



Title	ヒト活性化プロテインCの生体内動態に関する研究
Author(s)	石井, 成幸
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41250
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 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 石 井 成 幸

博士の専攻分野の名称 博 士 (薬 学)

学 位 記 番 号 第 1 4 7 9 3 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 11 年 3 月 25 日

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

学 位 論 文 名 ヒト活性化プロテインCの生体内動態に関する研究

論 文 審 査 委 員 (主査)
教 授 溝 口 正

(副査)
教 授 前 田 正 知 教 授 松 田 敏 夫 教 授 東 純 一

論 文 内 容 の 要 旨

ヒト血液中には多種多様な蛋白質が存在し、生命機能の維持に働いている。これらの蛋白質の多くは様々な生物活性を有しており、その作用が強力な為、作用部位における濃度は厳密にコントロールされている。しかし、病態時にはときとしてその調節機構に狂いが生じ、場合によっては医薬品として体外からその蛋白質を補う必要が生じる。バイオ医薬品は、そのような病態の治療のために使われる医薬品であり、その歴史は1983年に米国で許可されたヒトインスリンにさかのぼる。以後、蛋白質工学やバイオテクノロジーの進歩に伴い、生物活性を有する様々な蛋白質が発見され、医薬品としての開発が進められてきている。

蛋白質性医薬品が生理的濃度を超えて投与された場合、目的以外の作用が発現したり、本来存在しないような組織に到達してそのホメオスタシスの乱れを招き、その結果、生体にとって望ましくない作用を及ぼす可能性が考えられる。したがって、これらの生物活性を示す蛋白質がバイオ医薬品として臨床の場に提供されるためには、その安全性や体内動態に関する詳細な検討が必要である。医薬品の体内動態に関する研究は、動物からヒトに至るまで数多く報告されている。これらの体内動態を研究する上で重要な点は、生体試料中の未変化の医薬品やそれに由来する代謝物を単離、同定及び定量するための基礎技術である。バイオ医薬品の体内動態に関する研究は現在までにいくつか報告されているが、生体試料の分析及び定量法は複雑であり、また低分子医薬品ほどその生体内動態のメカニズムが明らかにされているわけではない。

バイオ医薬品の定量法には大きく分けて免疫学的手法と生物活性を指標とした方法が考えられる。免疫学的手法は蛋白質のアミノ酸配列やコンフォメーションを認識する抗体との結合性を指標とするもので、変性したり、断片化した蛋白質であってもエピトープが残っていれば反応するため、簡易定量法として適切であるが、必ずしも生物活性を反映するものではない。一方、生物活性を指標にした方法は活性発現に関与しない部分で構造に少々変化があっても測定可能であり、生体中での有効性を評価する上で利点があるが、それは必ずしも未変化の蛋白質の濃度とは限らない。

本研究では、ヒト活性化プロテインC (APC) およびサイトメガロウィルスに対するモノクローナル抗体の Regavirumab という2種の異なるバイオ医薬品について、いずれも生物活性を代表する分析手法及び免疫学的測定法に、放射性トレーサー法を組み合わせ、臨床における有効性と安全性を明らかにする目的で、それぞれを動物に投与したときの血中濃度、代謝並びに組織内濃度について検討した。

APCはビタミンK依存性血液凝固制御調節因子の一つであり、プロテインSの存在下で細胞膜リン脂質に結合した血液凝固系に関わる第VIIIa因子並びに第Va因子を選択的に限定分解・失活させることにより、強力な抗凝固作用を発現する。

一方、regavirumabは新規受動免疫治療薬として開発が進められているサイトメガロウィルス（CMV）の中和抗体であり、その活性はヒト血清ガンマグロブリンに比して約1,000倍の強度を示すことより、骨髄移植をはじめとする各種臓器移植患者や重症血液疾患患者など免疫機能が低下した患者に対して日和見的に発症するCMV感染症に対する臨床での効果が期待されている。

