



Title	機能性修飾高分子の動態特性を利用したバイオコン ジュゲート化DDSの最適化に関する研究
Author(s)	鎌田, 春彦
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3169331">https://doi.org/10.11501/3169331</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	かま 謙 だ 田 はる 春 ひこ 彦
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	第 1 5 3 6 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平成12年 3 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 薬学研究科応用薬学専攻
学 位 論 文 名	機能性修飾高分子の動態特性を利用したバイオコンジュゲート化 DDS の最適化に関する研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 真弓 忠範  (副査) 教 授 山元 弘 教 授 馬場 明道 教 授 東 純一

### 論 文 内 容 の 要 旨

昨今の分子生物学・遺伝子工学の進展に伴い、種々ヒト由来内因性生理活性物質を有効な医薬品として適用しようとする分子治療戦略の開発に期待が寄せられている。しかしながら、これら生理活性物質を疾病治療に応用していくためには、薬物の生体内挙動を制御し得る薬物送達システムを駆使することは勿論のこと、少なくとも、体内安定性と *in vivo* 作用の多様性の問題点を克服し得る「製剤技術」の創出が必須となってくる。内因性生理活性物質は一般に、標的とする組織や細胞に至適な作用時間-濃度パターンのもと作用することで、理想とする目的の生理作用を発現している。従って、サイトカインなどの内因性生理活性物質を用いた薬物治療の最適化を目指すためには、まず体内における安定性を保持した上で、有効な薬物濃度を長時間維持し、同時に標的組織へ選択的に薬物を送達する基盤技術の開発が必要となってくる。

そこで、当研究室では、薬物に水溶性高分子を結合させるいわゆるバイオコンジュゲーションを行い、以上の問題点を克服しうる創薬基盤技術としての有用性を検討してきた。これまでの研究により、目的とする治療作用発現メカニズムを考慮し、最適のバイオコンジュゲート条件を詳細に検討することで、サイトカインの体内安定性を飛躍的に向上させ、目的治療作用のみを効率よく高め得ることを見出している。一方でサイトカインのバイオコンジュゲーションに関する一連の研究から、バイオコンジュゲーションに用いる修飾高分子の物理化学的性質によってバイオコンジュゲート化薬物の体内動態が決定付けられるため、任意の体内動態挙動を示す修飾高分子を適用することで、バイオコンジュゲーションにより薬物の体内動態を自由に制御し得ることを報告している。このことは、薬物の作用メカニズムに応じて修飾高分子を分子設計していくことで、薬物の体内安定性の飛躍的向上、薬物への作用の選択性付与のみならず、薬物の薬効発現を時間的-空間的に制御し得ることを意味している。すなわちさらに高い信頼性が保証された次世代のバイオコンジュゲート化薬物を創出していくためには、精巧緻密に生体内挙動し得るインテリジェントな機能を持った修飾高分子を開発していかなければならない。

以上の観点から、薬物治療の最適化を目指し、機能導入可能な新規修飾高分子の開発を最終目的に、我々はまずその基本骨格となる幹高分子を検索するため、様々な水溶性高分子の *in vivo* 体内動態、*in vitro* における血管内皮細胞との相互作用強度を検討してきた。その結果、ポリビニルピロリドン (PVP) が、他の水溶性修飾高分子と比較して血中滞留性に優れており、さらに血中からの組織移行性が極めて低いことを見出している。そこでまず、この PVP を修飾高分子として適用し、TNF- $\alpha$  バイオコンジュゲーションを行い、血中滞留性の向上を目的としたバイ

オコンジュゲーションにおける PVP の修飾高分子としての有用性と、今後種々機能を導入していくうえでの幹修飾高分子としての可能性を考察した。その結果、PVP を用いてバイオコンジュゲーションを行った TNF- $\alpha$  (PVP-TNF- $\alpha$ ) は、Native TNF- $\alpha$  と比較して200倍以上の抗腫瘍効果を有し、また体重減少などの副作用も全く観察されなかったことから、非常に有用性の高いバイオコンジュゲート体であることが明らかとなった。修飾高分子としてバイオコンジュゲーションに用いた PVP は、ラジカル共重合により種々の機能を導入できることから、これまで汎用されてきた PEG よりもはるかに優れた修飾高分子になり得るものと期待できる。そこでバイオコンジュゲート化薬物のさらなる有用性確保のため、薬物の生体内安定性と動態制御による作用の選択性を保持しつつ、100%の活性を有した Native な薬物を徐放し得る第二世代のバイオコンジュゲーションを担う新規修飾高分子の開発を試みた。

