

氏 名 宮治 佳弘

授与した学位 博士

専攻分野の名称 薬学

学位記授与番号 博乙第 4382 号

学位授与の日付 平成 24 年 9 月 27 日

学位授与の要件 博士の学位論文提出者

(学位規則第 5 条第 2 項該当)

学位論文の題目 カチオン性タンパク質およびペプチド医薬品のカチオン性制御による体内動態改善に関する基礎的研究

論文審査委員 教授 榎本 秀一 教授 黒崎 勇二 教授 檜垣 和孝
准教授 須野 学

学位論文内容の要旨

生理活性タンパクなどの高分子生理活性物質の多くは微量で高い生理活性を示す一方、生体内半減期が短い、あるいは標的部位への分布量が少ない等の理由により、薬理効果を十分発揮できていないという、体内動態上の重要な問題をかかえている。本研究では、異なる部位を標的とするカチオン性生理活性タンパクおよびペプチドとして、osteoprotegerin (OPG) および KAI-9803 を選択し、それらの体内動態を支配している因子を明らかにし、それぞれに適した化学修飾を施すことでカチオン性を制御し臓器分布特性の改善を目指した。

骨吸収抑制作用を有する OPG の体内動態は肝臓への取り込みに支配されていることが明らかとなった。また、OPG の肝取り込みにおいて、OPG のヘパリン結合部位と肝臓の細胞表面に発現しているヘパリン様物質との静電的結合が主たる要因であることが示唆された。さらに、OPG の分子内のヘパリン結合部位を覆うことにより、血中滞留性が向上し、その結果、*in vivo* 薬理効果の増強および延長が可能となることが示された。

次に、OPG のヘパリン結合部位を選択的に覆うことが可能なポリエチレングリコール (PEG) 修飾剤の開発を目的として、緩和な反応部位、負電荷を有する官能基および直鎖状 PEG を分子内にそれぞれ複数個有する新規くし型 PEG 修飾剤 (poly(PEG)) を創製し、poly(PEG) で修飾した OPG の骨吸収抑制作用および骨髄移行性を評価した。その結果、poly(PEG) 修飾は OPG の RANKL 結合親和性を保持したまま、血中滞留性を増大させることにより、OPG の薬理効果を増強させることが明らかとなり、その効果は、従来の直鎖状 PEG 修飾よりも大きいことが示された。そのメカニズムとして、poly(PEG) 修飾はその負電荷および緩和な反応性により OPG のヘパリン結合部位を選択的に覆うことにより、肝臓等への分布を抑制する一方で、RANKL との結合を介した OPG の骨髄選択的な分布を増大させることが示された。

プロテインキナーゼ C デルタ (δPKC) の選択的な阻害作用を有する δV1-1 は、単独では臓器へ分布し細胞内へ移行することが困難である一方、細胞膜透過能を有するカチオン性の TAT₄₇₋₅₇ ペプチドを δV1-1 にジスルフィド結合で繋いだ KAI-9803 は、細胞内へ移行し活性を発現する。そこで、TAT₄₇₋₅₇ ペプチド修飾によるカチオン性の付与が δV1-1 の体内動態に及ぼす影響を検討した。その結果、TAT₄₇₋₅₇ ペプチドによるカチオン性の付与が KAI-9803 の心臓および肝臓等の主要臓器への分布を増大させることが示された。そのメカニズムとして、δV1-1 にカチオン性の TAT₄₇₋₅₇ ペプチドを修飾することにより、心筋細胞表面への静電的結合および心筋細胞内への移行が促進されることが示された。

以上、OPG および KAI-9803 の体内動態決定因子の一つとして、カチオン性の重要性を示すとともに、カチオン性を制御することにより、標的部位に応じた薬物送達が可能であることを見出し、生理活性タンパクおよびペプチドの DDS 製剤設計の指針となる基礎的情報を得た。これらの知見は、タンパクや核酸等、様々な高分子医薬品に対する体内動態制御システムの合理的設計に有益な情報を提供するものと考えられる。

論文審査結果の要旨

1) 研究目的の評価

本研究は、生理活性タンパク質などの高分子生理活性物質の短い生体内半減期、少ない標的部位への分布量による薬効不足の問題を解決するため、生理活性タンパク質にそれぞれに適した化学修飾を施し、カチオン性を制御することで臓器分布特性改善を図ろうとする試みで、目的は十分に妥当である。

2) 研究手法に関する評価

ノーマルラット、および卵巣摘出骨粗鬆症モデルラットを用い、薬物の体内動態、放射性標識化合物による代謝実験、薬理作用の評価を行ったもので、諸規定に鑑み、研究方法も妥当である。

3) 研究の結果と考察の評価

第1章

本研究では、骨吸収抑制作用を有する OPG の体内動態は肝臓への取り込みに支配されていることが明らかにし、OPG の肝取り込みにおいて、OPG のヘパリン結合部位と肝臓の細胞表面に発現しているヘパリン様物質との静電的結合が主たる要因であると考察した。さらに、OPG 分子内のヘパリン結合部位をマスクすることにより、血中滞留性が向上、*in vivo* 薬理効果増強および延長を明らかにした。

第2章

OPG ヘパリン結合部位を選択的にマスクするポリエチレングリコール (PEG) 修飾剤として開発した新規くし型 PEG 修飾剤 (poly(PEG))を開発した。(poly(PEG))修飾は、RANKL 結合親和性を保持したままで、OPG 分子内のヘパリン結合部位をマスクすることにより OPG の血中滞留性を増大させ、薬理効果を増強させることを明らかにした。そのメカニズムとして、poly(PEG) 修飾で、肝臓等への分布を抑制し、RANKL との結合を介した OPG の骨髄選択的な分布を増大させると考察した。

第3章

δPKC 選択的阻害剤 δV1-1 に細胞膜透過能を向上させるカチオン性 TAT₄₇₋₅₇ ペプチドを結合させた KAI-9803 を用いて体内集積性と代謝過程を観察し、心臓および肝臓等の主要臓器への分布が増大することを見出した。そのメカニズムとして、δV1-1 にカチオン性の TAT₄₇₋₅₇ ペプチドを修飾することにより、心筋細胞表面への静電的結合および心筋細胞内への移行が促進されると考察した。

以上、OPGおよびKAI-9803の体内動態決定因子として、化合物のカチオン性の重要性を証明し、カチオン性制御による標的部位に応じた薬物送達が可能であることを見出した。このことは、生理活性タンパク質およびペプチドのDDS製剤設計の指針となる知見である。以上のように本論文は今後のDDS製剤研究および薬理効果向上に貢献するところが大きく、審査委員は全員一致で博士（薬学）の学位に値するものと判断した。