薬 剤 学, **81** (2), 150–153 (2021)

≪若手研究者紹介≫

リポソームを用いたペプチドの経口デリバリー

南　　景　子*　Keiko Minami
摂南大学薬学部 薬剤学研究室

1. は　じ　め　に

高校生の頃，医師か薬剤師になって医療現場で活躍したい，となんとなく夢見ていた筆者が，まさかこうして大学教員として働くことになるとは，自身が一番驚いている．どのような道を行けば現在にたどり着くのかと不思議に思うが，その節目のタイミングには偉大な先生方との偶然とも必然ともいえる出会いがあり，その一つでも欠けていれば今の私はいないのではないかと思う．まったくの研究初心者がここまでなんとか研究の道を歩んでこられ，このように執筆の機会まで頂けたのは，これまで出会った方々のおかげである．本稿では，皆様に感謝の気持ちを込めながら，貴重な出会いとこれまでの研究について少々紹介させていただきたい．

2. 研究室に配属されて

研究室配属は各大学で独自の方法があると思うが，母校である京都大学薬学部では，学部3年時での成績の良い学生から順に希望の研究室を名乗っていくシステムであり，まさに実力主義であった．当時，橋田充教授が主宰する薬品動態制御学や，髙倉喜信教授が主宰する病態機能分析学は非常に人気の高い研究室であり，予想通り成績優秀者ですぐに枠が埋まった．筆者は勉強よりもどちらかというとバスケ部の活動やアルバイトに熱が入り，残念ながら成績は下から数えた方が早かったが，なんとか栄田敏之教授（現 京都薬科大学薬物動態学分野）の主宰する実践臨床薬学分野に入ることができた．そこで，筆者はアメリカ食品医薬品局（FDA）が管理する「医薬品副作用自発報告システム」というビッグデータを用いて，医薬品と副作用との因果関係について解析する研究に従事した[1]．学生の人数が少なかった分，先生方からはセミナーなどで手厚い指導を受けることができ，学会発表時にスライド作成で指導していただいたことなどは今でも意識している．特に栄田先生は，筆者が6年生の時に京都薬科大学に異動され離れることとなったが，それでも就職活動時のプレゼンや面接の練習に時間を割いて付き合ってくださり，研究にとどまらず大変お世話になり深く感謝している．

3. 就　職　活　動

大きな転機となったのが，その就職活動である．当初，筆者は製薬企業の開発職に興味があり様々な企業に応募したが，思うように進まず悪戦苦闘していた．今思えば，国公立大学で体育会出身であれば，なんとか就職できるのではないかと甘い考えがどこかにあったように思う．企業研究も自己分析もあまり深くできておらず，落ちても仕方がなかったが，周りの同期の就職が着々と決まっていく様子を見て内心かなり焦っていた．結局希望の職には内定をもらえず，企業をあきらめて病院薬剤師として働こうとあらたに就職活動の準備を始めていた矢先，当時薬品動態制御学と兼任で面倒を見てくださっていた山下富義准教授（現教授）が声をかけてくださった．

*2015年3月京都大学薬学部卒．同年4月摂南大学薬学部薬剤学研究室助教に着任．2020年博士（薬学）取得．2016年JKYSP Chair's Selection Award受賞．趣味：カメラ，映画鑑賞．連絡先：〒573–0101 大阪府枚方市長尾峠町45–1
E-mail: keiko.minami@pharm.setsunan.ac.jp

