片山化学工業株式会社

リポソーム技術およびサービスのご紹介

1. リポソームの展望
(DDSと新たな分野)

DDS (Drug Delivery System) とは

DDSとは

薬剤を『狙った場所に、狙った時に、狙った量だけ』届ける技術
(少量の投与でも高い効果があり、かつ毒性の低減を目指した投与形態)

DDSでコントロール

①薬剤の放出

徐放性、環境応答性、外部刺激との組合せ

②薬剤の分布

血中滞留性、標的指向性、組織移行性

③薬剤の吸収性

経皮・腸管吸収、細胞への取り込み

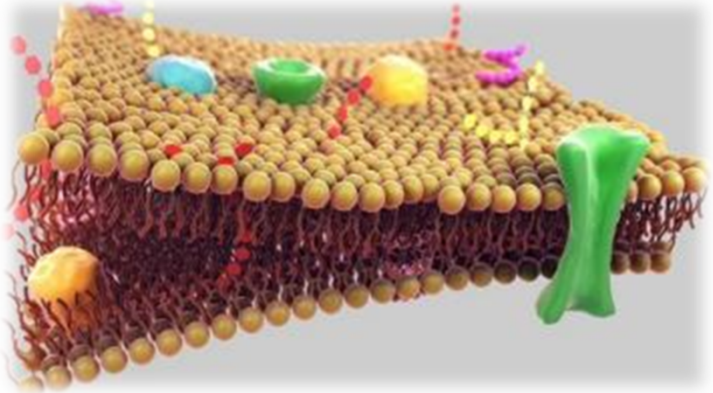
様々な DDS 基材

- ●リポソーム
- ○生体分解性の高分子ポリマー
- ●Lipid nano particle
- ○抗体
- ●ペプチド・タンパク質
- ○デンドリマー

リポソームの構造と特徴

リポソーム (Liposome) とは・・・脂質二分子膜から成る人工カプセル

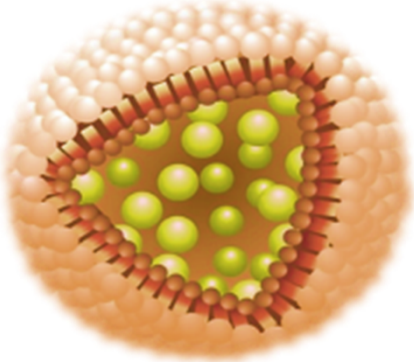
動物細胞膜のイメージ図



引用：https://www.reference.com/science/cell-membrane-15ca344272d05547

人工的に再現

リポソームのイメージ図



【特徴】

1. カプセル機能
2. 表面修飾 (抗体、糖鎖 etc)
3. 低毒性
4. サイズ・電荷のコントロール
5. 脂質組成を変えて機能付加

【リポソーム利用用途】

1. DDS (Drug Delivery System)

2. 新たな研究ツールとして

	商品名	開発・販売企業	薬物	脂質組成 (製剤の形態)	適応疾患 (備　考)	上市時期	
						世界[1]	日本
1	AmBisome	Vestar/NeXstar/Gilead, 大日本住友製薬	Amphotericin B	HSPC/cholesterol/ DSPG/α-tocopherol (凍結乾燥製剤)	真菌感染症，リーシュマニア症 (世界初のリポソーム医薬品)	1990年	2006年
2	Amphotec[2]/ Amphocil[2]	LTI/Sequus/ALZA,J&J/ Zeneca/Three River/ Kadmon	Amphotericin B	cholesteryl sulfate (凍結乾燥製剤)	真菌感染症，リーシュマニア症 (脂質とのモル比 1：1 のコンプレックス製剤)	1993年	—
3	Epaxal/ HAVpur/ VIROHEP-A	Crucell/Berna Biotech / Janssen-Cilag	Inactivated hepatitis A virus (strain RG-SB)	DOPC/DOPE/HA & NA glycoproteins (水分散プレフィルドシリンジ)	A 型肝炎 (いわゆる Virosome；筋注・皮下注・皮内注)	1994年	—
4	Abelcet[2]	TLC/Elan/Enzon	Amphotericin B	DMPC/DMPG (水分散製剤)	真菌感染症，リーシュマニア症 (脂質とのモル比 1：1 のコンプレックス製剤)	1995年	—
5	DaunoXome	Vestar/NeXstar/Gilead/ Diatos/Galen	Daunorubicin	DSPC/cholesterol (水分散製剤)	エイズ関連カポジ肉腫 (1 st line treatment)	1995年	—
6	Doxil/ Caelyx	LTI/Sequus/ALZA,J&J/ Ortho, Schering-Plough, Janssen	Doxorubicin	HSPC/cholesterol/ MPEG-DSPE (水分散製剤)	卵巣癌，乳癌，エイズ関連カポジ肉腫 (PEG 修飾リポソーム)	1995年	2007年
7	Inflexal V	Crucell/Berna Biotech / Janssen-Cilag	Influenza virus surface antigens	lecithin (水分散プレフィルドシリンジ)	インフルエンザ (いわゆる Virosome；筋注・皮下注)	1997年	—
8	DepoCyt(e)/ Savedar	SkyePharma/ Pacira Pharmaceuticals	AraC	DOPC/cholesterol/ DPPG/triolein (水分散製剤)	リンパ性髄膜炎 (CSF への直接注入；マルチベシクルリポソーム[DepoFoam])	1999年	—
9	Visudyne	QLT/Novartis/ Valeant(北米地区)	Verteporfin	eggPG/DMPC (凍結乾燥製剤)	加齢黄斑変性症 (静脈内投与)	1999年	2004年
10	Myocet	TLC/Elan/Perrigo/ Teva Pharmaceutical	Doxorubicin	eggPC/cholesterol (キット製品；用時調製)	転移性乳癌(Cyclophosphamide との併用で 1 st line treatment)	2001年	—
11	Lipo-Dox[3]	Taiwan Liposome Co. (TLC)/TTY Biopharm	Doxorubicin	DSPC/cholesterol/ MPEG-DSPE (水分散製剤)	卵巣癌，乳癌，エイズ関連カポジ肉腫 (PEG 修飾リポソーム)	台湾のみ (2002年)	—
12	DepoDur/ DepoMorphine	SkyePharma/Endo/ Pacira, EKR	Morphine	DOPC/cholesterol/ DPPG/triolein (水分散製剤)	手術時の麻酔薬(硬膜外注射；粒子径 17-23 μm マルチベシクルリポソーム[DepoFoam])	2004年	—
13	Lipusu	Luye Pharma	Paclitaxel	eggPC/cholesterol (凍結乾燥製剤)	乳癌，転移性乳癌 (1 st line treatment)	中国のみ (2004年)	—
14	Marqibo	INEX and Enzon/ Tekmira/Talon/ Spectrum	Vincristine	SM/cholesterol (キット製品；用時調製)	急性リンパ性白血病 (血中滞留型リポソーム)	2012年	—
15	Exparel	Pacira Pharmaceuticals	Bupivacaine	DPPG/cholesterol/ tricaprylin/DEPC (水分散製剤)	手術時の局所麻酔薬 (粒子径 24-31 μm マルチベシクルリポソーム[DepoFoam])	2012年	—

