



| | |
|--------------|--|
| Title | 水溶性高分子の生体内動態特性評価に基づくバイオコンジュゲート医薬品の分子設計と薬物治療への応用に関する研究 |
| Author(s) | 金田, 喜久 |
| Citation | 大阪大学, 1998, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/40528 |
| rights | |
| Note | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。 |

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

| | |
|------------|---|
| 氏名 | 金田 喜久 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士(薬学) |
| 学位記番号 | 第 13798 号 |
| 学位授与年月日 | 平成10年3月25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 | 水溶性高分子の生体内動態特性評価に基づくバイオコンジュゲート 医薬品の分子設計と薬物治療への応用に関する研究 |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 真弓 忠範 (副査) 教授 馬場 明道 教授 前田 正知 教授 溝口 正 |

論文内容の要旨

近年の分子細胞生物学の進歩により、サイトカイン等の生理活性蛋白質を癌やウイルス疾患等の各種疾病治療へ応用しようという試みが注目されつつある。しかし、これらの生理活性蛋白質の多くは極めて生体安定性に乏しいために、臨床応用する際には大量頻回投与を余儀なくされ、その結果重篤な副作用を招いてしまっている。そのうえ、これらの生理活性蛋白質は、一般に多様な *in vivo* 生理作用を示すために、副作用のみを選択的に回避することは困難であり、この点からも臨床応用が著しく制限されている。この様な背景から、近年、DDS による薬物治療の最適化を念頭に、水溶性高分子を用いた薬物のバイオコンジュゲーションが考案されてきた。しかしながら、これまで報告されているバイオコンジュゲート医薬品の分子設計の殆どが、低分子を基質とする酵素蛋白質を中心としたものでしかなく、単に生体安定性改善を目的とした現象論に過ぎなかった。本来生体内で多元的な機能を有しながら、緻密な作用制御を受けるサイトカイン等を用いて薬物治療を行う場合、これらの安定性改善のみならず、精巧な生体内動態制御や目的とする治療作用のみを増強し得る付加活性等の導入が可能となって初めて薬物治療の最適化が達成できるものと考えられる。そこで本研究では、特に癌治療の最適化を念頭に、修飾高分子に焦点を絞り、二つの方向からの検討を行った。一つは、水溶性高分子の生体内動態が、高分子の電荷や親水疎水バランス等の物理化学的性質に多大な影響を受けるものと考えられることから、これらの物理化学的性質と生体内動態特性との連関評価を行うことで修飾高分子選択の指標構築を試みた。二つ目として、バイオコンジュゲート医薬品の動態制御とは別の観点から、薬理活性を有する機能性修飾高分子に着目し、薬物への機能付与による新たなインテリジェント化医薬品の分子設計を行い、その薬物治療への応用について併せて検討を行った。

ポリエチレングリコール (PEG) は、抗原性が低く生体安全性に優れるために、バイオコンジュゲーションにおける修飾高分子としてこれまで最も頻用されてきたが、その構造上、新たな機能性官能基の導入が困難であるうえ、薬物との結合部位も両末端の OH 基に限局されてしまう等の欠点を有している。従って、バイオコンジュゲーションにより薬物の生体内動態を緻密に制御するためには、PEG に代わる新たな修飾高分子を見出す必要がある。そこでまず、種々の非電荷水溶性高分子の生体内動態について検討を行ったところ、ポリビニルピロリドン (PVP) が、最も長い血中滞留性と低い組織移行性を示したことから、薬物の血中局在化を目的としたバイオコンジュゲーションには、PVP が最も適した高分子であることが判明した。PVP は、日本薬局方収載品であり、極めて生体安全性が高いうえ、ラジカル共重合法により任意に種々のコモノマーを導入可能であることからもその有用性が示唆された。次

に、このPVPを幹修飾高分子として選択し、荷電官能基や疎水性官能基を有するコモノマーを導入することによりPVP誘導体を作製し、それらが有する物理化学的性質と生体内動態特性との連関評価を行うとともに、特定組織親和性を有する修飾高分子を検索した。その結果、修飾高分子への荷電官能基及び疎水性官能基の導入量を精密に制御することで、修飾高分子の動態制御が可能となるだけでなく、腎臓や脾臓等の特定組織に親和性の高い修飾高分子を新たに見出した。

