



Title	薬物ターゲティングにおける課題とその制御
Author(s)	星野, 哲夫
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43236">https://hdl.handle.net/11094/43236</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	星 野 哲 夫
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	第 16688 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 14 年 3 月 12 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	薬物ターゲティングにおける課題とその制御
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 真弓 忠範
	(副査) 教 授 前田 正知 教 授 山元 弘 教 授 馬場 明道

### 論 文 内 容 の 要 旨

ドラッグデリバリーシステムは、投与部位から作用発現に至るまでの薬の動きをトータルに捉え、各種の技術で制御することにより最高の治療効果を得ることを目指した投与形態として定義され、①必要な場所に、②必要なときに、③必要な量または濃度の薬物を送り込んで最大の臨床効果を得ようとする製剤学的な手法である。なかでもターゲティングはドラッグデリバリーシステムの考え方の中でも最も重要かつ基本的な概念である。ターゲティングは、その方法から物理的または生化学的アプローチに分類される。外科的・物理的アプローチは、医療技術の進歩にともない洗練された技術が開発されてきたが、作用部位である病巣へ直接投与するという利点があるものの、手術などの侵襲的な観血治療にともなう感染リスクを避けるため、治療のための有効濃度を保ちながら投与回数を少なくする「時間」に関する課題がある。生化学的アプローチにおいては、外科的手段では達し得ない場所にも薬物を送り込むことができる一方、全身循環を利用しながらも、副作用を発現させないために標的以外の組織への分布を回避し、薬物を選択的に病巣へ集積する「場所」の制御が課題となる。すなわち、物理的および生化学的アプローチにおいては、作用部位における有効濃度を維持するために、それぞれ「時間的制御」および「空間的制御」に、より厳密なコントロールが必要である。著者は、両アプローチにおけるこれらの課題の解決方法について具体的な検討を行った。

物理的アプローチの例として、骨形成促進薬 (2R, 4S)-(-)-N-[4-(ジエトキシホスホリルメチル)フェニル]-1, 2, 4, 5-テトラヒドロ-4-メチル-7, 8-メチレンジオキシ-5-オキソ-3-ベンゾチエピン-2-カルボキサミド (以下、TAK-778) の局所投与徐放性注射剤の設計を行った。最初に、溶液反復投与により投与スケジュールを検討した。ラット長管骨難治性骨折モデルにおいて、TAK-778溶液を種々のプロトコルで反復投与した結果、癒合促進のためには 4 週間の治療期間と、治療初期に高濃度の薬物暴露が必要であることが明らかとなった。次に、乳酸ーグリコール酸共重合体を基剤とする生分解性の徐放性マイクロカプセルを設計した。本マイクロカプセルをラットに単回投与して薬物の投与部位からの消失を調べたところ、TAK-778は投与後 4 週間をかけて徐々に消失した。また、マイクロカプセルを単回投与した後の血清中薬物濃度を、高感度に未変化体を検出する酵素免疫測定法で検討したところ、投与後 4 週間にわたり持続することが確認された。作用部位の薬物濃度は、放出特性と体内動態パラメータを用いてコンパートメントモデルにより薬動力学的にシミュレーションした。この結果から、マイクロカプセルを単回局所投与した後の作用部位における濃度は、投与後 4 週間にわたり *in vitro* 培養系における有効濃度 ( $>1 \mu M$ ) を持続するものと推測された。実際に、ラットの骨折部位にマイクロカプセル単回投与したところ、用量依存的に腓骨灰分量は増加し、5 mg/site で有意な癒合と強度の改善を認め

た。以上のことから、このシステムは単回局所投与によって、作用部位の治療に必要な有効濃度を、治療に必要な期間維持できるものと結論した。

生化学的なアプローチは、外科的・物理的アプローチで薬物を送達できない種々の疾患、とりわけ癌治療を目的とした報告が多く検討されている。著者は、癌細胞が正常細胞と比較し高濃度 ( $\sim 10^5$  site/cell) のトランスフェリンレセプター (Tf-R) を発現していることを利用し、トランスフェリン (Tf) をキャリアとする製剤の設計を行った。最初に、生体外から投与したヒト Tf が、内在性の Tf 存在下に癌へ集積するかどうかを検討した。ヒト Tf (Fe)<sub>2</sub> をマウスに静脈内注射し、血漿、肝臓、腎臓、脾臓、腫瘍中のヒト Tf 濃度を測定したところ、正常マウスの血漿中濃度は B16メラノーマ担癌マウスのそれより有意に高値を示し、AUC<sub>血漿</sub>の差は担癌マウスにおける AUC<sub>腫瘍</sub>とほぼ同等であった。また、AUC<sub>血漿</sub>と AUC<sub>腫瘍</sub>は高用量において飽和が認められた。この結果より、Tf (Fe)<sub>2</sub> がターゲティングのキャリアとして有用であることが確認できた。標的化する薬物にはシスプラチニン (CDDP) を選んだ。Tf と CDDP の複合体 (Tf-CDDP 複合体) は、モル比40 : 1 で混合し37°Cでインキュベーションして調製し未結合の CDDP を除去して実験に用いた。ヒト血清アルブミン (HSA) と CDDP の複合体を同様に調製し対照として用いた。Tf-CDDP 複合体および HSA-CDDP 複合体の A431細胞株に対する細胞傷害活性は、プラチナ濃度換算の IC<sub>50</sub> がそれぞれ7.2および85 μM で、Tf-CDDP 複合体が約10倍強い活性を示した。次に、Tf-CDDP 複合体の Tf-R に対する結合活性を調べた。Pt/Tf 結合モル比が 3 : 1、7 : 1 である複合体の Tf の結合に対する阻害定数 (タンパク濃度換算) は、それぞれ26nM、73nM で、モル比15 : 1 の Tf 複合体は全く阻害しなかった。すなわち、キャリアとしてのポテンシャルを保持するために結合モル比を 3 : 1 とする必要があると考えた。この複合体を、プラチナとして 5 mg/kg (Tf として 433mg/kg) の用量で担癌マウスに静脈内投与し組織分布を調べた。その結果、複合体として投与したプラチナの腫瘍中濃度は、遊離 CDDP として投与した場合に比較して約10倍高い値を示した。また、Tf-CDDP 複合体と遊離 CDDP をマウスへ投与し、血清中クリアチニン濃度を比較したところ、遊離 CDDP 投与後には有意にクリアチニンが上昇したが、複合体投与後には変化は認められなかった。すなわち、ターゲティングの目標の一つである副作用の低減を複合体化によって解決できる可能性が示された。

