

# 深在性真菌症に対する DDS

長崎大学大学院・医歯薬学総合研究科・感染免疫学講座（第二内科）

泉川 公一・河野 茂\*

## *Current Status of Drug Delivery Systems for Antifungal Drugs*

The number of deep-seated mycosis cases is increasing rapidly along with the extreme advanced technology and highly sophisticated treatment. High mortality of deep-seated mycosis is critical concern, and an appropriate strategy and usage of antifungals is extremely important. The increasing potential efficacy of antifungals using the technology of drug delivery system is one of the reasonable strategies for improving the outcome of these patients with fungal infection. The development of liposomal amphotericin B using liposome is considered as a successful model case of development of newer drugs to improve the potential antifungal activity and reduce the cytotoxic effect using drug delivery system. Other newer antifungal drugs using a variety of drug delivery technology are currently being developed and numerous studies are underway. The main aim of this review is to introduce these developing drugs and the future of management of deep-seated mycosis.

医療技術の進歩に伴い日和見感染症は増加の一途にある。中でも深在性真菌症は致死的な感染症でその治療はきわめて重要である。種類の限られた抗真菌薬を DDS にてさらに改良し、予後を改善することは、予後不良な深在性真菌症では最も求められる。アムホテリシン B は最も古典的な薬剤であるが、副作用のために使用が困難な薬剤であり、DDS 技術の応用で脂質製剤が登場し、DDS 応用が成功したモデルケースの 1 つと考えられる。現在も、新たな技術を駆使した様々な DDS 製剤が開発、研究されている。1 つでも多くの薬剤が登場することを期待する。

*Koichi Izumikawa, Shigeru Kohno\**

*Keywords: drug delivery system, amphotericin B lipid complex, amphotericin B colloidal dispersion, liposomal amphotericin B, nanoparticles*

## はじめに

臓器移植、化学療法、免疫抑制療法などをはじめとした医療技術の向上に伴い、免疫不全患者は増加の一途にあり、日和見感染症である深在性真菌症は増加している。深在性真菌症は予後不良の疾患であり、早期の適切な診断と治療はきわめて重要である。深在性真菌症の原因真菌として、カンジダ属、アスペルギルス属、ニューモシスチスなどが臨床的に多いが、そのほか、クリプトコックス属、接合菌、さらには、頻度は少ないが、輸入真菌症としてコクシジオイデス、ヒストプラズマなどが認められる。久米らの日本剖検輯報によると剖検症例からの真菌検

出は肺からの検出が他臓器に比較すると圧倒的に多く、その中でもアスペルギルス属はもっともよく検出される真菌であると報告されている(図 1)<sup>1)</sup>。

深在性真菌症の治療について、本邦で使用可能な抗真菌剤は、4 クラス 10 種類の抗真菌薬が使用されている。最近 10 年間で、新たな抗真菌薬の登場、新たな剤型の登場で、深在性真菌症の治療の選択肢は増えた。しかしながら、予後を劇的に改善させるまでには至っていない。さらに、それぞれの抗真菌薬には、特徴的な副作用、薬剤間の相互作用などを認め、一般臨床家においては、容易に使いこなせない。十分な効果を有し、使いやすい新たな抗真菌薬の開発は強く求められるが、ほかの微生物薬の開発状況に準じて、その開発は滞っている現状がある。一方、従来、真菌の薬剤耐性はあまり問題となつて

\* Department of Molecular Microbiology and Immunology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

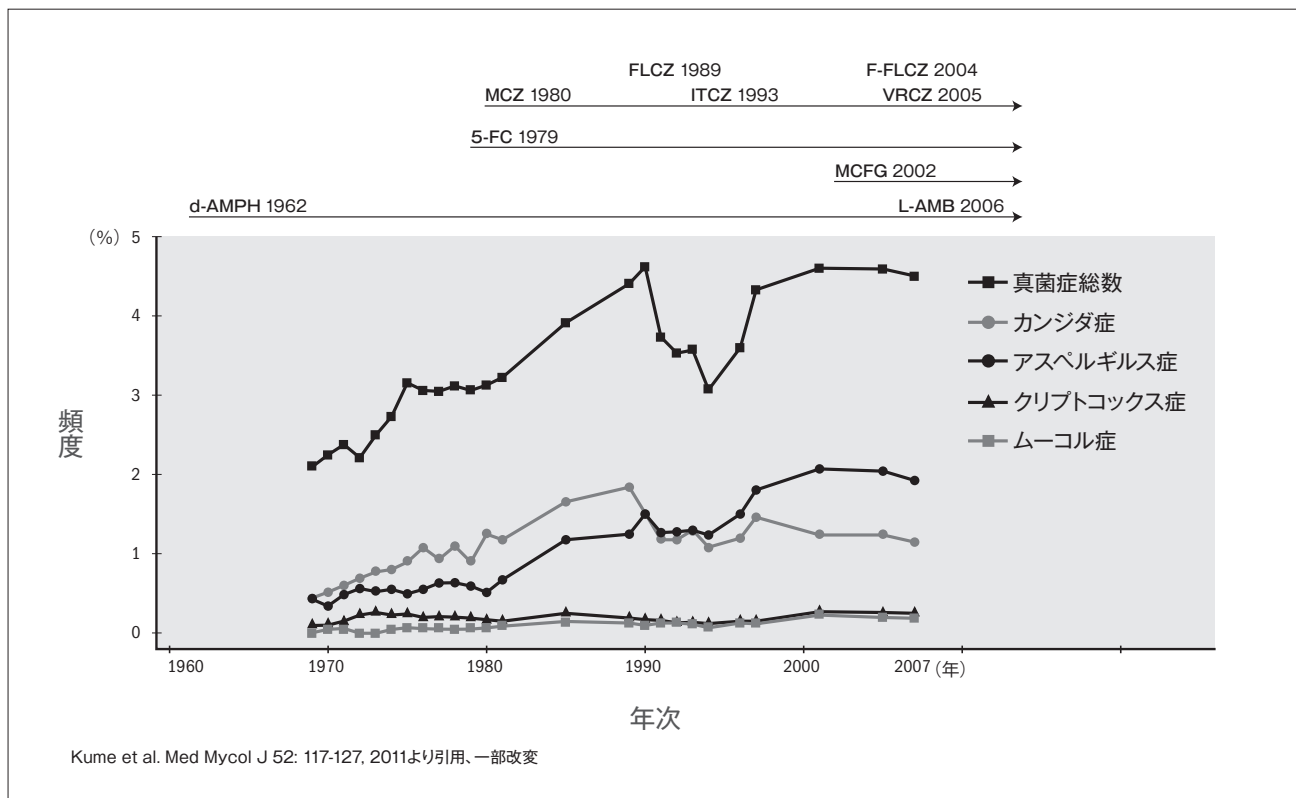


図1 剖検総数に対する深在性真菌症の経年的発生頻度と抗真菌薬

いなかったが、アゾール系抗真菌薬に耐性をしめすカンジダ属の出現に始まり、近年は、アスペルギルス属の同剤に対する薬剤耐性も問題となっており深在性真菌症の治療に関して問題は多い。

抗真菌薬による深在性真菌症治療において、治療効果に及ぼす因子は多岐にわたる(図2)<sup>2)</sup>。他の感染症と決定的に異なる点は、宿主の免疫状態が総じて低下している点である。その上で、治療効果の向上を目指す必要がある。抗真菌薬に対する Drug Delivery System (DDS) の応用は、さらなる予後の改善、副作用の軽減につながる可能性を秘めており、注目される分野である。DDSを用いた抗真菌薬としては、アムホテリシンBの脂質製剤、アゾール系抗真菌薬のイトラコナゾールなどが使用されている。

