

＜論文概要＞

“L-Serine-modified polyamidoamine dendrimer as a highly potent renal targeting drug carrier”

＜研究成果のポイント＞

- ・腎臓に治療薬や診断薬をピンポイントで送達できるナノ薬物担体の開発に成功した。
- ・アミノ酸の一種であるセリンが腎臓標的化素子として有用であることを見出した。

＜発表内容＞

【研究の背景・目的】

腎細胞がんや慢性腎不全などのアンメット・メディカル・ニーズの高い腎臓疾患を有効かつ安全に治療するためには、標的部位である腎臓へ薬物を効率良く送達するドラッグデリバリーシステム(DDS)技術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担体の開発は困難であり、有効性と安全性に優れる腎臓標的化DDSの開発成功例はほとんどみられない。

研究グループは、アミノ酸の一種であるL-セリン(Ser)をナノ薬物担体であるポリアミドアミン dendrimer (PAMAM(G3))(用語説明参照)に結合させたSer修飾PAMAM(Ser-PAMAM)(図2)がマウス静脈投与後に選択的に腎臓に集積することを見出した。Serは生体由来成分であり、物性もよく知られていることから、従来の腎臓標的化素子と比較して、安全性や合成の簡便さなどの点において優位性があると考えられる。そこで研究グループは、マウスにおけるSer-PAMAMの体内動態を詳細に検討することでSer-PAMAMの腎臓標的型薬物担体としての有用性を評価するとともに、薬物の腎臓標的化の応用例として、Ser-PAMAMを利用したカプトプリル(アンギオテンシン変換酵素阻害剤)の腎臓標的化について検討した。また、対照として、Serと同様に側鎖に水酸基を有するアミノ酸で、アルコール性水酸基を持つL-スレオニン(Thr)とフェノール性の水酸基を有するL-チロシン(Tyr)をPAMAMに結合させたThr-PAMAMとTyr-PAMAMも同時に作製し、体内動態について同様に評価した。