1)一部の海外製品は、承認年の可能性もあり。
2)当初リポソーム製剤として臨床開発していたが、AmBisome の特許との関係で、途中からコンプレックス製剤に切り替えた。
3)Doxil のジェネリック薬である Lipodox(インド Sun Pharma 社)と商品名が似ているが、別のリポソーム医薬である。

2013年 12月現在

上市されているリポソーム製剤の内容

癌領域：7品目

真菌症：3品目

ウイルスワクチン
：2品目

鎮痛剤：2品目

眼科領域：1品目

引用：Pharmaceutics. 2017 Mar 27;9(2). pii: E12. doi: 10.3390/pharmaceutics9020012. Liposomal Formulations in Clinical Use: An Updated Review.

製剤開発におけるこれからのリポソームの展開

1. ドラックリポジショニング/バイオ医薬品としてのキャリア

- 既存薬、ドロップアウトした薬をリポソーム化 ⇒ 薬理薬効・薬動態を変え新薬に
- 核酸やタンパク質、ペプチドのキャリアとしての利用

2. 新たなデリバリーターゲット

- 目、皮膚、腸 ⇒ 点眼剤や外用剤、錠剤等、剤形の多様化へ
- 多様な機能性脂質や修飾化合物の進歩
- 化粧品や食品へのボトムダウン

3. 脂質、糖脂質の生理活性機能

- 空っぽのリポソームでも効果・効能がある？

4. 『リポソーム製剤の開発に関するガイドライン』の発表（2016年厚労省）

- 製造・品質管理や非臨床試験における指針が示され開発の後押しに

2. 製品/技術紹介

製品/技術のご紹介

【リポソーム関連製品】

① in vivo イメージング試薬 『GLYCOLIPO™』

② マクロファージ枯渇試薬 『クロドロン酸内包リポソーム』

③ 化合物リポソーム化検討キット 『*Lipocapsulater*』

④ リポソーム組立てに 『デンドロン脂質』/『糖脂質』

⑤ 擬似細胞として 『ジャイアントリポソーム』

