

最終報告

セリン修飾を用いた腎臓への新規薬物送達技術に基づく腎疾患治療

研究代表者：勝見英正 大阪大谷大学 教授



1. 研究の背景と達成目標

腎細胞がんや慢性腎臓病などの腎臓疾患は罹患数が近年増加傾向にあるものの、根本的な治療法は確立されておらず、アンメット・メディカル・ニーズの高い疾患である。現在の腎細胞がんの標準治療は、分子標的薬であるが、依然として体内動態学的な問題により副作用が発現するなどの課題があり、5年生存率も極めて低い。一方、慢性腎臓病の治療薬は少なく、また症状が悪化すると尿毒症がおこるため、患者は人工透析を余儀なくされる。こうした腎臓疾患患者の治療効率や QOL を向上することで、豊かな社会を実現するためには、標的部位である腎臓、特に腎細胞がんや慢性腎臓病の発症部位である近位尿細管へ治療薬を効率良く送達する新規薬物送達技術（ドラッグデリバリーシステム; DDS）の開発が必要不可欠である（図1）。しかしながら、これまでの DDS 技術を利用した腎臓標的化のアプローチでは、腎臓選択性の高い薬物キャリアの開発は困難であり、有効性と安全性に優れた腎臓ターゲティング型 DDS の開発成功例はほとんど見られない。

そこで研究代表者は、腎臓疾患の治療効率を促進する革新的な腎臓疾患治療法の構築を目指して、生体適合性に優れたアミノ酸を用いて、腎臓のみに移行するように設計された新しい腎臓ターゲティング型薬物キャリアを開発すること、また、開発した腎臓ターゲティング型薬物キャリアを用いて、抗がん剤などの薬物を腎臓のみへ送達可能な腎臓ターゲティング型 DDS を構築する目標を立てた。

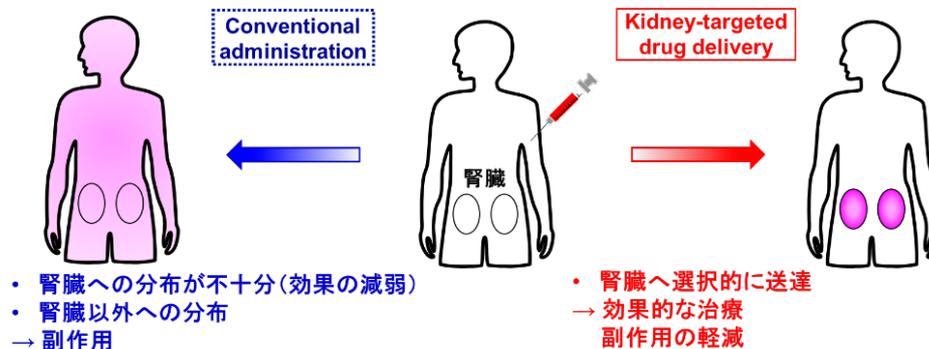


図1 腎臓へのターゲティング型ドラッグデリバリーシステムの開発の概念

2. 主な研究成果と社会、学術へのインパクト

1. セリン修飾高分子キャリアを用いた腎臓ターゲティング型ドラッグデリバリーシステムの開発
2. セリン修飾高分子キャリアの腎臓移行機構の解明
3. 生分解性に優れた腎臓ターゲティング型高分子キャリアの開発
4. 抗がん剤の腎臓ターゲティングによる腎細胞がん治療法の構築
5. セリン修飾高分子キャリアの利用によるバイオ医薬品の腎臓ターゲティングの可能性

本研究では、セリン (Ser) 修飾高分子キャリアを用いた腎臓ターゲティング型 DDS の開発に成功した。また、Ser 修飾高分子の腎臓ターゲティング型薬物キャリアとしての有用性やその腎臓移行機構を明らかにするとともに、Ser 修飾高分子を活用することで、抗がん剤やバイオ医薬品の腎臓ターゲティングの可能性を示した。こうした研究成果は、腎臓がんや慢性腎臓病などの腎臓疾患における薬物治療の最適化（治療効果の向上や副作用軽減）ひいては新しい腎臓疾患治療法の開発に有用な情報を提供するものと考えられ、腎臓疾患を対象とした医薬品開発に寄与するものと考えられる。