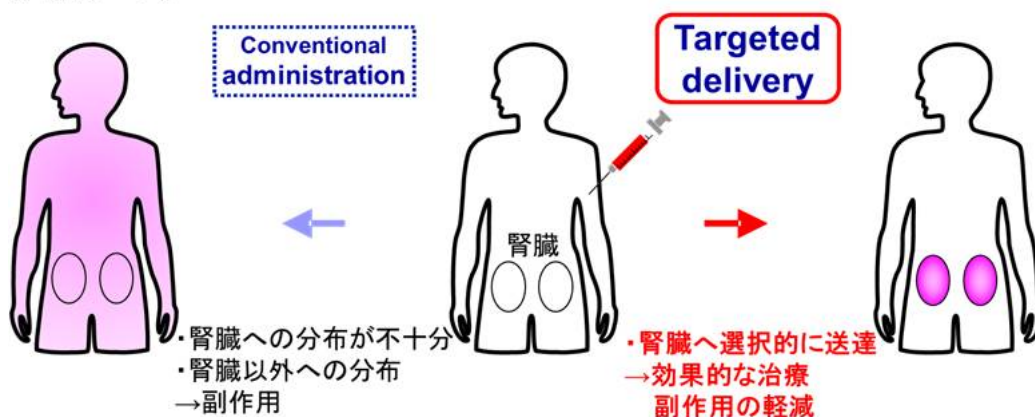


図1 薬物の腎臓標的化の概念

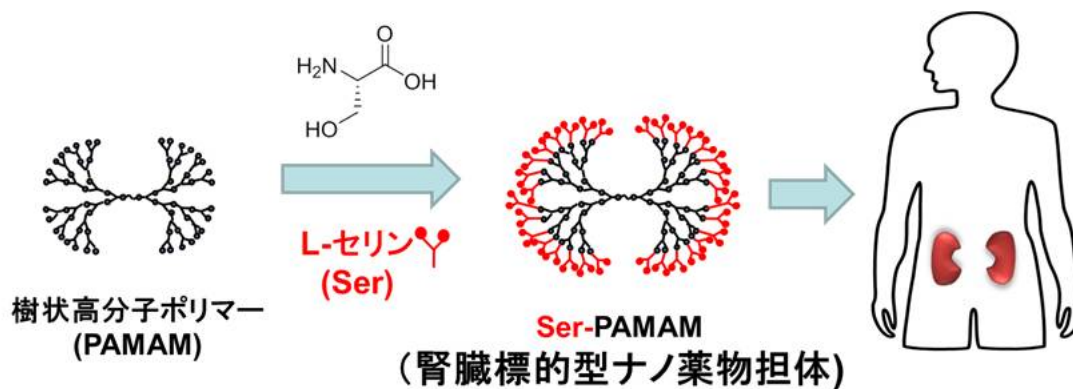


図2 セリン修飾による薬物担体の腎臓標的化

【研究成果】

^{111}In 標識を施した Ser-PAMAM、Thr-PAMAM、Tyr-PAMAM 及び未修飾 PAMAM のマウス静脈内投与後の体内動態を評価したところ、Tyr-PAMAM は未修飾 PAMAM と同様に、肝臓及び腎臓へ集積し、腎臓選択性は乏しい結果となった。また Thr-PAMAM は選択的に腎臓へ移行したものの、その移行性は 34.9% であり、Ser-PAMAM に比べて低かった。一方、Ser-PAMAM の腎臓移行率は 81.7% を示し最も高い腎臓移行性を示した (図 3)。さらに、近赤外蛍光標識 Ser-PAMAM を投与したマウスの IVIS 画像や ^{111}In 標識 Ser-PAMAM を投与したマウスの SPECT/CT 画像からも Ser-PAMAM が腎臓選択的に分布する様子が観察された (図 4)。以上のように、Ser-PAMAM が腎臓への高い移行性及び選択性を示したことから、Ser 修飾は腎臓標的化素子として有望であると考えられた。

そこで次に、フルオレセインイソチオシアネート (FITC) 標識 Ser-PAMAM をマウスに投与した後の腎臓内分布の詳細について検討した。すなわち、FITC 標識 Ser-PAMAM をマウスに静脈内投与した後の腎臓組織切片画像を蛍光顕微鏡で観察したところ、髄質からは FITC 由来の蛍光が観察されなかったのに対して、皮質部分から FITC 由来の強い蛍光が観察された。皮質部分を拡大した顕微鏡像において、近位尿細管から強い蛍光が観察されたことから、Ser-PAMAM は、主に近位尿細管に分布していることが明らかとなった。近位尿細管は腎細胞がんや慢性腎不全の発症部位であることから、Ser-PAMAM は腎臓疾患治療に有利な腎臓内分布を示したと考えられる。さらに、LLC-PK1 細胞 (ブタ由来近位尿細管上皮細胞株) を用いて各種阻害剤存在下における Ser-PAMAM の細胞内取り込みなどを評価することにより、Ser-PAMAM の腎臓への取り込み機構の一端も明らかにした。

最後に Ser-PAMAM を利用した薬物の腎臓標的化の応用例として、アンギオテンシン変換酵素阻害剤であるカプトプリル (CAP) の腎臓標的化ならびに腎臓におけるアンギオテンシン変換酵素阻害活性を評価した。Ser-PAMAM のアミノ基末端にリンカーを介して CAP を結合させた Ser-PAMAM-CAP を作製し、マウスにおける CAP の体内動態を評価したところ、CAP が効率よく腎臓へ移行することが確認された。Ser-PAMAM-CAP 投与後の腎臓中アンギオテンシン変換酵素阻害効果は、CAP 単独投与による阻害効果と比較して持続的であり、Ser-PAMAM を利用した CAP の腎臓標的化の有用性が示された。

