

鉄ポルフィリン錯体導入 DSPC/DPPC リポソームの構築とその抗癌評価

(東理大理工¹・東理大総研機構²)○高橋由佳子¹・相川達男¹・近藤剛史^{1,2}・湯浅真^{1,2}

1. 緒言

近年開発されている様々な抗癌剤は副作用が問題視されており、抗癌剤を効率的に目的部位に輸送する必要がある。そこで必要最小限の薬物を必要な場所に必要時に供給するドラッグデリバリーシステム (DDS) の研究が行われている。我々は、抗癌活性を明らかにしてきた鉄ポルフィリン錯体を薬剤として、これを癌細胞へ選択的に集積させるためのドラッグキャリアの検討をしてきた。しかし、従来使用してきた DMPC や DPPC などは高価であり、調製したリポソームの安定性も不十分であった。そこで、安価でゲル-液晶相転移温度の高い水素添加大豆リン脂質 (DSPC/DPPC) に着目し、安定性の高いリポソームの構築を目的とした。本研究では、鉄ポルフィリン錯体を導入した DSPC/DPPC リポソーム (Fig. 1) を構築し、安定性の評価、細胞実験及び動物実験による抗癌評価を行った。

2. 実験

鉄{5,10,15,20-テトラキス(N-メチルピリジニウム-4-イル)}ポルフィリンを全収率 5.7% で合成した。DSPC/DPPC とコレステロールの比率を変え、超音波照射法によって鉄ポルフィリン導入 DSPC/DPPC リポソームを調製した。また、動的光散乱法によりリポソームの粒子径、蛍光偏光解消によりリポソームの相転移温度を測定した。細胞内取り込み評価は、マウス皮膚癌細胞 (B16 melanoma)、ヒト子宮癌細胞 (HeLa)、マウス大腸癌細胞 (Colon26) を用いて共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) 及びフローサイトメトリー (FCM) により行った。抗癌評価は、Alamar Blue 法による殺細胞試験及び担癌マウスを用いた動物実験により行った。

3. 結果と考察

DSPC/DPPC とコレステロールを 9:1 のモル比で調製すると、平均粒径 96 nm の SUV で単分散なりポソームが得られた。このリポソームのゲル-液晶相転移温度は、58.0°C であった。37°C において、1 週間粒径の変化はなかった。したがって、安定なりポソームが得られたといえる。CLSM 及び FCM によりリポソームが細胞内に取り込まれていることを確認した。また殺細胞試験結果から、鉄ポルフィリン錯体導入 DSPC/DPPC リポソームは細胞種に関わらず抗癌作用を示した。その中で最も半数阻害濃度 (IC₅₀ 値) が低い B16 melanoma を用いて、動物実験における抗癌作用を評価したところ、癌細胞の増殖を抑制することができた (Fig. 2)。

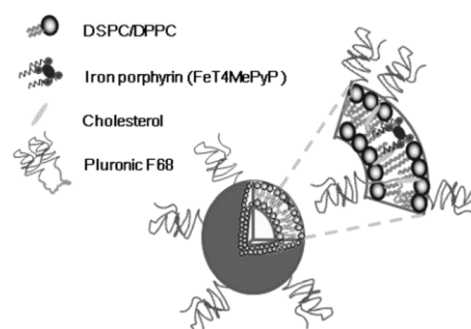


Fig. 1. Structure of iron porphyrin-loaded DSPC/DPPC liposome.

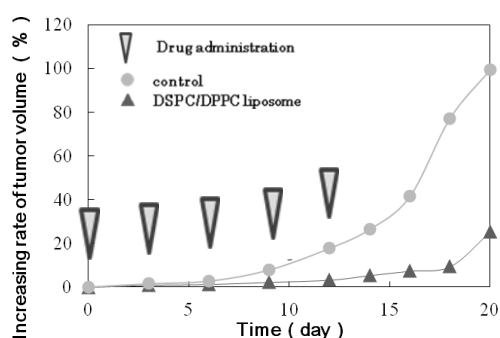


Fig. 2. Temporal changes in B16 melanoma volume transplanted in mice (n=4-5).

Iron porphyrin complex-loaded DSPC/DPPC liposome and evaluation for anticancer drug

Y. Takahashi¹, T. Aikawa¹, T. Kondo^{1,2}, M. Yuasa^{1,2} (¹Faculty of Science and Technol., Tokyo Univ. of Science; ²RIST, Tokyo Univ. of Science, j7213644@ed.noda.tus.ac.jp)

We produced an anticancer drug delivery system based on iron porphyrin complex-loaded DSPC/DPPC liposomes. The use of naturally derived DSPC/DPPC mixture as liposome component significantly reduces production cost of the liposome. At optimized DSPC/DPPC : cholesterol composition (9:1, molar ratio), uniform-sized of small unilamer vesicle (SUV) liposomes could be obtained by conventional sonication method. These liposomes maintained its original structure for one week at 37°C, suggesting that the liposome was stable in physiological condition. The drug-loaded liposomes were efficiently introduced into cytoplasm of typical cancer cell lines. Moreover, *in vivo* anticancer testing revealed that the drug-loaded liposomes significantly suppressed expansion of tumors transplanted in mice. The highly stable liposome presented in this study is expected to be a practical candidate for anticancer drug carrier.