3. 研究成果

研究代表者はこれまでに、Ser 修飾を施した高分子薬物キャリアがマウス静脈内投与後、急速かつ選択的に腎臓中へ移行することを見出している。また Ser 修飾高分子は糸球体濾過を受け、近位尿細管上皮細胞へ選択的に取り込まれることが示されている（図 2）。さらに、ブタ由来近位尿細管上皮細胞株である LLC-PK1 細胞の単層膜における、各種阻害剤存在下での ^{111}In 標識 Ser 修飾高分子の細胞内取り込み実験の結果、Ser 修飾高分子の近位尿細管上皮細胞への取り込み機構には、カベオラ依存性エンドサイトーシス、マクロピノサイトーシス、メガリン受容体などが関与する可能性が示唆されている。しかしながら、Ser 修飾高分子の近位尿細管上皮細胞への取り込み機構については、不明な点が多かったためその取り込み機構の詳細についてさらなる検討を行った。

各種阻害剤と ^{111}In 標識 Ser 修飾高分子をマウスへ併用投与したときの ^{111}In 標識 Ser 修飾高分子の腎臓移行率を指標に、Ser 修飾高分子の腎臓移行機構を評価した。その結果、メガリン受容体の基質との同時投与では、Ser 修飾高分子単独投与と比較して、メガリン受容体基質の投与量依存的に Ser 修飾高分子の腎臓移行性が低下したことから、Ser 修飾高分子はメガリン受容体により一部取り込まれることが示唆された。その他、セリン単体との同時投与では、Ser 修飾高分子の腎臓移行率は変化せず、また、クラスリン依存性エンドサイトーシス阻害、カベオラ依存性エンドサイトーシス阻害、マクロピノサイトーシス阻害剤の同時投与において、Ser 修飾高分子の腎臓移行率が阻害剤の投与量依存的に低下する傾向が見られたことから、Ser 修飾高分子の腎臓移行には、メガリン受容体を介したクラスリン依存性エンドサイトーシス、カベオラ依存性エンドサイトーシス、マクロピノサイトーシスなどが複合的に関与すること示された。

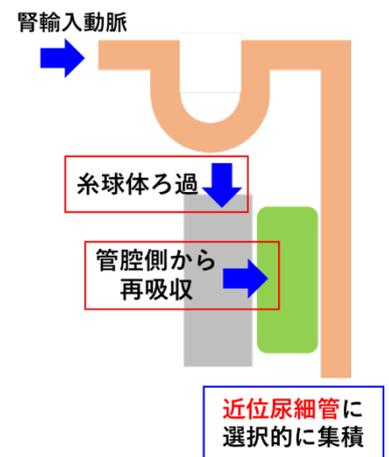


図 2 セリン修飾高分子の腎臓移行経路の概略

また研究代表者はアミノ酸ポリマーの直鎖型ポリリジンをコアとする Ser 修飾高分子について、安全性の観点からその生分解性について検討している。 ^{111}In 標識 Ser 修飾ポリリジンを静脈内投与した後、腎臓を摘出しそのホモジネート液について、サイズ排除クロマトグラフィーを用いて高分子分画及び低分子分画を分取した。その結果、投与前の ^{111}In 標識 Ser 修飾ポリリジン溶液では、高分子分画に放射活性が認められたのに対して、 ^{111}In 標識 Ser 修飾ポリリジン静脈内投与後の腎臓ホモジネート液では、高分子分画の放射活性が低下し、低分子分画の放射活性が増大する傾向が示された。このことから、Ser 修飾ポリリジンは腎臓へ取り込まれた後、腎臓中で徐々に分解されることが示され、生分解性に優れる腎臓ターゲティング型薬物キャリアであることが示された。また 5 日間繰り返し投与後による血漿中クレアチニン濃度、腎臓組織構造の変化はほとんどみられなかったことから、Ser 修飾ポリリジンは比較的安全性の高い薬物キャリアであることが示された。

一方、研究代表者は、抗がん剤の腎臓ターゲティングによる効率的な腎細胞がん治療を目指して、腎臓ターゲティング型薬物キャリアである Ser 修飾ポリリジンに抗がん剤 D を結合させた Ser 修飾ポリリジン-D を合成し、マウスにおける体内動態、腎細胞がん治療効果などについて系統的に評価している。

マウス静脈内投与後の ^{111}In 標識 Ser 修飾ポリリジン-D は腎臓へ選択的に集積した。また、腎細胞がんモデルマウスにおいて、Ser 修飾ポリリジン-D は D 単体と比較して腎臓におけるがん増殖を顕著に抑制した。Ser 修飾ポリリジン-D の投与は、腎障害の指標である血漿中クレアチニン濃度には影響しなかった。また Ser 修飾ポリリジン-D はマウスの体重変化にほとんど影響しなかった。

