

(続紙 1)

京都大学	博士 (薬 学)	氏名	勝 見 英 正
論文題目	高分子型一酸化窒素供与体の開発とその体内動態制御に関する研究		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>狭心症や高血圧症、動脈硬化症、糖尿病などの生活習慣病や虚血・再灌流障害では、一酸化窒素 (NO) レベルの低下が病態に関係することから、NOを医薬品として体外から投与することが望まれている。しかしながら、ガス状のNO分子そのものの投与は困難であり、疾患治療の実現には生体内でNOを放出するNO供与体の開発が必要とされる。既にnitroglycerin やsodium nitroprusside等のNO供与体が開発され狭心症治療薬として臨床使用されているが、これら既存のNO供与体には長期投与による耐性獲得の問題やシアン中毒の危険性が指摘されている。また、NO供与体の体内からの消失、ならびにNO放出が速やかであるため、疾患部位に十分量のNOを供給できないことが、狭心症以外の疾患・障害治療への応用における大きな障壁となっている。従って、NO供与体のNO放出速度や体内動態を制御し疾患部位に効率よくNOをデリバリー可能なドラッグデリバリーシステム (DDS)の開発は、NO供与体を利用した各種疾患・障害に対する治療の実現に極めて有用である。申請者は、NOデリバリーによる疾患治療の実現を目指して、NO放出速度及びNO供与体の体内動態を制御可能な新規高分子型NO供与体の開発を行い、先ず既存の高分子型NO供与体であるNO結合アルブミンに対する検討を行い、高分子NO供与体の基本的分子特性ならびに体内動態特性を明らかにした。次に、得られた情報に基づき放出速度ならびに体内動態が制御された高分子型NO供与体を開発し、その有用性について肝臓虚血・再灌流障害モデルを用いて評価するとともに、障害抑制メカニズムを解析した。</p> <p>I. 一酸化窒素結合アルブミンの分子特性と体内動態評価</p> <p>牛血清アルブミン (BSA) に亜硝酸ナトリウムを反応させることによりNO結合アルブミン (BSA-NO) を合成した。マウスに静脈内投与後、BSA-NOは未修飾BSAとほぼ同様の体内動態を示し、循環血中に長時間滞留した。しかしながら、BSA 1分子あたりのNO導入数は0.8個と非常に少ないこと、さらには既存の低分子NO供与体同様、NO放出が速やかであることも示され、単に高分子化しただけではこれらの問題を解決できないことが明らかとなった。</p> <p>II. 一酸化窒素徐放型一酸化窒素供与体の開発</p> <p>前章で得られた知見に基づき、NO導入数を増大するためにBSAへの遊離SH基の導入を考案した。ここで、予めBSAにpolyethylene glycolを導入することで、SH基導入時の凝集を防止するとともに、立体障害による生体内でのNO徐放化ならびに血中滞留性の更なる向上を計画した。PEG-BSAにN-succinimidyl S-acetylthioacetate (SATA) を結合させることで遊離SH基を導入し (PEG-BSA-SATA)、これに亜硝酸を反応させることでNOを放出可能なS-nitrosothiolを導入したPEG-BSA-SNOを合成した。S-nitrosothiolを介したNO導入数はBSA 1分子あたり約10個と、BSAの場合の約12倍ものNO導</p>			

入に成功した。また、NO酸化物量を指標にPEG-BSA-SNOからのNOの放出を評価したところ、緩衝液中およびマウス静脈内投与後の血漿中のいずれにおいてもS-nitroso-N-acetyl-penicillamine (SNAP) やS-nitrosoglutathione、BSA-NOなど既存のNO供与体と比較してNO放出が著しく遅延し、設計通りにPEG化によるNOの徐放化が達成された。PEG-BSA-SNOのキャリア部分であるPEG-BSA-SATAは、BSAと比較して顕著に高い血中滞留性を示したことから、静脈内投与後、循環血液中においてPEG-BSA-SNOからNOが長期間徐放される可能性が示された。そこで、肝臓虚血・再灌流障害に対する肝臓保護効果について検討したところ、PEG-BSA-SNOの投与により、既存のNO供与体投与と比較して、血漿中AST・ALT活性の上昇ならびに好中球遊走を顕著に抑制可能であった。

