

リポソームへの doxorubicin 封入率に PEG 修飾が及ぼす影響の評価

藤本 泰輝、植田 圭祐、東 颯二郎、森部 久仁一
千葉大院薬

【目的】リポソーム製剤は、腫瘍集積性の向上及び副作用の低減などを目的に活用されており、抗悪性腫瘍薬 doxorubicin(DOX)を封入した DOX 封入リポソーム等が既に上市されている。また、血中滞留性の改善を目的として PEG 脂質が脂質二重膜に修飾されている。本研究では PEG 修飾率を変化させた DOX 封入リポソームを調製し、PEG 修飾がリポソームの DOX 封入率(EE)に及ぼす影響を評価した。

【方法】HSPC/コレステロール/DSPE-PEG 2000 = 60 : 40 : 1 or 5 mol%からなるリポソームに、25°C にて仕込み量 50 mol%の DOX を混合した。その後、35°C、45°C、55°C、65°C で 30 分間加温し、4°C まで冷却することで DOX 封入リポソームを調製した(Fig. 1)。

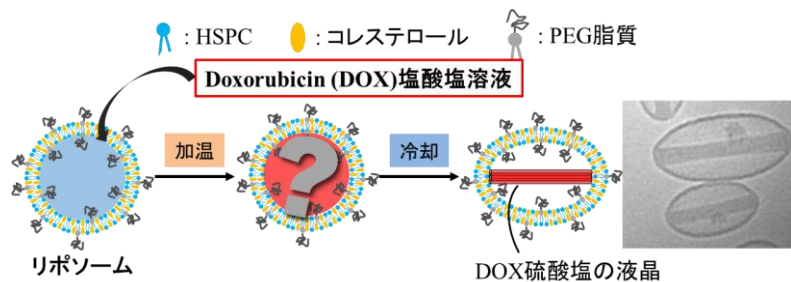


Fig. 1. Doxorubicin(DOX)封入リポソームの調製方法(Active loading)

【結果】PEG 脂質量 1 mol%のリポソームでは、封入温度の上昇に伴い EE が上昇し、55°C 及び 65°C では 98%と高い EE を示した。Cryo-TEM 測定の結果、全ての封入温度において DOX 構造体がりポソーム内水相中に認められた。また封入温度の上昇に伴い、DOX 構造体が伸長し、高温ではリポソームの形態はより引き延ばされた長球状となった。PEG 脂質量 5 mol%のリポソームにおいて、EE が 55°C では 82%、65°C では 88%となった。Cryo-TEM 画像では、各封入温度での PEG 脂質量 1 mol%の試料と同様のリポソームが認められた。さらに、それらに加えて 55°C ではバイセル、65°C では空のリポソームが多く認められた。

各封入温度におけるリポソーム内水相中の DOX の状態を *in situ* WAXS 測定(BL-6A@PF)により評価した(Fig. 2)。35°C では、DOX が封入されていない 25°C と同様の散乱プロファイルが得られ、これは EE が低いためと考察した。45°C 及び 55°C では、DOX 硫酸塩の液晶に由来する回折ピークが認められ、DOX 構造体の形成が示された。65°C では、リポソームに由来する散乱プロファイルのみが得られ、これは DOX が融解したためと考えられた。

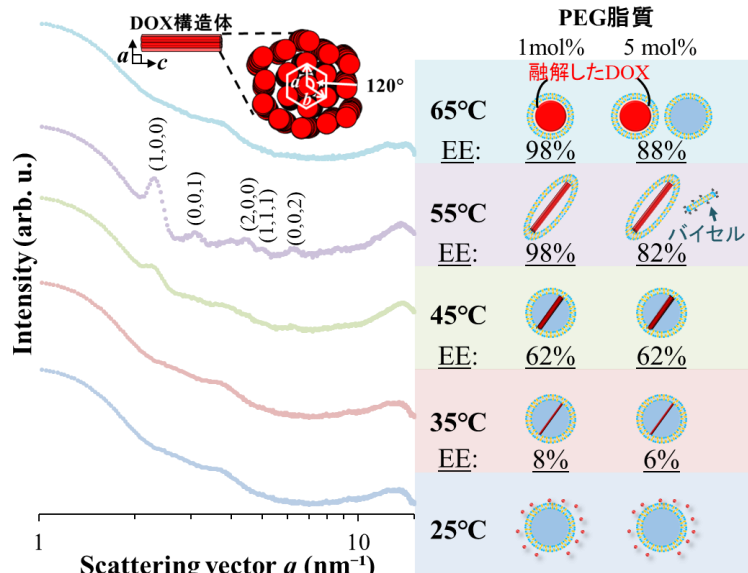


Fig. 2. 各封入温度におけるWAXSプロファイル(左)及びDOX封入リポソームの模式図(右)

【考察】PEG 脂質量 5 mol%のリポソームにおいて、55°C 及び 65°Cでの EEの低下について考察した(Fig. 2)。PEG 脂質量 1 mol%の試料では、封入温度の上昇に伴う DOX 構造体の伸長により、脂質二重膜が引き延ばされるが、形態及び EE は維持される。一方、PEG 脂質量 5 mol%では、DOX 構造体の伸長により脂質二重膜が引き延ばされ、その一部が崩壊する。それに伴い、DOX が漏出し EE が低下したと考えられた。

【結論】*In situ* WAXS 測定により、各封入温度におけるリポソーム内水相中の DOX 状態を評価することで、リポソームへの DOX 封入率に PEG 修飾が及ぼす影響を明らかとした。