まず、可逆的にアミノ基を結合・遊離する無水マレイン酸 (MAN) やジメチル無水マレイン酸 (DMMAN) など環無水物の基本的性質を検討した。その結果、DMMAN は中性 pH 領域で薬物を徐放し、その徐放速度は各環無水物間で異なることが明らかとなった。従って、環無水物をモノマーとして高分子に導入することで、目的とする pH 領域の中で薬物の放出速度制御が可能となると考えられた。そこでモノマーとして導入した環無水物の構造変化に伴う薬物放出特性の変化を評価したところ、環無水物の導入率を制御することにより、徐放化パターンを任意に制御できることが明らかとなり、薬物の作用メカニズムに応じて修飾高分子を分子設計することが出来ることが示唆された。

しかしながら、最適な薬物治療を行うためには、標的組織中へ薬物を選択的に移行させ、そこで活性のある薬物を放出させる必要があるため、この徐放性だけでなく、前述したような組織への標的指向性を修飾高分子に導入していく必要がある。そこで、薬物徐放性を付与した修飾高分子を、組織に選択的に送達する第三世代ともいべきバイオコンジュゲーションを行うための、新規修飾高分子の作製を試みた。

当研究室のこれまでの検討により、カルボキシル基を至適量だけ導入された PVP が、優れた腎指向性・腎集積性を有することを見出している。DMMAN などの環無水物は、開環状態においてカルボキシル基を有することから、最適量の環無水物を PVP に導入することによって、腎ターゲティング能を有すると同時に、生理的 pH 付近で薬物を徐放化し得る新規機能性修飾高分子の開発が可能になるものと考えられた。そこで環無水物導入 PVP の体内動態に関する検討をしたところ、環無水物導入 PVP は、官能基の種類に関わらず、導入率の増加に従い血中滞留性の低下が観察された。さらに環無水物導入 PVP は、これまで公表された既存のターゲティング分子と比較して、最も高い腎集積性を示した。また環無水物導入 PVP は尿管上皮細胞に特異的に集積する分布特性を示し、これら環無水物導入 PVP が腎臓の尿管を標的としたターゲティングキャリアーとして有効であることが判明した。特に20% DMMAN 導入 PVP は近位尿管上皮細胞に対して細胞傷害性を示さなかったことから、腎臓を標的とした薬物キャリアーに最適な修飾高分子であることが示唆された。

本研究においては、まずバイオコンジュゲーションの疾病治療への応用を念頭におき、モデルサイトカインとして腫瘍壊死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) を用い、TNF- $\alpha$  を水溶性高分子でバイオコンジュゲーションすることで生体内不安定性が克服され、臨床応用への道が拓かれることを示し、さらにこの PVP を幹高分子として、第二世代ともいべき薬物徐放性を導入した新規修飾高分子を開発するとともに、第三世代のバイオコンジュゲーションを達成しうる標的指向性を有した、新規修飾高分子を新規合成することで、全く新しいバイオコンジュゲート法の概念を提示した。今後、あらゆる組織を標的とした、新規徐放性修飾高分子を開発し、これまで治療困難とされていた疾病に応用していこうと考えている。

## 論文審査の結果の要旨

近年の遺伝子工学の発展により、サイトカインなどヒト由来の内因性生理活性蛋白・ペプチドを有効な医薬品として疾病治療に適用しようとする試みが注目されてきた。しかしながら、これまでに同定された数多くの生理活性蛋白・ペプチドが、次々と新規医薬品開発に向けて研究されてきたにもかかわらず、実際に臨床応用されているものは極めて少ない。その理由は、サイトカインなどの生理活性物質は、一般に物理化学的にも生物学的にも不安定であるため

に、十分な薬理効果を得るための血中滞留性を維持する事ができない点にある。従って、最適薬物治療を目指す観点からは、この血中滞留性を改善した上で、さらに有効な薬物濃度を長時間維持するための薬物徐放機能、目的組織・臓器へ選択的に薬物を送達する標的指向機能などの次世代インテリジェント機能を付与していかなければならない。本研究では、これらを目的に水溶性高分子によるバイオコンジュゲーションの有用性を更に向上させ得る新規バイオコンジュゲート化 DDS の開発に関する検討を行い、以下の結果を得た。

- 1) 血中滞留性に優れた水溶性高分子として PVP を用い、TNF- $\alpha$  をバイオコンジュゲート化することで、in vivo における抗腫瘍効果を約200倍に増強することに成功した。
- 2) PVP に環無水物を導入することで、薬物徐放機能を有する新規修飾高分子を作製した。また、導入する環無水物の構造や導入率を変化させることで、薬物徐放速度を任意にコントロールすることに成功した。
- 3) 環無水物である DMMAAn を至適量 PVP に導入することで、投与量の70~80%が腎臓へ選択的に集積し、細胞傷害性の無い新規の標的指向物質の開発に成功した。

以上のように、本論文は次世代のバイオコンジュゲート化 DDS 研究に対して極めて有効な手法を提供しており、博士（薬学）の学位を授与するにふさわしいものと考ええる。