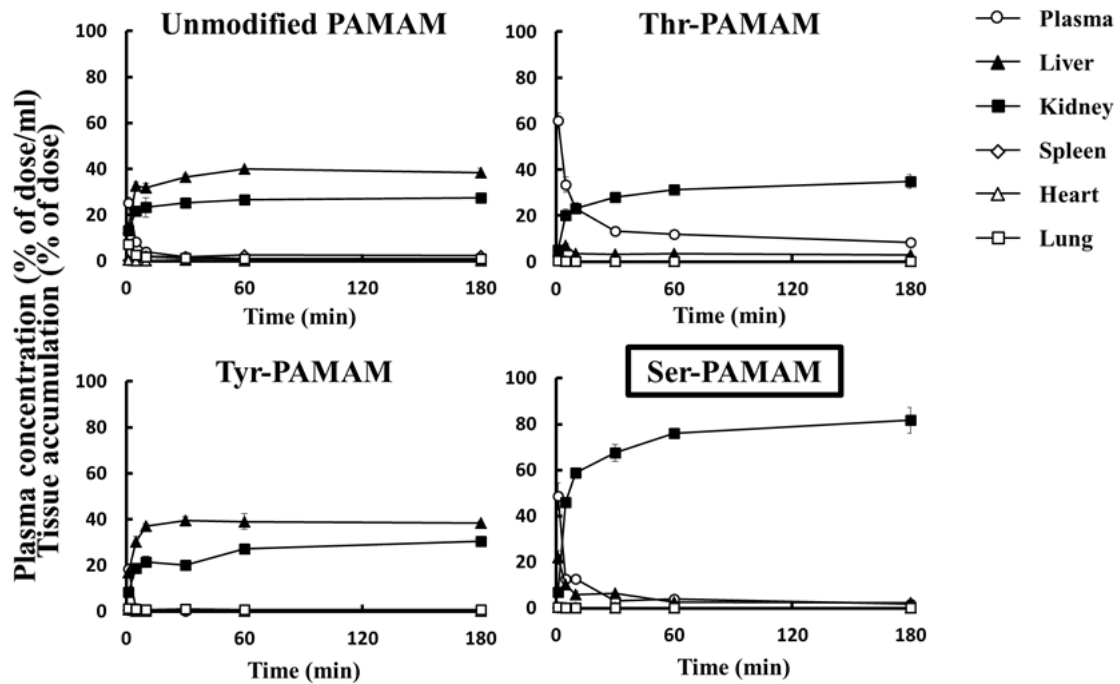


図3 各種アミノ酸修飾 PAMAM のマウスにおける体内動態
 Unmodified PAMAM; 未修飾 PAMAM、Thr-PAMAM; スレオニン修飾 PAMAM
 Tyr-PAMAM; チロシン修飾 PAMAM、Ser-PAMAM; セリン修飾 PAMAM
 Plasma; 血漿、Liver; 肝臓、Kidney; 腎臓、Spleen; 脾臓、Heart; 心臓、Lung; 肺

