

氏 名	くに まさ じゅん いち 國 正 淳 一
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	論 医 博 第 1746 号
学位授与の日付	平 成 13 年 3 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	Pharmacokinetics and pharmacological effect of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor conjugated to poly (styrene-co-maleic acid) in rats (ポリスチレン・マレイン酸結合遺伝子組換えヒト顆粒球コロニー形成刺激因子の体内動態と薬理効果)
論文調査委員	(主 査) 教 授 内 山 卓 教 授 伊 藤 和 彦 教 授 乾 賢 一

論 文 内 容 の 要 旨

遺伝子組換えヒト顆粒球コロニー形成刺激因子 (rhG-CSF) は、分子量が約19,000の生理活性物質であり、骨髓移植時や癌化学療法等における好中球減少症治療薬として繁用されている。臨床での知見より、rhG-CSF の効果発現は血中濃度のみならず血中での滞留時間によって影響を受けることが示唆されている。投与された rhG-CSF は、主として腎排泄によって速やかに体内から消失するため、好中球減少症患者の治療には、数日から数週間にわたって連日投与される。そこで本研究では、rhG-CSF の投与量および投与回数の低減を目的として、腎糸球体濾過を回避し血中滞留性を付与した新規 rhG-CSF 高分子化誘導体を開発し、その体内動態特性ならびに薬効について精査した。

ポリスチレン・マレイン酸 (SM) は、生体内において血清アルブミンと高い親和性を有する高分子である。等モルの rhG-CSF と SM を、ジチオビスニトロピリジンをスペーサーとして結合させた。得られた rhG-CSF 誘導体 (SM-rhG-CSF) は、ゲルろ過により脱塩し、イオンクロマトグラフィにより精製した。SM-rhG-CSF は中性リン酸緩衝液中で牛血清アルブミン (BSA) と強く結合することが確認され、SM-rhG-CSF-BSA 複合体の分子量は約90,000と推定された。

0.5, 5 および 50 $\mu\text{g protein/kg}$ の SM-rhG-CSF をラット尾静脈内に単回投与し、末梢血を経時的に採取して好中球数を測定した。その結果、SM-rhG-CSF は高分子化により著明な好中球増加作用を示し、未修飾体のほぼ10分の1の投与量で同等の効果を示すことが判明した。SM-rhG-CSF 50 $\mu\text{g protein/kg}$ 投与群では、1回の投与で好中球の増加作用が7日間持続することを認めた。いずれの投与群においても好中球以外の白血球数、赤血球数および血小板数には影響が見られず、SM-rhG-CSF は好中球およびその前駆細胞に選択的に作用していることが明らかとなった。次に体内動態解析を目的として、ラット血清および臓器中の薬物濃度を測定した。SM-rhG-CSF の血清中からの消失は未修飾体に比較し有意に遅く、平均滞留時間は1.9倍に延長し、全身クリアランスは45%に低下していた。一方、臓器移行性を投与4時間後において比較したところ、未修飾体の腎臓中濃度が他の臓器中濃度の2倍以上になったのに対し、SM-rhG-CSF では腎臓中濃度と他の臓器中濃度間には差が見られず、腎糸球体濾過が回避されていることが示唆された。さらに、ラット摘出腎灌流実験により、SM-rhG-CSF の腎内挙動を臓器レベルで検討した結果、ほぼ細胞外液にのみ分布するイヌリンと同様の分布を示し、腎組織への取り込みはほとんど起こっていないことが確認された。

以上、本研究より、SM-rhG-CSF は投与後に生体内で血清アルブミンと結合し、腎糸球体濾過を免れて循環血流中に長時間滞留することによって、薬効の増大と持続性が得られることが示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

遺伝子組換えヒト顆粒球コロニー形成刺激因子 (rhG-CSF) は、骨髓移植時や癌化学療法等における好中球減少治療薬として繁用されている。生体内に投与された rhG-CSF は、主として腎排泄により速やかに体内から消失するため、好中球

減少症の治療には、数日から数週間にわたる連日投与が必要である。申請者は、rhG-CSFの投与量・投与回数の低減を目的として、血中滞留性を付与した新規rhG-CSF高分子化誘導体を開発し、その体内動態と薬効について精査した。血清アルブミンと高い親和性を有するポリスチレン・マレイン酸(SM)に着目し、SMを結合させたrhG-CSF誘導体(SM-rhG-CSF)を合成した。SM-rhG-CSFを静脈内投与したラットでは、顕著な好中球増加作用を認め、rhG-CSFの約1/10の投与量で同等の効果が得られた。またSM-rhG-CSF投与群(50 μ g protein/kg)では、単回投与後に好中球増加作用が7日間持続することが確認された。ラット血清中からのSM-rhG-CSFの消失は未修飾体に比べて有意に遅延しており、全身クリアランスは45%に低下していること、腎移行性が減少していることがわかった。さらに摘出腎灌流法による解析から、SM-rhG-CSFは腎糸球体濾過を回避することで血中滞留性が上昇するために、薬効の増大と持続性が得られることが判明した。

以上の研究は、SM-rhG-CSFが投与量・投与回数の低減を目的とした薬物送達システムとして有用であることを明らかにし、タンパク質医薬品の製剤開発に貢献するところが大きい。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成13年2月27日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。