それが，現在所属している摂南大学薬剤学研究室の助教に応募してみないか，という内容だった．本来ならば普段から薬剤学の研究に邁進している薬品動態制御学の同期に声がかかるところなのだが，すでに全員製薬企業に内定しており，まだ就職先の決まっていなかった私に話を持ち掛けてくださったのだった．希望の職に就けず悩みに悩んでいた私にとって，このうえなく大きなチャンスだった．ただ，これまで薬剤学に関する研究経験は一切なく，研究でピペットマンすら使っていなかった私が，はたして薬剤学の分野で，しかも大学教員として生きていけるのだろうかと大きな不安があった．しかしながら，実力がありながらもポジションがない等の理由でなれない人がおそらくたくさんいる中で，こうして話をくださったのは何かご縁があるのだと強く感じた．そして，これを逃してはならない，と思い切って応募し，選考を経て無事に内定を得ることができた．山下先生にはこれだけでも十分感謝しているのだが，さらに，助教として赴任する前に少しでも薬剤学の分野の勉強をしておいた方がいいだろうということで，杉山雄一先生が開催されている第3回薬物動態解析セミナーに参加できるよう取り計らってくださった．このセミナーには薬物動態を専門とする先生方が講師として大勢来られており，企業や大学からの参加者は3日間缶詰めで講義を受け，演習を行う．このセミナーに参加するにあたって事前に課題に取り組むのだが，実験未経験の私は内容がほとんど理解できず，1問目から思考停止状態であった．そんな私を見かねた山下先生は，ミクロソーム実験やCaco-2細胞とは，という超初歩レベルからマンツーマンで指導してくださったのだ．実際のセミナーでも，内容についていくのに必死で毎日の課題も同部屋の学生に聞きながらなんとか進めていた状態だったが，レベルの高い先生方や学生に出会い，強い刺激を受けた．また，3年生の実習でエクセルを使ってPKパラメータを算出し，その変動を解析するようなテーマがあるのだが，その時に私が先生の代わりにチューターとして学生を指導する機会も与えてくださった．説明内容を間違えたり，うまく伝えられずに終わり反省点ばかりであったが，指導するにはその事前準備が非常に重要であり，そのなかで自身がどれだけ理解を深められているかも大事だということを身をもって体験でき，このような貴重な経験をさせていただいた山下先生には感謝してもしきれない．

4. 研究生活のはじまり

そして，2015年4月に摂南大学薬剤学研究室に着任したのだが，まず驚いたのが学生の多さだった．筆者が学生の時は10名ほどの研究室だったのに対し，ここでは約40名と多く，初めて研究室のメンバーと顔を合わせたお花見のイベントは非常に活気が溢れていたのを覚えている．夏に学生が企画してくれる研究室旅行も2泊3日と大掛かりで，行きのバス車内からお酒を片手に盛り上がった．着任当初は少々戸惑いながらではあったものの，普段は学校でまじめに研究の話をしている先生方が，オフの時間は学生に混じって同じように全力で楽しんでおり，研究も遊びも全力で，というこの研究室の雰囲気が心地よく，すぐに体になじんだように思う．

当研究室を主宰している山下伸二教授とは，学生のときに二度お会いしたが，筆者が薬剤学に無知であることを理解してくださり，そのうえで，「何もわからなくても大丈夫，入ってから勉強すれば何とかなる」と快く受け入れてくださった．ありがたいことに，6年弱こうして山下先生の下で研究を続けられており，また周りには片岡誠准教授や東野晴輝元助教がおられ，非常に恵まれた環境に身を置いていると感じる毎日である．面白いことに，同じ研究室にいても先生方はみな違うキャラクターを持っておられるが，研究に臨む姿勢は私のお手本であり目標でもある．特に山下先生からはこれまで多くのことを学ばせていただいているが，そのなかで感じるのは，発想の豊かさがすさまじいということだ．実験を続けていると当然行き詰まることもあり，データの解釈や要因を一人で考え込んでいると小さなスコップでひたすらトンネルを掘っているような状態だが，そんな時に山下先生に相談すると新たな意見をくださり，異なる角度から日が差すような感覚になることがある．また，こんなことができるのではないか，と全く新しい研究テーマを考案されることもあれば，無いものは自分で作ればいい，と実験器具や評価方法を一から一緒に考え，組み立ててくださることもあった．もちろん，テーマについては薬物吸収に関連する内容ではあるが，今まで考えたことがなかった事柄に目を向け，可能性を見出す．これ