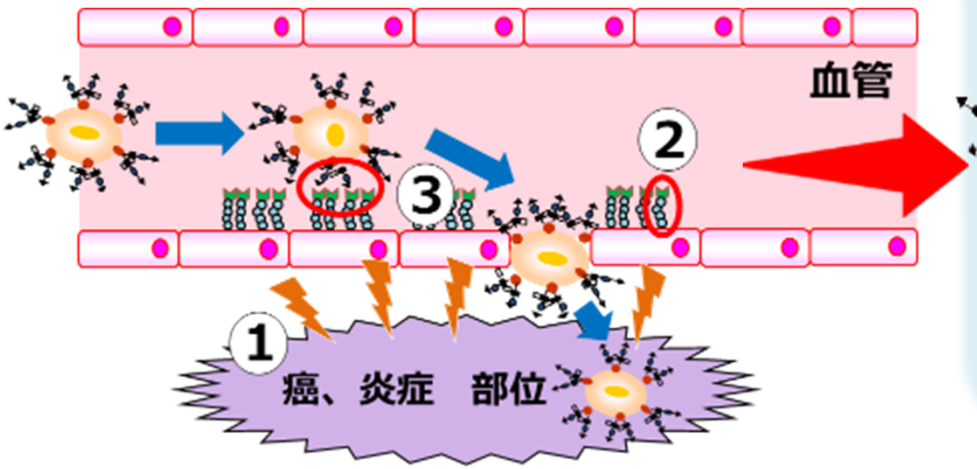
【リポソーム受託概要】

リポソームの組立てからGMP製造サポートまで

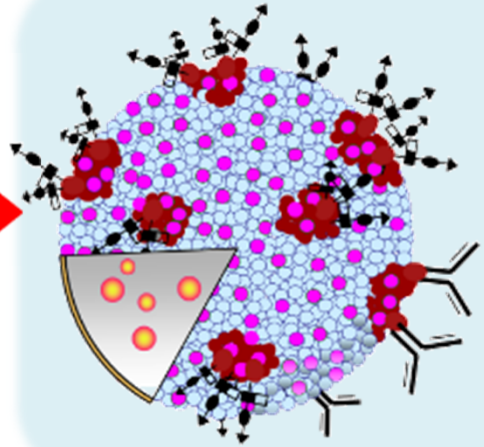
① イメージング・DDS
『GLYCOLIPO』

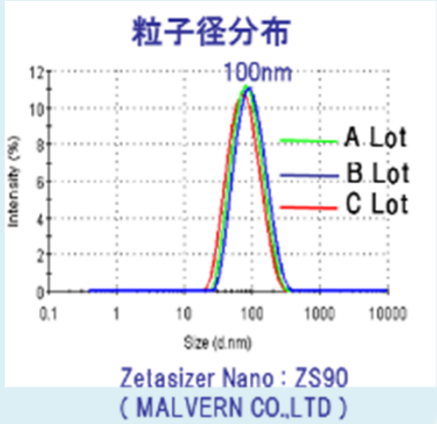
GLYCOLIPO™ — 白血球模倣のリポソーム

血中内における白血球のイメージ



シアリルルイスX





① 癌･炎症部位からの刺激

② 血管内皮細胞のE-セレクチンの発現

③ 白血球が有するシアリルルイスXと
E-セレクチンの相互作用

【イメージング試薬としての特徴】

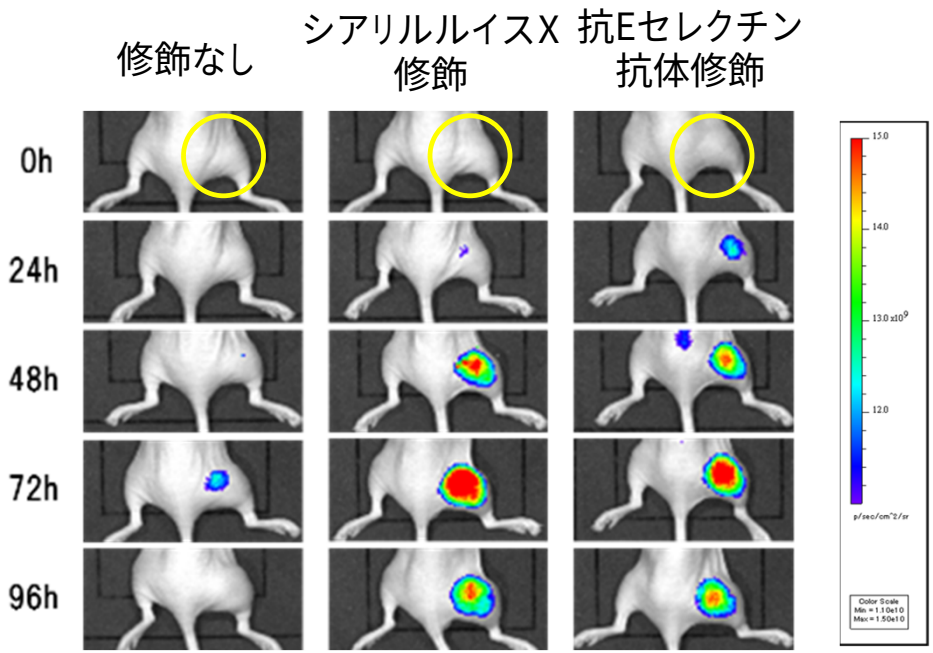
1. 癌･炎症部位への標的指向性

2. 糖鎖に限らず抗体修飾も可能
(任意の糖鎖･抗体修飾化可能なキットもご用意)

3. 安定した品質
･溶液保存4°C、12カ月以上の安定性
･脂質濃度･蛍光強度･粒子径の特性管理

GLYCOLIPO™ — イメージングの実施例 （1）

腫瘍イメージング



●Cell line：EAT細胞（マウスエールリッヒ腹水癌細胞）

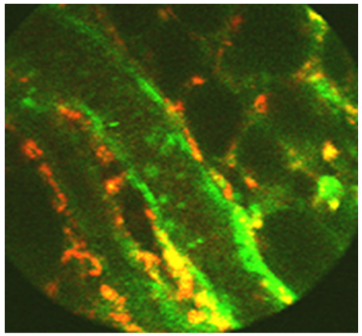
●マウス種：Balb/cマウス（7週齢、メス），移植から7～10日

●投与：i.v, GLYCOLIPO 溶液200μL

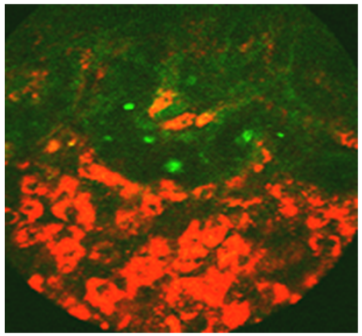
●観察：IVIS-Lumina II

投与48時間後の組織移行性の確認

Cy5.5内包
未修飾



Cy5.5内包
シアリルルイスX修飾



Orange : Cy5.5 (Ex633nm, Em693nm)
Green : Acridine orange (Ex488nm. Em526nm)
In vivo レーザー走査型顕微鏡での観察