本総説では、現在、臨床で用いられている抗真菌薬の特徴を示し、アムホ

テリシンB脂質製剤の種類と特徴、臨床的エビデンス、さらには、現在、開発中の薬剤、今後の展開について解説する。

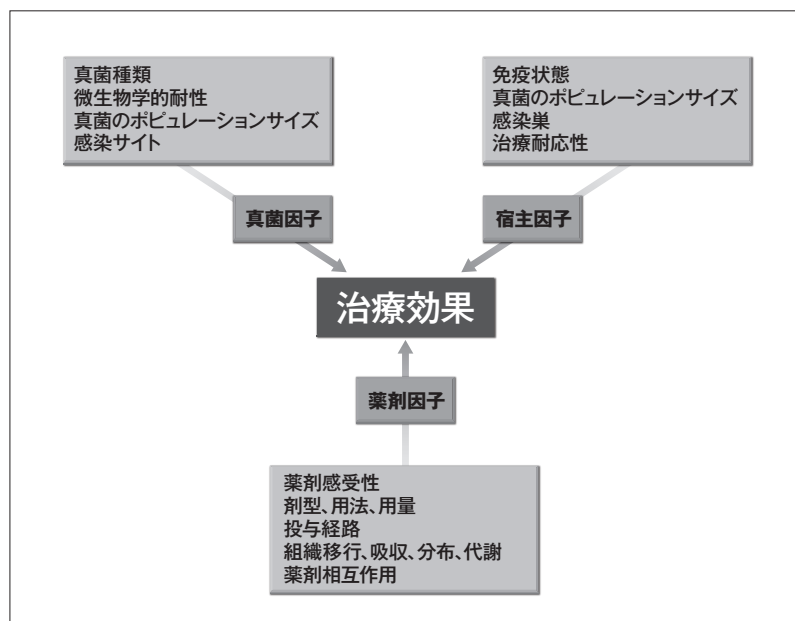


図2 抗真菌薬による深在性真菌症治療に及ぼす因子

## 抗真菌薬の種類と特徴

抗真菌薬は大きく分けてポリエン、ピリミジン、アゾール、カンディン系の4つのタイプに分類される。それぞれの作用点は異なっており主な作用点を図3に示す。表1には本邦で上市されている抗真菌薬の種類と適応を示す。実際の使用に関して、最大の効果を得るために、PK/PD理論の応用は、抗真菌薬でも不可欠であり、PK/PDパラメータに関するデータを表2に示す<sup>3)</sup>。ピリミジンは単独で使用されることはほとんどないので、本稿から割愛し、それ以外のクラスの薬剤について概説する。

### ①アゾール系抗真菌薬（種類、作用機序、特徴、DDSの応用）

アゾール系抗真菌薬にはイミダゾール系のミコナゾール(Miconazole: MCZ)、トリアゾール系として、フルコナゾール(Fluconazole: FLCZ)、ホスフルコナゾール(Fos Fluconazole: F-FLCZ)、イトラコナゾール(Itraconazole: ITCZ)、およびボリコナゾール(Voriconazole: VRCZ)があり、MCZとF-FLCZ(FLCZのプロドラッグ)は注射薬のみで、その他は経口薬と注射薬がある。また、ITCZの経口薬にはカプセル剤と内用液がある。MCZはのちに開発され、より安定性の増したトリアゾール系に取って変わられ、現在、臨床的に使用されることは少ない。

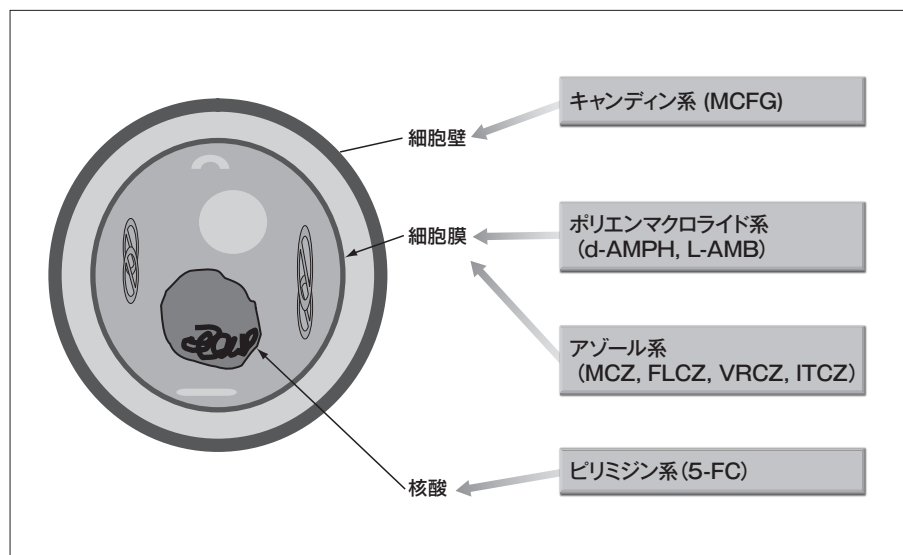


図3 主な抗真菌薬の作用点

アゾール系抗真菌薬の作用機序は、真菌細胞膜の脂質成分であるエルゴステロールの生合成経路上の酵素であるラノステロール14 $\alpha$ -デメチラーゼを阻害し、真菌細胞膜の合成を阻害することにより作用する(図3)。アゾール系抗真菌薬は、AUC/MICが臨床効果に相関することが報告されており<sup>4)</sup>、投与初期に通常、常用量の2倍量の負荷投与(ローディングドーズ)を行い、早期に十分なAUCを引き上げることが重要である。一方、PKに関しては、同じアゾール系抗真菌薬でも、血中半減期、血漿蛋白結合率、排泄経路はそれぞれ異なっており、深在性真菌症の原因真菌と感染部位に応じた投与戦略が求められる。呼吸器領域の深在性真菌症におけるアゾール系抗真菌薬の使用法として、アスペルギルス症に対してはITCZ、VRCZが有効であり、FLCZ(F-FLCZ)は無効であることに留意する(表1)。クリプトコックス症については、いずれのアゾール系抗真菌薬も有効であるが、良質なエビデンスが確立しているのはFLCZである。一方、接合菌症に対しては、本邦で上市されているいずれのアゾール系抗真菌薬も無効であるが、海外ではポサコナゾール(Posaconazole)が使用されている。実際の投与においては、PK/PD理論をもとに、初期のAUC確保のために、投与初期に負荷投与を行う。特殊病態下での投与について、腎機能障害時においては、FLCZはクレアチニン・クリアランスに応じた減量の必要がある。ITCZとVRCZの注射剤については、その溶解剤としてITCZではヒドロキシプロピル- $\beta$ -シクロデキストリン、VRCZではスルホブチルエーテル $\beta$ -シクロデキストリンナトリウム(DDSの応用として後述する)を用いており、クレアチニン・クリアランスが30ml/min未満の場合は禁忌(VRCZは原則禁忌)となる。アゾール系抗真菌薬に共通して認められる副作用として、伝導障害などをはじめとした

	薬剤 (略号)	剤型	商品名	上市年	適応の有無				
					カンジダ症	クリプトコックス症	アスペルギルス症	接合菌症	
ポリエン系	アムホテリシン B (d-AMPH)	注射薬	ファンギゾン	1962	○	○	○	○	
	アムホテリシン B リボゾーム製剤 (L-AMB)	注射薬	アムビゾーム	2006	○	○	○	○	
ピリミジン系	フルシトシン (5-FC)	錠剤/顆粒剤	アンチコル	1979	○	○			
アゾール系	イミダゾール系	ミコナゾール (MCZ)	注射薬	フロリード F	1986	○	○	○	
		トリアゾール系	フルコナゾール (FLCZ)	カプセル経口薬	ジフルカンカプセル	1989	○	○	
	注射薬			ジフルカン静注	1989	○	○		
	ホスホフルコナゾール (F-FLCZ)		注射薬	プロジフ	2004	○	○		
	イトラコナゾール (ITCZ)		カプセル経口薬	イトリゾールカプセル	1993	○	○	○	
			経口服液薬	イトリゾール内用液*	2006	○	○	○	
			注射薬	イトリゾール注	2006	○	○	○	
	ボリコナゾール (VRCZ)	錠剤	ブイフェンド錠	2005	○	○	○		
注射薬		ブイフェンド静注用	2005	○	○	○			
キャンディン系	ミカファンギン (MCFG)	注射薬	ファンガード	2002	○		○		

