

リポソームの特性と応用例

Review of Characteristic and Application of Liposome

鈴木 尚子

大瀧 雅寛

Hisako Suzuki

Masahiro Otaki

(お茶の水女子大学大学院 ライフサイエンス専攻)

1. 序論

近年、リポソームは、薬の担体(キャリアー)として研究開発が活発に行われている。これは、薬物を体内の必要部分にピンポイントで輸送したり、薬の持続性を制御することができ、かつ、人体に無害な物質であるという特性を持つからである。担体の素材としては、他にも幾つか知られているが、シクロデキストリンやリポソームが最も重要で実用化されつつある。また、リポソームは、生体膜モデルや界面活性剤、サポニンなどの作用機構の解明など多数の応用実例と研究に用いられている。リポソームを用いて現在紫外線に反応する粒子を調製し、いわば擬似微生物として紫外線による水消毒法への応用を考えている。ここでは、その研究の一環としてリポソームの特性と応用法について紹介する。

2. リポソーム構成物質と調製法^{1) 2) 3)}

2. 1. リポソーム構成物質

リポソームは、リン脂質が球状に並んだ物質で、同一分子内に親水基と疎水基を持つ両親媒性脂質分子である。脂質分子の親水基は水溶液側に向き、疎水基は疎水性相互作用により集まる傾向がある。そのため、脂質分子は水溶液中では熱力学的に安全なラメル構造(二重層構造)となっている。二重構造が一枚の平面構造をとると、端の部分は熱力学に不安定になるため、二重層膜は閉鎖小胞を形成して安定となる。このリン脂質の代表的なものに、ホスファチジルコリンやレシチンなどがある。

このリポソームは、脂質に水溶液を投入し攪拌することで調製できる。しかし、水分子がうまく親水基に作用し、疎水基を集合させ脂質二重膜を形成させるためには最初に脂質を薄い膜

フィルム状にしておいた方が効率がよい。

2. 2. 主なリポソーム調製法

リポソームの調製方法には多数の調製方法が研究されている。その中でも最もベーシックなものが以下の調製方法である。

まず、有機溶媒(エタノールやアセトン)に脂質を溶解し、エバポレーターにより完全に有機溶媒を除去して、脂質の薄膜フィルム(lipid film)を作成する。均一に広がった脂質薄膜フィルムを作成するためにはナス型フラスコの使用が最もよく、脂質フィルムから完全に溶媒を除去するためにはナスフラスコごとデシケーターに移して真空ポンプでさらに約30分間減圧する方がよい。特に、長時間の保管や不飽和脂質フィルムでは過酸化作用を受けやすいので、窒素置換を行う。脂質フィルムに水溶液を加えると、脂質は水和したりリポソームとなる。通常は、試験管ミキサーなどの装置を用いて機械的にフィルムを水和して壁面からはがれるのを促進する。リポソームの膜内に物質や溶液を保持させたい場合は、この段階で投入する。

また、高濃度脂質を用いると保持能力が向上するが、水和しにくいという欠点もある。そのため、水溶液を加えた濃度が、10-20mMとなる様にするのが良いと考えられている。

3. リポソームの特性^{4) 5) 6) 7)}

3. 1. 保持される物質と透過性

リポソームでは、脂溶性物質は脂質二重層に水溶性物質は内水相に保持される。保持物質としては、電解質の方が非電解質より保持しやすい、また多価イオンは一価イオンより保持しやすく、高分子は低分子より保持し易いなどの特性がある。また、脂質組成により物質保持能力

も異なる。飽和脂質のゲル層においては保持物質の透過性が高いが、液晶層では低い。

3. 2. リポソーム粒子の大きさ

リポソームの均一性はしばしば重要な問題として扱われる。薬のキャリアーとして使われた場合、リポソームの大きさにより体内分布が変化することが判明している。リポソームの大きさが分かれば、そのリポソームを形成している脂質分子数を計算することも可能となる。リポソームは光学顕微鏡、また、ある程度小さなリポソーム粒子は電子顕微鏡でサイズを観察、測定することができる。最近では、均一リポソームを調製するリポプレップという装置も開発されている。

3. 3. 保持容積と保持効率

リポソームの調製法において同じ物質を保持させたとしてその保持量は異なる。保持容積はリポソームの大きさによって異なり、また、同じ大きさのリポソームでも多重膜より一枚膜の方が大きい。調製時での脂質濃度や調製法が異なっても、同じ脂質組成で半径が同じリポソーム粒子であれば保持容積は等しくなる。

保持効力はリポソームの種類と調製法、そして、特に調製時の脂質濃度により決まる。脂質性物質の場合では、脂質二重層内に保持され、ほぼ 100%の保持効率を示す。脂質濃度により保持効率が異なり、一般的には、濃度が高いと効率が高くなる。

4. リポソーム分析法^{2) 3) 4) 5) 7)}

リポソームの脂質の種類、脂肪酸鎖の種類、温度や pH、調製法により脂質二重層の物性は大きく異なる。これらを分析するため様々な機器分析ほうが用いられる。

4. 1 X 線回析

X 線回析では、二重層の厚さと脂肪酸鎖間の距離を測定することができる。二重層の厚さは約 5 nm 程度であり、脂肪酸鎖の距離は 0.46 nm ぐらいである。

4. 2 分光分析

赤外吸収により、脂質の構造を知ることが出

来る。例えば、ホスファチジルコリンのリン酸エステルは $1254-1260\text{ cm}^{-1}$ の吸収を示し、ホスファチジルタノールアミンではアミノ基と水素結合のため吸収が変化する。

4. 3. 蛍光分析

蛍光分析では対応した蛍光色素を用いることで、二重層の流動性、水溶性マーカーを用いると透過性、保持効率、保持容積を測定できる。

5. リポソームの応用例^{2) 3) 4) 5)}

従来より、リポソームは生体膜の構造及びその機能を研究する目的で使用されてきた。近年は、それに留まらず、薬のキャリアーとしての使用、その一環である癌治療への応用として、化学治療剤をリポソームに投入する試みが行われている。また、リポソームを使用した人口涙や化粧品への応用もなされている。

6. まとめ

このようにリポソームには多くの調製法や分析法が研究開発されてきた。その結果、均一化したリポソーム粒子やナノサイズの粒子の調製が可能となっている。また、脂質膜二重構造を形成するため生体関係での研究応用が活発に行われている。

(参考文献)

- 1) 「リポソーム」野島庄七, 砂本順三, 井上圭三 編集, 南江堂 (1988)
- 2) 「リポソームの作成と実験方法」奥 直人, 廣川書店
- 3) 「ライフサイエンスにおけるリポソーム実験マニュアル」寺田弘, 吉村哲郎, シュプリンガー・フェアラーク東京, (1992.)
- 4) "Liposome in biological systems" G. Gregoriadis P. A. C. Allison, eds, John Wiley & Sons. New York (1980)
- 5) "Liposome technology" Defrise Quertain F, Chatelain P, Delmelle M, Ruyschaert J-M, Vol. 1, chap. 1 CRC press (1984)
- 6) Arulsudar N, Subramanian N, Mishra P, Chuttani K, Sharma RK, Murthy R (2004) "Preparation, Characterization, and Biodistribution Study of Technetium-99m-Labeled Leuprolide Acetate-Loaded Liposomes in Ehrlich Ascites Tumor-Bearing Mice." AAPS PharmSci. 2004 Feb 6;6(1):E5.
- 7) Szoka FC, Papahadjopoulos D (1980) Comparative properties and methods of preparation of lipid vesicles (liposome). Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 9:467-508