緑：血液・白血球の染色

オレンジ：組織内のCy5.5

GLYCOLIPO™ — イメージングの実施例 （2）

炎症イメージング

関節炎マウス

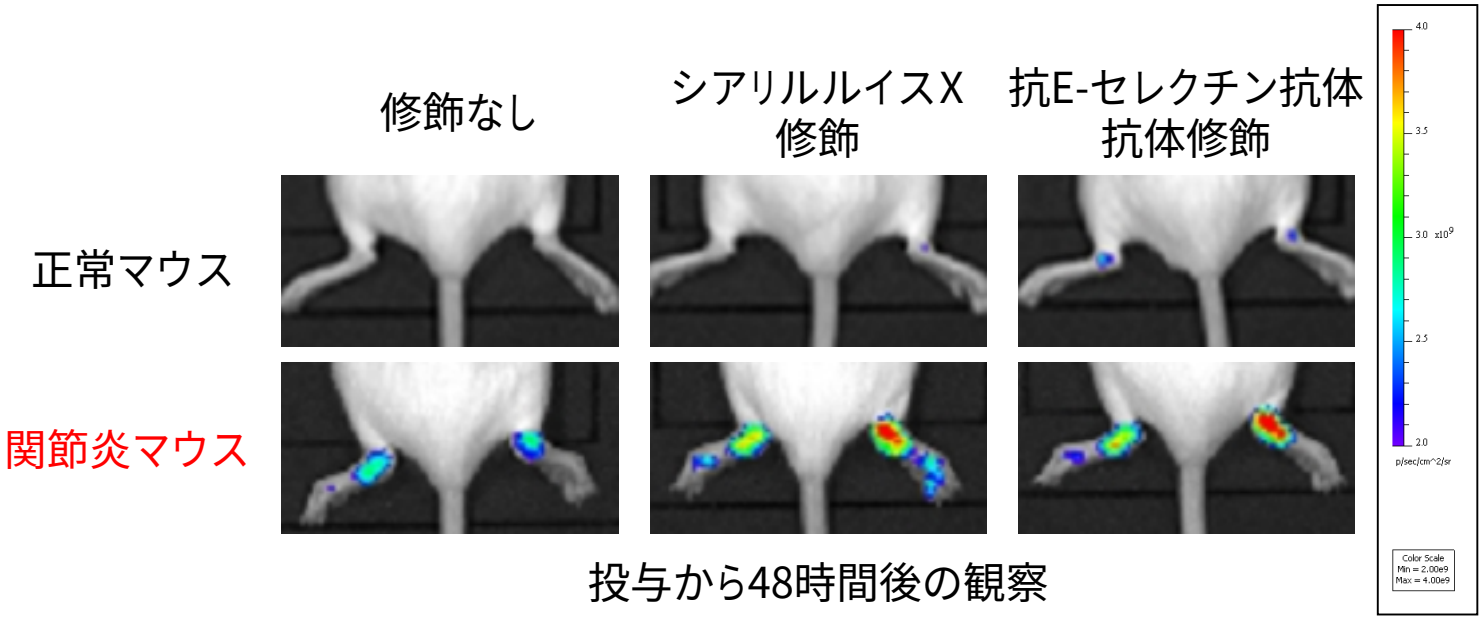
正常マウス

【関節炎マウス】

●マウス種： Balb/cマウス（メス、8週齢）

●抗コラーゲン抗体（Chondrex co.,Ltd）をの尾静脈から投与。

3日後、LPS（リポポリサッカライド）を腹腔内に投与



投与から48時間後の観察

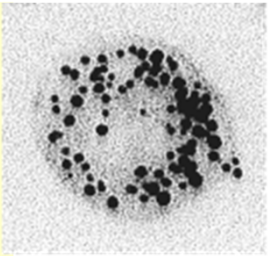
GLYCOLIPO™ — 受託製造

【GLYCOLIPO™受託の特徴】

1. お客様のお手持ちの化合物の内包化検討
2. 任意の化合物の表面修飾
3. 製造ボリューム mLから対応可能

【これまでの内包実績】

タンパク質
蛍光色素
生理活性物質（水溶性＆脂溶性）
その他水溶性低分子
金属コロイド粒子　等



透過型電子顕微鏡像
（金コロイド10nm）

【品質管理】

脂質濃度、内包物濃度、粒子径
表面修飾率、安定性試験 etc

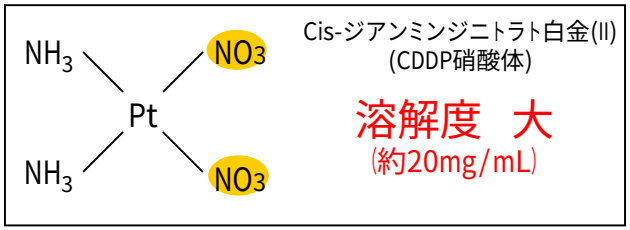
【リポソーム調製後の細胞試験・動物試験もお任せ下さい！】

1. 細胞試験、増殖試験、顕微鏡観察
2. *In vivo* 動物試験、イメージング装置による撮像

お客様の御要望に合わせて幅広くかつ様々な試験に対応

GLYCOLIPO™ — 受託製造の実施例

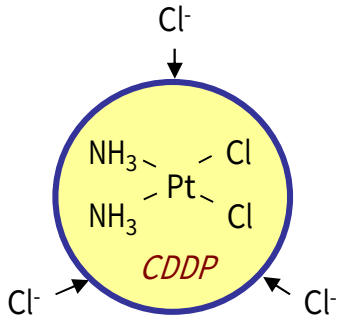
抗ガン剤シスプラチンの内包化



良く溶けるCDDP硝酸体を

リポソームに内包

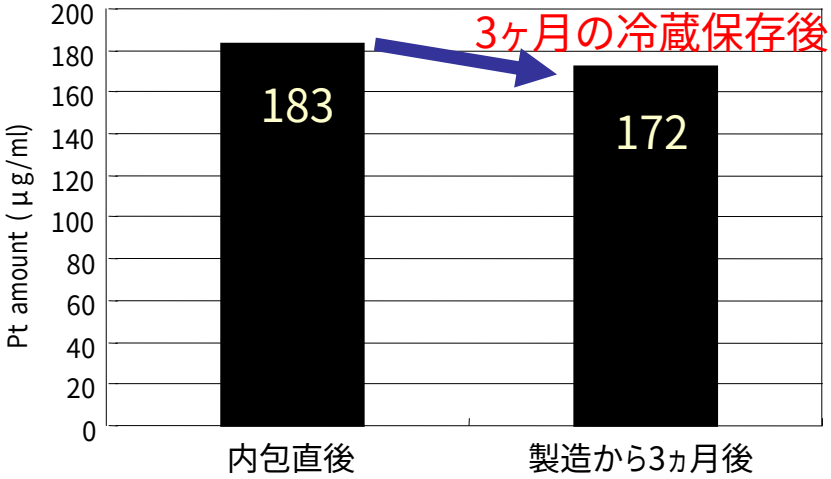
NaCl含有Bufferに
交換



Cl-イオンの置換によりCDDPに戻る

内包化が難しい化合物も検討可能

シスプラチン内包リポソームの安定性



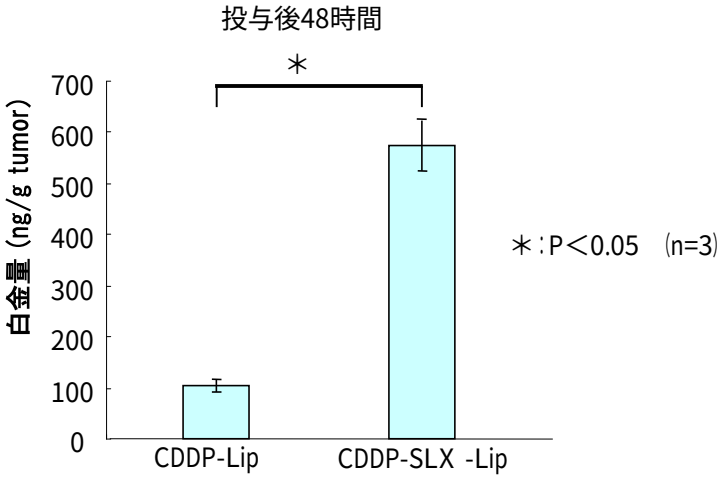