\* 保険適用は口腔咽頭カンジダ症、食道カンジダ症のみ

表 1 本邦で使用されている抗真菌薬の種類と適応

	ポリエン系		アゾール系						キャンディン系
	AMPH-B 注	L-AMB	MCZ 注	FLCZ	ITCZ カプセル*1	ITCZ 内用液*1	ITCZ 注*1	VRCZ	MCFG*2
血中濃度 (μg/mL) (Cmax)	0.5~3.5 (1.0mg/kg)	16.19 (2.5mg/kg)	0.96~3.5 (200~800mg)	0.76~1.88 (25~100mg)	未変化体: 0.22 OH 体: 0.68 (200mg)	未変化体: 0.69 OH 体: 1.00 (200mg)	未変化体: 3.2 OH 体: 0.56 (200mg)	4.5 (6.0mg/kg)	1.42~2.39 (25mg/日、7日後)
血中濃度半減期	約 24 時間	9.8 時間	0.69 時間 (α相) 21.74 時間 (β相)	30 時間	14~28 時間 (β相)	24~29 時間	22 時間	6.4 時間	11.6~15.2 時間
血漿蛋白結合率	90~95%	95.9~96.9%	95~98%	約 10%	99.8			58%	99.80%
髄液移行性 (対血中濃度移行性)	2.5~3.3% (濃度 0.1 μg/mL 以下)	データなし	3~48%	52~62% (静注)	データなし			22~100%	データなし
排泄 (%) *3	尿(9.1) < 糞便(29.4) (未変化体 72 時間)	尿、糞便中に約 10	尿(15.7) < 糞便(68)	尿(71.8) > 糞便	尿(35.2) < 便(54.1)	尿(0.1 未満) < 便(3.62)	尿(0.3) 便(データなし)	尿(約 80) > 便(約 20)	尿(14.4) < 糞便(83.5) (ラット)
代謝の有無	?	?	主に肝代謝	ほとんど代謝されない	主に肝代謝			主に肝代謝	主に肝代謝
PD	PAE*4	長い		長い				長い	
	PK/PD パラメータ	Peak/MIC		AUC/MIC				Peak/MIC	
	Magnitude*5	4(10*6)		25*6				3(10*6)	

- \* AMPH-B, ITCZ は血液透析で除去されないことが報告されている。
- \*1 未変化体と活性代謝物について示した。両者は同等の抗真菌活性をもつ
- \*2 7 日間反復投与のデータ
- \*3 VRCZ, MCFG, ITCZ-OS, ITCZ-IV は未変化体についての成績
- \*4 Postantibiotic effect
- \*5 動物実験において最大効果の 50%有効性を示す
- \*6 最大効果

深在性真菌症の診断・治療ガイドライン 2007 より抜粋、一部改変

表 2 主な抗真菌薬の薬物動態(PK)と薬動力学(PD) (PDの項を除き、各製品添付文書より抜粋)

心機能障害、肝機能障害、腎機能障害、消化管症状などがある。それ以外に、各種薬物間との相互作用があるため注意を要する。アゾール系抗真菌薬における DDS の応用のポイントは、剤型の追加、それに伴う吸収の改善である。

## ②ポリエン系抗真菌薬（種類、作用機序、特徴、DDS の応用）

アムホテリシン B (Amphotericin B: AMPH-B) 製剤は古くからのデオキシコール製剤 (d-AMPH、経口・注射薬) と、近年登場した注射用のリポソーム製剤 (Liposomal amphotericin B: L-AMB) がある。作用機序について、ポリエン系化合物のマクロライド環は共役二重結合を含む疎水性領域と OH 基に富む親水性領域からなる。この両親媒性の性質が作用機序に大きく関わり、AMPH-B は真菌の細胞膜内に挿入され、疎水性領域で細胞膜のエルゴステロールと特異的に結合、親水性領域がおのおの内側に来るような配位をとり、膜貫通性のチャンネルが形成され、結果として膜の透過性が亢進、 $K^+$  をはじめとした細胞内容成分が放出され、 $K^+$  の代わりに細胞内に流入した  $H^+$  による pH の低下が細胞に致命的な影響を及ぼし、殺菌的な抗真菌活性を示すと考えられている (図 3)。従って、接合菌も含めた幅広い真菌に対して、強力な殺真菌活性を有する。しかし、AMPH-B とエルゴステロールとの結合性はコレステロールよりも高い傾向にあるものの、真菌のエルゴステロールに特異的に結合するわけではなく、ヒトの体内で、特に高いコレステロール濃度をもつ腎細胞やリン脂質が多い脳神経細胞に選択的に結合し、細胞破壊をきたし、腎障害やヒスタミン様のアレルギー反応 (悪寒、戦慄、悪心、嘔吐など)、低カリウム血症などの副作用を生じると考えられている。そのため、優れた抗真菌作用を持つにもかかわらず、感染症を抑えるために必要な量や期間、薬剤を投与することができないことが問題点となる。従って、この点を改善すべく DDS が応用され、AMPH-B の脂質製剤が開発、応用され、現在、3 種類の脂質製剤が存在するが、本邦では L-AMB のみを使用される。ポリエン系の PK/PD は Peak/MIC が臨床効果に相関する<sup>4)</sup>ことより、1 回の投与

量を増やし、より短時間で最大血中濃度を上げることが重要である。L-AMB は  $C_{max}$  のデータからも、AMPH-B の投与量として、d-AMPH の約 5 倍の薬剤を投与することが可能で MTD (Maximum Tolerated Dose: 最大耐用量) は 15 mg/kg/day 以上となっている点も評価できる。髄液移行に関しても、d-AMPH に比較して L-AMB の移行性は良好で、クリプトコックス髄膜炎治療に d-AMPH と同等の治療効果を示したと報告されている<sup>5)</sup>。本来、炎症のない脳血液関門を AMPH-B は通過できないが、脳髄膜炎により局所の炎症があり、血管内皮細胞の破綻が生じれば、その間隙から薬剤が漏出すると考えられている<sup>6)</sup>。

PK/PD 理論から、高用量を短時間で投与することが肝要である。しかし、急速な高用量投与は、悪寒、発熱、血管痛など投与関連副作用が出現しやすくなる。d-AMPH ではこれらの投与関連副作用軽減のために、24 時間持続点滴や少量からの漸増投与を経験的に行っていた例もあるが、PK/PD 理論からこれらの投与法は治療効果を損なっていた可能性が指摘される。理想的な投与時間は、1~2 時間以内とされているが、実際の臨床現場では、2~3 時間以上かけて投与するケースも多いと思われる。さらに、腎毒性の強い薬剤であるため、特に腎機能障害を有する患者に使用する場合は、その使用に抵抗があるものの、投与量の減量などに関して、糸球体濾過量に応じた具体的な方法は示されていない。AMPH-B の副作用は、悪寒、戦慄、発熱、嘔気・嘔吐、腎機能障害、低 K 血症、血栓性静脈炎などで、いずれも高頻度に見られる。また、投与期間が長くなれば、その発現頻度も増え、より重篤な腎毒性や骨髄抑制なども出現する。L-AMB では、これらの副作用発現はかなり軽減されており、点滴時間の短縮が可能となっているものの個体差も大きい (後述)。特に低 K 血症や腎機能障害により投与継続が困難になるケースが少なからずある。d-AMPH では腎障害は AMPH-B の総投与量が 5g を超えると不可逆になると報告されており、臨床検査値などの十分な監視が重要である。一方、副作用を恐れるがあまりに、治療が不十分 (投与量や期間の不足) となることは避けたい。実際の臨床応用として

AMPH-B を使う場合、生命予後に影響しないような副作用に関して、発熱に対する解熱薬、嘔気・嘔吐に対する制吐薬、低 K 血症に対する K 製剤補給などであらかじめ対処することが可能であり、積極的に対処することが推奨されている。

### ③キャンディン系抗真菌薬(種類、作用機序、特徴、DDS の応用)

本邦においては、ミカファンギン (Micafungin: MCFG) が上市されている。本剤は日本で開発された抗真菌薬であり、作用機序は、真菌の細胞壁形成に必須である (1,3)- $\beta$ -D-glucan の生合成を非競合的に阻害することで作用を発揮する。ヒトの細胞に存在しない細胞壁が標的であることから臨床的に副作用が少ない理由の1つとなる(図3)。

