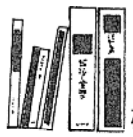


次世代の薬物治療を担う

分子レベルでのDrug Delivery System



研究ノート

堤 康 央**, 真 弓 忠 範*

Novel Drug Delivery System for cytokines

Key Words : bioconjugation, cytokine, Drug Delivery System

緒 言

体内不安定な薬物による従来までの化学療法は、薬物の体内消失の速さゆえに大量頻回がなされ、とにかく薬理作用の発現を期待しようとするものでしかなかった。そのため癌化学療法をはじめとする過去の数多くの事例が物語っているように、薬物治療そのものが逆に重篤な副作用(薬害)を往々にして引き起こしてしまっている。例えば、癌等の難治性疾患に対する夢の治療薬として期待されてきたサイトカインにおいても、生体のホメオスタシスを無視した大量頻回投与が行われ、その薬理作用を期待した臨床応用が繰り返されてきた。このため、多くの副作用を招いてしまい、サイトカインの臨床応

用を目指した試みの殆どは、期待を裏切る結果に終わってしまっている。本来、サイトカイン等の内因性生理活性物質は、必要な時に作用局所においてのみ至適濃度状態に維持されており、高度に制御された有機的連関のもとに、ホメオスタシスを維持・形成しつつ生理作用を発現している。言うなれば、内因性の生理活性物質を人為的に投与した「薬物分子」と見立てた場合には、薬物治療の最適化を目指したDrug Delivery System(DDS)を見事なまでに具現化している。このような巧妙な仕組みこそ、我々が目指さなければならない未来の新しい治療薬にほかならない。言い換えればこれまでの狭い枠組みに捕らわれることなく、生命現象の天然様式に学んだ薬物治療学とも言うべき新たな学問体系、すなわち生体側から観た創薬概念を早急に確立していかなければならないといえる。本稿では、上記観点から次世代の薬物治療学の確立を目指した我々の研究(ハイブリッド化DDS)について紹介させて頂く。本稿では、紙面の都合上分子レベルでのDDSに限定するが、我々が現在行っている粒子レベルでのDDSについては他の総説を参照されたい^{1,2)}。

*Tadanori MAYUMI
1940年10月30日生
1969年大阪大学大学院薬学研究科
応用薬学専攻(博士後期課程)
現在、大阪大学、薬学部薬剤学講
座、教授、薬学博士、薬剤学
TEL 06-879-8175
FAX 06-879-8179
E-Mail mayumi@phs.osaka-u.
ac.jp



**Yasuo TSUTSUMI
1969年1月20日生
1994年大阪大学大学院薬学研究科
応用薬学専攻中退(博士後期課程)
現在、大阪大学、薬学部薬剤学講
座、助手、薬学修士、薬剤学
TEL 06-879-8176
FAX 06-879-8179
E-Mail tsutsumi@phs.osaka-u.
ac.jp



サイトカイン療法の現状

分子生物学の格段の進歩により、各種疾病が分子レベルで解明されてきており、種々のサイトカインの過不足が、往々にして重篤な病態の形成や進行の主因となっていることが判明しつつある。このため、サイトカインを次世代の治療薬として開発しようとする試みが盛んになさ

れている³⁾。しかしながら、Interleukin-6(IL-6)やTumor Necrosis Factor- α (TNF- α)等のサイトカインは体内滞留性に極めて乏しいために、臨床応用しようとする際には、生体のホメオスタシスを全く無視した大量頻回投与を余儀なくされ、重篤な副作用を招いてしまっている。そのうえ、サイトカインは多様な生理作用を有するため、副作用制御が困難であり、極度に臨床応用が制限されてしまっている。これら問題はサイトカインに限らず、近年大量生産可能になった数多くの生理活性蛋白質にも当てはまることである。内因性のサイトカインは、糖鎖修飾により然るべき生体内安定性とレセプター親和性、生体内挙動特性を賦与されており、生体内環境との有機的連関を維持しつつ、必要とする生理作用のみを効率的に発揮している。従って、サイトカインを医薬品化するためには、生体内不安定性を克服できるDDSの開発およびサイトカインの多様な生理作用を分離できる創薬技術の開拓が不可欠となっている。しかし残念ながら、これら両問題を解決しうる創薬技術は未だ確立されていないばかりか、これら両問題に取り組もうとする基礎研究すら皆無である。このため、サイトカインの臨床応用は、期待されながらも断念せざるを得ないのが現状である⁴⁾。

生理活性蛋白質の水溶性高分子ハイブリッド化

近年、DDSを視野においた医薬品開発の分野において、生理活性蛋白質に水溶性高分子を結合させた、いわゆるハイブリッド化が考案されてきた¹⁾。このハイブリッド化は、分子量増大による腎排泄速度の減少をもたらすだけでなく、ハイブリッド化に用いた修飾高分子により蛋白質の分子表面が覆われるために、立体障害的に蛋白質分解酵素からの攻撃がブロックされ、結果として生体内半減期の延長が実現される。同様の立体障害効果によって、免疫応答においても抗原性および免疫原性が低下し、体内クリアランスの延長、安定化につながる事が期待される。しかしながら、活性発現に複雑な立体配位を有する高分子レセプターとの結合を要するIL-6等のハイブリッド化においては、修飾高分子が高分子であればあるほど、生理活性蛋