今回の研究の結果、下記のような知見が明らかとなった。まず第一に、APCは主として血漿中に存在するが、速やかに血漿内蛋白質と複合体を形成し、APC活性が消失することが明らかになった。APCは血液凝固系に関わる重要なひとつの機能蛋白質であるものの、体内に長時間にわたって存在し、その活性を発揮することは必ずしも望ましくなく、むしろ血液凝固系のバランスを崩し、出血をもたらす危険性があり、その点ここで得た事実は合目的性がある。この結果はヒトにおける第I相試験の成績と一致するものであった。APCの薬理作用発現には血中のAPC濃度を有効レベルに維持することが重要と考えられるが、必要以上の高レベルは出血などの副作用があるため、APCの臨床における用法は、数時間の点滴持続静注が適切と判断される。これまでにAPCの機能を制御するメカニズムとして α 1-アンチトリプシンとの複合体形成が示唆されている。

一方、サイトメガロウィルス治療薬Regavirumabを¹²⁵I標識し、ラットを用いて体内動態を調べた結果、静脈内投与後の消失半減期は約12日間であり、APC活性の消失半減期、5.4分（ウサギ）に比べ、極端に長いことが明らかになった。しかも、1回のRegavirumab静脈投与で約2週間に及んでウィルス中和活性を維持していた。Regavirumabの薬理効果は、血中に適量の有効濃度が維持されることが重要であるため、初回にある程度のレベルまで血中濃度を上昇せしめ、以後少用量を持続する用法が適切と推定される。

また、Regavirumab自身に体組織に特異的な抗原性を示さないこと及び生体に対して直接の生理作用を示さないことより、Regavirumabの動態的特徴を生かし、初期には投与間隔を短くして高レベルを維持し、以後有効濃度を維持できる用量を適当な間隔で投与することが適切と考えられた。

今回の研究を通して、バイオ医薬品の生体内動態を検討する上での次のような点に留意することが望ましいと考えた。第一に適切な動物種を選択すること。特殊な場合を除いて、生物活性を評価できない動物種では、臨床での有効性を判断することは困難である。第二に生物活性測定法を考案すること。それにより、体内での生物活性の推移を定量的に評価することが可能である。第三にその生物活性測定法と抗原測定法を組み合わせることで評価すること。それにより、投与されたバイオ医薬品のほぼ未変化の状態での推移を推測することが可能である。第四に生物活性を有する放射性トレーサーを調製し、生物活性、抗原性と同時に放射能の推移を追跡すること。それにより、組織への蓄積性が明らかとなり、かつ生物活性や抗原性では判別できない代謝物の存在を明確にし、臨床での安全性に対する情報を提供することが可能である。

論文審査の結果の要旨

医薬品の有効性と安全性を予測する上で生体内動態の研究は欠くことができない重要な課題である。本研究では血液凝固制御調節因子のひとつであるヒト活性化プロテインC及びサイトメガロウィルス抗体、Regavirumabについて生体内動態が検討された。それぞれのタンパク質の特性を生かした生物活性ならびに抗原性を測定し、それに加えて放射性トレーサーの追跡も行っている。

ヒト活性化プロテインCは動物に静脈内投与したとき生物活性の消失半減期は数分であり極めて短く同時に測定した抗原性及び放射能は生物活性に比較して穏やかに推移することを見出した。また、ウサギに定速持続静脈内投与したとき、血漿中のヒト活性化プロテインC濃度は投与開始後1時間まで上昇し、以後定常状態を維持した。このときの濃度は急速静脈内投与したときの濃度推移より得られるシミュレーション曲線とほぼ一致することを見出した。これらの結果より、ヒト活性化プロテインCをヒトに投与して抗凝固活性を発揮させるには、定速持続投与が適切であ

ることが示唆された。

一方、Regavirumabは動物に静脈内投与したとき生物活性の消失半減期は約12日間であり比較的長く一回の投与でウイルス中和活性を示す濃度が約2週間に及んで持続することを明らかにした。この結果より、Regavirumabをヒトに投与して適切な薬理効果を得るためには、投与初期には間隔を短くして高濃度を維持し、以後有効濃度を持続できる用量を適当な間隔で投与することが適切と考えられた。

本研究は2種の異なるタンパク質性医薬品の生体内動態を詳細に検討し、それぞれ適切な投与方法を確立するに至った点で、博士論文としての価値を有するものと認められる。