



|              |   |
|--------------|---|
| Title        | 新規DDS製剤としての細胞性製剤の機能評価とその最適化に関する研究   |
| Author(s)    | 鈴木, 亮   |
| Citation     | 大阪大学, 2001, 博士論文  |
| Version Type | VoR   |
| URL          | <a href="https://doi.org/10.11501/3184260">https://doi.org/10.11501/3184260</a> |
| rights       |   |
| Note         |   |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

|            |   |
|------------|---|
| 氏名         | 鈴木 亮  |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士(薬学)  |
| 学位記番号      | 第 16161 号   |
| 学位授与年月日    | 平成13年3月23日  |
| 学位授与の要件    | 学位規則第4条第1項該当<br>薬学研究科応用医療薬科学専攻                            |
| 学位論文名      | 新規 DDS 製剤としての細胞性製剤の機能評価とその最適化に関する研究                       |
| 論文審査委員     | (主査)<br>教授 真弓 忠範<br><br>(副査)<br>教授 八木 清仁 教授 松田 敏夫 教授 東 純一 |

#### 論文内容の要旨

生体内の細胞は、周囲環境に応じて必要時に必要量の生理活性物質を必要な部位において作用させることにより、生体の恒常性を維持している。これら生理活性物質を薬物に見立てた場合、細胞の有する生理活性物質のセンサー・生合成・徐放機能は、薬物送達の最適化を目指す Drug Delivery System (DDS) の理想型であり、細胞は生体内において理想的 DDS を実践している粒子である。したがって、機能性・合理性の観点から細胞に勝る DDS 製剤は現存しないと見えよう。それゆえ、著者らはインテリジェントな粒子として細胞自身を「薬」として捉えるとともに、製剤素材として捉えた「細胞性製剤 (Cytomedicine)」の確立を目指した研究を行っている。

細胞を薬物のキャリアーとして疾病治療に応用していくためには、機能性細胞をホストの免疫系から完全に隔離する必要がある。これまでに著者らは、アルギン酸-ポリ(L)リジン-アルギン酸 (APA) マイクロカプセルを細胞固定化担体として利用することにより、機能性細胞をホストの細胞性免疫系から隔離し、生理活性物質の *in vivo* 長期デリバリーが可能であることを報告してきた。しかし、これまでの細胞性製剤は、生理活性物質の分泌制御調節を受けることなく、恒常的に生理活性物質を産生・分泌する細胞を利用していたため、単に生理活性物質を徐放化するだけの薬物徐放化製剤に過ぎなかった。細胞性製剤の最大の利点は、生体内で本来細胞が有している生理活性物質のセンサー・生合成・徐放機能などの分泌制御能を模倣し、生体内の環境に応じて疾病治療に有効な生理活性物質を必要量、タイミングよく供給することで生体の恒常性を乱すことなく薬物利用が行える点にある。そこで本研究では、細胞性製剤のさらなる機能向上を目指して、センサー機能を有する細胞性製剤の開発を行った。

糖尿病におけるインスリン療法では、様々な徐放化インスリン製剤が開発されてはいるが、厳密な血糖値コントロールが困難であり、インスリンの過剰投与による致命的低血糖を起こす危険性が指摘されている。そこでこれら問題を解決するため、糖尿病をモデル病態として、血中のグルコース濃度を感知しながらインスリンの分泌制御を行う細胞性製剤を構築し、将来的に糖尿病治療に適用すべく種々検討を行った。生理的グルコースセンサー機能を有する細胞性製剤は、血糖値を厳密にコントロールすることで致命的な低血糖を招くことなく1回の投与により長期間に渡る糖尿病治療を可能にし、この製剤が理想的糖尿病治療薬になり得ることを示した。一方、生理的グルコースセンサー機能を有していない、すなわちその機能が低血糖グルコース濃度側にシフトした細胞性製剤は、正常血糖値においてインスリン分泌を亢進するため致命的な低血糖を引き起こすことも判明し、細胞性製剤におけるセンサー機能の重要性が示唆された。

以上の様に細胞性製剤がアロジェニックな宿主体内で長期間安定に機能することが判明したが、この際同時に封入細胞に対する液性免疫系が活性化され、封入細胞に対する抗体が誘導されることを確認している。細胞性製剤を広範囲に利用可能な製剤として臨床応用していくためには、細胞性製剤に利用する機能性細胞をホストの細胞性免疫系および液性免疫系から完全に隔離可能な細胞固定化担体を開発する必要がある。従来の APA マイクロカプセルは、封入細胞を細胞性免疫系による細胞傷害から回避可能であるものの、液性免疫系による細胞傷害から回避困難であることが判明した。そこで、細胞性製剤のさらなる有用性・安全性向上を目的に、液性免疫隔離能を有する新規細胞固定化担体の開発に着手した。細胞固定化担体において液性免疫隔離を達成するためには、液性免疫系による細胞傷害反応でエフェクターとして働く補体系に対し抵抗性を有する細胞固定化担体を開発することが最適であると考え、補体抵抗性を有する細胞固定化担体開発を行うこととした。