※原子吸光分光光度計により白金を定量

リポソームの調製だけでなく

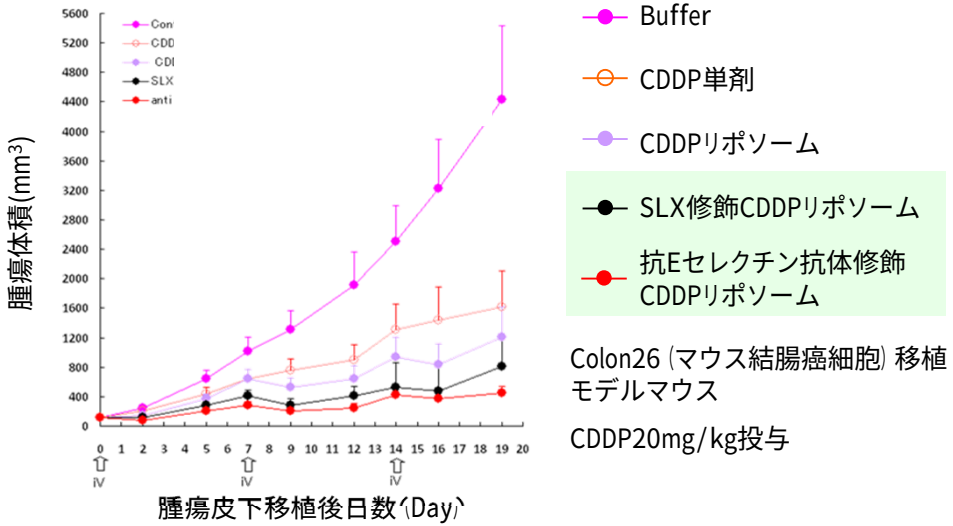
その後の物性試験評価もお手伝い

抗癌剤シスプラチン内包GLYCOLIPO™の評価例

癌組織への集積確認（担癌マウス）

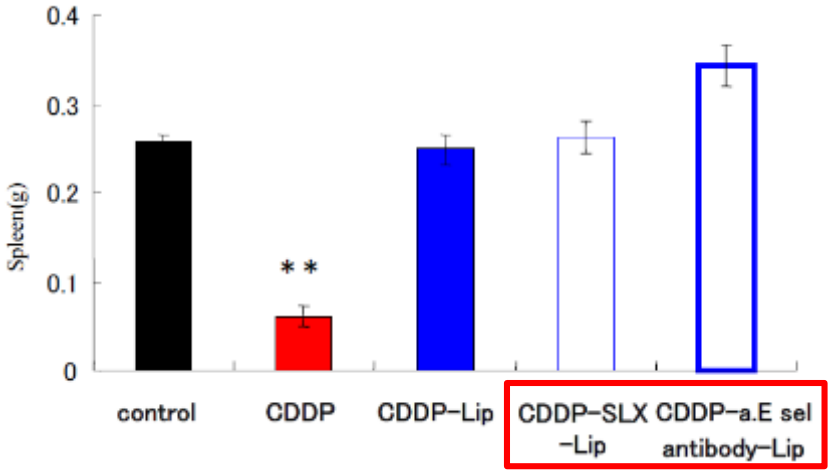


シスプラチン内包リポソームの活性

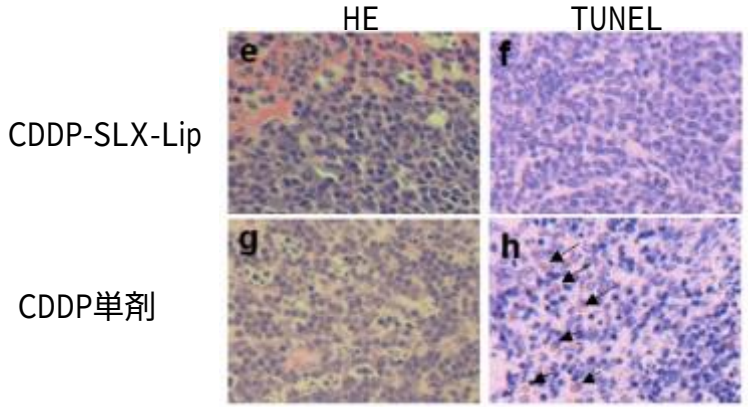


シスプラチン内包リポソームの毒性

脾臓の重量測定



脾臓アポトーシスの確認



TUNEL法による
アポトーシスの確認
〇単剤ではアポトーシスを確認（シスプラチンとして25mg/kg 投与）
〇投与3日後の臓器摘出・観察

② マクロファージ枯渇試薬
『クロドロン酸内包リポソーム』

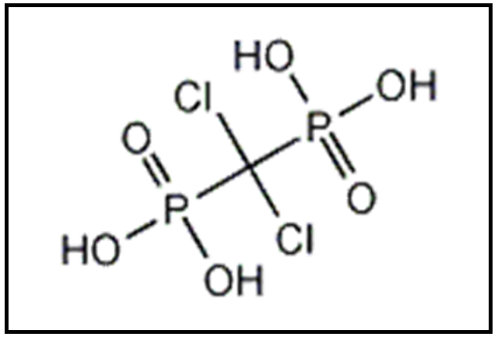
クロドロン酸とは

〇破骨細胞の活動を阻害（骨粗鬆症治療薬）

〇細胞内でATP類似体として機能（ATP代謝の阻害）

〇マクロファージ殺傷作用

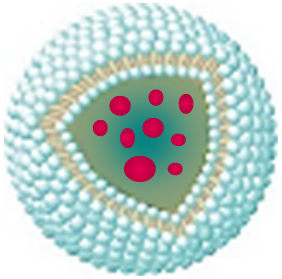
クロドロン酸の構造式



どうしてリポソーム化？

〇クロドロン酸は膜透過性が悪くマクロファージに貪食されにくい

〇貪食されやすいリポソームにデザインで効率よく殺傷



① Eat me signal として知られる Phosphatidylserine を含有

② 認識されやすい 300 nm 前後のサイズ（100 nm もございます）

唯一の国内製造品として免疫･再生、様々な分野のご研究者様をサポート！

★アプリケーション集･論文集もご用意しています！！

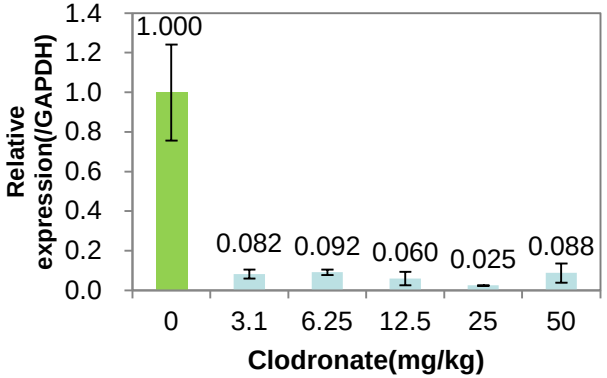
クロドロ酸内包リポソームの評価

〇投与経路：i.p.　〇時間：投与1日後　〇臓器：肝臓

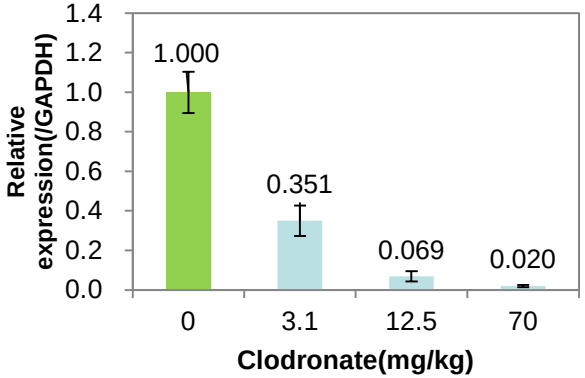
