

氏 名	ふじ 藤 田 たく 卓 や 也
学位(専攻分野)	博 士 (薬 学)
学位記番号	論 薬 博 第 551 号
学位授与の日付	平 成 8 年 5 月 23 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	物 理 化 学 的 特 性 の 修 飾 に 基 づ く タ ン パ ク 質 医 薬 品 の 体 内 動 態 制 御 に 関 する 研 究

(主 査)
論 文 調 査 委 員 教 授 橋 田 充 教 授 宮 嶋 孝 一 郎 教 授 乾 賢 一

論 文 内 容 の 要 旨

近年の遺伝子工学の発展に伴い、数多くの生理活性ペプチド、タンパク質が医薬品として臨床使用されている。こうした生理活性ペプチドに代表される高分子薬物の体内動態は、高分子自身の物理化学的特性と生体側の解剖学的・生理学的要因の組み合わせにより規定される。従って、これらの関係を整理することにより、望ましい動態特性を示す高分子薬物の分子設計が可能となる。しかしながら、現状では高分子薬物の全身投与後の分布動態に関する情報の蓄積は不十分で、製剤設計に適用される体系化された指針も得られていない。そこで著者は、まずモデル高分子薬物として物理化学的性質の異なる各種デキストラン誘導体やタンパク質誘導体を用い、高分子薬物の分子サイズ、電荷等の物理化学的特性と体内動態の一般的な関係を薬動学的視点より整理した。さらに、得られた結果に基づいて、大豆トリプシンインヒビター(STI)やウリカーゼ(UC)を対象に、デキストラン誘導体との結合に基づく化学修飾を施すことにより体内動態を精密に制御できることを示し、高分子修飾を利用したタンパク質医薬品の体内動態制御のための設計指針を構築した。

I. 多糖類の物理化学的特性と体内動態の関連

薬物の標的指向化のための運搬体としても繁用されている各種多糖類をモデル高分子薬物として選択し、分子サイズ、電荷等の物理化学的性質と体内動態特性との関連を全身レベルで明らかにするために、マウスに静脈内投与後の臓器分布特性を薬動学的手法により解析した。解析の結果、腎臓および肝臓における消失が高分子薬物の体内動態を決定する主要過程であり、さらに分子量10,000程度の多糖類は大きな尿中排泄クリアランスをまた強い負電荷および正電荷を有するものは大きな肝取り込みクリアランスをもつこと等物理化学的特性により両臓器における消失が大きく影響されることが示された。また、これらのクリアランス値と糸球体濾過速度、肝血流速度、肝臓における fluid-phase endocytosis 速度等生理学的パラメータとの関係も明らかとなった。

II. 物理化学的特性に基づくタンパク質の体内動態特性の整理

タンパク質の体内動態を物理化学的な特性に基づいて整理することを目的として、分子量約3,400のカルシトニンから150,000のIgGまでの8種のタンパク質を用いて薬動学的手法により検討を行った。¹¹¹Inの放射活性を指標に追跡したタンパク質の Maus 静脈内投与後の血中動態および臓器分布特性の解析より、分子サイズが体内からの消失に大きく寄与し、分子量が約30,000以下のタンパク質では血中からの消失クリアランスがほぼ糸球体濾過速度と等しいことが明らかとなった。また、糸球体濾過を受けない分子サイズのタンパク質の場合、血中からの消失クリアランスは等電点に依存し、等電点4以下のタンパク質は scavenger receptor を介して、等電点8.5以上のタンパク質は静電的な相互作用により、高い肝取り込みクリアランス値を示すことが明らかとなった。さらに以上の結果より、糖鎖や電荷の導入、高分子修飾等の化学修飾あるいはその組み合わせによりタンパク質の物理化学的性質を改変することで、肝臓や腎臓さらには血管内への標的指向化が可能となることを明らかにした。

III. 高分子修飾大豆トリプシンインヒビターの合成と体内動態および薬理効果の改善

前章において、主として腎糸球体濾過により体内から速やかに消失することが明らかとなった STI (分子量20,100) を対象とし、平均分子量約10,000のデキストランを修飾素材に用いて化学修飾を施すことにより体内動態の改善を試みた。まず、合成法に関して6種類の方法を比較検討した結果、過ヨウ素酸酸化法が合成収率および修飾体の残存生物活性の観点より最も優れていること、また、高分子修飾素材として一般に広く用いられているポリエチレングリコールを用いる方法と比較しても活性保持等に関して遜色のないことを明らかにした。高分子修飾 STI では、分子サイズの増大により尿中排泄クリアランスが未修飾 STI の数十分の一以下に抑制され高い血中滞留性が得られた結果、マウスにおけるトリプシンショックやラットでの急性膵炎モデルに対して優れた治療効果が示された。

