

## 《若手研究者紹介》



## 分子製剤学的評価法の医療薬学分野への応用を目指して

内 野 智 信\* Tomonobu Uchino

静岡県立大学薬学部臨床薬剤学分野

## 1. はじめに

私が「研究」を始めてから、約13年が経過しました。学部の最初のころは学生実習で行う内容が「研究」だと思っていたので、その「研究」に魅力を感じていませんでした。また、両親が共に薬剤師であることから、自分も学部を卒業後は大学院進学せず、すぐに病院薬剤師になりたいと思っていました。ひょんなことから、研究の楽しさを知り、研究に身を投じ博士課程を修了後、臨床現場に出て、また現在研究の道に戻ってくることとなりました。「若手研究者紹介」ということですので、私が学生時代から行ってきた研究のことだけでなく、各ステップで臨床現場で体験したこと、思っていたことなどを書き連ねていきたいと思います。これまでの「若手研究者紹介」とは異なった趣向かもしれませんが、気軽に読んでいただければと思います。

## 2. 学 生 時 代

## 2.1 学部学生時代

私は学部を昭和薬科大学で過ごしましたが、冒頭で述べたように、学部の3年生くらいまでは将来自分が研究を続けるということを全く考えていませんでした。学部3年の後期の実習で「研究」って面白いかもかもしれないと思い始め、研究室を選択する3年

\*1997年昭和薬科大学薬学部卒（薬剤学研究室）、2002年千葉大学薬学部薬学研究科・総合薬品科学専攻博士課程（後期）修了（製剤工学研究室）。同4月より東京大学医学部附属病院薬剤部助手、2004年4月より同助教（2007～2008年にオランダ・ライデン大学に留学）を経て、2009年10月より現職、講師。連絡先：〒422-8526 静岡市駿河区谷田52-1 E-mail: uchinot@u-shizuoka-ken.ac.jp

後期には、「せっかくやるからには」と学内で非常にアクティブに研究を行っていた当時松本光雄教授が主宰する薬剤学研究室を選択しました。その他のスタッフには渡邊善照先生（現教授）、藤井まき子先生（現准教授）、松本宜明先生（現日大教授）、宇都口直樹先生（現帝京大教授）がいらっしゃいました。各先生方の専門テーマが異なるため、薬剤学研究を非常に広範囲に勉強できたこと、現在も各大学で活躍されている先生方に直接指導していただいたこと、また、私の千葉大の大学院進学の希望に対して快諾してくださったことは、私が薬剤学研究室を選択して非常に幸運だったと思います。

## 2.2 修士・博士時代

昭和薬科大・薬剤研に所属してから、すっかり「研究」の魅力にはまってしまった私は、他大学の大学院進学を希望し、運よく千葉大学薬学部薬学研究科の山本恵司教授の主宰する製剤工学研究室に修士学生として進学することができました。

当時の研究室には山本教授、小口敏夫助教授（現山梨大医学部附属病院薬剤部長・教授）、米持悦夫助手（現東邦大准・教授）、また後に大学教員になられた戸塚裕一さん（現岐阜薬大・准教授）、井上裕さん（現城西大・助教）、深水啓朗さん（現日大・講師）らが在籍していました。その他にも多くの方々が研究室を来訪され、一緒に研究を行っていくことで輪が広がっていきました。私が滞在していた期間だけでも、当時帝京大・助手の森部久仁一さん（現千葉大学・准教授）や明治製菓・太田真人さん、杏林製菓・伊藤弘一さんを始め様々な方と出会う機会がありました。

山本研では、研究発表や文献発表を行う教室全体

のセミナーのほかに「物理化学」や「粉末X線回折」,そして,山本先生が直接指導される「英語セミナー」がありました。

当時教室セミナーは日本語で行っていた(今は英語で行っていると聞いています。)のですが、「なぜ?」そう思うのか、「どうしてそういう結論が言えるのか?」といった研究の本質的な部分についてはよく先生方から質問をしていただいた気がします。こうした質問に対応できるようにあらかじめ勉強していくことで,学会で発表しても質疑応答に対応できるようになっていったのではないかと思います。