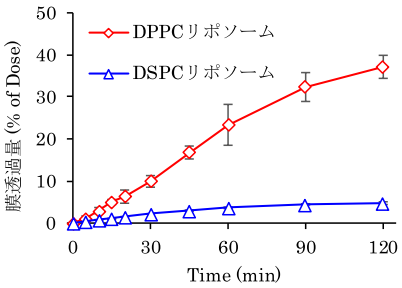

図 1　絶食時消化管内モデル溶液中でのリポソームからの FD-4 放出速度

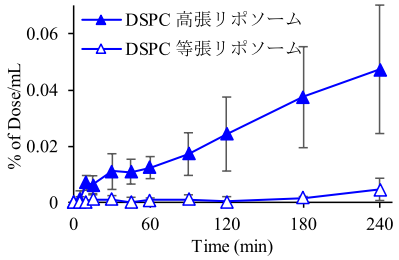

図 2　ラット小腸内投与後の FD-4 血漿中濃度推移

らは，先生のこれまでの圧倒的な量の経験と知識に裏打ちされたものであることは間違いなく，さらに研究とは関係の無いように見えることにも常日頃からアンテナをはり，頭をフル回転させているからなのだと感じる．研究をしているとどうしても考え方や方法が固執してしまうことが多いが，より発想豊かに，そして柔軟に取り組むことができれば，一つの小さなことにも多様な可能性を見出せるのかもしれない．そのためにも，今はもっとどん欲に目の前の実験に取り組み，自分自身の経験，知識を積まなければいけないと強く感じる．

5. 研　究　紹　介

筆者が最初に取り組んだ研究テーマは「生理活性ペプチドの消化管吸収改善」である．例としてインスリンがよく取り上げられるが，生理活性ペプチドは分子量の大きさ，水溶性の高さ，酵素易分解性から経口投与後の吸収率が非常に低く，注射剤として開発されることがほとんどである．インスリンではペン型注射剤が数多く市販されており，刺針の痛みはかなり軽減されているが，人前での服薬は難しく，薬剤の管理にも注意を払わなければいけない．これまで長年にわたって生理活性ペプチドの経口投与システムの開発が試みられてきたものの，実際に臨床での使用が認可された製剤は極めて少ない．そのような中，当研究室では，吸収促進剤を用いず安全にペプチドの吸収を高めるため，消化管上皮細胞の膜近傍で局所的に薬物濃度を高めることによって，消化管吸収を改善できるか，という可能性について検討した．そこで，すでに臨床製剤でも使用されており，生体適合性の高いリポソームを利用し，これにモデル薬物として Fluorescein isothiocyanate-Dextran 4000（FD-4）を封入し，消化管の膜近傍で封入した FD-4 を放出させるというストラテジーをたて，実験を試みた．その結果，脂質によって消化管内溶液中でのリポソームの安定性が異なることが明らかとなり（図 1），ジステアロイルホスファチジルコリン（DSPC）リポソームの内外に浸透圧差を付与することで消化管吸収率の改善が可能であることを明らかにした（図 2）[2]．

一方，最近ではペプチド合成法の進歩に伴い，膜透過性や化学的安定性に優れた合成ペプチドが「特殊ペプチド創薬」としてクローズアップされている．特殊ペプチドの多くは，非天然のアミノ酸を含み，環状構造を持ったペプチドであり，すでに多くの企業が経口剤への応用を目指して開発をスタートしている．しかし，これら環状ペプチドは上述した生理活性ペプチドとは異なり，一般に水への溶解度が極めて低く，経口投与に際しては製剤技術等による溶解性の向上が最大の課題となる．また，溶解度が低い薬物では，投与量を上げても十分な血中曝露が得られず，開発段階での毒性試験が困難になる場合が多い．筆者がこれまで用いてきたリポソームは水溶性・脂溶性薬物両者とも封入可能であることから，合成ペプチドについてもリポソームを応用できるのではないかと考え（図 3），モデル薬物としてシクロスポリン（CsA）を用いて検討を試みた．その結果，CsA の水への溶解度は約 31 μg/mL であるのに対し，リポソーム懸濁液中での濃度は約 1,300 μg/mL と明らかに高い溶解性を示した．続いて，*in vivo* 評価を行うため，CsA 懸濁液，臨床製剤であるネオーラル® 内用液，CsA を封入した DSPC リポソーム，および DSPC よりも相転移温度の低いジパルミトイルホスファチジルコリン（DPPC）リポソームの計 4 群によるラット経口投与実験を行った．その結果，DPPC リポソーム投与群ではネオーラルとほぼ同等の血中