補体系は様々な補体成分のカスケード反応から成り立っており、たとえその反応の一部であっても阻止することができれば、補体系による細胞傷害反応を防ぐことができる。そこで、細胞固定化担体への補体成分の透過・拡散性抑制または抗補体作用の付与といった2つのアプローチに基づき、細胞性製剤への液性免疫隔離能付与を試みた。まず、細胞固定化担体内への物質透過・拡散性抑制を目的に、APA マイクロカプセル内をアルギン酸バリウムゲルで満たした APA (Ba) マイクロビーズを作製したところ、この APA (Ba) マイクロビーズが担体内への物質透過・拡散性を著しく抑制し、封入細胞を液性免疫系による細胞傷害から回避可能にした。さらに、著者は非常に強力な抗補体作用を有し、かつ細胞傷害性のない polyvinyl sulfate (PVS) を見出し、この PVS を利用することで細胞固定化担体に液性免疫隔離能を付与し得ることを明らかにした。また、本研究では新たに発見した PVS の抗補体作用メカニズムの解明も行ない、この PVS が補体系の古典的経路および第二経路の両経路の活性化を抑制するポリマーであることも併せて明らかにした。これらの点から、PVS が液性免疫隔離を達成するために理想的ポリマーであるものと考えられた。今後、マイクロカプセルやマイクロビーズ型以外に非常に有用な細胞性製剤の剤型が開発されたとしても、細胞性製剤の基本的概念は大きく変わらないと考えられる。すなわち、ホスト免疫系から機能性細胞を隔離する方法論が議論の中心になることは確実であろう。その場合でも、本研究で提示した液性免疫隔離に関する技術が役に立つものと期待される。

以上、センサー機能を有する細胞性製剤の新規 DDS 製剤としての有用性および液性免疫隔離能を付与した細胞性製剤の粒子設計に関する方法論を提示した。しかし、本研究では細胞性製剤の臨床応用に向けた問題点の一部分について解決する方法を提示したにすぎない。特に、細胞性製剤の安全性に関してはまだまだ高いハードルが待ち受けている。これらハードルを越えるのは困難を伴うが、その1つ1つを確実にクリアしていくことにより、21世紀における夢の医薬品、細胞性製剤が現実のものとなっていくだろう。

## 論文審査の結果の要旨

生命体は様々な生体内因子による複雑なネットワーク機構を駆使することで恒常性を維持している。このネットワークの中心を担っているのは、種々の生体内情報に応じてホルモンやサイトカインなどの生理活性物質をセンサー機能を持って生合成、分泌・徐放させている細胞である。細胞から分泌・徐放されている生理活性物質を薬物に見立てた場合、細胞に本来的に備わっているセンサー・生合成・分泌・徐放などの機能は、「必要な時に、必要な量の薬物を、必要な部位でのみ作用させる」という薬物治療の最適化を目指した Drug Delivery System (DDS) の理想型である。従って、細胞は生体内で理想的 DDS を実践しているインテリジェント粒子であるといえる。それゆえ、機能的観点からすると細胞に勝る DDS 製剤はない。著者はこれを細胞性製剤と呼び、次世代型製剤の開発に向けた基礎研究を行っている。

細胞性製剤のソースとしては、自己細胞以外に非自己の細胞をも利用できれば応用範囲は著しく拡大する。しかしこの場合は、ホストの免疫系から細胞を完全に隔離する必要がある。そこで著者は、免疫隔離能を有する細胞性製剤の粒子設計、特に液性免疫隔離能に関する問題点を指摘するとともに、それを解決し得る新規細胞性製剤の粒子設計の検討を行った。その結果、以下の成果が得られた。

- 1) 糖尿病モデルマウスに生理的グルコースセンサー機能を有する MIN 6 細胞を APA マイクロカプセル (半透性高分子担体) に封入 (APA-MIN 6) し、細胞性製剤として単回投与することにより、低血糖を引き起こすことなく 2 カ月以上の糖尿病治療効果が認められた。
- 2) 糖負荷試験により、APA-MIN 6 細胞がアロジェニックな宿主体内で長期間にわたりグルコースセンサー機能を保持していることを明らかにした。
- 3) しかしながら一方で、APA マイクロカプセルの液性免疫隔離能が不完全である事が示唆された。この改善策として、APA (Ba) マイクロビーズを調整し、担体内への補体成分の透過・拡散性を抑制することにより、封入細胞を液性免疫から隔離することが可能であった。
- 4) Polyvinyl sulfate (PVS) が強い補体活性化抑制能を有し、かつ細胞傷害性を示さないことを新たに見出した。この作用機構を明らかにするとともに、PVS を細胞固定化担体に導入することで、更に強い液性免疫隔離能を達成することに成功した。

以上の成果は、次世代型治療戦略としての細胞性製剤開発の実現に向けて多大な貢献をなすものであり、博士 (薬学) の学位を授与するにふさわしいものとする。