WHITE PAPER

リポソーム & 脂質ナノ粒子(LNP)

1965年にAlec D. Bangham氏によって発見されて以来、リポソームはドラッグデリバリーのベシクルとして認識されています。生体適合性が高い為副作用がほとんど起こらず、両親媒性構造により親水性、疎水性両方のAPIを内包することができます。近年、リポソームに類似した材料である脂質ナノ粒子は、ワクチン向けのDNAやmRNAを含む治療効果を持つ有効成分を送達する能力を有する為に注目を集めています。両者は、表面をタンパク質で修飾することで、標的細胞種に対して非常に特異的に結合でき、その結果として薬物や核酸等を極めて正確に送達することができます。

リポソーム

特殊な送達技術を用いない多くの従来型の低分子薬や一般的な投与形態の薬剤は、低い薬物動態とバイオアベイラビリティ、そして高い毒性を示し、これらの点がその使用を大きく制限しています。この様な薬剤における課題を克服し薬剤の治療指標を改善するために、ナノメディスン分野では様々な疾患の検出・診断・治療において大きな進歩を遂げてきました。ナノ粒子やリポソームの導入により、毒性を低減し薬物動態の特性も改善させることが可能になりました。

リポソームは、APIの効果を増大させるために使用されるナノスケールのドラッグデリバリー向けのベシクルで、ヒトの生体中に見られるような生物由来の原料から作られます 。リポソームの両親媒性リン脂質二重層は、哺乳類細胞に非常によく似ており、リポソームと細胞膜との効率的な相互作用を可能にします。その結果効果的な細胞内取り込みを促進します。その上リポソームは免疫システムの検知からのシールド効果があり、免疫応答を引き起こすことなく必要な部位へ到達するまでの時間を確保することができます。

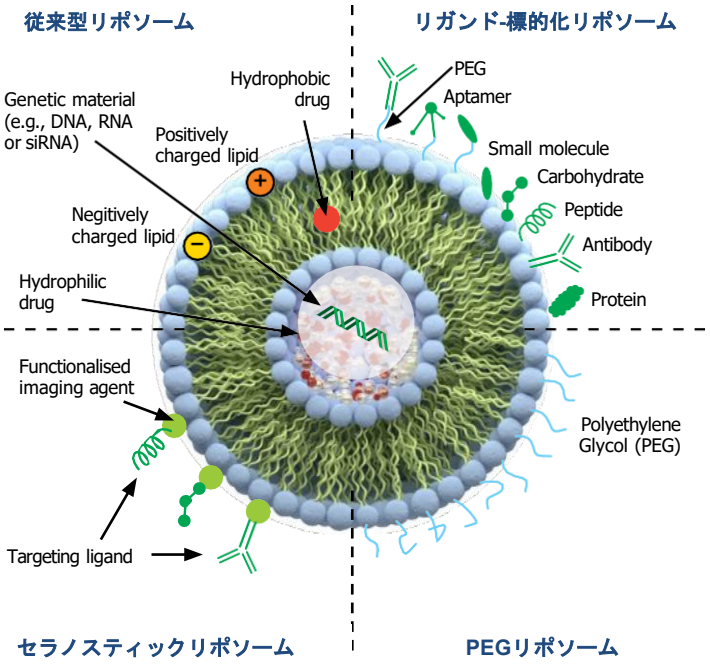


図 1: リポソームの構造

リポソームは、1995年に初めて医薬品Doxilとして承認されて以来、様々な分野で最も広く利用される技術の一つになりました。

脂質ナノ粒子（LNP）

1990年代には、リン脂質よりも他の脂質構成を基本としたナノ粒子のアプローチに需要が高まりました。固体脂質ナノ粒子 (SLNs)は、室温と体温どちらにおいても固体状態を保つ生理学的脂質で構成された比較的新しいコロイド性のドラッグデリバリーシステムです。固体脂質は薬物を内包化するためのマトリックス材料として機能し、モノグリセリド、ジグリセリド、トリグリセリド、脂肪酸、複合グリセリド混合物などが用いられます。SLNsの大きな利点は、「長期間にわらる物理的安定性」、「脂溶性薬物と水溶性薬物の双方に対する薬物の放出制御の可能性」、「不安定(ラビル)な薬物の保護」、「低コスト」、「比較的容易な製剤化」が挙げられます。その上、SLNsは非常に低毒性です。SLNsはまた、製造時や保存中に脂質が結晶化して、内部に保持できる薬物量が限定され、結晶化が進むことで内部に保持していた薬物が押し出されてしまう現象が生じるという問題点が一般的に知られています。

