The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Platform Establishment of Analytical Development, Characterization, Quality and Cardiotoxicity Evaluation for Amphiphilic Poly(γ-glutamic acid) as Raw Material and Nanoparticles
Author(s)	池田, 眞弓
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/72626
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　池田　眞弓　）	
論文題名	Platform Establishment of Analytical Development, Characterization, Quality and Cardiotoxicity Evaluation for Amphiphilic Poly(γ-glutamic acid) as Raw Material and Nanoparticles (原料である両親媒性ポリ(γ-グルタミン酸)とナノ粒子の分析法開発、特性評価、品質及び心毒性の評価におけるプラットフォーム確立)

論文内容の要旨

医薬品用途において生分解性ポリマーの使用が増加し、十分な品質保証が求められているにも関わらず、ポリマーやナノ粒子を製品として検証できる分析を実施している例はほとんどない。本学位論文では、臨床展開に向け原料である両親媒性ポリ(γ-グルタミン酸) (γ-PGA-Phe) とワクチンアジュバントであるナノ粒子の分析法開発、特性評価、品質及び心毒性の評価におけるプラットフォームを確立した。物性の違いや品質のばらつきを評価することで、製造法の改善、均一性の高い材料の選別、品質の安定性向上に結び付けた。

第1章：ナノ粒子アジュバントの原料である両親媒性ポリ(γ-グルタミン酸)の特性評価及び分析法開発

両親媒性ポリ(γ-グルタミン酸) の特性評価及び品質評価法を開発した。サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) を用いて、示差屈折率検出器 (RI) による相対分子量だけではなく、立体構造の違いを検出する多角度光散乱検出器 (MALS) を組み合わせた SEC/RI-MALS システムを立ち上げ、分岐ポリマーに有用な分析法を確立した。これにより γ-PGA-Phe の原料となる γ-PGA の供給ベンダー、γ-PGA 分子量及び疎水基導入率の違いによる γ-PGA-Phe の物性の違いによる品質に及ぼす影響を評価した。

また、安全性の観点から不純物ならびに含量を適正に管理する必要があるため、疎水性の違いにより有機溶媒で分離する逆相液体クロマトグラフィー (逆相 HPLC) による定量法を開発した。γ-PGA-Phe の含量及び不純物の定量的評価のアプローチにより、物性の違いや品質のばらつきを評価し、製造法の改善、均一性の高い材料の選別、品質の安定性向上に結びつけた。

更に、γ-PGA-Phe は修飾率や分子量が異なる物の混合物であり、化学構造の違いやその分布はポリマーの生分解特性に影響することが予想される。それ故、γ-PGA-Phe の種々の pH 溶液での安定性評価により、ポリマー主鎖である γ-PGA の切断による可能性が高いことを導いた。

第2章：乖離あるいは結合した両親媒性ポリ(γ-グルタミン酸)ナノ粒子の分析法開発

ナノ粒子の品質を評価し、高収率や再現性の高い製造法に結びつけるために、ナノ粒子を界面活性剤により5 nm以下の粒子径まで乖離させ、逆相HPLCあるいはSEC-RI/MALSと組み合わせた定量的な品質評価法を開発した。インタクトな状態に乖離させたナノ粒子の分析は、原料γ-PGA-Pheと同等のクロマトパターンを示し、頑健性の高いバリデートされた分析法の確立に至った。本分析法は識別性が高く、ナノ粒子の製造法の違いによる品質の差を明らかにするだけでなく、安定性評価において不純物や含量、分子量の推移を評価することができ、製造法の最適化に結びつけた。ナノ粒子を乖離させて分析した定量的な評価法の開発は、ナノ粒子の分野において最初の成功例である。

また、ナノ粒子の品質評価において、不純物、含量、絶対分子量の測定だけでなく、製造工程開発及び管理方法の改善に向け品質に影響する可能性があるクリティカルパラメーターとなる項目 (外観、溶液の外観、粒子径、ゼータ電位、水分含量、不溶性微粒子、浸透圧及びpH) を提案した。本項目の評価により、製造法や処方の違いを評価した。

第3章：両親媒性ポリ(γ-グルタミン酸)ナノ粒子の安定性及びヒトiPS由来3次元心筋組織を用いた心毒性評価

製造法及び処方の最適化と保存条件を設定するために、各種温度/湿度条件下で6箇月までのナノ粒子の安定性評価を実施した。開発した定量分析法並びにクリティカルパラメーターと考える項目を用いてナノ粒子の製造法の違い並びに凍結乾燥粉末 (安定化剤の有無) 及び懸濁液の処方違いについても評価した。ナノ粒子懸濁液は5°Cでは含量が低下し、不純物が増加するなど安定ではなかったが、凍結乾燥粉末ナノ粒子にすることで40°C/75%RHの6箇月保存においても安定であり、安定化剤の添加により安定性が向上したことを示した。

また、ヒトiPS細胞由来心筋細胞の3次元組織体を細胞積層法により作製し、ナノ粒子及びナノ粒子の製造工程に使用

する溶媒 (エタノール及びジメチルスルホキシド) の心毒性を3次元組織体の拍動状態から評価した。100 μg/mLまでのナノ粒子及び0.1%濃度の溶媒でも影響は認められず、ナノ粒子の心毒性のポテンシャルは低いことを明らかにした。本組織モデルがDDSキャリアであるナノ粒子の安全性評価のツールになることを導いた。

本研究では様々な分析上の課題を解決して開発した分析法や評価法は、頑健性を示し、実用性が高いものであり、物性評価だけでなく安定性の高い製剤設計の最適化に有用であることを示した。精度が高い分析・評価技術を有する本システムは、今後、臨床応用に向けた製剤の安全性の担保に貢献できると期待されると共に、本ポリマーやナノ粒子のような高分子医薬やナノ粒子製剤の品質評価技術として有用であると確信している。

以上

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　池田　眞弓　）		
論文審査担当者	（職）	氏　名
	主 査　生命機能研究科　特任教授	明石　満
	副 査　生命機能研究科　教授	月田　早智子
	副 査　生命機能研究科　教授	仲野　徹
	副 査　生命機能研究科　教授	平岡　泰
	副 査　鹿児島大学副学長（医歯学総合研究科教授併任） 大阪大学生命機能研究科招聘教授	馬場　昌範

論文審査の結果の要旨

医薬品は品質を担保することは最も重要な課題であるが、生分解性ポリマーやナノ粒子等の開発がすすめられているにも拘らず、製品として検証できる評価を実施している例はほとんどない。本論文著者は、所属研究室で開発されたワクチンアジュバントであるナノ粒子の実用化を目指し、原料である両親媒性ポリ（γ-グルタミン酸）とナノ粒子の分析法開発、特性評価、品質及び心毒性の評価におけるプラットフォームを確立した。

様々な分析上の課題を解決して開発した分析法は、頑健性を示し、実用性が高いものであり、物性評価だけでなく製剤設計の最適化に有用であることを導きだした。物性の違いや品質のばらつきを評価することで、製造法の改善、均一性の高い材料の選別、品質の安定性向上に結び付けており、新しい品質管理手法の開発は非常に意義深いものである。

今後、臨床応用に向けた製剤の安全性の担保に貢献できると期待されると共に、本システム開発は高分子医薬やナノ粒子製剤の品質評価技術として新たな知見を与える価値あるものと認めうる。

以上の成果は学位を受けるに値するものと認める。