クリプトコックス症、接合菌症、トリコスポロン症には効果がない。アゾール系抗真菌薬に低感受性である non-*albicans Candida* を含むカンジダに対して殺真菌活性を示し、アスペルギルス属にも優れた抗真菌活性(静真菌的)を示す。本剤の PK/PD パラメータは Peak/MIC が臨床効果に相関する<sup>7)</sup>ことより、ポリエン系薬と同様に、1回の投与量を増やし、より短時間で最大血中濃度を上げることが理論的には最もよいと考えられる。投与量に関して、重症アスペルギルス症では 300mg/day までの使用が認められるものの dose-dependent に効果が得られるか、あるいは副作用の発現率についてはデータが少なく、今後のエビデンスの集積が待たれるところである。アゾール系薬やポリエン系薬に比較して副作用が少なく、相互作用も少ないため、造血幹細胞移植など特殊な病態での予防投与などにも使用しやすく、従来の抗真菌薬と異なる作用機序から、侵襲性アスペルギルス症の併用薬のカウンターパートの薬剤として使用されることも多い。ただし、併用療法に関する明確なエビデンスはほとんど存在しない。また、腎障害は dose limiting factor とはならず、腎機能低下患者においても、常用量の使用が認められる。一方、本薬は肝代謝であることより、肝機能障害者では十分な注意が必要である。副作用として、肝機能障害に注意する。そのほか、血管炎・血管痛などの局所症状、嘔気・嘔吐・下痢の消化器症状、

低 Mg 血症、血液障害、アナフィラキシーの報告もあるがいずれも頻度は低く、現存する抗真菌薬のうち、最も使いやすい薬剤であると考えられる。本剤は分子量が大きく、経口剤が存在しないのが欠点である。現在、DDS が応用された基礎研究はほとんど存在しない。

### 抗真菌薬における DDS の現状

DDS は、「必要な薬剤を、必要な時間に、必要な量を作用させるための仕組みや技術」を指す。深在性真菌症のような予後不良の疾患においては、既存の抗真菌薬の DDS による改良はきわめて重要な技術である。現在、DDS を用いた抗真菌薬で上市されているのは、ポリエン系抗真菌薬の脂質製剤3種類、アゾール系抗真菌薬の一部である。AMPH-B は上述のポリエン系抗真菌薬で、抗真菌薬のうち最も古くに発見された薬剤で 1955 年にベネズエラで収集された *Streptomyces nodosus* より分離された。アスペルギルス属をはじめとした各種病原真菌に対して、幅広く、殺真菌的に作用するため、1962 年に上市されて以来、現在でも深在性真菌症の治療には不可欠な薬剤である。しかし、抗真菌活性は非常に優れているものの、腎障害、骨髄抑制、投与時の血管痛など重篤な副作用の発現頻度が高いのが最大の欠点である。本剤による治療が必要とされる患者の多くは、総じて免疫不全に陥るような全身状態不良の患者などが多いことも相まって、十分な期間、量が投与できず治療に難渋することが多い<sup>8)</sup>。近年、アゾール系やキャンディン系抗真菌薬などの新しい抗真菌薬が登場した今でも、本剤は重要な抗真菌薬である。例えば、接合菌症には、本剤以外の薬剤は一部のアゾール系抗真菌薬 (Posaconazole) を除いて無効である。本邦では、Posaconazole は認可されていないため、事実上、治療薬が1種類となってしまう。従って、本剤を長く、安全に、かつ、高用量で用いる必要性はきわめて高い。DDS はこれらの問題点を解決できる可能性がある手段として注目され、AMPH-B は、DDS 応用のモデル薬剤として、様々な開発、検討が行われてきた。

一方、アゾール系抗真菌薬は、1980 年代から

FLCZ を筆頭に数種類が開発されてきた、本剤は、AMPH-B 製剤に比較して格段に安全性は向上し、使いやすい薬剤であったが、FLCZ を除いて水に溶けたい点が問題で、注射剤の開発が困難であった。しかし、ここでも、DDS の技術が利用され、シクロデキストリンを用いて技術的にクリアすることが可能となり、ITCZ や VRCZ の注射剤も使用されるようになった。このように、DDS は既存の抗真菌薬にも使用されて予後改善に貢献しているとともに、さらなる改良を求めてさまざまな研究、開発が行われている。

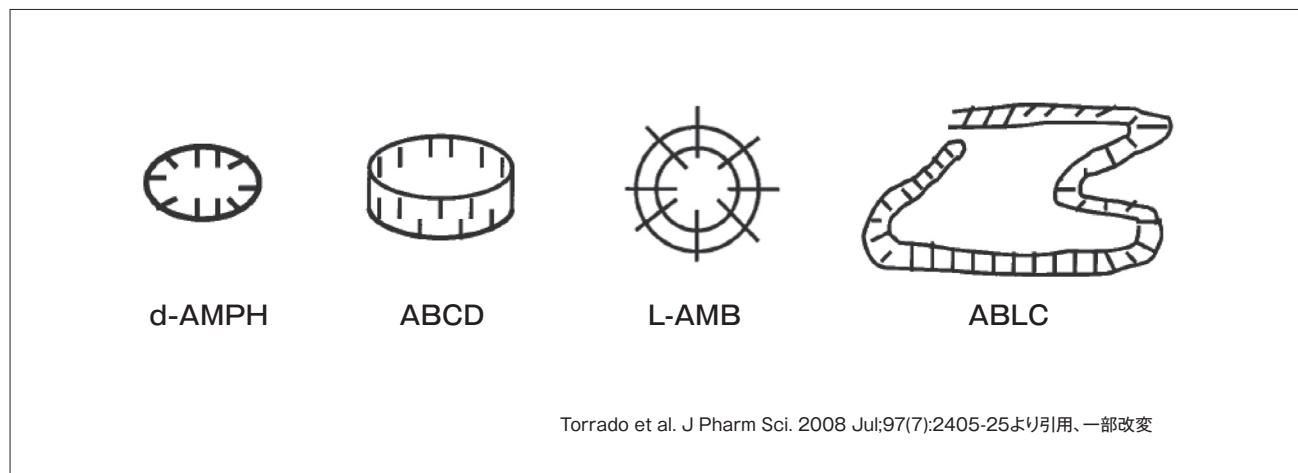
### ポリエーテル系抗真菌薬における DDS

AMPH-B の脂質製剤は、文字通り、AMPH-B にコレステロールやリン脂質などの脂質を添加したものである。脂質を添加することによりヒトの細胞質膜に存在するコレステロールと AMPH-B の反応性が低下し、生体細胞への取り込みも抑制される。また、体内動態も d-AMPH とは異なっており、腎

への移行が抑制されるため、臨床上、もっとも問題となる副作用である腎障害も軽減すると考えられている。3 種類の脂質製剤が上市されているが、本邦では L-AMB のみが上市されている。表 3 に AMPH-B 脂質製剤の商品名、使用される脂質、大きさなどを示し、図 4 に形状を示す<sup>9)</sup>。構造の違いにより体内での薬物動態が変化、薬理作用にも特徴がある。それぞれの抗真菌活性については、d-AMPH と比較してほぼ同等である<sup>10)</sup>。一方、副作用についても、毒性は明らかに低下し、d-AMPH に比べて高用量の薬剤が投与可能となっている。Ostrosky-Zeichner らによると、これらの AMPH-B 脂質製剤の臨床的有用性について、10 の臨床試験の結果を検討した結果、少なくとも、いずれの脂質製剤も d-AMPH より劣った成績をしめさず、かつ、安全性においても優れていたと報告している<sup>11)</sup>。一方で、深在性真菌症の複雑な臨床背景など、評価方法の違いなどから、この成績から、脂質製剤間の性能を比較するのは困難であると報告されている<sup>12,13)</sup>。それぞれの脂質製剤について紹介する。

一般名	deoxycholate-amphotericin B	AMPH-B lipid complex	AMPH-B colloidal dispersion	liposomal AMPH-B
略語	d-AMPH	ABLC	ABCD	L-AMB
商品名	Fungizone <sup>®</sup>	Abelcet <sup>®</sup>	Amphocil <sup>®</sup> , Amphotec <sup>®</sup>	AmBisome <sup>®</sup>
脂質	—	DMPC/DMPG	硫酸コレステロール	HSPC/Chol/DSPG
形状	ミセル	シート状	ディスク状	リボソーム
大きさ	< 0.4 $\mu$ m	1.6~11 $\mu$ m	直径 115nm、厚さ 4nm	80nm
国内開発	上市済み	なし	なし	上市済み