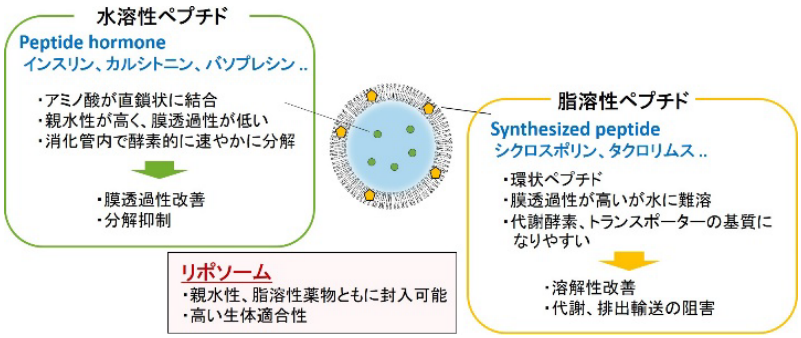

図 3　リポソームを用いたペプチドの消化管吸収改善 strategy

濃度推移を示し，バイオアベイラビリティは 47% と高い消化管吸収性を示した．一方，DSPC リポソームでは懸濁液よりも明らかに高い吸収率（24%）となったものの，DPPC リポソームにはおよばなかった．これは，消化管内溶液中で DSPC リポソームはより安定であるため CsA のリリースが遅かったのに対し，DPPC リポソームは経口投与後，消化管内で速やかに CsA が放出され，膜透過したものと考えられる．

以上，*in vitro* でのリリース実験およびラットを用いた *in vivo* 実験を行うことで，リポソームがペプチドの消化管吸収改善に有用であることが明らかとなり，ペプチドに限らず多くの難溶性薬物の吸収改善への応用可能性が示された．今後は製剤化を目標に，凍結乾燥粉末の調製と吸収の評価を行っていく予定である．

6. お　わ　り　に

これまでの学生，社会人生活を振り返ると，いかに人との出会いに恵まれているかを改めて実感した．研究は時に大きなプレッシャーを感じ，投げ出したくなることもないわけではないが，新たな知見が得られるとまた興味とモチベーションがわいてくるのが不思議な魅力だと感じている．まだまだ未熟で力不足な点ばかりだが，これまで支え，指導してくださった方々に感謝の気持ちを忘れず，これからも一研究者，一教員として成長できるよう邁進していきたい．

最後に，この「若手研究者紹介」執筆の機会をいただいた薬剤学編集委員の先生方に心より感謝申し上げます．さらに，研究のみならず様々なことに関してご指導ご鞭撻を賜りました摂南大学 山下伸二教授，片岡誠准教授，高木敏英准教授，東野晴輝元助教，京都大学 山下富義教授，京都薬科大学 栄田敏行教授，大阪薬科大学 角山香織准教授に深謝致します．

引　用　文　献

1) T. Sakaeda, K. Kadoyama, K. Minami, Y. Okuno, Commonality of drug-associated adverse events detected by 4 commonly used data mining algorithms, *Int. J. Med. Sci.*, **11** (5), 461–465 (2014).
2) K. Minami, A. Takazawa, Y. Taniguchi, H. Higashino, M. Kataoka, T. Asai, N. Oku, S. Yamashita, Challenge for oral delivery of middle-molecular drugs: Use of osmolaritysensitive liposome as a drug carrier in the GI tract, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, **56** Part B, 101041 (2020).