

氏 名 田 畑 泰 彦  
 学位の種類 博士 (薬 学)  
 学位記番号 論 薬 博 第 697 号  
 学位授与の日付 平成 15 年 9 月 24 日  
 学位授与の要件 学位規則第 4 条第 2 項該当  
 学位論文題目 Drug targeting through polymer conjugation based on metal coordination  
 (金属配位結合を利用した高分子複合体化による薬物ターゲティング)

論文調査委員 (主 査) 教授 橋 田 充 教授 佐 治 英 郎 教授 高 倉 喜 信

### 論 文 内 容 の 要 旨

一般に、薬物は、その生体内半減期は短く不安定である。そのため単に水溶液として投与するだけでは期待する薬効は得られない。また、薬物自身はその標的作用部位への指向性に乏しく、治療効果を得るためには大量投与が必要となり、これが逆に薬物の副作用を増強している。そこで、薬効を損なうことなく薬物投与量を低下し、副作用を軽減させるためのドラッグデリバリーシステム (DDS) の研究が行われている。薬物の血中寿命の延長および薬物をその標的作用部位へ選択的に作用させる、薬物のターゲティングなどを目的として、これまでの種々の高分子材料と薬物との複合体化の研究が行われている。つまり、薬物を水溶性高分子からなる運搬体と結合しておき、運搬体の体内動態を利用して、薬物の血中寿命を延長させたり、薬物を標的部位へターゲティングしたりする試みである。しかしながら、これまでの研究では、化学反応によって薬物と高分子とを結合、複合体化している。化学反応は時として煩雑で再現性に乏しく、化学結合による薬物活性の低下も問題である。このことが、高分子との複合体化が薬物の有効性を高めるという多くの報告にもかかわらず、薬物-高分子複合体の臨床応用に対するボトルネックの一つになっている。そこで、化学結合に代わる、薬物と高分子との複合体の調製法の開発が必要であり、著者らはその調製に金属配位結合の利用を考えた。運搬体高分子の体内動態を調べた後、特定組織、臓器への集積性の高い高分子に金属配位キレート残基を導入し高分子誘導体を作製した。これらの高分子誘導体と薬物とを金属配位結合して作製された複合体により薬物ターゲティングが可能となることを示した。

第 I 編では、水溶性高分子の体内動態について、薬物動力学の観点からの実験と考察を行っている。その結果、第 I 編第 1 章では、ある分子量範囲をもつ水溶性多糖のデキストランが静脈内投与後、固形がん組織に集積されやすいことを実験的に示した。また、デキストランの正および負荷電が高分子のがん組織集積性に影響を与えることがわかった。第 I 編第 2 章では、水溶性多糖であるプルランが、他の水溶性高分子に比較して有意に高く肝臓へ集積することを見出した。また、その集積性がプルランの分子量とともに増加することがわかった。

第 II 編では、第 I 編で得られた研究成果をもとに、デキストランとプルランとの金属配位結合を介した薬物との複合体化による薬物のターゲティング効果について動物実験により確認した。第 II 編第 3 章では、水溶性高分子としてがん組織に集積しやすい分子量をもつデキストランに金属配位結合能をもつキレート残基を導入した。このデキストラン誘導体を銅イオンの存在下、腫瘍壊死因子 (TNF) と水溶液中で混合したところ、金属配位結合を介した TNF-デキストラン誘導体の水溶性複合体が得られた。この複合体を皮下に固形がんをもつマウスの尾静脈により投与したところ、遊離 TNF に比較して、TNF の血中安定性とがんへの集積性が有意に向上した。また、複合体投与により、有意ながん治療効果も認められた。

第 II 編第 4 章では、肝臓への集積性の高いプルランに金属キレート残基を導入した。これらのプルラン誘導体を亜鉛イオンの存在下、インターフェロン (IFN) と水溶液中で混合することにより、金属イオンを介した IFN-プルラン誘導体の水溶性複合体が得られた。これらの複合体をマウス尾静脈より投与したところ、遊離 IFN に比較して、有意に IFN が肝臓へターゲティングされ、また肝臓における IFN 特異的酵素の誘導活性も有意に上昇した。さらに、肝臓における酵素活性の