表 3 AMPH-B とその脂質製剤と特徴



Torrado et al. J Pharm Sci. 2008 Jul;97(7):2405-25より引用、一部改変

図 4 AMPH-B 脂質製剤の形状

### 1. AMPH-B lipid complex (ABLC; Abelcet®)

ABLCはジミリスチジン酸ホスファチジルコリン(DMPC: dimyristoyl phosphatidylcholine)、ジミリスチジン酸ホスファチジルグリセロール(DMPG: dimyristoyl phosphatidylglycerol)とAMPH-Bが7:3:3(モル比)で構成されている複合体で、商品名はAbelcet®と呼ばれる。本剤はその構造上、AMPH-B脂質製剤の中でもっとも大きく、1.6~11 $\mu$ mでシート状の構造物(図4)である<sup>9,14)</sup>。このため、血中の網内系の細胞によく取り込まれるため、これらの細胞の多い肝臓、脾臓、肺の臓器では局所濃度が高くなるが、相対的に腎臓での濃度は低くなる。結果的に、腎局所での濃度が低下し、副作用が少なくなると考えられている。表4に動物実験におけるAMPH-Bの組織内濃度の比較をしめす<sup>9)</sup>。

組織	ABCD	ABLC	L-AMB
肝臓	2X	2X	0.5-1 X
脾臓	0.4X	5X	3X
肺	NA	2X	0.2X
腎臓	0.1X	0.2X	0.2X
脳	0.1X	0.2X	1.2X

1mg/kgのAMPH-B脂質製剤を経静脈投与後、各組織におけるAMPH-B濃度を測定し、1mg/kgのAMPH-Bの投与時のデータを1として比率でと比較した。NA: not applicable

Torrado et al. J Pharm Sci. 2008 Jul;97(7):2405-25 より引用、一部改変

表4 アムホテリシンB脂質製剤におけるAMPH-Bの組織濃度比較

### 2. AMPH-B colloidal dispersion(ABCD; Amphotec®, Amphocil®)

ABCDは硫酸コレステロールとAMPH-Bが1:1(モル比)で構成される複合体である。ディスク状の形状で、直径115nm、厚さ4nmの大きさである(図4)<sup>9,14)</sup>。体内動態は、ABLCに類似しているが、網内系の中でも特に肝臓に蓄積しやすい。一方、Abelcet®同様に、腎臓や脾臓、肺などでは濃度が低くなるため、腎障害の発現頻度は低く抑えられるようになる(表4)。また、肝機能異常発現率については、d-AMPHより優れている<sup>15)</sup>。しかし、静脈注射に伴う副反応の発現率がd-AMPHと比較して高いため使用頻度は低くなっている<sup>16)</sup>。

### 3. liposomal AMPH-B (L-AMB; AmBisome®)

L-AMBはNeXstar社が開発したAMPH-Bのリポソーム化製剤で、水素添加大豆リン脂質(HSPC: phosphatidylcholine)、ジアスアロイルホスファチジルグリセロール(DSPG: distearoyl phosphatidylglycerol)、コレステロールを成分とするリポソームの脂質二重膜にAMPH-Bが埋め込まれた球形の構造となる(図4,5)<sup>9,14)</sup>。L-AMBの最大の特徴は、単層膜リポソームであるため、その粒子径が小さいことで、他のAMPH-Bの脂質製剤と比較しても、網内系細胞に取り込まれにくい性質をもつ(表4)。さらに、毛細血管壁を通過できないため、正常の組織、臓器に対する移行性も低い。これらの特徴から、L-AMBは血中に長時間滞留し、標的である炎症の起こっている感染病巣へは良好に移行すると考えられている。L-AMBの作用機序は、本剤が*Candida*や*Aspergillus*などの真菌表層に結合、それによりリポソーム構造が壊れ、中からAMPH-Bが遊離する。遊離したAMPH-Bは、真菌細胞膜のエルゴステロールに結合し、前述の機序にて、殺菌的に作用すると考えられている。真菌細胞に直接作用するのはAMPH-Bそのものであるため、*in vitro*における抗真菌活性は、AMPH-Bとほぼ同等である<sup>17)</sup>が、リポソームに埋め込まれているという修飾のため、*Candida*などの酵母様真菌、*Aspergillus*などの糸状菌に対しては、d-AMPHより若干、MIC値が高くなることもある<sup>18)</sup>。

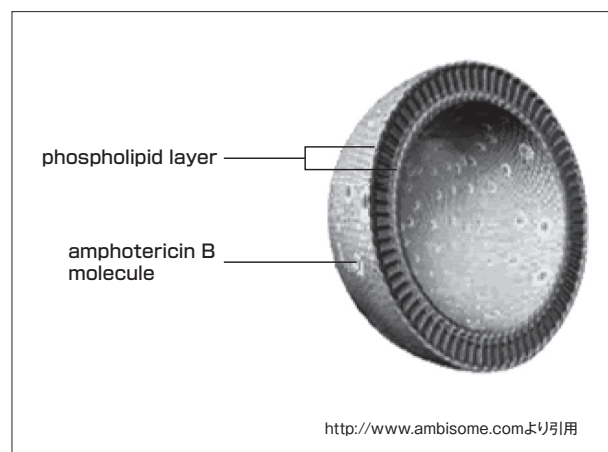


図5. L-AMBの構造



## L-AMB 製剤の臨床的有用性と d-AMPH との比較

AMPH-B の脂質製剤のうち、唯一。本邦で上市されている L-AMB について *in vivo*、臨床研究のデータについて詳述する。

### ① *in vivo* における検討

Groll らは、ウサギの *C. albicans* 感染モデルにおいて d-AMPH との比較試験を行っており、L-AMB が d-AMPH に比較して有意に血液中の濃度が高く、結果的に脳局所における高い薬剤濃度を保つことができるため、脳内の *C. albicans* の除菌にも有効であった<sup>19)</sup>と報告している。また、*A. fumigatus* によるウサギの侵襲性肺アスペルギルス感染モデル<sup>20)</sup>などでも有効性が評価されており、d-AMPH と同量の L-AMB にて同等の治療効果が認められ、L-AMB の d-AMPH に対する非劣性が証明された。さらに L-AMB については、その低毒性によるメリットが活かされ、L-AMB を増量することが可能であり、結果としてより優れた効果をもたらすことも証明されている。それ以外にも、*Coccidioides immitis* によるウサギの髄膜炎モデル、*C. albicans* や *C. neoformans* のマウスの全身感染モデル<sup>21)</sup>、*C. neoformans* の髄膜炎モデルなどでその有効性は検討され、いずれも良好な成績をおさめている。

### ② 臨床的有用性

Walsh らは、化学療法中の血液悪性腫瘍患者、ガン患者、骨髄移植患者に発症し empiric therapy が無効であった発熱患者を対象として d-AMPH と L-AMB の有用性を比較検討した。両群において治療成功率、生存率、解熱率などにおいて有意差は認めなかったが、副作用である発熱、悪寒、腎毒性などの有害事象発現率は有意に L-AMB で少なかったと報告している(表 5)<sup>22)</sup>。

同様に、VRCZ と比較した非劣性試験の検討では、L-AMB に対する VRCZ の非劣性は証明されなかった。しかしながら、ブレークスルー感染は L-AMB 群で有意に多く、投与に伴う副作用の発現率、腎毒性の発現率も L-AMB 群で多かったと報告されて

いる<sup>23)</sup>。また、キャンディン系抗真菌薬とのランダム化比較試験では、有効性において L-AMB に対するキャンディン系抗真菌薬の非劣性が証明され、また、副反応における投与中止例もキャンディン系抗真菌薬投与群で有意に低かったと報告されている<sup>24)</sup>。また、クリプトコックス感染症においては、AIDS 患者におけるクリプトコックス髄膜炎症例における d-AMPH との比較試験において d-AMPH とほぼ同等の有効性が確認されている。さらに、ヒストプラズマ感染症においては、d-AMPH より臨床的に有効であったと報告されており<sup>25)</sup>、リーシュマニア感染症における有効性も確認されている<sup>26)</sup>。

### ③ 安全性と耐薬性

L-AMB の副作用は、当然のことながら d-AMPH に準じたものがほとんどであり、悪寒、発熱、悪心、電解質異常などが中心となるが、その発現頻度は d-AMPH より明らかに低い(表 5)。臨床的にもっとも危惧される腎機能障害も、他の報告と併せても、d-AMPH に比較すると約 1/3~半分程度に軽減されると考えられる<sup>22,27)</sup>。

