



Title	薬物治療の最適化を指向した細胞接着ペプチドのDrug Delivery Systemの展開に関する研究
Author(s)	牟, 宇
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/41359">https://hdl.handle.net/11094/41359</a>
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名	牟宇
博士の専攻分野の名称	博士(薬学)
学位記番号	第14573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1項該当 薬学研究科応用薬学専攻
学位論文名	薬物治療の最適化を指向した細胞接着ペプチドのDrug Delivery Systemの展開に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 真弓 忠範  (副査) 教授 小林 祐次 教授 溝口 正 教授 馬場 明道

### 論文内容の要旨

近年の癌化学療法の進歩にも関わらず、未だ癌は死亡原因の第1位を占め続けている。この癌による死因の多くは、転移癌に起因することが知られて、癌転移の克服が今後の癌研究における最も重要な課題の一つとなってきた。主な転移ルートである血行性転移が成立するためには、癌細胞と血管内皮細胞や血小板、癌細胞と細胞外マトリックスなどの非常に多岐に富んだ接着相互作用が必須であることが報告されている。従って、癌細胞との接着相互作用に関わる細胞接着分子や細胞外マトリックスの機能を制御することは、癌転移の抑制に有効な手段になるものと考えられる。特に細胞外マトリックスと癌細胞との接着相互作用は、癌転移過程において、重要な役割を果たしているため、この細胞外マトリックスを介した接着相互作用の制御が癌転移抑制に効果的であると期待されている。

種々の糖蛋白質やプロテオグリカンから構成されている細胞外マトリックスの中でも、ラミニンやフィブロネクチンに関しては、その構造や機能の全貌が解明されつつあり、YIGSRやRGDなどの幾つかの活性中心ペプチドが同定されてきた。これら細胞接着ペプチドが、*in vitro*に於いて癌細胞の基底膜への接着・浸潤を阻害することなどが明らかとされ、細胞接着阻害に基づいた新しいタイプの転移抑制剤として注目されるようになってきた。

しかしながら、これらの細胞接着ペプチドを*in vivo*に適用した際には、ペプチダーゼによる分解を受けてしまう上、速やかに腎排泄されてしまうなど、その生体内安定性は極めて乏しく臨床応用が制限されている。以上はペプチドホルモンなどの多くの生理活性ペプチドにも当てはまってしまう問題である。現在この問題を解決するアプローチとして、ペプチドの環状化やペプチド構成アミノ酸の改変などによるペプチダーゼ抵抗性の付与が試みられている。しかしこれらのアプローチはいずれも、腎排泄の回避に関しては明らかに改善されていないため、これまでのところ十分な成果は得られていないのが現状である。従って、細胞接着ペプチドなどを医薬品化していくためには、ペプチダーゼ抵抗性のみならず、腎排泄を回避することで効果的に血中滞留性を高め得るDDSの開拓が切望されている。

本研究では、薬物治療の最適化の観点から、ラミニン中の活性中心ペプチドであるYIGSRをモデル細胞接着ペプチドとして用い、その癌転移抑制効果の増強を目的に、細胞接着ペプチドの高分子バイオコンジュゲーションを試みた。まず、多岐状ポリリジンを修飾高分子として用いたmultiple antigen peptide system (MAPシステム)によるYIGSRのバイオコンジュゲーションの有用性を評価した。ポリリジンが形成する立体障害により不十分ながらもペプチダーゼ抵抗性を付与し得たため、*in vivo*での抗転移効果がnative YIGSRより増強された。しかしながら、顕著な抗転移効果増強が観察されなかった。

そのうえ、さらなるアプローチとして、水溶性高分子を用いた細胞接着ペプチドのバイオコンジュゲーションとします、YIGSR の PEGylation (PEG [Polyethylene glycol] によるバイオコンジュゲーション) について検討を加え、細胞接着ペプチドの高分子バイオコンジュゲーションに関する基礎的情報の集積を図った。PEG による細胞接着ペプチドのバイオコンジュゲーションにおいては、細胞接着ペプチドにペプチダーゼ抵抗性を付与できること、その結果細胞接着ペプチドの血中安定性が増大し、その癌転移抑制効果を約10倍向上し得ることが判明した。しかしながら癌の血行性転移などに対してより有効性に優れた細胞接着ペプチド医薬品を創出していくためには、ペプチダーゼ抵抗性付与（血中安定性の向上）のみならず、腎排泄をも回避することで、PEG よりも血中滞留性の改善効果に優れた修飾高分子の選択が必須であることが示唆された。