さらに、研究代表者は、抗がん剤 D の他に、抗がん剤 M の腎臓ターゲティングによる腎細胞がん治療法の開発についても取り組んでいる。M 結合による薬物キャリアの凝集塊形成を抑制することを目的として、ポリエチレングリコール (PEG) 修飾を併用した Ser 修飾ポリリジン(-PEG)-M を合成した。 ^{111}In 標識体を用いたマウスにおける体内動態の検討により Ser 修飾ポリリジン(-PEG)-M が腎臓へ標的化されること、腎細胞がんモデルマウスにおけるその有用性を有効性と安全性の観点で示した。以上の検討から、Ser 修飾ポリリジンを利用することで抗がん剤の腎臓標的化が可能であること、また副作用を回避しつつ、腎臓におけるがん増殖抑制効果の増強が可能であることを明らかにした。

また、研究代表者は最近、バイオ医薬品 HN に着目し、HN の腎臓ターゲティングによる腎臓疾患治療法の構築を目指して、Ser 修飾ポリリジン HN が結合した Ser 修飾ポリリジン-HN を合成し体内動態などについて検討している。 ^{111}In 標識体を用いた体内動態評価の結果、マウス静脈内投与後の Ser 修飾ポリリジン-HN は腎臓中へ急速に移行することが示された。以上のことから Ser 修飾ポリリジンによるバイオ医薬品の腎臓ターゲティングの可能性が示された。

以上のように本研究では、腎臓ターゲティング薬物キャリアとして期待される Ser 修飾高分子が腎臓へ移行する機構、さらには腎臓移行性や生分解性に優れる Ser 修飾高分子を利用することで、抗がん剤などの薬物の腎臓ターゲティングが可能であること、腎臓疾患モデルにおけるその有用性を明らかにした。

4. 今後の展開

近年の医薬品開発においては、従来の低分子医薬品に加えて、バイオ医薬品が新しい創薬モダリティとして台頭しているが、それら先端的な医薬品開発においては、標的部位へ選択的に薬物を送り込むターゲティング型 DDS の開発が必要不可欠とされる。しかしながら、これらバイオ医薬品の DDS 開発は肝臓や筋肉などへの送達を除いては十分とは言い難くその開発が強く望まれる。従って、今後はこうしたバイオ医薬品について、腎臓ターゲティング及び細胞内動態制御が可能な薬物キャリアの分子設計を行って行きたいと考えている。

5. 発表実績

【論文】

- 1 **Hidemasa Katsumi***, Sho Kitada, Shintaro Yasuoka, Rie Takashima, Tomoki Imanishi, Rina Tanaka, Satoru Matsuura, Hiroyuki Kimura, Hidekazu Kawashima, Masaki Morishita, Akira Yamamoto. L-serine-modified poly-L-lysine as a biodegradable kidney-targeted drug carrier for the efficient radionuclide therapy of renal cell carcinoma. *Pharmaceutics*, 14, 1946 (2022).

【学会発表】

(国際学会)

- 1 **Katsumi H**, Matsuura S, Morishita M, Sakane T and Yamamoto A: L-serine-modified dendrimer as a highly potent renal targeting drug carrier. Controlled Release Society 2021, Virtual Annual Meeting, Virtual, 2021
- 2 **Katsumi H**, Morishita M and Yamamoto A: L-Serine-modified polymers as highly potent of kidney-targeting drug carriers for the treatment of kidney diseases. 2021 The 50th Anniversary Meeting and International Conference of the Korean Society of Pharmaceutical Sciences and Technology, Virtual in Soule, Korea, 2021 招待講演

(国内学会)

- 1 **勝見英正**、森下将輝、山本 昌：セリン修飾を用いた腎臓ターゲティング型ドラッグデリバリーシステムの開発～体内動態制御による腎臓疾患治療効果の向上と副作用軽減～. 日本薬学会第142年会, オンライン開催 /名古屋, 2022
- 2 **勝見英正**：セリン修飾を用いた新規腎臓ターゲティング型ドラッグデリバリーシステムの開発とその腎臓疾患治療への展開. 日本薬剤学会第37年会, オンライン開催 / 京都, 2022
- 3 **勝見英正**、森下将輝、山本 昌：アミノ酸修飾薬物キャリアを利用したアクティブターゲティング型ドラッグデリバリーシステムの開発. 日本薬学会第143年会, 札幌, 2023
- 4 **勝見英正**：アミノ酸修飾を用いたターゲティング型ドラッグデリバリーシステムの開発. 日本薬剤学会第38年会,名古屋, 2023
- 5 **勝見英正**、森下将輝、山本 昌：アミノ酸修飾を利用したターゲティング型ドラッグデリバリーシステムの開発. 第39回日本DDS学会学術集会,千葉, 2023

【その他】

- 1 日経バイオテク 特集連動©新時代に入った送達技術 (2023.11.7)
<https://bio.nikkeibp.co.jp/atcl/news/p1/23/11/02/11244/> 記事掲載