子鎖に結合させる。このアクティブターゲティングの場合でも、パッシブな側面が重要である。すなわち、非標的部位での相互作用を減らす（多くの場合は肝臓や脾臓での取り込みを抑制する）というパッシブな側面をキャリアーが備えていることが、効率的なアクティブターゲティング達成には重要なのである。

これまでに、高分子ミセルによる固形がんターゲティングが達成されたのは、パッシブターゲティングによってである。さて、高分子ミセルが表面にがん特異抗体などを持たなくとも、どのようにしてがんターゲティングが可能になるのだろうか？ それは固形がん局所の組織学的、生理学的特性を巧みに利用することによる。

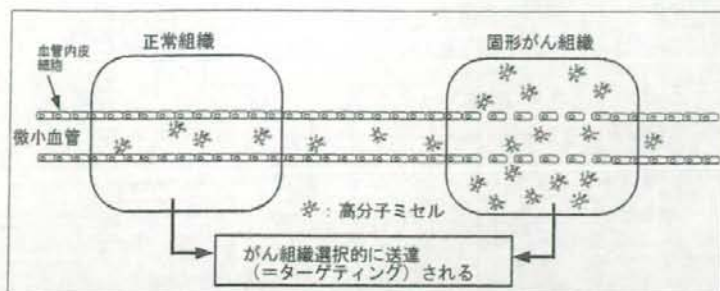


図2-2-4 EPR効果による高分子ミセルの固形がん組織へのターゲティング

がん組織では、血管内皮の透過性は異常に亢進していると同時に、リンパ系による排出が抑制されているために、ナノサイズのキャリアーは本質的に固形がん部位に選択的に蓄積しやすい性質がある。この性質はEPR効果 (Enhanced Permeability and Retention effect) と呼ばれ、1986年に前田、松村によって提唱された^[33, 34]。EPR効果は、高分子ミセルに限らずに、リボソームや合成高分子の固形がんへのターゲティングにも適用される。

これらのキャリアーの中で高分子ミセルは、このEPR効果を利用した疎水性の強い抗がん剤ターゲティングキャリアーとして大変優れていると考えられる。なぜなら、EPR効果を示すためにはその大きさが5~200nmであることが求められるとともに、その表面は親水的で、荷電においては中性か弱く負に帯電していることが必要である^[25]。図2-2-4にEPR効果によるがんターゲティングの簡略化されたイラストを示した (EPR効果はリンパ系による組織からの排出効果等も含まれているのであるが、この図からは省略してある)。高分子ミセルに大きさはまさしくEPR効果に適した範囲内であり、疎水性や正荷電の薬物を多量に封入しても疎水性内核を親水性の外殻がとり囲んでいるので、表面物性は親水的であり、EPR効果発現のための条件を満たしているからである。

4-2 抗がん剤ターゲティングの例

高分子ミセルをキャリアーとして抗がん剤をターゲティングする研究の最初の例は、アドリアマイシン (別名ドキソルビシン) を封入薬物として用いた例である。研究の初期は、ミセルを形成する高分子鎖に化学的に結合した薬物と、疎水

性ミセル内核に物理的に吸着した薬物が区別されていなかった [19, 20] が、後の研究によって物理的に吸着した薬物が抗がん活性を示すことが判明した。さらにこの物理吸着によって封入する過程でアドリアマイシンの二量体が生成して、アドリアマイシんとともにミセルに封入されていることも判明した [8, 9]。高分子ミセル抗がん剤の初め

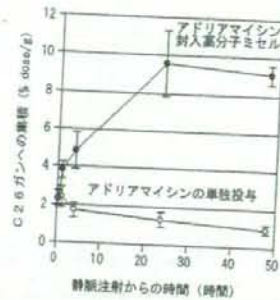


図2-2-5 マウスがんでの高分子ミセルターゲティング

での臨床製剤はこのアドリアマイシンを用いたものであるが、この臨床製剤は二量体の生成を抑制して、アドリアマイシンのみを封入したミセルである [26, 27]。

アドリアマイシンを封入した高分子ミセルのがん組織への高い集積性を図2-2-5に示す [22]。これは、抗がん剤アドリアマイシンをポリエチレングリコール-ポリアスパラギン酸ブロックコポリマーのアスパラギン酸部分に化学的に結合させて、ポリエチレングリコール鎖を外殻とする高分子ミセルを形成させ、さらにその内核にアドリアマイシンを物理的に吸着させたものである。