以上の YIGSR の PEGylation によって得られた知見を基に、さらに有効性に優れた抗転移薬の開発を念頭に、血中滞留性に優れ、かつ新たな付加価値を導入し得る修飾高分子であるポリエチレン無水マレイン酸 (SMA) とポリビニルピロリドン (PVP) による YIGSR のバイオコンジュゲーションを試みた。血中アルブミンとの結合能を有する SMA による細胞接着ペプチドのバイオコンジュゲーションにより、細胞接着ペプチドの血中滞留性は向上されたが、高分子化による立体障害のために、その癌転移抑制効果は PEG<sub>5000</sub>-YIGSR と同等でしかなかった。細胞接着ペプチドの *in vivo* における薬物作用発現強度を考えた場合、血中滞留性（血中安定性 [ペプチダーゼ抵抗性]、腎排泄、組織分布）、生物活性（比活性）、生体内諸因子などの有機的連関が非常に重要であることが示唆された。比活性低下を回避しつつ、ペプチダーゼ抵抗性を付与すると同時に、腎排泄抑制をも達成していくことで効果的に血中滞留性を高めるという、相矛盾したバイオコンジュゲーションを考案せねばならないことが示された。以上の諸問題を解決すべく PVP による細胞接着ペプチドのバイオコンジュゲーションを試みたところ、細胞接着ペプチドの血中滞留性が飛躍的に向上し得ること、その結果 native YIGSR の100倍以上にも癌転移抑制効果が増強で得ることが明らかとなった。

以上の結果から、PVP の修飾高分子としての有用性が明らかとなる共に、PVP を用いた高分子バイオコンジュゲーションが、できる限り比活性を保持したうえ、細胞接着ペプチドの血中安定性（ペプチダーゼ抵抗性）の向上と腎排泄回避の双方を改善し得ることにより細胞接着ペプチドの血中滞留性延長できる DDS の一つであると考えられた。今後、PVP によるバイオコンジュゲーションを種々の生理活性ペプチドに適用していくとともに、PVP を幹修飾高分子として、徐放化能や標的指向能を導入した PVP 誘導体を作製し、組織選択的に薬物を送達可能とする修飾高分子の開発や徐放化修飾高分子の開発を試みていくなど、更なる詳細な検討により、疾病に応じたバイオコンジュゲートペプチド医薬品の開発に関する DDS 展開を可能とする基礎が達成し得たものと考える。

### 論文審査の結果の要旨

細胞外マトリックスの主要成分であるラミニンの活性中心 YIGSR をはじめとする細胞接着ペプチドが、*in vitro* に於いて効率よく基底膜成分への癌細胞の接着・伸展・浸潤を阻害すること、癌細胞への血小板の接着や血小板凝集を抑制することなどが明らかとされ、細胞接着阻害に基づいた新しいタイプの転移抑制剤として細胞接着ペプチドを開発しようとする試みが注目されている。しかしながら、分子量の小さな生理活性ペプチドは生体内滞留性に乏しいため、*in vivo* に於いてはこれら細胞接着ペプチドを大量頻回投与しても、十分な癌転移抑制効果が得られていないのが現状である。従って、臨床応用可能な次世代抗転移薬として創出していくためには、何よりもまずペプチダーゼの抵抗性を付与すると同時に腎糸球体濾過をも回避し、血中滞留性を効果的に高め得る DDS の開発が急務となっていた。そこで著者は、薬物治療の最適化の観点から、YIGSR をモデル細胞接着ペプチドとして用い、その癌転移抑制効果の増強を目的に、高分子バイオコンジュゲーションを試みた。その結果、PEG による細胞接着ペプチドのバイオコンジュゲーションにより、ペプチダーゼ抵抗性を付与できる結果細胞接着ペプチドの血中安定性が増大した。しかし、腎排泄抑制が不十分なためその癌転移抑制効果を元のペプチドに対して約10倍しか向上しなかったことが判明した。そこで、生体内因子（血中アルブミン）との結合能を有する SMA によるバイオコンジュゲーションを試みたところ、細胞接着ペプチドの血中滞留性は向上されたが、過剰な高分子化による立体障害のために、その癌転移抑

制効果は PEG<sub>500</sub>-YIGSR と同等でしかなかった。そこで立体障害を出来るだけ押さえつつペプチダーゼ抵抗性や腎排泄抑制を達成すべく PVP による細胞接着ペプチドのバイオコンジュゲーションを試みたところ、細胞接着ペプチドの血中滞留性が飛躍的に向上し得ること、その結果 native 細胞接着ペプチドの100倍以上にも癌転移抑制効果が増強でき得ることが明らかとなった。以上の検討により PVP を幹修飾高分子として、徐放化能や標的指向能を導入した PVP 誘導体を作製し、組織選択的に薬物を送達可能とする修飾高分子の開発や徐放化修飾高分子の開発を試みていくなど、更なる詳細な検討により、疾病に応じたバイオコンジュゲートペプチド医薬品の開発に関する DDS 展開を可能とする基礎が達成し得た点、博士（薬学）の学位を授与するにふさわしいと考える。