一方、ジビニルエーテル無水マレイン酸共重合体(DIVEMA)は、インターフェロンの誘導や、NK細胞、マクロファージの活性化等により、自身で抗腫瘍効果を示す機能性高分子の一つであり、バイオコンジュゲーションによる癌治療の最適化に極めて有用な修飾高分子であると考えられることから、次に、腫瘍壞死因子(TNF- α)をモデル蛋白質として選択し、DIVEMAが有する機能特性をTNF- α に付与することで、その抗腫瘍効果増強を試みた。TNF- α は、腫瘍を特異的に傷害するサイトカインとして見出されたが、体内安定性が極めて乏しいために大量頻回投与を余儀なくされ、その結果重篤な副作用を招いている。そのため、全身投与では投与量が著しく制限され、これまでのところ臨床応用は断念されてきた。各種腫瘍モデルを用いて検討を行ったところ、DIVEMAバイオコンジュゲート化TNF- α (DIVEMA-TNF- α)は、未修飾TNF- α と比較して100倍以上もの抗腫瘍効果を示した。未修飾TNF- α 投与群では、殆ど抗腫瘍効果の認められない5,000単位、10,000単位投与群においても、わずか5例中1例の完全治癒しか得られないばかりか、10,000単位投与群で残る4例中2例、5,000単位投与群でも1例のマウスが投与24時間以内に突然死し、有意な延命効果は認められなかった。一方、DIVEMA-TNF- α 投与群では、突然死を伴うことなく、わずか100単位でも全例完全治癒が得られ、未修飾TNF- α 投与により認められる血小板減少や肝障害等の副作用は全く観察されなかった。DIVEMA-TNF- α の抗腫瘍効果増強メカニズムについて検討を加えたところ、血中滞留性の向上や、腫瘍組織への移行性増大では無いことが明らかとなり、DIVEMA自身の機能特性が大きく関与することが示唆された。

以上の検討から、修飾高分子の生体内動態特性を詳細に評価することで、治療目的に応じたバイオコンジュゲート医薬品の分子設計が可能となることを明らかにするとともに、機能性高分子を用いたバイオコンジュゲーションにより、新たな機能を有するインテリジェント化医薬品の分子設計が成し遂げられることを示した。今後、上述の知見を統合していくことで、次世代を担うバイオコンジュゲート医薬品の分子設計が可能になるものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

水溶性高分子によるバイオコンジュゲーションは、修飾高分子結合による見かけの分子量増大にともなった腎糸球体濾過の抑制が可能となるだけでなく、薬物表面を覆う修飾高分子が形成する立体構造障害により各種分解酵素の攻撃から回避できるため、特にペプチド性薬物の生体内安定性が大幅に改善し得る。さらに、修飾高分子が有する諸性質により、薬物の体内動態制御をも可能とする新しい創薬方法の一種として、バイオコンジュゲート医薬品の生体内動態と修飾高分子の動態特性との連関評価を行うことにより、初めて臨床応用可能なバイオコンジュゲート医薬品の創製が成し遂げられるものと考えられる。また、水溶性高分子によるバイオコンジュゲーションは、動態制御により体内で多元的な生理作用を示すホルモンやサイトカインの特定の作用のみを選択的に引き出すことが可能となるだけでなく、体内で作用を有する機能性修飾高分子との結合により、医薬品が本来有していない機能をも付与することで、新たなインテリジェント化医薬品の分子設計をも可能にするものと考えられる。以上の観点から、著者は次世代の薬物療法を担う新たなバイオコンジュゲート医薬品の分子設計を行なべく種々検討の結果、以下の結論を得た。

- 1) PVPは非電荷水溶性高分子の中で最も長い血中滞留性と低い組織移行性を示したことから、血管内を作用発現部位とするバイオコンジュゲーションに最も適した修飾高分子であることが判明した。
- 2) 修飾高分子が有する物理化学的性質を変化させることにより、高分子の体内動態制御が可能となり、これらの連関評価を行うことにより、ペプチド性薬物の種類や治療の目的に応じた修飾高分子の選択が可能となり得ることを示した。
- 3) pH応答性を有するアミノ基保護試薬DMMAnを用いることにより、サイトカインの比活性をほとんど低下さ

せる事なくバイオコンジュゲート薬物を作製する方法を確立した。

4) 本方法を応用して DIVEMA - TNF - α を作製し, native TNF - α と比較したところ, 100倍以上もの抗腫瘍効果を示すうえ, 血小板減少などの副作用を全く示さなかったことから, その癌治療への有用性が示唆された。

以上, 修飾高分子の体内動態特性を詳細に評価することで, 治療目的に応じたバイオコンジュゲート医薬品の分子設計が可能となることを明らかにすると共に機能性高分子を用いたバイオコンジュゲーションにより, 新たな機能を有するインテリジェント化医薬品の分子設計が成し遂げられることを示している点, 博士(薬学)の学位を授与するにふさわしいものと考える。