また,当時私にとって山本研が非常にセンセーショナルだったのは,非常に多くの留学生や外国人研究者が山本研に来訪したことです。特に,中国やタイ王国からの留学生(短期を含む)や大学教員の来訪は非常に多く,測定室から研究室に戻った際には日本語以外の言語が聞こえていたりして非常に驚かされました。また,こうした方々と一緒に研究生活を過ごしていくことで,研究のことだけでなく,自然と海外の文化に触れることができたことは,当時は文化の違いを痛感したりと大変な思いもしましたが,今思ってみるとなかなか得られない貴重な経験だったと思います。

千葉大時代の私は「直鎖アミロースの薬品包接メカニズム」に関する研究を分子製剤学的な手法を用いて行っていました。当時から包接化合物というとグルコースが環状に結合した「シクロデキストリン」が有名でしたが,山本研ではその材料となっているグルコースが $\alpha$ -1,4結合した「アミロース」の包接能に注目していました。天然では,アミロースは図1-(a)で示されるような構造をしています。図1-

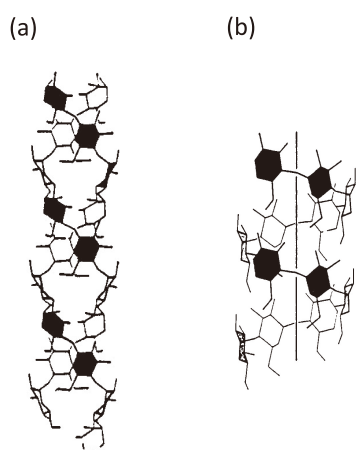


図1 アミロースの構造 (a) B型(天然型), (b) V型

(b)で示されるV型のアミロースはヘリックス構造を持ち,そのヘリックス内に,ヨウ素など様々な分子を包接することが報告されています。このV-アミロースとヨウ素の包接化合物は,小学校の理科の授業でも取り扱われる有名な「ヨウ素—でんぷん反応」として知られています。

当時アミロースはでんぷんにアミラーゼを使用し製造されていましたが,この手法では $\alpha$ -1,6結合の残った分子が存在する crudeなものという位置づけでした。幸い,山本研では中塾酢店から酵素合成された完全直鎖のアミロースの入手に成功し,私が在籍した際には,密封加熱法によりすでにその直鎖アミロースの薬品包接能については確認されていました。そのため,私はその次のステップとしてその薬品包接化のメカニズムについて検討しました<sup>1-3)</sup>。

その結果,ゲスト分子にサリチル酸誘導体を用いた場合,ゲスト分子の構造によりアミロースのヘリックス構造が1ヘリックス中にグルコース残基を6個を含んだ $6_1$ -ヘリックス構造から7および8個含んだ,ヘリックス構造に変化し,その分子の大きさによってヘリックス構造が決定されること,サリチル酸の系だけが,サリチル酸含量によって $7_1$ および $8_1$ -ヘリックスの二つのヘリックス構造をとることを明らかにしました(図2)。

また,密封加熱による薬品包接化のメカニズムとしては,系の水分含量がアミロースのヘリックス構造変化に関係していることやゲスト分子の蒸気圧が包接化速度に関与していることから一度気相を介して包接化が起こるものと推察されました。さらに,IRや固体NMRの結果から,アミロースに包接され

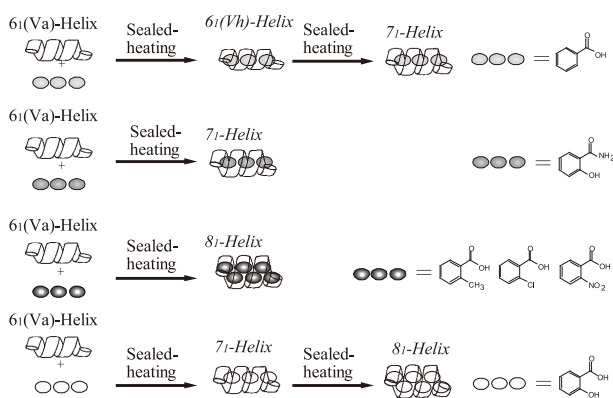


図2 サリチル酸誘導体をゲストに用いた際のアミロースのヘリックス構造の変化(のちに,戸塚らによって $6_1$ (Vh)-ヘリックスにはゲストが包接されていないことが示された。)