誘導期間も有意に延長し、金属配位結合によるプルランとの複合体化がIFNの肝臓ターゲティングに有効であることがわかった。

第Ⅱ編第5章では、薬物としてプラスミド遺伝子を取り上げ、プルラン誘導体による肝臓へのターゲティングが遺伝子に対しても有効であるかどうかについて検討した。プラスミド遺伝子は亜鉛イオンを介して、プルラン誘導体に金属配位結合を介した水溶性の複合体を形成することもわかり、それらの複合体によるプラスミド遺伝子の肝臓へのターゲティングが可能であることがわかった。肝臓におけるプラスミド遺伝子の発現を調べたところ、遊離プラスミド遺伝子の投与に比較して、発現レベルは有意に高く、しかも発現期間の有意な延長も認められた。また、その遺伝子発現が肝臓の実質細胞で起こっていることもわかった。

以上、本研究は、タンパク質および遺伝子との水溶性の高分子複合体の作製において、金属配位結合が有効であり、この複合体化によって薬物のターゲティング効率の向上することを示したものである。これらの知見は、高分子によるタンパク質、遺伝子薬物のDDS研究に新しく有効な基礎的技術・方法論を提供するものと思われる。

### 論文審査の結果の要旨

近年、薬物治療の最適化を目的とするドラッグデリバリーシステム（DDS）の中でも、運搬体として適当な動態特性を有する高分子と薬物を結合させることにより、標的指向性の付与や血中滞留性の増大を図る高分子コンジュゲート医薬品の開発が大きく注目を集めている。しかし、従来の研究の多くは、化学反応、共有結合によって薬物と高分子材料を結合、複合体化していることから、調製の煩雑さ、再現性あるいは反応時の活性低下などに関して問題を抱えており、これが薬物-高分子複合体の臨床応用における隘路となっている。申請者は、共有結合に代わる薬物と高分子物質の複合体の調整法の開発を目指して、金属配位結合の利用に取り組み、調製方法を確立すると共に、その化学的あるいは薬物動態学的特性を評価した。また、本法を利用して調製した薬物-高分子複合体が、薬物ターゲティングシステムとして優れた機能特性を持つことを証明した。

最初に、基礎検討として一定の分子量範囲を持つ水溶性多糖のデキストランの体内動態を薬動学的方法を用いて評価し、デキストランが静脈注射後固形がん組織に集積することを確かめると共に、デキストランに導入した正負の荷電ががん組織への集積性に与える影響を明かにした。また、水溶性多糖のプルランについては、他の水溶性高分子と比較して肝臓への集積性が高いことまたその集積が分子量によって影響を受けることを示した。次に、デキストランおよびプルランを高分子運搬体とする金属配位結合を介した薬物複合体の調製法の開発に取り組み、デキストランに金属配位結合能を有するキレート残基を導入したのち銅イオンの存在下腫瘍壊死因子（TNF）と混合することにより、両者の安定な複合体が得られることを確かめた。調製した金属配位結合によるTNF-デキストラン複合体は、遊離TNFより高い血中滞留性と固形がんへの集積性を示し、またがん治療効果も認められた。一方、キレート残基を導入したプルランとインターフェロン（INF）を亜鉛イオンの存在下混合することにより調整したINF-プルラン複合体は、高い肝臓への集積性を示し、また肝臓におけるINF特異的酵素の誘導活性も有意に上昇していることが証明された。さらに、プルラン誘導体が亜鉛イオンを介してプラスミドDNAとも複合体を形成することをみだし、静脈注射後遺伝子発現が肝臓の実質細胞に見られることを明かにして、本方法がプラスミド遺伝子の肝臓へのターゲティングにも有用であることを証明した。

以上、申請者はターゲティングを目的とした水溶性高分子を運搬体とするタンパク質医薬品や遺伝子医薬品の複合体調製において、金属配位結合の利用が有用であることを動態学的あるいは薬理学的評価を通じて証明した。得られた知見は、高分子を利用したタンパク質医薬品や遺伝子医薬品のターゲティング製剤の開発に、新しくかつ有効な基礎的技術・方法論を提供するものと思われる。

よって、本論文は博士（薬学）の論文として価値あるものと認める。

更に、平成15年8月4日論文内容とそれと関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。