ナノ構造脂質キャリア(NLCs)は、固体脂質と液体脂質を組み合わせて構成される、SLNsから発展して開発された“第二世代”の脂質系ナノキャリアです。このシステムは、SLNsの限界を克服するために開発されました。NLCsは、SLNsよりも薬物封入量が高く、さらに脂質の結晶化を回避することで保存中の薬物排出も防ぐことができます。

脂質ナノ粒子(LNPs)は、免疫応答を高めるアジュバントと組み合わせることで酵素分解からmRNAを保護するためのカプセル化が可能となります。これは、従来型ワクチンを補完するものとして、さらには置き換えの可能性を持つワクチンにとって特に重要となります。

リポソームと脂質ナノ粒子の製造

一般的に、リポソームは血中へ投与するための無菌注射剤として製造され、薬物の放出は脂質膜が分解したときに起こります。リポソームが標的部位に到達した後、薬物有効成分の放出はリポソームの自然な分解によって制御することができる他、温度・pH ·せん断応力の変化に応答するよう設計することも可能です。リポソームは、医薬品として一定の承認実績を示してきたものの、この技術に内在する限界は数十年にわたりほとんど改善されておらず、市場への普及が遅れています。リポソームの最も一般的な欠点の多くは、保存時及び生体内(in vivo)条件下での安定性の低さが主な要因です。このリポソームの欠点は主に脂質の酸化や加水分解の可能性、新水性薬物の漏出・喪失、さらに粒子の分裂や融合といった現象が原因です。

リポソーム製造には、ラボスケール技術といくつかの大規模生産向けの技術まで多様な技術が存在し、約20nmから数ミクロンまでの粒子サイズ制御が可能であり、1層または複数層の脂質二重膜を構成することが可能です。リポソームの自己組織化は、リン脂質と水分子の相互作用に基づいているため、両者の相互作用を制御することが、望ましい形態・カプセル化効率・そして安定性を持つ構造を形成する上で重要となります。

リポソームに関して、現在の製造技術の状況は以下の様に特徴付けられます。

方法	長所	短所
フィルム水和法(バンガム法)	単純なプロセス	有機溶媒の使用と機械撹拌、大きな粒子の生成(サイズ制御ができない)、親水性物質の低い封入率、工程に時間を要すること、滅菌が困難であること。
逆相蒸発法	シンプルな設計、適切な封入効率	壊れやすい成分には適用できない、大量の有機溶媒を使用する、工程に時間を要すること、滅菌が困難であること。
溶媒注入法	単純なアプローチ	有機溶媒の残留、エーテル系でのノズル閉塞の可能性、工程に時間を要すること、滅菌が困難であること。
界面活性剤除去法	シンプルな設計、均一な粒子製造、粒子サイズの制御が可能	有機溶媒の存在、界面活性剤の残留、工程に時間を要すること、低い封入効率、収率の低さ、滅菌が必要であること。
加熱法	簡便かつ迅速なプロセス、有機溶媒を使用しない、滅菌の必要がない、スケールアップが可能	高温条件が必要。

図 2: Krauseら(2019)により改変された

一般的に、 LNPsはエタノール溶液中の脂質を水中で凝縮させることで同様の方法で形成されます。しかし、LNPの合成方法は極めて重要であり、その方法がLNPの粒子サイズと封入効率の両方に直接影響します。個々のLNPの特性は局所的かつ微視的な混合速度に強く依存しており、拡散輸送の影響によって脂質比率や内部構造が均一でないLNPが生成される可能性があります。したがって、エタノール-脂質相を過剰量の水と急速に混合することは、小さく均一なLNPsを合成する上で重要となります。ここで、注意点を記しておく必要があります。多くの手法では、高いせん断力、超音波処理、高圧などの機械的ストレスの付与、不適切な化学物質(揮発性有機溶媒など)の使用、あるいは極端なpH条件によりAPIの有効性が低下する可能性があります。商業的に利用されている高温処理法では、脂質を約80℃まで加熱するため、この問題はとりわけ顕著です。