たゲストは、ヘリックス内で水素結合をしているものと推察され、結晶状態のゲストと比べて著しくベンゼン環の分子運動性が増大していることも認められました。私としては非常に興味深い知見が得られたことも満足していますが、種々の問題もあったことを記憶しています。特に覚えているのは、博士課程進学時に原料の中壱酢店がアミロースの生産を中止し、入手不可能になるという問題が発生し、テーマの変更なども視野に入れていたことです。幸い、後に江崎グリコ(株)・鷹羽さんから完全直鎖アミロースを供与していただくことができ、この研究をつづけることができました。こうした研究を通してお世話になった山本先生を始め教員の先生、先輩、後輩、そして企業の方々とは今でも私自身が疑問にぶつかった際に質問させていただいたりと非常にお世話になっています。また、この山本研で学んだ「分子製剤学」が私の研究のバックボーンとなっています。

### 3. 東京大学医学部附属病院薬剤部時代 (1)

博士課程終了後には、東京大学医学部附属病院薬剤部(東大病院薬剤部)に助手(後に助教)として就職することができました。昭和薬科大学卒業時に無事に国家試験は通過し、薬剤師免許は取得していたのですが、大学院の5年間は臨床経験どころか薬剤師としての経験はなかったので、薬の商品名もわからず初めは非常に苦労しました。当時私と一緒に日当直をされた先生方は、きっともっと大変だったのだらうと思います。東大病院では、病院薬剤師としての業務を多少こなせるようになったころから少しずつ研究を始められるようになりましたが、日常の薬剤師業務に追われ、平日はほとんど研究する時間がとれずにいました。しかし、臨床現場のなかで薬剤師として仕事をしていく中で千葉大学で培った論理科学的な思考は、いろんな場面で役立つと思っています。また、薬剤部内でいくつか院内製剤の新規開発に携わらせていただきました。結局、自分が開発に携わった院内製剤はパイロットスタディーにとどまり、東大病院で深く臨床導入されるまでにいたるものはできませんでした。しかし、院内製剤の現状・考え方、また臨床医や患者のニーズなどを院内製剤に取り入れるために、医師とディスカッションを重ねていくことなどの必要性などを学ぶこと

ができたことは、非常に大きいと感じています。

### 4. オランダ・ライデン大学時代

2007年の11月から、東大病院薬剤部の薬剤長・教授の鈴木洋史先生から1年間ライデン大学内にあるLeiden/Amsterdam Center for Drug Research, Drug Delivery TechnologyのDr. Bouwstraのラボに留学させていただくチャンスをいただきました。留学先としてDr. Bouwstraのラボを選んだのは、いくつか理由がありました。それは、東大病院で形成外科のドクターと院内製剤に関する共同研究をしていて、経皮吸収製剤に興味があったこと、Dr. Bouwstraが界面活性剤からなる薬物封入ベシクルの経皮吸収性に関する研究を行っており、こうしたベシクルを院内製剤に応用できないか思ったこと、またDr. Bouwstraのラボでの経皮吸収実験はヒト皮膚で行っていることから、ヒトの皮膚の取り扱いについて勉強できないかと思ったことです。また、論文をみる限りDr. Bouwstraのラボではベシクルの物性評価に関してはほとんど行っていなかったもので、私自身のバックグラウンドである製剤の物性評価行い、経皮吸収に関する知識を学ばせてほしいというメールを彼女に送ったところ、こころよい返事が返ってきて1年間滞在することができました。その一部を紹介します。

