

論文内容の要旨

博士論文題目 ヒト3次元培養角膜上皮を用いた点眼剤の吸収促進剤
としての細胞透過性ペプチドの探索研究

氏 名 諸藤 遼

(論文内容の要旨)

細胞透過性ペプチド (CPP) は、細胞の能動輸送経路によって能動的に細胞内に取り込まれる性質を有し、様々な臓器への薬物吸収を促進させ、医薬品開発の成功確度を高めることに貢献できる可能性がある。点眼剤は眼疾患治療の剤型として汎用されているが、眼のバリア機能のために薬物の角膜吸収は制限され、低いバイオアベイラビリティは点眼剤開発にとって大きな課題である。角膜の吸収促進剤は長年研究されているが、角膜構造に影響して受動拡散を高める吸収促進メカニズムの特性上、安全性リスクから実用的な吸収促進剤は未だ見つかっていない。本論文では、受動拡散ではなく能動輸送をメカニズムとした新しい吸収促進剤として CPP の可能性に着目し、溶解型および懸濁型点眼剤の吸収促進剤としての可能性を探索することを目的としている。

第1章では、眼疾患治療のための医薬品開発の現状と課題とともに、既報の角膜吸収促進剤の特性を考慮した上で CPP の眼科への適用可能性について述べている。

第2章では、溶解型点眼剤への CPP の適用可能性について示された。ヒト3次元培養角膜上皮を用いた薬物の角膜移行性と細胞障害性の同時評価系が新たに考案され、薬物と CPP のコンジュゲートにおいて有意に角膜移行性が高まることが示された。さらに、薬物と CPP を物理混合させたのみでも角膜移行性が高まることが初めて示され、異なる電荷を持つモデル化合物の角膜移行性と表面プラズモン共鳴で定量した Affinity index に相関があることが明らかとなった。また、他臓器で有用性が報告されている CPP のスクリーニングにより、ペネトラチン (PNT) が細胞障害性を起こすことなく最も強い吸収促進効果をもたらすことが明らかとなり、ウサギ摘出眼球においても同様の効果が示された。以上より、PNT が溶解型点眼剤のための吸収促進剤として有用であることが明らかとな

った。

第3章では、懸濁型点眼剤への PNT の応用可能性が検討され、蛍光ポリスチレンマイクロスフィアによる粒子径と表面電荷の影響を明らかにするとともに、低温条件やエンドサイトーシス阻害剤を併用した吸収メカニズム解析を行い、PNT による粒子の角膜移行には直接膜透過ではなくエンドサイトーシスが寄与することが示された。本結果に基づいて、臨床利用されているレバミピド懸濁点眼剤への PNT の適用が検討され、豚摘出眼球を用いた角膜移行性評価において、レバミピドの角膜移行性が高まることに加え、PNT の添加による粒子径増加と吸収促進効果の減弱が生じることから、PNT の添加量には至適範囲の存在が示唆された。PNT の保管安定性の結果と併せて、懸濁型点眼剤の吸収促進剤としての有用性が示された。

第4章では、本論文の総括および今後の展望が示されている。

以上のように、本論文では新しいメカニズムを持つ角膜吸収促進剤としての CPP の可能性が示され、溶解型および懸濁型点眼剤のいずれにも適用可能な CPP として PNT が提案された。本結果は点眼剤開発における新たな知見を提供するとともに、点眼剤開発の成功確度向上に貢献するものである。

氏 名	諸藤 遼
-----	------

(論文審査結果の要旨)

細胞透過性ペプチド (CPP) は、細胞の能動輸送を利用した新たな吸収促進剤として着目されており、点眼剤のバイオアベイラビリティを高めることで開発の成功確度の向上に貢献できる可能性がある。角膜吸収促進剤は長年研究されているが、吸収促進メカニズムの特性上、安全性のリスクがあり実用的な吸収促進剤は未だ見つかっていない。本論文では、受動拡散ではなく能動輸送経路による新たなメカニズムを持つ角膜吸収促進剤としての CPP の可能性が探索された。本論文で得られた成果は以下の通りである。

1. ヒト 3 次元培養角膜上皮を用いた新たな評価系を考案し、薬物と CPP のコンジュゲートに加え、物理混合でも角膜移行性が促進されることを示した。物理混合では負電荷をもつ化合物の角膜移行性が高まることが分かり、表面プラズモン共鳴による相互作用解析において角膜移行性の改善と相互作用には一定の相関が見られ、薬物が CPP と相互作用して近傍に存在することにより CPP の細胞への能動輸送に伴って薬物の移行性が高まる可能性が示された。CPP のスクリーニングでは、ペネトラチン (PNT) に高い忍容性と吸収促進効果があり、溶解型点眼剤の新たな吸収促進剤としての可能性が明らかになった。

2. PNT の懸濁型点眼剤への応用可能性を蛍光ポリスチレンマイクロスフィアにより評価した。粒子径と表面電荷の影響および低温条件とエンドサイトーシス阻害剤を併用した吸収メカニズムの評価により、PNT は粒子の角膜移行を能動輸送経路によって促進させることを明らかにした。レバミピド懸濁点眼剤でも細胞障害性を起こすことなくレバミピドの角膜移行性が向上することを定量的に示し、PNT の添加量による粒子径への影響や PNT の保管安定性の結果と併せて、PNT は懸濁型点眼剤の角膜吸収促進剤としても有用であることを示した。

以上のように、本論文では溶解型および懸濁型点眼剤の吸収促進剤としての CPP の有用性を示し、CPP と薬物との存在状態や相互作用および懸濁粒子の粒子径の重要性を明らかにした。本研究成果は点眼剤開発における新たな知見を与えるものであり、薬学分野および生命科学分野の研究として高く評価でき、学術的に大きな意義がある。よって、審査委員一同は本論文が博士 (工学) の学位論文として価値あるものと認めた。