これは研究用製剤であり、先述したアドリアマイシン二量体が含まれていない臨床製剤とは異なる。高分子ミセルに封入することで、薬物単独に比べ約9倍もの量がマウスのC26固形がんを集積していた。この集積の挙動は、上述したEPR効果が典型的に発揮されたものである。ただし、がんターゲティングと同時に重要なことは、抗がん活性が大幅に上がっていることである。この事実は、キャリアーによって抗がん剤が運ばれるだけでなく、キャリアーから放出されることで殺細胞効果を発揮していることを意味する。別の言い方をすると、薬物ターゲティングは単に選択的薬物デリバリーを達成したのみでは不十分で、キャリアーからの適切な薬物放出速度によって薬効を発揮することが重要である。

このアドリアマイシンを用いた最初の例を含み、2007年9月現在では表2-2-4に示す4つの高分子ミセル製剤の臨床試験が進行中である [12, 14, 28, 29]。シスプラチンとSN-38のシステムは2006年に第I相を開始した。これらのうち、バクリタキセルを封入したシステムは臨床第I相試験を無事終了し、臨床第II相試験に進む予定であるとともに、4つの製剤の中では臨床試験を最も重点を置いて展開してゆくも

表2-2-4 臨床試験中の高分子ミセル抗がん剤

封入抗がん剤	臨床試験段階	実施場所
アドリアマイシン	第II相	日本（国立がんセンター）
パクリタキセル	第I相終了	日本（国立がんセンター）
シスプラチン	第I相	イギリス
SN-38（カンプトテン誘導体）	第I相	日本（国立がんセンター）

のと位置づけられている。

5 MRI造影剤への応用

抗がん剤がターゲティングできるならば、造影剤をターゲティングすることによってがん診断を進歩させることも可能と考えられる。この観点から筆者らは近年、高分子ミセル型MRI造影剤の研究に取り組んでいる。天然や合成高分子をMRI造影剤であるガドリニウム（Gd）イオンのがん特異的キャリアーとして用いる研究は1980年代から行われてきたが、臨床試験に到ったものはない現状である^[30]（ dendrimerなどに結合することで、血管をより長時間安定に造影するものはあるが、がん特異性を掲げているものはない）。

高分子ミセルを用いれば、MRI造影能を有するGdイオンをがん組織にターゲティングすることはできるが、それだけでは充分でない。抗がん剤のデリバリーの場合と違って、造影剤の場合は血中濃度が高い状態であることが好ましくないのである。上述した、EPR効果を利用したがん組織ターゲティングには、高い血中濃度を長時間保つことが必要条件となる。がん組織での高分子物質の血管透過は、低分子薬物の透過に比べると圧倒的に遅い現象なので、EPR効果によって有効な量の高分子化抗がん剤の集積を得るためには、高い血中濃度が長く保たれる必要があるからである。しかし、造影剤の場合には血液中には造影剤は不要なバックグラウンドとしてがん選択的画像の障害となり得る。血管はがん組織のみではなく正常組織も通っているからである。がんターゲティングに必要とされる高い血中濃度が、MRI造影剤の場合には好ましくない画像バックグラウンドとなり得るのである。