ベシクルにモデル薬物であるケトロラックを封入した場合、 $^1\text{H-NMR}$ の結果からベシクルのbilayer中で薬物とベシクルは相互作用していること、その相互作用により、薬物の運動性が低下していること、ベシクルの弾性にトラップされたケトロラックの運動性が依存していることを明らかにしました。ベシクルに薬物を封入することにより薬物の安定性が增大することなども認められました(図3, 4)<sup>4)</sup>。

また、ヒト皮膚を用いた経皮吸収実験の比較実験から、界面活性剤からなるベシクルにケトプロフェンを封入した方がTransfersome<sup>®</sup>という経皮吸収用リポソームよりケトプロフェンの皮膚透過性がよいことなども明らかとなりました(未発表データ)。

オランダに滞在する前はあまり知らなかったのですが、Drug Delivery TechnologyのラボはDr. BouwstraのほかにもDr. JiskootというProtein Formulation Researchを行っている教授がいました。私にとってよかったのは経皮吸収に関する知識を学べた

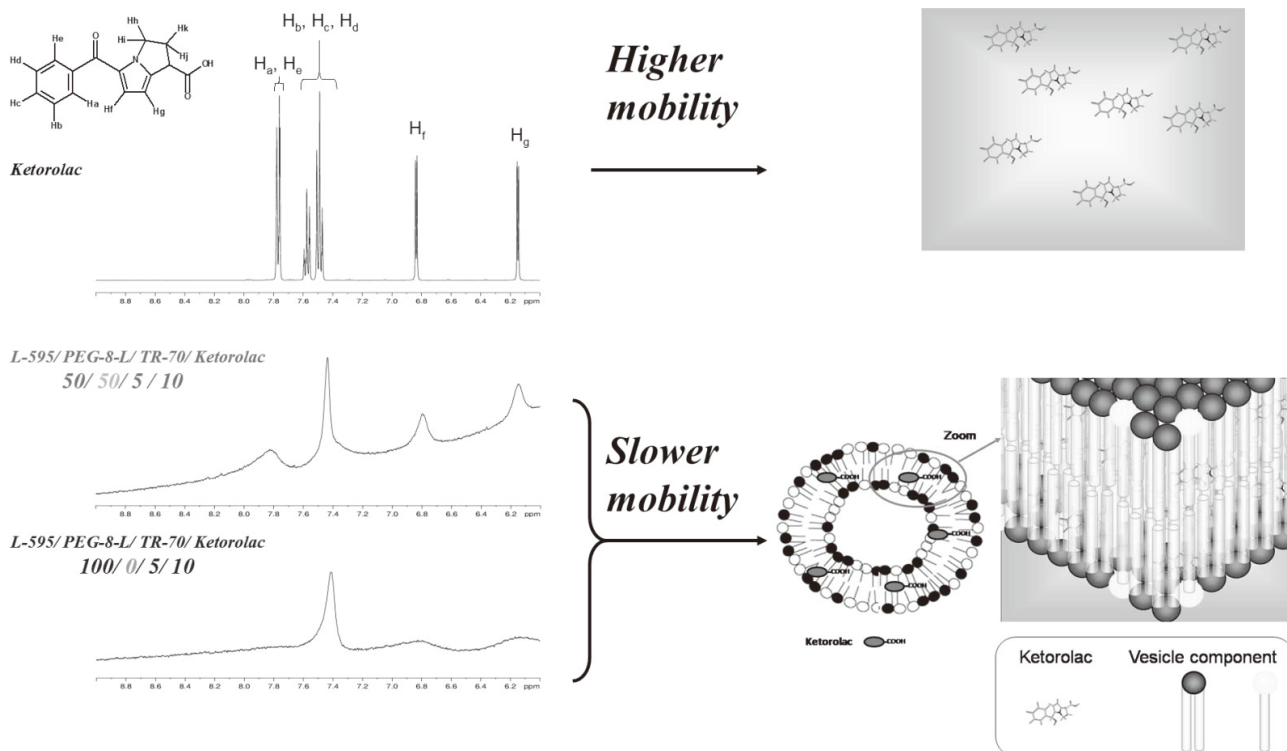


図3 CD<sub>3</sub>OD および界面活性剤からなるベシクル溶液中のケトロラックの<sup>1</sup>H-NMR スペクトル

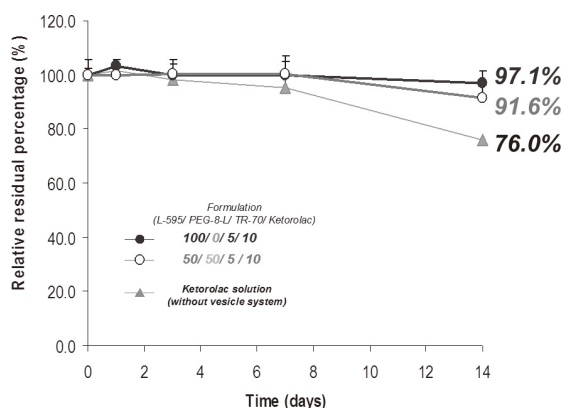


図4 水溶液およびベシクル溶液中のケトロラックの相対残存率の変化