リアルタイムPCRにより、マクロファージのマーカー遺伝子であるF4/80, CD68の相対的な発現量を測定

F4/80

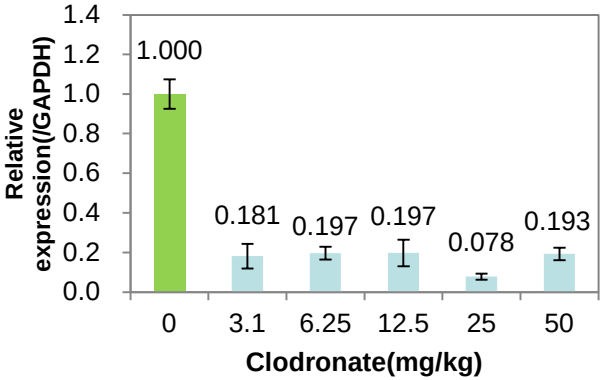
クロドロン酸内包リポソーム300

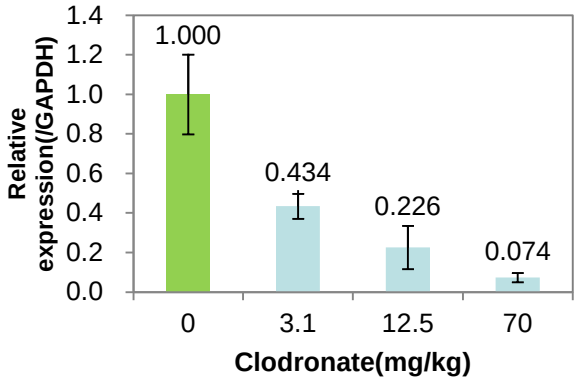


他社製品A



CD68

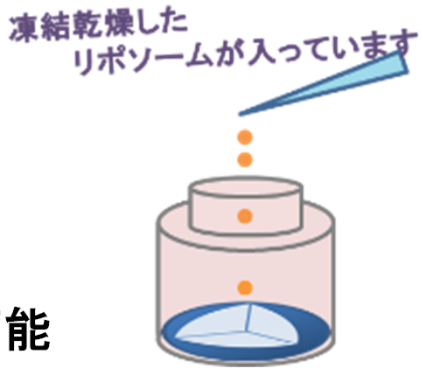




★アプリケーション集には効果持続時間や投与経路の違いの情報もございます

③リポソーム化検討キット
『*Lipocapsulater*』

特徴



1. あらかじめ粒子サイズを調整したリポソームの凍結乾燥品

2. 水溶液を添加すると乾燥前の粒子サイズに復活

2. 化合物溶液添加するだけ「簡便かつ低コスト」に内包化検討が可能

	飽和脂質 S タイプ	不飽和脂質 U タイプ
PE タイプ （PEG あり）	**FD-S PE** DSPC:Chol:DSPE-mPEG200 （57:38:5）	**FD-U PE** DOPC:Chol:DOPE-mPEG200 （57:38:5）
PL タイプ （PEG なし）	**FD-S PL** DSPC:Chol（70：30）	**FD-U PL** DOPC:Chol（70：30）

『どんな特徴があるの？』

Q1. PEGにはどのような効果がある？

A. 親水性を向上させることにより、非特異的な吸着を軽減させます。
例えば、生体内において血管内皮細胞への吸着を軽減させます。

Q2. 脂質タイプの違いは？

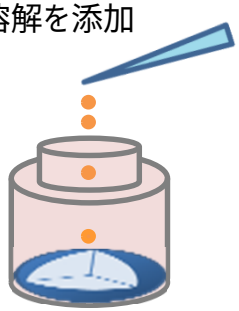
A. 不飽和脂質は飽和脂質に比べ膜の流動性に違いがあります。

Lipocapsulater S-PE 使用例

難溶性化合物「クルクミン」のリポソーム化

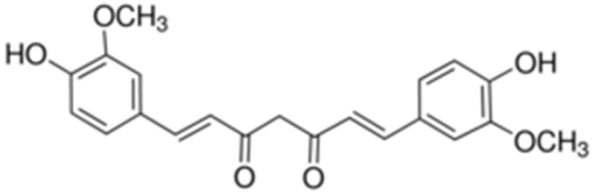
引用元：http://www.sonsofhippies.net/curcumin.html

