

氏名	岩川精吾 いわかわせいご
学位の種類	薬学博士
学位記番号	論薬博第327号
学位授与の日付	昭和61年1月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	胃、膵におけるペプチド性医薬品の分布、代謝動態に関する研究

論文調査委員 (主査) 教授 堀了平 教授 高木博司 教授 瀬崎仁

論文内容の要旨

薬物の体内動態は薬効と密接に関連し、特に標的組織における薬物挙動を正確に把握することは、有効、安全な薬物療法を設計する上で重要な指針となる。ペプチド性医薬品は近年その臨床適用が着実に増大しているが、その生体内動態については血中半減期の短いことが知られている他は不明の点が多い。そこで著者はモデルペプチドとして構造的特徴を有する secretin, elcatonin, aprotinin を選び、それらの標的臓器である胃、膵での分布、代謝像を比較検討した。すなわち臓器レベルでの薬物挙動を追跡する方法として、他の臓器、組織からの影響を無視し得るラット摘出臓器灌流法を改良し、主にこの方法により胃、膵におけるペプチド類の挙動を解析した結果次のような新知見を得た。

I. 薬物の胃、膵内挙動解析を目的とした摘出臓器灌流法の確立

従来のラット胃灌流法は胃の主な生理機能である酸分泌能が欠落しており、生理的機能を保持した系であると言いがたい。そこで灌流液組成等条件を種々検討した結果、牛赤血球及び pepsin 活性阻害薬物 pepstatin を灌流液中に添加する灌流方法を確立した。この方法により tetragastrin, histamine 等の各種刺激薬物による著明な酸分泌亢進及び抑制薬物の cimetidine 等による分泌抑制が観察できた。

一方膵灌流法はこれまで十二指腸の一部も灌流する方法が殆どの報告で採られていた。しかし消化管に存在するペプチド類の影響を除くため膵と十二指腸間の血管を結紮後灌流を実施した。この改良法によっても secretin によりその濃度に依存した膵液分泌の増大を、また pancreozymin 灌流では膵液、amylase 分泌の著明な亢進を認めた。以上の事実より、この胃灌流法、膵灌流法がほぼ生理機能を保持し、しかし薬物の臓器内動態と薬効の関連を他の臓器組織から独立して解析し得る、有用な実験系であることが証明された。

II. 胃における secretin, elcatonin, aprotinin の挙動

ペプチドを ^{125}I で標識後灌流し、それらの代謝特性をまず比較した結果、直鎖状ペプチドの secretin が最も不安定で、一部環状の elcatonin がそれに続き、球状ペプチドの aprotinin は胃で代謝を殆ど受けなかった。しかし安定であった aprotinin もその分子内 disulfide 結合を修飾した場合、代謝され易く

なることを認めた。更に secretin, elcatonin の胃内代謝特性を radioimmunoassay によっても検討したところ、先の tracer 法による結果と相応し、胃内に流入する一部が速やかに代謝されていることを認めた。胃組織中への分布性は aprotinin>elcatonin>secretin の順となったが、その分布容積は小さく細胞外液中の限られたスペースに主に分布し、一部は細胞膜にも結合しているものと推測された。

Ⅲ. 膵における secretin, elcatonin, aprotinin の挙動

Ⅱ. で明らかにした胃でのペプチドの分布、代謝特性と比較する目的で膵灌流法により同様の検討を行った。その結果、直鎖状の secretin が代謝を受けやすく、これらペプチドの代謝性の順序は胃と同様であった。更に aprotinin では disulfide 結合の有無によりその膵内安定性も大きく変動した。またそれらの分布像は胃への分布特性と類似した傾向を示し、これらペプチドの分布、代謝動態に胃、膵間で著明な変動は認められなかった。次にペプチドの構造がその代謝動態に及ぼす影響を解析した。そのさい aprotinin は難代謝性であったため、secretin, elcatonin について各種ペプチド共存時の膵内代謝の変動を検討した。elcatonin の代謝が同様な環状構造を有する insulin, aprotinin で抑制されたのに対し、これらペプチドは secretin 代謝には影響を及ぼさなかった。従ってペプチドの構造的特徴がその臓器内挙動をも支配する要因であることを明らかにすると共にペプチド間相互作用を考慮する上でその代謝面にも注目する必要性を認めた。