この問題の解決のために、高分子ミセルの形成と解離現象を利用するのが、抗がん剤ターゲティングの場合にはなかった仕掛けである。高分子ミセルはプロッ

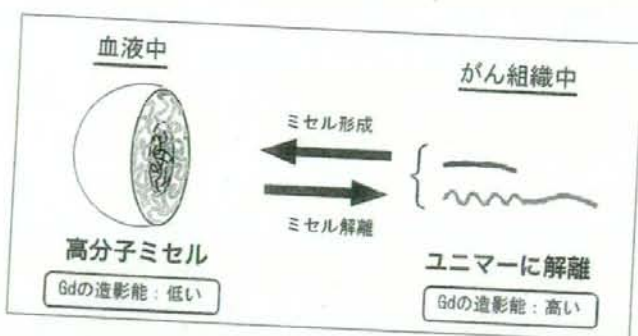


図2-2-6 ミセル構造形成・解離によるMRI造影能の制御

クコポリマー分子が多数会合してできる構造で、抗がん剤の場合はミセルの疎水性内核に抗がん剤を内封してターゲティングするとともに、疎水性場に薬物を保持することで薬物分子の体内での不活性化を抑制する効果もあった^[31]。MRI造影剤においては、図2-2-6に示すようにミセル構造形成によってミセル内に位置するGdキレートが周囲の水分子から隔離されることで、T1緩和時間短縮能（緩和能）を抑制することが可能である。すなわち、ミセル形態で血液を循環している間は、血液の画像コントラストは抑制される一方、がん組織内でミセル構造からブロックコポリマーに解離すると、Gdキレートは周囲の水に自由に接触することができ、T1緩和能を発揮してがん組織をコントラスト高く映し出す。がん組織内では、分子量1万程度のブロックコポリマーでもEPR効果によって長時間組織内にとどまるのであるが、血液内でミセル構造が解離して生じたブロックコポリマーは、その分子量が腎臓の分画分子量より小さいので、速やかに排出されて血液の画像バックグラウンドは低く保たれる。この高分子ミセルシステムは、*in vitro*でミセル構造の形成・解離によって約4倍のT1緩和能の変化を得ることに成功した^[32]。今後は、*in vivo*でのターゲティングとがん選択画像取得に進んでいくこととなる。

6 今後の課題

最後に、抗がん剤の固形がんへのターゲティングで、ナノサイズに関係した課題を述べてみたい。筆者が考える課題は3つあり、これらは高分子ミセルに限らない性質のものである。

その第一は、がん組織へのターゲティングに最適なサイズである。4では、固形がん組織にターゲティングするためには5~200nmの直径であることが必要であると述べたが、この範囲のうちどの直径が最適なのであるかは現在不明である。がん組織への到達量は粒径が小さい方が大きくなるが、同時に骨髄など比較的血管に大きな透過経路が存在する正常組織にも入りやすくなる。どの粒径ががん/正常組織という選択性が最大になるかという基本的な研究がなされることが求められる。これはナノテクノロジーというより、基礎的なナノサイエンスである。高分子ミセルでは数十nmの直径の粒子が容易に得られる点は、ほかのキャリアシステムにない特長である。この特長を利用して、応用のみならず、この課題のような基礎的なナノサイエンスへの寄与も可能であると考えられる。

課題の第二点は、がん組織中でキャリアシステムが、いかにがん細胞に近づくかである。がん組織中では拡散現象が、キャリアシステムの移動の主たる機構と考えられる。がん組織内で血管から最も遠い位置に存在するがん細胞は数十 μm 程度であるが、数十nmの粒子にとってこの距離を拡散することは困難である。現状の高分子ミセル抗がん剤では、がん組織内で低分子の抗がん剤を放出することによって、この課題を解決している。低分子ならば拡散は飛躍的に速くなる。血液を通してがん組織に集まるまでは、ナノサイズのキャリアは「充分に小さいから肝臓などにトラップされないで効率よくデリバリーされた」が、がん組織内では逆に「大きくてなかなか標的であるがん細胞まで拡散してゆかない」という二面性を有する。こんな点も、ナノサイズに特有の課題である。

第三の課題は、薬物の封入と放出の制御である。薬物をキャリアーに封入あるいは結合するという事は、標的に到達するまでに薬効を示さない状態に保持することであり、標的での薬効発揮のための薬物放出とは反対の現象である。よって、薬物の保持と放出という相反する現象を1つのキャリアーシステムの中で最適化することは、高分子ミセルに限らずにどの形態のキャリアーシステムにおいても大きな技術的問題である。加えて高分子ミセルに特有の課題が、薬物保持のミセル内核の小ささである。ミセル全体の直径は例えば100nm位であっても、内核の直径は5nm程度と極めて小さいのが一般的である。このような小さな領域から薬物を徐放させることは、DDSの歴史の中でも出会うことがなかった新たな技術的課題である(DDSではミクロンサイズのデバイスから徐放するシステムの技術

的蓄積は多くある)。これもナノサイズに踏み込んできた結果の新たに生じた課題であり、これから5年程度で全面的な解決に向けて挑戦する価値のあるものであると筆者は考えている。

(著者プロフィールについてはP.101を参照)

[参考文献]