静脈注射に伴う特異的な副反応としては、胸痛<sup>28)</sup>、腹痛、顔面紅潮などが知られている。Roden らの報告によると 64 施設の 84 人の L-AMB 投与患者で検討した結果、20%に静注に伴う副反応が出現した。しかし、いずれも軽微の副反応で、投与を中止せざるを得ないような症例はまれで、ほとんどが可逆性であったと報告している<sup>29)</sup>。さらに、

	d-AMPH (n=344)	L-AMB (n=343)
悪寒・硬直	54.4	18.4
発熱	43.6	16.9
悪心	10.2	12.2
嘔吐	8.1	6.1
呼吸困難	7.3	4.7
高血圧	11.3	2.3
低血圧	8.1	3.5
頻脈	12.5	2.3
低 K 血症	11.6	6.7
Cr 上昇	49.4	29.4

(%)

Walsh TJ et al. N Engl J Med. 1999 Mar 11;340(10):764-71 より引用、一部改変

表 5 AMPH-B と L-AMB の副作用の比較

Walshらは、糸状菌による深在性真菌症患者における最大耐用量試験を行っているが、その中で、最大耐用量は15mg/kg/day以上と報告している<sup>30)</sup>。このように、L-AMBにおいては、d-AMPHの最大の欠点を十分にカバーするDDSによる改良がなされている。

#### ④医療経済

L-AMBに限らず、AMPH-Bの脂質製剤は、薬価が非常に高い。本邦におけるL-AMBの薬価はd-AMPHと比較すると約10倍にもなる。医療経済学的見地から、L-AMBとd-AMPHの比較をした場合、薬価によりL-AMB投与群の医療費は明らかに高くなるが、薬価を除いた費用について比較すると、L-AMBを使用したことによる腎障害やその他の副反応の回避により、L-AMB投与群が安くなる傾向にあると報告する研究も存在する<sup>31)</sup>。

### DDSを用いたポリエー系抗真菌薬開発の現状

前述のように、AMPH-Bに対するDDSの応用は、1つのモデルとして、さまざまな開発、研究が行われている。開発中の代表的なAMPH-B製剤についてその特徴を示す。いずれの薬剤もd-AMPHやL-AMBと比較して、総じて良好な成績をしめすものが多いが、まだ、*in vitro*での検討や動物実験などの基礎的データである。それぞれの薬剤について、コスト、副作用などさまざまな課題が残されており、実用化される目処のある薬剤はきわめて限られる。

#### ① Pegylated liposomes (ポリエチレングリコール修飾リポソーム)

L-AMBをポリエチレングリコールにより修飾することにより、リポソーム表面に水相を形成し、シールドの役割をなす。結果として、単核食細胞系による異物認識を回避し、血中滞留性を高めることができるとしている。侵襲性肺アスペルギルス症マウスモデルでも用量依存性に有効性が増した<sup>32)</sup>。

#### ② Microemulsions(マイクロエマルジョン)

ミリスチン酸イソプロピル、大豆レクチン、

Tween-80などを用いたAMPH-Bのマイクロエマルジョンのいくつかの報告もある<sup>33-35)</sup>。エマルジョン化された製剤はいずれも、対症薬であるAMPH-Bより毒性が低いことが示されており、マウスのカンジダ感染モデルでは、d-AMPHに比較して生存率の上昇を認めている<sup>36)</sup>。しかし、エマルジョン化の際に使用するサーファクタント量による毒性が課題であり、臨床試験開発には至っていない。

#### ③ Cochleate(コクリエート)

コクリエートは、その中に生体分子を組み込む安定な不溶性脂質—二価カチオン構造をさす。図6に示すように螺旋状の安定な構造となっており、炭水化物、ビタミン、無機質、ポリヌクレオチド、ポリペプチド、脂質などをその構造の中に内包することができ、外部からのさまざまな環境の変化や有害物質から、内部の分子を守ることができる。結果と

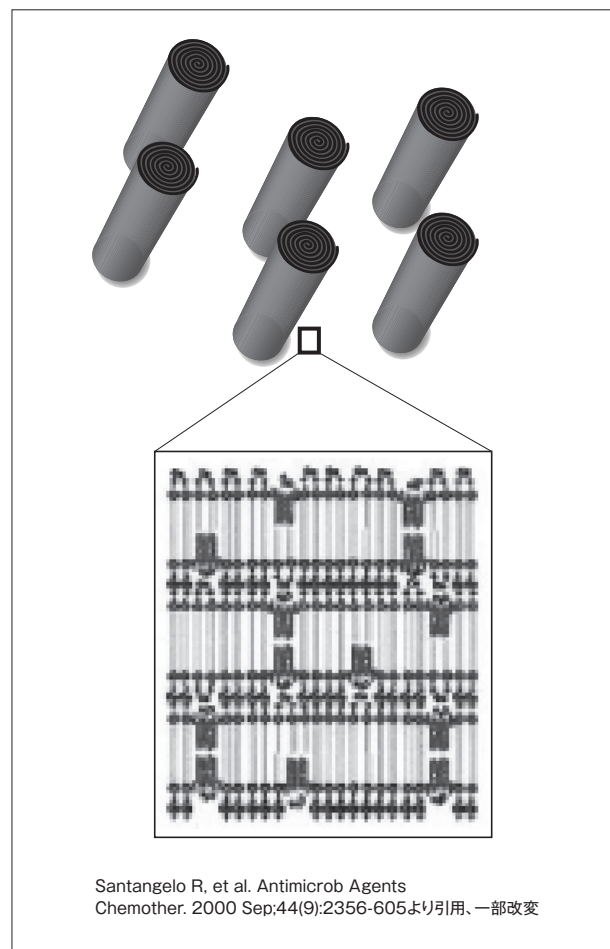


図6.Cochleate 剤の構造

して、効率的に生体分子を宿主中の標的部位へ送達することが可能となる。経口投与に適した DDS 技術であると考えられる。経口可能な AMPH-B コクリエート剤の開発が行われ、カンジダやアスペルギルスのマウス感染モデルにて有効性を示している<sup>37-39)</sup>。ただし、現状における臨床試験の開発状況は不明である<sup>40)</sup>。

#### ④ Complex with polyvinylpyrrolidone (ポリビニルピロリドン:PVP)

PVP は柔軟なランダムコイル状高分子で、水に溶けやすい性質をもつ、本剤を用いた AMPH-B の複合体を用いて、抗真菌活性を検討したところ、カンジダ属に対して d-AMPH とほぼ同様の抗真菌活性を示し、かつ、単球系の cell line を用いた *in vitro* の検討で、細胞障害性が d-AMPH に比較して減弱されたと報告されている<sup>41)</sup>。一方、AMPH-B の複合体形成のために、多量の PVP が必要であること、メタノールを使用する必要があるなど、今後の改善の余地を認める。

#### ⑤ Microsphere (マイクロスフィア)

疎水性アルブミンに AMPH-B を内包させたマイクロスフィアを用いた薬剤で、リーシュマニア感染ハムスターモデルにおける検討では、急性毒性は d-AMPH に比較して低下、健常ハムスターに対する致死量は d-AMPH に比較して 8 倍に増え、有効性は網内系における菌量で用量依存性に減少するなど良好な治療成績をおさめたと報告されている<sup>42)</sup>。

#### ⑥ Nanosuspensions (ナノ分散液)

AMPH-B を高圧のホモジナイザーで破碎し、100-800nm の小粒子に製剤化したものである。AMPH-B は、経口投与しても腸管からは吸収されないが、この破碎された小粒子は、経口投与でも吸収されるという特徴を持つ<sup>43)</sup>。リーシュマニア感染マウスモデルにおける検討で、肝臓における菌量比較で、d-AMPH や L-AMB で効果を示さなかったが、本剤は 28.6% の菌量減少に成功したと報告している<sup>43)</sup>。本剤は、リポソーム製剤よりもより安価に製造でき、保存期間についても延長できるメリット

がある。しかし、酸性下での安定性など解決すべき問題点もある。

#### ⑦ Lipid nanospheres (脂質ナノスフィア)

大豆油と精製した卵黄レクチンからな 25-50  $\mu$  m のナノスフィアを用いた AMPH-B 製剤 (NS-718) を、クリプトコックス感染マウスモデルで検討したところ、d-AMPH や L-AMB に比較してより優れた治療効果を示した<sup>44)</sup>。同様に侵襲性アスペルギルス感染ラットモデルにおける検討でも、上記と同様に、d-AMPH や L-AMB よりも優れた治療効果を示したと報告されている<sup>45)</sup>。