Ⅳ. 胃、膵における secretin の特異的結合

これらペプチドの内、secretin は膵と共に胃を主な標的臓器とするにもかかわらず、胃内結合部位 (receptor) の性状は不明のままであった。まずその作用を灌流法により検討したところ、gastrin による酸分泌への secretin の抑制効果は直接的競合作用でなく、その作用発現に遅延性が存在した。そこで灌流法によりその結合部位についての解析を試みた結果、胃内に分布した ^{125}I 標識 secretin の非標識 secretin による結合置換現象を認めた。しかし構造の類似する glucagon, vasoactive intestinal peptide には標識 secretin を置換する効果が認められず、胃内に secretin の特異的結合部位が存在することを明らかにした。この結合部位の局在性を検討する目的でペプチドホルモンの receptor が存在する細胞膜を分画し、その分画への secretin 結合性を比較した。その結果、血管側細胞膜分画が最も高い結合性を示し、その結合特性は灌流法により得た結果と対応することを認めた。更に細胞膜への結合実験及び胃灌流法において gastrin により secretin 結合能の増大することを観察した。以上の事実は、胃内 secretin 結合部位の性状が初めて明らかになったことを意味すると共に secretin の酸分泌抑制作用に secretin receptor での gastrin との相互作用が関与していることを示唆した。

一方膵内にも secretin の特異的結合部位が存在することを灌流法により確認し、更に細胞分画成分への secretin の結合性から、その結合部位が細胞膜上にあることを明らかにした。しかし gastrin により secretin 結合能は変化せず、膵内結合部位が胃と異なることを認めた。またその結合部位への secretin の占有度と膵液分泌作用の関連性から、この膵内結合部位の薬効調節における重要性を明らかにした。胃、膵共に灌流法で得た secretin 結合部位の特性は細胞膜分画への結合性と良好な対応を示し、生理機能を保持した系で secretin の作用と結合性の関連を解析することができた。

以上、著者は摘出臓器灌流法によりペプチドの胃、膵内挙動がペプチド自体の構造的特徴に起因する因

子により変動することを明らかにした。また secretin では胃、膵内結合部位 (receptor) への結合動態を灌流法により解析すると共にその結合特性を細胞膜分画を用いて明らかにした。本研究はペプチド性医薬品の体内動態並びに薬効発現機序の解明に、有益な基礎的知見を与えるものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

医薬品の標的臓器における動態は薬効を左右する重要な因子である。特にペプチド性医薬品は生体内における安定性が悪く、代謝され易いため、その動態は不明な点が多く、薬剤学的見地からの検討はほとんど行われていない。著者はこの点に着目し構造的特徴を有する secretin, elcatonin, aprotinin をモデルペプチドとして選び、主に臓器灌流法を用いて胃、膵におけるペプチド類の代謝特性及びレセプター結合特性を検討した。

まずラットを用いた摘出臓器灌流法の確立に着手したが、従来の酸分泌の欠落した胃灌流法を改良し、牛赤血球及び pepsin 活性阻害薬物の pepstatin を灌流液に添加する方法により、各種の酸分泌制御薬物に的確な酸分泌応答性を示す灌流法を確立した。一方従来の膵灌流法にも改良を加え、膵と十二指腸間の血管結紮後灌流を行った結果、secretin, pancreozymin により著名な外分泌亢進を認めた。すなわちこの胃、膵灌流法はほぼ生理機能を保持した実験系であることが確認できた。この灌流法を用いて胃、膵におけるペプチドの代謝特性を検討し、胃、膵いずれの場合も disulfide 結合を有する球状ペプチドの aprotinin が安定である等ペプチド分子の環状構造等の構造的特性がそれらの臓器内代謝性をも規定していることを明らかにした。次いでそれらの分布は主に細胞外液中の限定されたスペースであり、一部は細胞膜にも結合していることを示した。さらにこれらの動態をレセプターレベルで検討するため、著者は secretin に着目し灌流法および細胞膜分画への結合実験を用い検討を行った。その結果、胃内 secretin 結合部位の存在をはじめ明らかにし、またその酸分泌抑制作用に secretin 結合部位における gastrin との相互作用の関与していることを示した。一方膵内にも secretin 結合部位の存在することを認めたが、それへの secretin 結合性は gastrin により変動せず、結合部位の性状が胃と異なることを明らかにした。また結合部位への占有度と膵液分泌作用の間に相関を認め、secretin の結合性と作用の関連性を示した。

以上の成果はペプチド性医薬品の体内動態の解明またはその臨床応用に貢献するところ大であり、薬剤学の発展に寄与するものと考えられる。

よって、本論文は薬学博士の学位論文として価値あるものと認める。

さらに、昭和60年12月9日論文内容とそれに関連した事項につき試問を行った結果、優秀と認定した。