III. 糖修飾を利用した肝臓ターゲティング型一酸化窒素供与体の開発

肝臓虚血・再灌流障害の抑制においては、NOを肝臓に特異的にターゲティングすることで更なる有効性・安全性の増大が期待される。肝実質細胞及び非実質細胞には、それぞれgalactose、mannoseを認識する糖レセプターが特異的に発現することから、糖修飾を利用したNO供与体の肝臓ターゲティングを目的に、galactose修飾高分子型NO供与体 (Gal-BSA-SNO) ならびにmannose修飾高分子型NO供与体 (Man-BSA-SNO) を合成した。各糖修飾NO供与体のキャリア部分であるGal-BSA-SATAとMan-BSA-SATAは静脈内投与後、いずれも投与量の約60%が投与後速やかに肝臓に移行した。そこで、Gal-BSA-SNO、Man-BSA-SNOを静脈内投与したところ、いずれの場合にも肝臓でのNO生成が認められた。このとき、循環血液中でのNO生成はほとんど認められず、糖修飾によるNOの肝臓ターゲティングが達成された。肝臓虚血・再灌流障害に対する保護効果について検討したところ、既存のNO供与体と比較して、Man-BSA-SNO、Gal-BSA-SNOともに血漿中AST・ALT活性の上昇ならびに好中球遊走を顕著に抑制した。

以上、DDSの概念に基づき、循環血中でNOを徐放、あるいはNOを選択的に肝臓にターゲティングする高分子型NO供与体の開発に成功し、肝臓虚血・再灌流障害モデルマウスでの検討からその有用性を明らかにした。これらの知見は、NOによる各種疾患・障害治療の実現に向けて有益な情報を提供するものとする。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

狭心症や高血圧症、動脈硬化症、糖尿病などの生活習慣病や虚血・再灌流障害に対する治療法として、一酸化窒素 (NO) の投与が期待を集めているが、ガス状の分子であるNOそのものの投与は困難であり、生体内の望ましい場所、時間にNOを放出するNO供与体の開発が望まれている。申請者は、NO放出速度や体内動態が制御され疾患部位に効率よくNOをデリバリーすることが可能なドラッグデリバリーシステム (DDS) としての機能を持つ新規高分子型NO供与体の開発を行った。

第1章の「一酸化窒素結合アルブミンの分子特性と体内動態評価」では、牛血清アルブミン (BSA) に亜硝酸ナトリウムを反応させることによりNO結合アルブミン (BSA-NO) を合成し、BSA-NOが長時間循環血液中に滞留するもののBSA 1分子あたりのNO導入数が非常に少なく、さらには既存の低分子NO供与体同様NO放出が速やかであることを確認し、本法による高分子化ではこれらの問題を解決できないことを明らかにした。

第2章の「一酸化窒素徐放型一酸化窒素供与体の開発」では、NO導入数の増大と徐放化を実現するために、BSAをポリエチレングリコールで修飾した後、N-succinimidyl S-acetylthioacetate (SATA) を結合させることで遊離SH基を導入し、これに亜硝酸を反応させることでNOを放出可能なS-nitrosothiolを導入したPEG-BSA-SNOを合成した。本NO供与体では、NO導入数はBSA 1分子あたり約10個であり、また既存のNO供与体と比較してNO放出が著しく遅延した。さらに肝臓虚血・再灌流障害に対して優れた肝臓保護効果が認められた。

第3章の「糖修飾を利用した肝臓ターゲティング型一酸化窒素供与体の開発」では、糖修飾を利用した肝実質細胞及び非実質細胞に対する特異的NO送達を目指し、糖修飾高分子型NO供与体 (Gal-BSA-SN、Man-BSA-SNO)を合成して、それぞれ静脈内投与によって肝臓でNO生成が得られることを確認した。また、既存のNO供与体と比較して、血漿中AST・ALT活性の上昇ならびに好中球遊走に対する顕著な抑制効果を有することを明らかにした。

以上、申請者はDDSの概念に基づき、循環血中でNOを徐放、あるいは肝臓に選択的に送達できる高分子型NO供与体の開発を行い、その治療上の有用性を明らかにした。

よって、本論文は博士 (薬学) の学位論文として価値あるものと認める。さらに、平成21年11月26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。

Webでの即日公開を希望しない場合は、以下に公開可能とする日付を記入すること。
要旨公開可能日： 年 月 日以降