- 1 Kataoka K., Togawa H., Harada A., Yasugi K., Matsumoto T., and Katayose S. Spontaneous formation of polyion complex micelles with narrow distribution from antisense oligonucleotide and cationic block copolymer in physiological saline. *Macromolecules* 1996; 29: 8556-8557
- 2 Harada A. and 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: 288-294
- 3 H. Bader, H. Ringsdorf, and B. Schmidt, *Watersoluble polymers in medicine*, *Angew. Chem.*, 123/124 (1984) 457-485
- 4 M.K. Pratten, J.B. Lloyd, G. Horpel, and H. Ringsdorf, *Micelle-forming block copolymers: Pinocytosis by macrophages and interaction with model membranes*, *Makromol. Chem.*, 186 (1985) 725-733
- 5 G. S. Kwon, M. Naito, K. Kataoka, M. Yokoyama, Y. Sakurai, and T. Okano, *Block copolymer micelles as vehicles for hydrophobic drugs*, *Colloids and Surfaces, B: Biointerfaces*, 2 (1994) 429-434
- 6 G. S. Kwon, M. Naito, M. Yokoyama, T. Okano, Y. Sakurai, and K. Kataoka, *Physical entrapment of adriamycin in AB block copolymer micelles*, *Pharmaceutical Research*, 12 (1995) 192-195
- 7 M. L. Forrest, C.-Y. Won, A. W. Mallick and G. S. Kwon, *In vitro release of the mTOR inhibitor rapamycin from poly (ethylene glycol) -b-poly (ϵ -caprolactone) micelles*, *J. Controlled Release*, 110 (2006) 370-377
- 8 M. Yokoyama, T. Okano, Y. Sakurai, and K. Kataoka, *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. Controlled Release*, 32 (1994) 269-277
- 9 M. Yokoyama, S. Fukushima, R. Uehara, K. Okamoto, K. Kataoka, Y. Sakurai, and T. Okano, *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*, 50 (1998) 79-92