#### ⑧ Lipid nanoparticles (脂質ナノ粒子)

近年、ナノ粒子を用いた AMPH-B 製剤はカンジダ感染症やアスペルギルス感染症に対して、*in vitro*、*in vivo* で良好な活性を得ており、従来の脂質製剤より良好な成績を示している<sup>46)</sup>。しかしながら、臨床研究が開始された薬剤はなく臨床開発が待たれる。

### ポリエン系抗真菌薬以外の抗真菌薬における DDS の現状

アゾール系抗真菌薬で最初に開発された FLCZ は水溶性に優れ、経口、注射剤を有し、経口でも治療に有効な血中濃度を得ることが可能な utility に優れた薬剤である。その後開発された ITCZ は、FLCZ と異なり、水への溶解能は不良でカプセル剤しか存在しなかった。カプセル剤として高い忍容性も示すものの、食事や併用薬との相互作用で、吸収に問題があり臨床的に問題となっていた。シクロデキストリンは、数分子の D-グルコースが  $\alpha(1 \rightarrow 4)$  グルコシド結合によって結合し環状構造をとった環状オリゴ糖の一種であるが、環状構造の内部に空孔があり、そこに疎水性の分子を包接することが可能である。この性質を利用して、疎水性の物質をシクロデキストリンに包接させることで水に溶解させ利用されている。ITCZ は、ヒドロキシプロピル- $\beta$ -シクロデキストリンを溶解補助剤として添加、ITCZ を可溶化することに成功し、内用液と注射剤

が新しい剤型として追加された。VRCZ に関しても同様のコンセプトによるシクロデキストリン製剤が注射剤として活用されている。また、ナノ粒子やナノ懸濁液を応用した ITCZ 製剤においても研究が行われている。ナノ粒子製剤として Laponite (合成層状ケイ酸ナトリウム・マグネシウム) を用いた ITCZ 製剤は、さらに溶解性が向上し、コントロールリリースが幅広く可能になったと報告されている<sup>47)</sup>。また、ナノ懸濁 ITCZ 製剤は、従来の ITCZ 注射剤に比較して優れた耐用性を示し、*in vivo* においても優れた有効性をしめたと報告されている<sup>48)</sup>。しかし、現在のところ、これらの薬剤の臨床開発は行われていない。

#### 文献

- 1) Kume H, Yamazaki T, Togano T, Abe M, Tanuma H, Kawana S, Okudaira M: Epidemiology of visceral mycoses in autopsy cases in Japan: comparison of the data from 1989, 1993, 1997, 2001, 2005 and 2007 in Annual of Pathological Autopsy Cases in Japan. *Med Mycol J* 52:117-27, 2011
- 2) Yang W, Wiederhold NP, Williams RO III: Drug delivery strategies for improved azole antifungal action. *Expert Opin Drug Deliv* 5:1199-216, 2008
- 3) 深在性真菌症のガイドライン作成委員会：深在性真菌症の診断・治療ガイドライン 2007. 協和企画、東京、2007
- 4) Andes D: *In vivo* pharmacodynamics of antifungal drugs in treatment of Candidiasis. *Antimicrob Agents Chemother* 47: 1179-1186, 2003
- 5) Hamill RJ, Sobel JD, El-Sadr W, Johnson PC, Graybill JR, Javalay K, Barker DE. Comparison of 2 doses of liposomal amphotericin B and conventional amphotericin B deoxycholate for treatment of AIDS-associated acute cryptococcal meningitis: a randomized, double-blind clinical trial of efficacy and safety. *Clin Infect Dis*. 51:225-32, 2010
- 6) Juliano RL: Factors affecting the clearance kinetics and tissue distribution of liposomes, microspheres and emulsions. *Advanced Drug Delivery Review* 2:37-54, 1988
- 7) Andes DR, Diekema DJ, Pfaller MA, Marchillo K, Bohrmueller J: *In vivo* pharmacodynamic target investigation for micafungin against *Candida albicans* and *C. glabrata* in a neutropenic murine candidiasis model. *Antimicrob Agents Chemother* 52:3497-3503, 2008
- 8) Gallis HA, Drew RH, Pickard WW: Amphotericin B: 30 years of clinical experience. *Rev Infect Dis* 12:308-29, 1990
- 9) Torrado JJ, Espada R, Ballesteros MP, Torrado-Santiago S: Amphotericin B formulations and drug targeting. *J Pharm Sci* 97:2405-25, 2008
- 10) Johnson EM, Ojwang JO, Szekely A, Wallace TL, Warnock DW: Comparison of in vitro antifungal activities of free and liposome-encapsulated nystatin with those of four amphotericin B formulations. *Antimicrob Agents Chemother* 42:1412-6, 1998
- 11) Ostrosky-Zeichner L, Marr KA, Rex JH, Cohen SH: Amphotericin B: time for a new "gold standard". *Clin Infect Dis* 37:415-25, 2003
- 12) Barrett JT, Vardulaki KA, Conlon C, Cooke J, Daza-Ramirez P, Glyn E, Evans V, Hawkey PM, Herbrecht R, Marks DI,

#### おわりに

抗真菌薬への DDS 応用について概説した。AMPH-B の脂質製剤開発と臨床応用は、まさに、DDS が臨床現場で活かされた成功例であり、優れたモデルケースであると思われる。現在も、新しい技術でさまざまな研究が行われている。臨床開発にまで到達できる薬剤は限られていると思われるが、深在性真菌症の予後改善のためにも、今後の研究が益々進むことを望む。

- Moraleda JM, Park GR, Senn SJ, Viscoli C: A systematic review of the antifungal effectiveness and tolerability of amphotericin B formulations. *Clin Therap* 25:1295-1320, 2003
- 13) Herbrecht R, Natarajan-Ame S, Nivoix Y, Letscher-Bru V: The lipid formulations of amphotericin B. *Expert Opin Pharmacother* 4:1277-1287, 2003
- 14) Hiemenz JW, Walsh TJ: Lipid formulations of amphotericin B: recent progress and future directions. *Clin Infect Dis* 22 Suppl 2:S133-44, 1996
- 15) Fielding RM, Singer AW, Wang LH, Babbar S, Guo LS: Relationship of pharmacokinetics and drug distribution in tissue to increased safety of amphotericin B colloidal dispersion in dogs. *Antimicrob Agents Chemother* 36:299-307, 1992
- 16) Bowden R, Chandrasekar P, White MH, Li X, Pietrelli L, Gurwith M, van Burik JA, Laverdiere M, Safrin S, Wingard JR: A double-blind, randomized, controlled trial of amphotericin B colloidal dispersion versus amphotericin B for treatment of invasive aspergillosis in immunocompromised patients. *Clin Infect Dis* 35:359-66, 2002
- 17) Anaissie E, Paetznick V, Proffitt R, Adler-Moore J, Bodey GP: Comparison of the in vitro antifungal activity of free and liposome-encapsulated amphotericin B. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 10:665-8, 1991
- 18) Jessup C, Reyes G, Fothergill A, McCarthy D, Rinaldi M, Messer S, Pfaller M, Ghannoum M: A head-on comparison of the in vitro antifungal activity of conventional and lipid-based amphotericin B: a multicenter study. *J Chemother* 12:22-9, 2000
- 19) Groll AH, Giri N, Petraitis V, Petraitiene R, Candelario M, Bacher JS, Piscitelli SC, Walsh TJ: Comparative efficacy and distribution of lipid formulations of amphotericin B in experimental *Candida albicans* infection of the central nervous system. *J Infect Dis* 182:274-82, 2000
- 20) Francis P, Lee JW, Hoffman A, Peter J, Francesconi A, Bacher J, Shelhamer J, Pizzo PA, Walsh TJ: Efficacy of unilamellar liposomal amphotericin B in treatment of pulmonary aspergillosis in persistently granulocytopenic rabbits: the potential role of bronchoalveolar D-mannitol and serum galactomannan as markers of infection. *J Infect Dis* 169:356-68, 1994
- 21) Clemons KV, Stevens DA: Comparison of fungizone, Amphotec, AmBisome, and Abelcet for treatment of systemic murine cryptococcosis. *Antimicrob Agents*