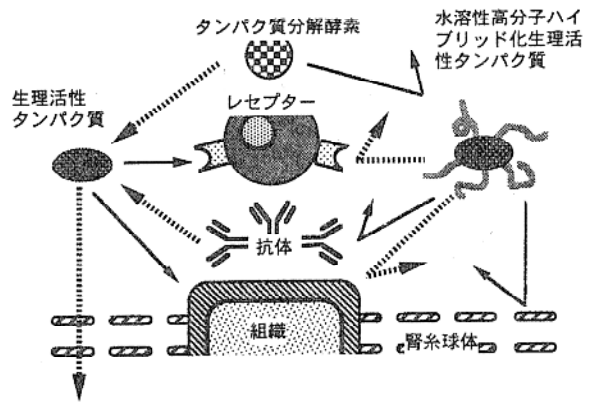


図1 生理活性タンパク質の水溶性高分子ハイブリッド化特性

白オテクノロジー生理活性タンパク質は、生物学的にも物理化学的にも極めて不安定であり、生体内半減期は、数分から数十分程度しかない。これは、各種タンパク質分解酵素により分解されるだけでなく、比較的分子量のものは、速やかに腎排泄されてしまうためである。一方、水溶性高分子ハイブリッド化は、高分子による腎排泄速度の減少をもたらすだけでなく、生理活性タンパク質分子の表面を覆う修飾高分子により立体配位的にタンパク質分解酵素からの攻撃を防護するために、体内滞留時間の延長をもたらす。しかしながら、高分子レセプターとの結合を要するサイトカインなどのハイブリッド化は、同時に分子量増大に伴う組織移行性の低下や、修飾高分子による立体障害のためにレセプター親和性の低下(比活性の低下)を招いてしまう。

白質に結合した修飾高分子が形成する立体配位が大きくなってしまいうため、レセプター結合阻害による比活性の低下という致命的な欠点を示してしまう(図1)。そのうえ、ハイブリッド化により生体内安定性が単に増大し、治療作用(主作用)、副作用を問わず活性が増大してしまったのでは全く意味がなく、生体内挙動やレセプター親和性等をも制御することにより、目的とする主作用(治療作用)と副作用を分離することではじめてハイブリッド化DDSが確立できるものと考えられる。

ハイブリッド化DDSによる サイトカインの作用分離

今日の癌治療を担う癌化学(薬物)療法や放射線療法は、いずれも顕著な抗腫瘍効果を示すものの、骨髄抑制に伴う造血障害をはじめ、多くの深刻な問題をかかえている⁵⁾。特に、血小板減少症にはいまだ有効な対処療法が確立されておらず、これによりやむなく治療中断を強い

れてしまっている。近年、多彩な生物作用を有する IL-6 が、巨核球の成熟を刺激し、血小板産生能を亢進させることが見出され、その臨床応用が待望されている⁹⁾。しかし、IL-6 の体内半減期は数分と極端に短いため、治療効果(血小板数増大)を得るためにはホメオスタシスを無視した大量頻回投与を余儀なくされている。そのため多くの副作用を招いてしまっているのが現状である。そこで我々は、ハイブリッド化 DDS により IL-6 の多様な *in vivo* 生理作用の中から目的とする治療作用(血小板産生作用)を選択的に引き出し、作用の選択性を IL-6 に賦与しようと試みた¹⁾。

ハイブリッド化生理活性蛋白質の体内挙動は、蛋白質表面を覆う修飾高分子の諸性質により、著しく左右されてしまうことが予想されるため、まずハイブリッド化の目的や個々の生理活性蛋白質の諸性質に応じた最適の修飾高分子を選択しなければならない。巨核球は、IL-6 高親和性レセプター(IL-6 レセプター・gp130 複合体)を豊富に発現しているうえ、肺血管内腔や骨髄静脈の血管表裏に多く局在することが知られている。従って、IL-6 の血中滞留性を向上させ、投与量を減少させることにより、生体内分布の点でもレセプター親和性の点でもより選択的に、より効率よく巨核球に作用させうるものと考えられる。そのうえ、肝臓や脾臓、視床下部等に移行してしまった IL-6 が副作用の主因となるため、血中滞留性の向上に伴う正常組織への移行・蓄積性の低下は、副作用軽減に直結するものと期待できる。そこでまず、血中滞留性の向上を目的としたハイブリッド化に適した修飾高分子を見出すために、種々の修飾高分子と血管内皮細胞の相互作用強度を検討した。その結果、非電荷水溶性高分子は、殆ど血管内皮細胞と相互作用を示さず、血中滞留性の向上を目的としたハイブリッド化に最適であることが示唆された。そこで毒性、抗原性が殆ど無く、汎用性の高い PEG を用い、IL-6 のリジン残基をハイブリッド化した。最適の条件でハイブリッド化した PEG 化 IL-6 (MPEG-IL-6) の *in vivo* における血小板産生作用は、未修飾 IL-6 の 500 倍にも増強されていた(図 2)。また未修飾 IL-