クルクミン (in 50% DMSO)
溶解を添加



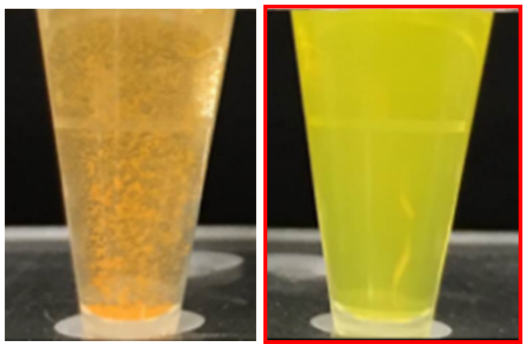
転倒混和後は静置

透析・限外ろ過により
DMSO を取り除き完成



クルクミン構造式

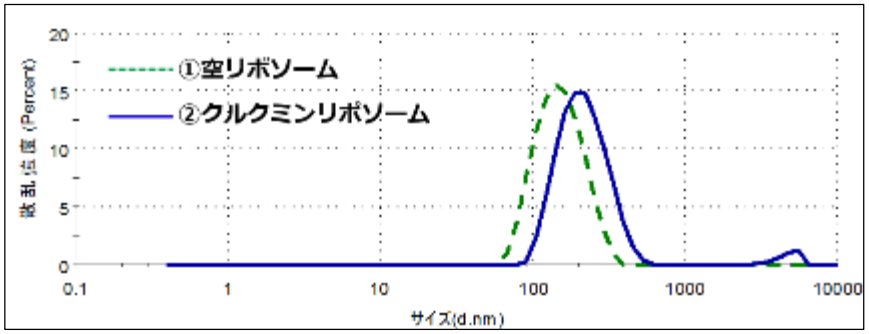
①　②



① 水に分散させたクルクミン

② 調製したクルクミンリポソーム溶液

動的散乱法を用いた粒度分布の測定



- 平均粒子径：210.8nm, PDI：0.198
- クルクミンの内包量：460 μg

★　その他化合物のアプリケーション集をご用意しています

④リポソームの組立て
『デンドロン脂質』/『糖脂質』

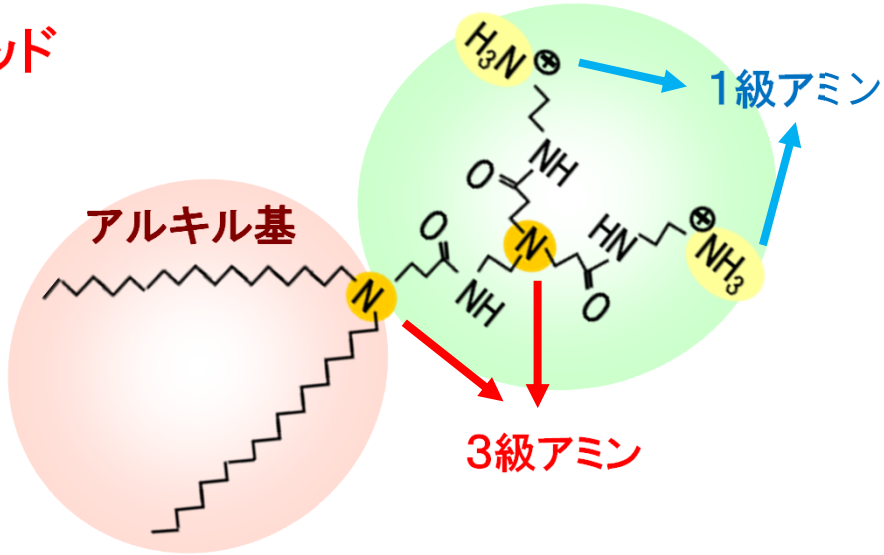
カチオン性脂質『デンドロン脂質』

特徴：脂質とデンドリマーのハイブリッド

① 反応性の高い第1級アミン

② カチオン性の高い第3級アミン

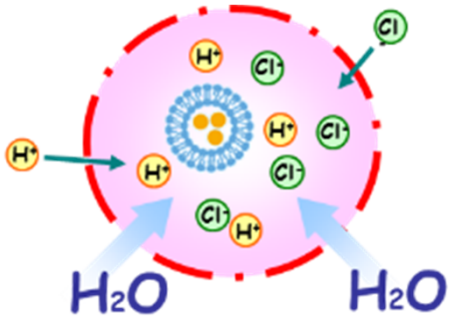
③ 膜融合能が高いアルキル鎖



プロトンスポンジ効果

○ pHの低い環境下においてアミン基がプロトンを引き寄せる

細胞に取り込まれたの後のエンドソームの脱出



✓ リポソームの組立て材料に

✓ 核酸とのコンプレックス形成に

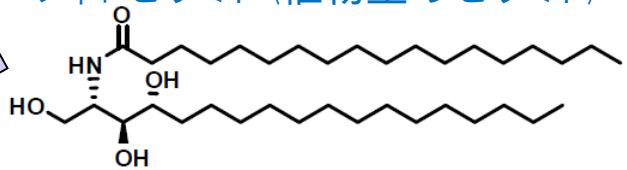
『セラミド型糖脂質』

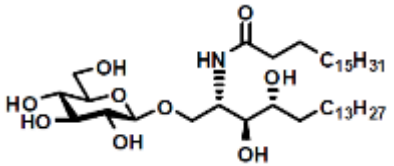
特徴

① 合成品だから安定的な供給が可能

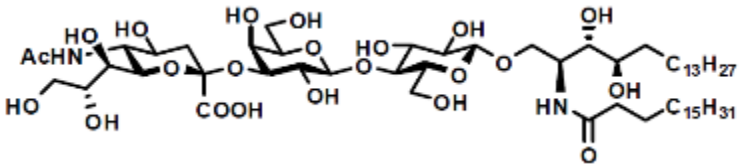
② リポソームの構成成分としても利用可能

フィトセラミド（植物型のセラミド）





グルコシルセラミド



ガングリオシド

【注目を浴びる糖質脂質含有リポソーム】

① 化粧品用途としてのセラミド含有リポソーム

② 特定の免疫応答を誘導できる糖脂質含有リポソーム

（東海大工学部生命化学科　糖鎖科学研究所　小島先生）

③ 免疫抑制能を有するGal-Cer含有リポソーム

⇒ アレルギー疾患の治療

⇒ 移植拒絶抑制薬

（リポソーム化α-GalCerの治験薬製剤RGI-2001を使った臨床試験が米国実施されている）