IV. 高分子修飾によるウリカーゼの体内動態制御と免疫学的特性の改善

次に、主として肝臓に取り込まれることにより体内から消失する UC (分子量128,000) を選択し、デキストランおよびその誘導体を用いた修飾による体内動態の精密な制御と免疫学特性の改善の可能性を検討した。UC とデキストランおよび電荷の異なる2種のデキストラン誘導体、すなわち正電荷を有するジエチルアミノエチル化デキストラン (DEAED)、弱い負電荷を有するカルボキシメチル化デキストラン (CMD) との結合体は、それぞれ修飾素材の動態を反映した体内動態を示し、UC-DEAED は肝取り込みクリアランスの増大による血中からの速やかな消失、UC-CMD は臓器移行クリアランスの抑制に起因する高い血中濃度の持続化をもたらした。また、デキストランで修飾することにより、UC の抗体反応性、免疫原性はいずれも大きく減少し、高分子修飾によりタンパク質医薬品の免疫学的特性の改善、すなわち投与後のアレルギーショックや中和抗体産生による活性低下の防止が可能となることが明らかとなった。

以上、著者は種々のモデル高分子薬物を用いて、その物理化学的特性と体内動態特性との関連を薬動的な観点から系統的に整理した。また、得られた結果に基づいて高分子修飾を適用することにより、STI

および UC の体内動態特性の改善に成功した。これらの知見は、生理活性タンパク質をはじめとする種々の高分子薬物に対する体内動態制御法の開発に有益な設計指針を提供するものと思われる。

論文審査の結果の要旨

近年、遺伝子工学の発展に伴い数多くの生理活性ペプチド、タンパク質が医薬品として臨床使用されるようになったが、こうした高分子薬物の体内動態は高分子自身の物理化学的性質と生体側の解剖学的・生理学的要因の組み合わせにより規定される。従って、これらの関係を整理することにより、望ましい動態特性を示す高分子薬物の分子設計が可能になると考えられるが、現状では高分子薬物の分布動態に関する情報の蓄積は不十分で、製剤設計のための体系化された指針も得られていない。著者は、モデル高分子薬物として物理化学的性質の異なる各種デキストラン誘導体やタンパク質誘導体を用い、高分子薬物の分子サイズ、電荷等の物理化学的特性と体内動態の一般的な関係を薬動的視点より整理した。また、得られた結果に基づいて、タンパク質にデキストラン誘導体との結合に基づく化学修飾を施すことによりその体内動態を精密に制御できることを示し、高分子化修飾に基づくタンパク質医薬品の体内動態制御法の設計指針を構築した。薬物標的指向化の運搬体としても繁用されている多糖類を用い、マウスに静脈注射後の臓器分布特性を薬動的的手法により解析した結果、腎臓および肝臓における消失が体内動態を決定する主要過程であり、かつ分子量が10,000程度であれば尿中排泄クリアランスがまた強い正電荷を有する場合は肝取り込みクリアランスが大きいなど、多糖類の物理化学的特性と両臓器における消失の関係が示された。また、クリアランス値と糸球体濾過速度、肝血流速度、肝臓における fluid-phase endocytosis 速度など生理学的パラメータとの関係も明らかとなった。次に、タンパク質の体内動態を同様に整理することを目的として、分子量約3,400のカルシトニンから150,000の IgG まで8種類のタンパク質とその誘導体を用い、血中動態および臓器分布特性を解析した結果、糸球体濾過を受けない大きなタンパク質では等電点が4以下の場合に scavenger receptor を介して、8.5以上の場合には静電的相互作用によって肝臓に高度に取り込まれることが明らかとなった。以上の知見に基づき、主として腎糸球体濾過により体内から速やかに消失する大豆トリプシンインヒビターに対しデキストランを修飾素材に用いて高分子修飾を施した結果、高い血中滞留性とトリプシンショックや急性膵炎モデルに対する優れた治療効果が得られた。さらに、肝臓が消失の主要臓器であるウリカーゼに対し、正負の電荷を有するデキストラン誘導体で修飾することにより、肝臓への移行の促進および制御と免疫学的特性の改善が可能となることを示した。

以上、本論文は、各種高分子物質の物理化学的特性と体内動態特性の関連を薬動的観点から整理し、タンパク質医薬品などに対する分子構造修飾型ドラッグデリバリーシステムの開発に重要な情報を提供したものである。

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8年4月25日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。