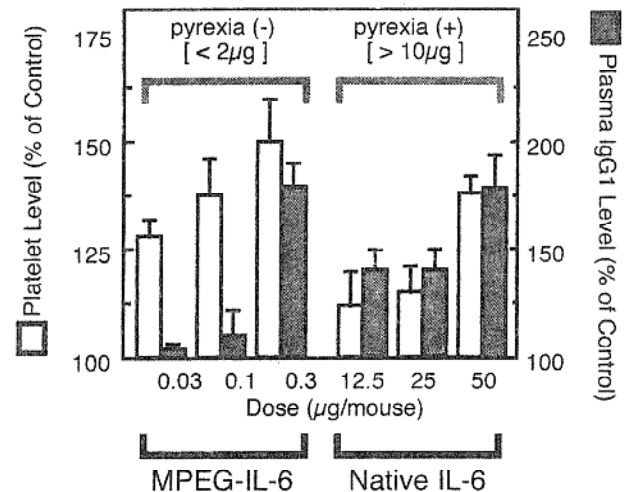


図2 BioconjugationによるIL-6の作用分解

6では、発熱(視床下部)、IgG産生(脾臓)、急性期蛋白質誘導(肝臓)などの強い副作用が観察されたが、MPEG-IL-6では、これらの副作用は殆ど認められなかった。さらにTNF- α の水溶性高分子ハイブリッド化においても、劇的な主作用増強(抗腫瘍作用が、native体の100倍に増強)・副作用軽減(血小板減少、肝障害、腎障害等)を成し遂げた¹⁾。このハイブリッド化DDSによるサイトカインへの作用の選択性の賦与は、1. 生体内安定性の向上に伴う投与量軽減によって、血中サイトカイン濃度が低下するため、多様なレセプターに対する親和性の相違に基づいた作用発現が可能になること、および、2. 体内挙動(体内分布)が変化することによって組織移行性の相違に基づいた作用発現が可能になることなどによって達成できることが判明した。この様にサイトカインの生体内安定化を果たしたうえで、さらにサイトカインの多様な生理作用の中から目的とする作用(TNF- α ; 抗腫瘍効果, IL-6 ; 血小板産生効果)のみを分離し、医薬品としての有用性を引き出すことにはじめて成功した。以上のことから、ハイブリッド化の目的や個々の生理活性蛋白質の諸性質に応じて最適の修飾高分子を選択し、さらにそのうえで、分子量-修飾率-活性の相関等の基礎的な情報を集積し、十分に主作用を発現出来得る最適条件を探求することで、次世代の分子レベルでのDDSが確立できることが明らかとなった。

結 語

これまでのサイトカイン療法の最大の障壁は、体内安定性の乏しさと作用の多様性による、避けがたい副作用発現であったが、これら両問題を同時に解決するハイブリッド化DDSは、次世代のサイトカイン療法確立に大きなインパクトを与えるものと期待できる。さらにハイブリッド化DDSは、単に生理活性ペプチド・蛋白質の医薬品開発としての一手段ではなく、不安定な種々の生理活性蛋白質の生理的濃度下におけるin vivoでの機能解析や生理的意義の解明等、多くの生命科学の基礎研究においても多大の貢献をもたらすものと期待できる。しかしながら、現状における我々の研究は本質的にはトライ・アンド・エラーの現象論でしかなく、今後さらに多くのハイブリッド生理活性蛋白質について、修飾率-分子量-活性と体内挙動の相関等をつぶさに検討することにより、システム・アップをはかっていかねばならない。また、より普遍的なサイエンスに立脚した研究にしていくためには、ハイブリッド生理活性蛋白質と、レセプター、プロテアーゼ等生体内因子との、水溶液中における立体構造的な相互関係を容易に把握する手段が不可欠となつてこよう。これら諸問

題を克服し、さらにTargeting等のインテリジェントな機能を賦与することではじめて、より優れた薬効と安全性を有する次世代型医薬品が設計できる。そのためには、サイトカインの生体内挙動をより精巧緻密に制御しうる、インテリジェントな機能性修飾高分子の開発が不可欠であり、Targeting等の付加機能や薬理活性を有する修飾高分子の新規開発が待ち望まれる。今後、より一層生命現象に学び、ひとつひとつ難題をクリアすることで、夢を叶えていきたい。

参 考 文 献

- 1) 堤 康央, 真弓忠範: 別冊・医学のあゆみ「生体防御の最前線-粘膜免疫機構をめぐって」, 196-201, 1996.
- 2) 水口裕之, 真弓忠範, 他: フェルマシア, 32(12), 1495-1500, 1996.
- 3) Rosenberg S. A., Lotze M. T., et al. : New Engl. J. Med., 316, 889-897, 1987.
- 4) Blick M., Sherwin S. A., et al. : Cancer Res., 47, 2986-2989, 1987.
- 5) Ishibashi, T., Kimura, H., et al. : Blood, 74, 1241-1244, 1989.

