

## ■キーワード

イオン性薬物 リン脂質小胞 濃縮 電気的中性 膜透過

## ■研究の概要

ドラッグデリバリーのキャリア開発で重要となるのは、1.目的の薬剤を封入し、2.目的の場所に届け、3.目的のタイミングで薬剤を放出するという点になります。本技術は、キャリアであるリン脂質小胞に対して、簡単・簡便な方法でイオン性薬剤を封入します(図1)。リン脂質小胞としては、nmサイズのリポソームや $\mu\text{m}$ サイズのジャイアントベシクルのような人工リン脂質小胞だけでなく、細胞由来のエクソソームやリソソームにも応用できると考えられます。

ターゲットとなるカチオン性薬剤に対して、過剰の疎水性アニオンをリン脂質小胞の外部水相に添加すると、カチオン性薬剤がリン脂質小胞の内部水相に取り込まれ、外部水相よりも高い濃度で濃縮されます。カチオン性薬物と疎水性アニオンが、一旦脂質膜の疎水部に取り込まれたのち、小胞の内部水相に移動しますが、小胞内部の電気的中性を保つとするために、カチオン性薬物が疎水性アニオンに引きずられる形で取り込まれるからです。外部水相の疎水性アニオンを除去すれば、内部水相からカチオン性薬剤が放出されます。

## ■研究・技術のプロセス/研究事例

カチオン性イオンとして、広いpHでカチオンとして存在する蛍光分子 rhodamine 6G (R6G<sup>+</sup>) をターゲットイオンとして選び、ジャイアントベシクルへの濃縮を検証しました。図2は、R6G<sup>+</sup>のジャイアントベシクルへの濃縮の様子を示しています。ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>をベシクルの外部水相に添加すると、R6G<sup>+</sup>が内部水相に濃縮されています。図3にはジャイアントベシクルの内部水相の蛍光強度の変化を示しています。ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>添加する前は、外部水相と同じ蛍光強度しか示しませんが、外部水相にClO<sub>4</sub><sup>-</sup>を添加すると、内部水相の蛍光強度が増加しました。また、蛍光強度の増加率は、添加したClO<sub>4</sub><sup>-</sup>濃度が高いほど、大きくなるのが分かります。つまり、ベシクル内部水相と外部水相のClO<sub>4</sub><sup>-</sup>の濃度勾配が、R6G<sup>+</sup>の濃縮に関与しているといえます。

今回提案した方法では、リン脂質小胞の外部水相に、ターゲットとなるカチオン性薬物とそれよりも過剰の疎水性アニオンを添加するだけで、カチオン性薬物をリン脂質小胞内に濃縮することができます。従来の方法のように、酸解離平衡をともなう分子だけでなくイオン性分子全般に適用することができます。また、リン脂質小胞の内部水相の組成を調整する必要がないため、リン脂質小胞の精製も不要です。

	イオン交換法	pH 勾配法	本技術
リポソームの調整	要精製	精製不要	精製不要
イオノフォア添加	あり	なし	なし
濃縮対象	イオン全般	弱酸または弱塩基性	イオン全般
小胞からの放出	Na <sup>+</sup> の添加	酸性条件	X <sup>-</sup> の除去

表1. イオン性分子のリン脂質小胞への封入法—従来の方法と本研究との比較。本技術は、① 酸解離平衡を利用せずイオン性分子全般を対象とできる、② 小胞内部水相の組成を調整しないことから封入前に小胞を精製する必要がない、③ 有毒なイオノフォアを添加する必要がない、といった利点を有する。

## ■セールスポイント

リン脂質小胞の水溶液にイオン性薬物と疎水性対イオンを添加するだけで小胞内に濃縮するので、リン脂質小胞の精製が不要です。濃縮対象はイオン性薬物全般と幅広く、ドラッグデリバリーの可能性を広げます。

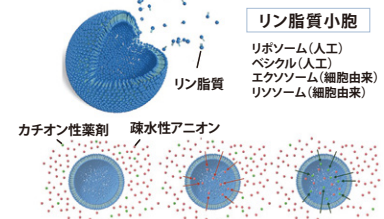


図1. 対象となるリン脂質小胞と、濃縮機構の模式図。カチオン性薬剤に対して疎水性アニオンを過剰にリン脂質小胞の外部水相に添加すると、疎水性アニオンは濃度勾配にしたがって内部水相に膜透過しようとするが、電気的中性を保つためカチオン性薬剤も同時に膜透過する。結果的に、カチオン性薬剤がリン脂質小胞内部水相に濃縮される。

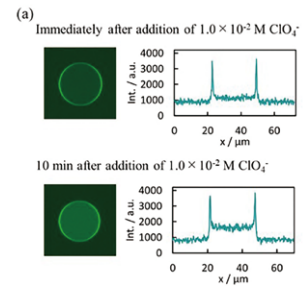


図2. ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>添加による rhodamine (R6G<sup>+</sup>) のジャイアントベシクルへの濃縮。ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>をベシクルの外部水相に添加すると、R6G<sup>+</sup>が内部水相に濃縮される。1.0 × 10<sup>-2</sup> M NaClO<sub>4</sub>, 1.0 × 10<sup>-1</sup> M phosphate buffer

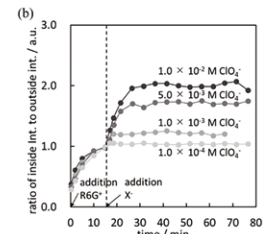


図3. ジャイアントベシクル内部水相のRhodamine 6G (R6G<sup>+</sup>) の蛍光強度変化。ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>添加する前は、外部水相と同じ蛍光強度しか示さないが、外部水相にClO<sub>4</sub><sup>-</sup>を添加すると、内部水相の蛍光強度が増加し始める。また、蛍光強度の増加率は、添加したClO<sub>4</sub><sup>-</sup>濃度が高いほど、大きくなるのが分かります。1.0 × 10<sup>-5</sup> M R6GCl, 1.0 × 10<sup>-2</sup> M NaClO<sub>4</sub>, 1.0 × 10<sup>-1</sup> M phosphate buffer

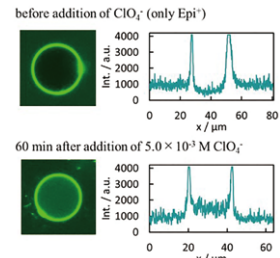


図4. ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>添加による epirubicin (Epi<sup>+</sup>) のジャイアントベシクルへの濃縮。ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>を添加する前、Epi<sup>+</sup>はベシクルの内部水相へ透過しないが、ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>を添加すると膜透過し、内部水相に濃縮される。1.7 × 10<sup>-5</sup> M EpiCl, 5.0 × 10<sup>-3</sup> M NaClO<sub>4</sub>, 1.0 × 10<sup>-2</sup> M phosphate buffer