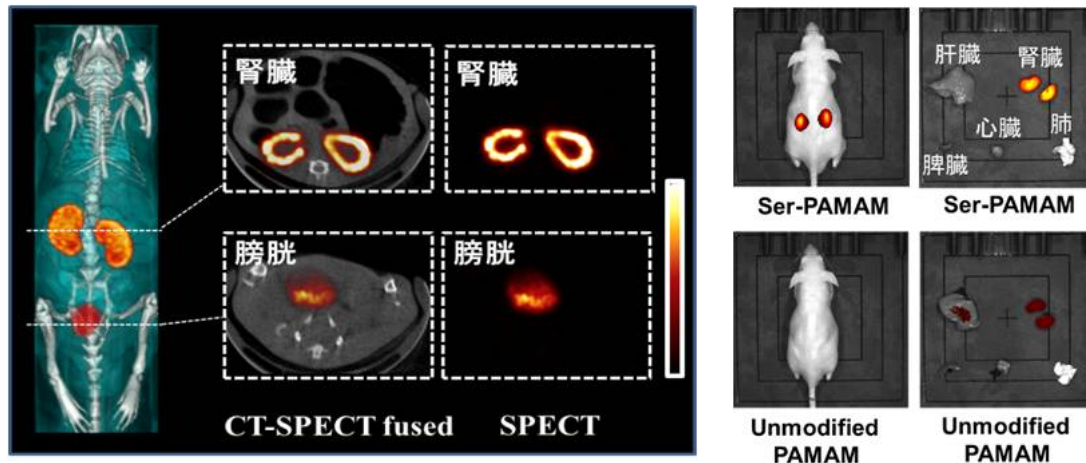


図4 マウス静脈内投与後の Ser-PAMAM の体内動態
 (左) ^{111}In 標識 Ser-PAMAM の SPECT/CT 画像
 (右) 近赤外蛍光標識 Ser-PAMAM の IVIS 画像
 Ser-PAMAM; セリン修飾 PAMAM、Unmodified PAMAM; 未修飾 PAMAM
 (SPECT/CT 画像は国立循環器病研究センターとの共同研究の成果)

【今後の展望】

セリン修飾による腎臓標的化は PAMAM 以外のナノ薬物担体にも応用できる可能性が高い。セリン修飾ナノ薬物担体の利用により、慢性腎不全や腎細胞がん治療の薬物治療・診断の大幅な改善及び副作用軽減が期待される。抗がん剤などの治療薬や診断薬をナノ薬物担体に搭載すれば、慢性腎不全や腎細胞がん治療・画像診断、セラノスティクス (治療と診断を同時に実施するシステム) にも利用できると考えられる。今後は、セリン修飾による腎臓標的化を新 DDS 技術として製薬メーカーとの共同開発に広げる意向である。

※用語説明

デンドリマー：

樹状ポリマーであるデンドリマーは、枝分かれ構造を持ち、分子中心から対象構造を持つ球状分子である。デンドリマーは、「core」「interior」「surface」の3つの要素から構成されており、その分子特性は、それぞれの要素の成分と世代 (G) により決定される (図5)。

デンドリマーには、1) 分子サイズを正確に制御できる、2) 分子量分布を持たず均一性に優れている、3) 表面に多数の反応点があり化学修飾が容易であるなどの利点があることから、核酸医薬品、低分子薬物、診断薬の担体や光化学療法用の光増感剤への応用が期待されている。1985年に Tomalia らによりポリアミドアミンデンドリマーが合成されて以来、構造が異なる 100 種類以上の構造的に異なるデンドリマーが報告されている。

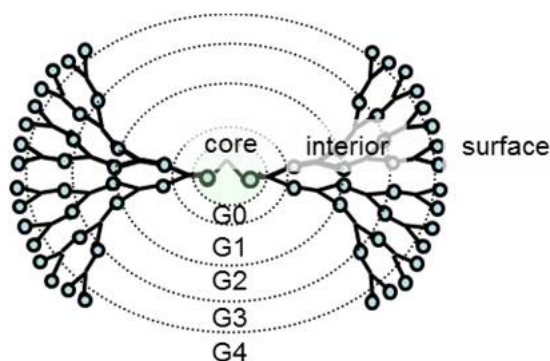


図5 デンドリマー模式図

【発表雑誌】

雑誌名：

Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)

発表タイトル：

L-Serine-modified polyamidoamine dendrimer as a highly potent renal targeting drug carrier

著者：

Satoru Matsuura^{a,1}, Hidemasa Katsumi^{a,1,2}, Hiroe Suzuki^a, Natsuko Hirai^a, Hidetaka Hayashi^a, Kazuhiro Koshino^b, Takahiro Higuchi^{b,c}, Yusuke Yagi^d, Hiroyuki Kimura^d, Toshiyasu Sakane^a and Akira Yamamoto^a

著者所属：

^a Department of Biopharmaceutics, Kyoto Pharmaceutical University, Yamashina-ku, Kyoto 607-8414, Japan

^b Department of Bio-Medical Imaging, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, 565-8565 Osaka, Japan

^c Department of Nuclear Medicine, Wuerzburg University, 97080 Wuerzburg, Germany

^d Department of Analytical and Bioinorganic Chemistry, Kyoto Pharmaceutical University, Yamashina-ku, Kyoto 607-8414, Japan.

¹ These authors contributed equally as first author

² Corresponding author