Micropore Technologies社の技術

Micropore Technologies社は、PLGAマイクロスフェア形成のための無菌メンブレンデバイスを提供しています。 近年の研究では、メンブレン技術を高度なマイクロミキサーとして利用し、互いに混和する2つの液体を制御する方法で混合する新たなアプローチが示されています。Micropore Technologies社のリポソーム及びLNPに対するアプローチは、室温またはそれ以下の条件で適切な溶媒中に分散させたリン脂質とAPIを、連続的に流れる連続相へ制御しながら注入するというものです。 生成される自己組織化は、高温・高圧・高せん断といった条件を用いずに穏やかに進行します。

メンブレン表面で液滴が形成されると、連続相の流れによって与えられる穏やかなせん弾力が液滴を変形させ、メンブレンから液滴を切り離します。同時に、水と混和する溶媒は水相へと移行し、その後にリポソームが形成されます。

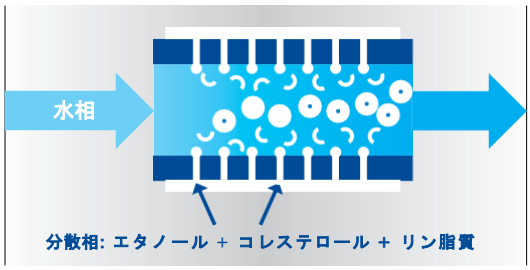


図 3: Micropore社のリポソーム製造方法

脂質系キャリア(リポソームやナノリポソーム製剤など)を用いたドラッグデリバリーでは、PDIが0.3以下であれば許容範囲とされ、リン脂質ベシクルの粒度分布が均一であることを示します。。FDAが発行する最新の「Guidance for Industry: Liposome Drug Products」では、粒子径及び粒子分布が重要品質特性(CQA)として強調されており、これらがリポソーム製剤の安定性試験において不可欠な評価項目であることが示されています。

Micropore Technologies社の製造プロセスには、一般的に用いられている商業的プロセスに比べていくつかの利点があります。

1. PDI値 0.16 は、FDAが要求するPDI値範囲内である。
2. 80 – 250 nmの範囲で粒子径の調整が可能である。
3. 研究室レベルから商業スケールまで、容易かつ低コストにスケールアップが可能である。
4. GMP準拠の製造設備である。
5. 低温・せん断条件での操作により、製品の劣化が最小限に抑えられる。
6. 低温運転により、有害なリゾリピッドが生成しない。

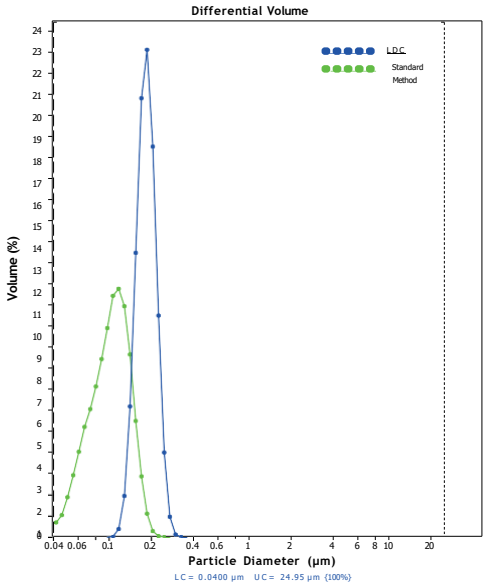


図 4: リポソームのPDI比較
青色曲線: Micropore社の手法 (d10:149 nm; d50: 183 nm; d90 226 nm)
緑色曲線: ホモジナイザー使用(d10: 63 nm; d50: 104 nm; d90 147 nm)

リポソーム、LNPの製造に関する課題を是非ご相談ください。Micropore Technologies社の膜乳化技術で支援します。

本ホワイトペーパーに関する詳細は以下のホームページをご参照ください。
www.micropore.co.uk

＜お問い合わせ先＞

設計・開発
Micropore Technologies
Redcar, United Kingdom
TEL: +44 1462 438367

国内総販売代理店
株式会社 TachiBANA

Our Website
info@tachibana-m.com
本社 〒662-0867 兵庫県西宮市大社町11-37-607
東京オフィス 〒104-0032 東京都中央区八丁堀3-11-14-401