以上、ターゲティングの目標である「薬効の最大化」と「副作用の最小化」を達成するために解決すべき 3 つの課題「時間」、「場所」、「量（濃度）」について、外科的・物理的アプローチと生化学的アプローチ両側面から具体的な検討を行った。近年、再生医療や遺伝子治療が急速に進歩しているが、今後これらの技術が広く応用されるためには対応するドラッグデリバリーシステムが必須と考えられている。すなわち、再生医療や遺伝子治療のために用いられる生理活性物質について、治療に必要な「時間」、「場所」、「量」を解析し、薬物の動きを制御してこれらの課題を解決するドラッグデリバリー技術は、今後さらにその重要性を増すものと考えられる。

以上

### 論文審査の結果の要旨

医薬品の製剤設計においては「作用部位」と「投与経路」が重要なファクターとなる。ドラッグデリバリーシステム (DDS) は、投与部位から作用発現に至るまでの薬の動きをトータルに捉え、各種の技術で制御することにより最高の治療効果を得ることを目指した投与形態であり、なかでも薬物の標的指向化 (ターゲティング) は、最も重要かつ基本的な概念である。さて、ターゲティングには、外科的・物理的手法と生化学的手法がある。この外科的・物理的アプローチは、病巣へ直接投与できるという利点があるものの、作用部位における有効濃度を維持しながら投与回数を極力少なくしなければならないという「濃度（量）」と「時間」に関する課題がある。一方、血流を介した生化学的手法によるターゲティングでは、外科的手段では達し得ない場所にも薬物を送り込むことができるが、全身循環を利用しながらも、副作用を発現させないために標的以外の組織への分布を回避し、薬物を選択的に病巣へ集積する「場所」の制御が課題となる。したがって、ターゲティングにおける外科的・物理的手法では有効「濃度」と病態治癒までの「時間」を満足させること、生化学的手法では「濃度」と「場所」を適切にコントロールすることが要求される。著者は各々の例として、骨形成促進薬の局所投与徐放性注射剤およびトランスフェリン (Tf) - シスプラチニン (CDDP) 複合体を製剤設計し、ターゲティングにおける「場所」「時間」「量」の 3 つの課題を制御するために具体的な検討を行った。その結果、以下

の成果が得られた。

- 1) 骨折治癒促進薬の局所投与という物理的ターゲティングにおいては、薬物と生分解性ポリマーからなるマイクロカプセルを設計した。本剤を単回投与すると、治療に必要な4週間のあいだ、薬物が持続放出され、その放出プロファイルは、溶液の反復投与で至適化した薬物の暴露のパターンを単回投与で実現できるものであった。
- 2) 薬動力学的解析から、このマイクロカプセルを投与した後の作用部位の薬物濃度は *in vitro* における有効濃度である  $1 \mu M$  以上の濃度を投与後4週間持続するものと推定された。
- 3) ラット骨折モデルにおいて骨折部位の癒合が促進されることを確認した。
- 4) Tf-CDDP 複合体による生化学的アプローチでは、Tf を生体外から投与したところ腫瘍組織に選択的に集積しキャリアとして機能することが確認されたので、CDDP を結合し複合体化した。
- 5) 得られた Tf-CDDP 複合体は、*in vitro* 培養系において Tf-R を介して細胞傷害性活性を示し、担癌マウスにおいて CDDP 投与より高い腫瘍中濃度を維持した。さらに、CDDP の主要な副作用である腎毒性を低減する可能性を示すことができた。

以上、ターゲティングの目標である「薬効の最大化」と「副作用の最小化」を達成するために解決すべき3つの課題：「時間」、「場所」、「量（濃度）」を提示し、その解決法を見いだしている点、博士（薬学）の学位を授与するにふさわしいものと考える。