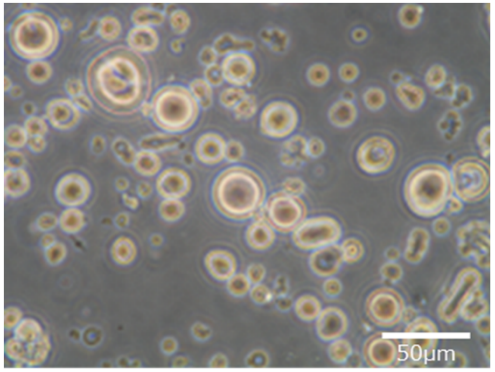
⑤『ジャイアントリポソーム』

ジャイアントリポソーム

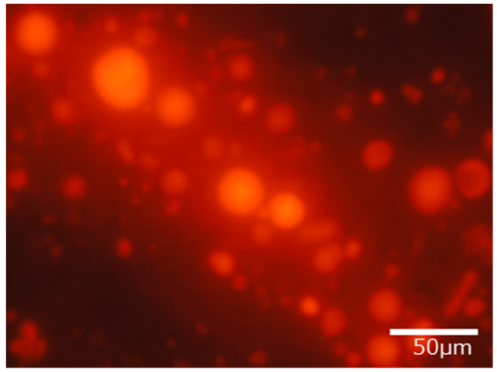
脂質組成　DPPC : DPPG : Rhodamine-PE = 50 : 50 : 0.1(モル比)
内包物　　FITC標識Human Serum Albumin(HSA)

顕微鏡写真データ

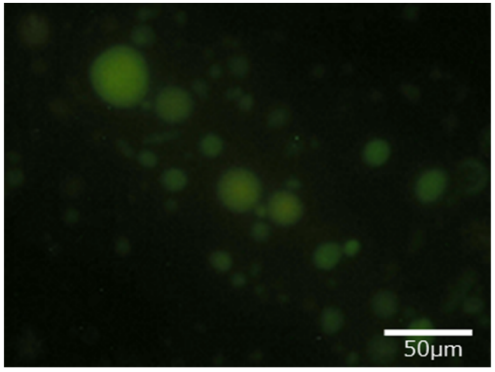
明視野



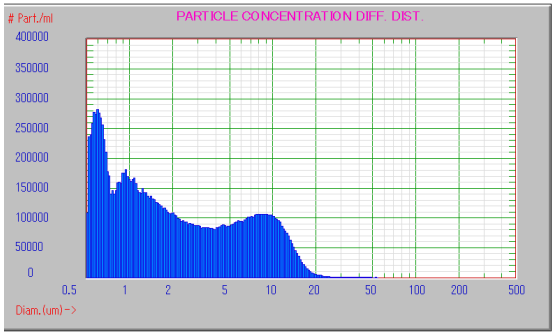
Rhodamine
(脂質標識)



FITC
(内包物)



粒度分布データ



3. 受託サービスの概要

リポソームの組立てからGMP製造サポートまで

製造受託

- ご希望の脂質組成で
- ご希望の化合物の内包化
- 製造ボリューム1 mL～ 数10 L まで

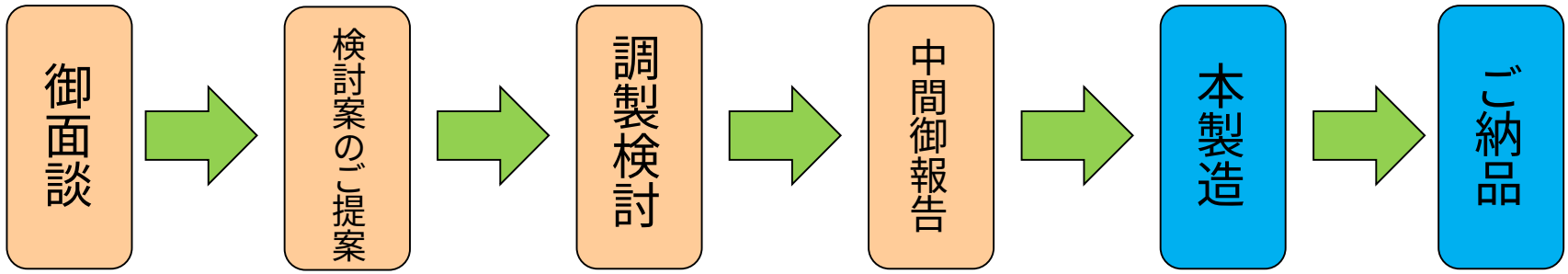
品質検査･評価

- 粒度分布 (動的散乱法)
- 表面電荷 (電気泳動光散乱法)
- 有効成分の封入率、凝集･不純物の確認
- エンドトキシン試験　等　『リポソーム製剤の開発に関するガイドライン』に沿って

設備一覧

- リポソーム連続製造装置
- ホロファイバー連続限外濾過システム
- 凍結乾燥機
- 超音波照射装置
- エクストルーダー
- 脂質フィルム法による製造設備一式

受託製造の一例



これまでの実績

受託の件数

○ 企業･アカデミアを含め 200 件以上

○ 内包化検討実績 100 種類以上
(データベース作成中)

受託例 (一例)

○ リポソーム内包化検討

○ リポソーム製造法の至適化

○ リポソームの品質検査および安定性試験

○ リポソーム製造のスケールアップ検討

アプリケーション例

【用途】

DDS･･･癌、リウマチ、脳虚血、マクロファージ枯渇、心筋梗塞、ブドウ膜炎、感染症、経皮吸収

DDS以外･･･ジャイアントリポソーム、人工細胞膜、プロテオリポソーム、

【内包物】

○ 生理活性物質 (各種抗癌剤、抗生物質、抗炎症薬、タンパク質製剤、その他)

○ 核酸、タンパク質、ペプチド

○ 造影剤 (インドシアニングリーン (ICG)、ガドリニウム、鉄、金コロイド)