- 10 M. Yokoyama, G. S. Kwon, T. Okano, Y. Sakurai, T. Seto, K. Kataoka, Preparation of micelle-forming polymer-drug conjugates, *Bioconjugate Chem.*, 3 (1992) 295-301
- 11 Y. Li and G.S. Kwon, Methotrexate ester 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.*, 157 (2000) 607-611
- 12 F. Koizumi, M. Kitagawa, T. Negishi, T. Onda, S. Matsumoto, T. Hamaguchi, and Y. Matsumura, Novel SN-38-incorporating polymeric micelles, NK012, eradicate vascular endothelial growth factor-secreting bulky tumors, *Cancer Res.*, 66 (2006) 10048-10056
- 13 M. Yokoyama, T. Okano, Y. Sakurai, S. Suwa, and K. Kataoka, Introduction of cisplatin into polymeric micelle, *J. Controlled Release*, 39 (1996) 351-356
- 14 H. Uchino, Y. Mastsumura, T. Negishi, F. Koizumi, T. Hayashi, T. Honda, N. Nishiyama, K. Kataoka, S. Naito, and T. Kakizoe, Cisplatin-incorporating polymeric micelles (NC-6004) can reduce nephrotoxicity and neurotoxicity of cisplatin in rats, *British J. Cancer*, 93 (2005) 678-687
- 15 Masayuki Yokoyama, "Polymeric Micelles for the Targeting of Hydrophobic Drugs", Kwon, G.S., (Ed.), *Drug and Pharmaceutical Sciences vol.148, Polymeric Drug Delivery Systems*, Taylor & Francis, pp. 533-575 (2005)
- 16 T. Yamamoto, M. Yokoyama, P. Opanasopit, A. Hayama, K. Kawano, Y. Maitani, What are determining factors for stable drug incorporation into polymeric micelle carriers? Consideration on physical and chemical characters of the micelle inner core, *J. Controlled Release*, 123 (2007) 11-18
- 17 A.V. Kabanov et al., The neuroleptic activity of haloperidol increases after its solubilization in surfactant micelles: Micelles as microcontainers for drug targeting., *FEBS Lett.*, 258 (1989) 343-345
- 18 A.V. Kabanov and V.Y. Alakhov, Micelles of amphiphilic block copolymers as vehicles for drug delivery, in *Amphiphilic Block Copolymers: Self Assembly and Applications*, Alexandridis P. and Lindman B. Eds., Elsevier, Netherlands (1997) 1-31
- 19 M. Yokoyama, S. Inoue, K. Kataoka, N. Yui, T. Okano, Y. Sakurai, 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.*, 190 (1989) 2041-2054
- 20 M. Yokoyama, T. Okano, Y. Sakurai, H. Ekimoto, C. Shibasaki, K. Kataoka, Toxicity and antitumor activity against solid tumors of micelle-forming polymeric anticancer drug and its extremely long circulation in blood, *Cancer Res.*, 51 (1991) 3229-3236
- 21 M. Yokoyama, G. S. Kwon, T. Okano, Y. Sakurai, H. Ekimoto, K. Okamoto, H. Mashiba, T. Seto, and K. Kataoka, Composition-dependent in vivo antitumor activity of adriamycin-conjugated polymeric micelle against murine colon adenocarcinoma 26, *Drug Delivery*, 1 (1993) 11-19
- 22 M. Yokoyama, T. Okano, Y. Sakurai, S. Fukushima, K. Okamoto, and K. Kataoka, Selective delivery of adriamycin to a solid tumor using a polymeric micelle carrier system, *J. Drug Targeting*, 7 (1999) 171-186
- 23 A. Rolland, J. O' Mullane, L. Goddard, L. Brookman, and K. Petrak, New macromolecular carriers for drugs. 1. Preparation and characterization of poly (oxyethylene-b-isoprene-b-oxyethylene) block copolymer aggregates, *J. Appl. Polym. Sci.*, 44 (1992) 1195-1203
- 24 Y. Matsumura and H. Maeda, A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: Mechanism of tumorotropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs, *Cancer Res.*, 46 (1986), 6387-6392
- 25 横山昌幸, ナノ粒子とドラッグターゲティング, *機能材料*, 22 (2002) 22-27
- 26 S. Fukushima, M. Machida, T. Akutsu, K. Shimizu, S. Tanaka, K. Okamoto, H. Mashiba, M. Yokoyama, T. Okano, Y. Sakurai, and K. Kataoka, Role of adriamycin and adriamycin dimer in antitumor activity of the polymeric micelle carrier system, *Colloids and Surfaces, B: Biointerfaces*, 16 (1999) 227-236
- 27 T. Nakanishi, S. Fukushima, K. Okamoto, M. Suzuki, Y. Matsumura, M. Yokoyama, T. Okano, Y. Sakurai, and K. Kataoka, Development of the polymer micelle carrier system for doxorubicin, *J. Controlled Release*, 74 (2001) 295-302
- 28 Y. Matsumura, T. Hamaguchi, T. Ura, K. Muro, Y. Shimada, K. Shirao, T. Okusaka, H. Ueno, M. Ikeda, and N. Watanabe, Phase I clinical trial and pharmacokinetic evaluation of NK911, a micelle-encapsulated doxorubicin, *Br. J. Cancer*, 91 (2004) 1775-1781
- 29 T. Hamaguchi, Y. Matsumura, M. Suzuki, K. Shimizu, R. Goda, I. Nakamura, I. Nakatomi, M. Yokoyama, K. Kataoka and T. Kakizoe, NK105, a Paclitaxel-incorporating Micellar Nanoparticle Formulation, can Extend the Therapeutic Window of the Drug, *British J. Cancer*, 92 (2005) 1240-1246
- 30 R. Rabizak et al., Polymeric conjugates of Gd³⁺-diethylenetriaminopentaacetic acid and dextran 1. Synthesis, characterization, and paramagnetic properties, *Bioconju. Chem.*, 8 (1997) 605-610
- 31 M. Yokoyama, M. Miyauchi, N. Yamada, T. Okano, Y. Sakurai, K. Kataoka, S. Inoue, Characterization and anti-cancer activity of micelle-forming polymeric anti-cancer drug, adriamycin-conjugated poly (ethylene glycol) -poly (aspartic acid) block copolymer, *Cancer Res.*, 50 (1990) 1693-1700
- 32 E. Nakamura, K. Makino, T. Okano, T. Yamamoto, and M. Yokoyama A polymeric micelle MRI contrast agent with changeable relaxivity, *J. Controlled Release*, 114 (2006) 325-333