- Chemother 42:899-902, 1998
- 22) Walsh TJ, Finberg RW, Arndt C, Hiemenz J, Schwartz C, Bodensteiner D, Pappas P, Seibel N, Greenberg RN, Dummer S, Schuster M, Holcenberg JS: Liposomal amphotericin B for empirical therapy in patients with persistent fever and neutropenia. National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group. *N Engl J Med* 340:764-71, 1999
  - 23) Walsh TJ, Pappas P, Winston DJ, Lazarus HM, Petersen F, Raffalli J, Yanovich S, Stiff P, Greenberg R, Donowitz G, Schuster M, Reboli A, Wingard J, Arndt C, Reinhardt J, Hadley S, Finberg R, Laverdiere M, Perfect J, Garber G, Fioritoni G, Anaissie E, Lee J: National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group. Voriconazole compared with liposomal amphotericin B for empirical antifungal therapy in patients with neutropenia and persistent fever. *N Engl J Med* 346:225-34, 2002
  - 24) Walsh TJ, Teppler H, Donowitz GR, Maertens JA, Baden LR, Dmoszynska A, Cornely OA, Bourque MR, Lupinacci RJ, Sable CA, dePauw BE: Caspofungin versus liposomal amphotericin B for empirical antifungal therapy in patients with persistent fever and neutropenia. *N Engl J Med* 351:1391-402, 2004
  - 25) Johnson PC, Wheat LJ, Cloud GA, Goldman M, Lancaster D, Bamberger DM, Powderly WG, Hafner R, Kauffman CA, Dismukes WE: U.S. National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group. Safety and efficacy of liposomal amphotericin B compared with conventional amphotericin B for induction therapy of histoplasmosis in patients with AIDS. *Ann Intern Med* 137:105-9, 2002
  - 26) Olliaro PL, Guerin PJ, Gerstl S, Haaskjold AA, Rottingen JA, Sundar S: Treatment options for visceral leishmaniasis: a systematic review of clinical studies done in India, 1980-2004. *Lancet Infect Dis* 5:763-74, 2005
  - 27) Bates DW, Su L, Yu DT, Chertow GM, Seger DL, Gomes DR, Dasbach EJ, Platt R: Mortality and costs of acute renal failure associated with amphotericin B therapy. *Clin Infect Dis* 32:686-93, 2001
  - 28) Johnson MD, Drew RH, Perfect JR: Chest discomfort associated with liposomal amphotericin B: report of three cases and review of the literature. *Pharmacotherapy* 18:1053-61, 1998
  - 29) Roden MM, Nelson LD, Knudsen TA, Jarosinski PF, Starling JM, Shiflett SE, Calis K, DeChristoforo R, Donowitz GR, Buell D, Walsh TJ: Triad of acute infusion-related reactions associated with liposomal amphotericin B: analysis of clinical and epidemiological characteristics. *Clin Infect Dis* 36:1213-20, 2003
  - 30) Walsh TJ, Goodman JL, Pappas P, Bekersky I, Buell DN, Roden M, Barrett J, Anaissie EJ: Safety, tolerance, and pharmacokinetics of high-dose liposomal amphotericin B (AmBisome) in patients infected with *Aspergillus* species and other filamentous fungi: maximum tolerated dose study. *Antimicrob Agents Chemother* 45:3487-96, 2001
  - 31) Cagnoni PJ, Walsh TJ, Prendergast MM, Bodensteiner D, Hiemenz S, Greenberg RN, Arndt CA, Schuster M, Seibel N, Yeldandi V, Tong KB: Pharmacoeconomic analysis of liposomal amphotericin B versus conventional amphotericin B in the empirical treatment of persistently febrile neutropenic patients. *J Clin Oncol* 18:2476-83, 2000
  - 32) Moribe K, Maruyama K: Pharmaceutical design of the liposomal antimicrobial agents for infectious disease. *Curr Pharm Des* 8:441-454, 2002
  - 33) Moreno MA, Frutos P, Ballesteros MP: Lyophilized lecithin-based oil-water microemulsions as a new and low toxic delivery system for Amphotericin B. *Pharm Res* 18:344-351, 2001
  - 34) Moreno MA, Ballesteros MP, Frutos P: Lecithin-based oil-in-water microemulsions for parenteral use: Pseudoternary phase diagrams, characterization, and toxicity studies. *J Pharm Sci* 92:1428-1437, 2003
  - 35) Brime B, Moreno MA, Frutos G, Ballesteros MP, Frutos P: Amphotericin B in oil-water lecithin-based microemulsions: Formulation and toxicity evaluation. *J Pharm Sci* 91:1178-1185, 2002
  - 36) Brime B, Molero G, Frutos P, Frutos G: Comparative therapeutic efficacy of a novel lyophilized amphotericin B lecithin-based oil-water microemulsion and deoxycholate-amphotericin B in immunocompetent and neutropenic mice infected with *Candida albicans*. *Eur J Pharm Sci* 22:451-458, 2004
  - 37) Santangelo R, Paderu P, Delmas G, Chen ZW, Mannino R, Zarif L, Perlin DS: Efficacy of oral cochleate-amphotericin B in a mouse model of systemic candidiasis. *Antimicrob Agents Chemother* 44:2356-60, 2000
  - 38) Delmas G, Park S, Chen ZW, Tan F, Kashiwazaki R, Zarif L, Perlin DS: Efficacy of orally delivered cochleates containing amphotericin B in a murine model of aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother* 46:2704-2707, 2002
  - 39) Zarif L, Graybill JR, Perlin D, Najvar L, Bocanegra R, Mannino RJ: Antifungal activity of amphotericin B cochleates against *Candida albicans* infection in a mouse model. *Antimicrob Agents Chemother* 44, 1463-1469, 2000
  - 40) Ostrosky-Zeichner L, Casadevall A, Galgiani JN, Odds FC, Rex JH: An insight into the antifungal pipeline: selected new molecules and beyond. *Nat Rev Drug Discov* 9:719-27, 2010
  - 41) Charvalos E, Tzatzarakis MN, Van Bambeke F, Tulkens PM, Tsatsakis AM, Tzanakakis GN, Mingeot-Leclercq MP: Water-soluble amphotericin B-polyvinylpyrrolidone complexes with maintained antifungal activity against *Candida* spp. and *Aspergillus* spp. and reduced haemolytic and cytotoxic effects. *J Antimicrob Chemother* 57:236-244, 2006
  - 42) Sánchez-Brunete JA, Dea MA, Rama S, Bolás F, Alunda JM, Raposo R, Méndez MT, Torrado-Santiago, S, Torrado JJ: Treatment of experimental visceral leishmaniasis with amphotericin B instable albumin microspheres. *Antimicrob Agents Chemother* 48:3246-3252, 2004
  - 43) Kayser O, Olbrich C, Yardley V, Kinderlen AQF, Croft SL: Formulation of amphotericin B as nanosuspensions for oral administration. *Int J Pharm* 254:73-75, 2003
  - 44) Hossain MA, Maesaki S, Kakeya H, Noda T, Yanagihara K, Sasaki E, Hirakata Y, Tomono K, Tashiro T, Kohno S: Efficacy of NS-718, a novel lipid nanosphere-encapsulated amphotericin B, against *Cryptococcus neoformans*. *Antimicrob Agents Chemother*. 42:1722-5, 1998
  - 45) Otsubo T, Maesaki S, Hossain MA, Yamamoto Y, Tomono K, Tshiro T, Seki J, Tomi Y, Sonoke S, Kohno S: In vitro and *in vivo* activities of NS-718, a new lipid nanosphere incorporating amphotericin B, against *Aspergillus fumigatus*. *Antimicrob Agents Chemother* 43:471-475, 1999
  - 46) Jung SH, Lim DH, Jung SH, Lee JE, Jeong KS, Seong H, Shin BC: Amphotericin B-entrapping lipid nanoparticles and their in vitro and *in vivo* characteristics. *Eur J Pharm Sci* 37:313-320, 2009
  - 47) Jung H, Kim HM, Choy YB, Hwang SJ, Choy JH: Laponite-based nanohybrid for enhanced solubility and controlled release of itraconazole. *Int J Pharm* 349:283-290, 2008
  - 48) Yang W, Wiederhold NP, Williams RO III: Drug delivery strategies for improved azole antifungal action. *Expert Opin Drug Deliv* 5:1199-216, 2008