ことももちろんありますが, Dr. Jiskoot から Protein Formulation に関する知識も同時に吸収できたことは非常に大きかったと思います。滞在中は英語力のなさを痛感する日々でしたが, Dr. Bouwstra や Dr. Jiskoot を始め, 非常に多くのことを学ぶことができました。また Drug Delivery Technology のラボは当時 30 人くらいいたのですが, オランダ人はそのうち 10 人くらいで私を始め, 多くの外国人が滞在していました。滞在中はオランダ以外にもいろいろな国の文化や考え方に触れることができ, 非常に多くの友人ができたことも非常に貴重な経験でした。

## 5. 東京大学医学部附属病院薬剤部時代 (2)

オランダから帰国した後, 再び東大病院の助教として臨床現場に復帰しました。留学中は全く臨床経験はなかったのですが, 外来化学療法室の主任を兼務するという重責を担うこととなり, あっという間に日本, そして臨床のせわしなさに戻ったことを痛感しました。

しかし, 外来化学療法室におけるバイオ医薬品投与の実情をこの目で見て, Dr. Jiskoot がバイオ医薬品に含まれるたんぱく質由来の凝集体が生体の免疫反応を惹起するというのを強く言っていたのを思い出し, その重要性を感じ, 同時に日本では, 特に臨床でバイオ医薬品の凝集体に関する知見自体が認識されていないことを痛感しました。

以前より, 急性リンパ性白血病で使用する L-アスパラギナーゼは, 凍結乾燥製剤であり薬剤師によって調製を行っていたところ, 懸濁物がみられるということが認められていました。東大病院では, L-アスパラギナーゼは小児を対象に皮下注射される投与方法もあり, アナフィラキシーも多いということから, 皮下注射される濃度で調製を行い, フロー式粒子像分析装置 FPIA3000 で分析したところ, 非常に多くの凝集体が観察されました (図5)<sup>5)</sup>。



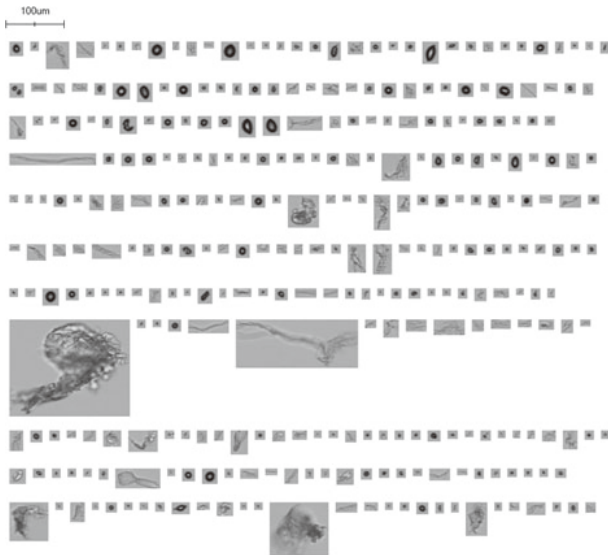


図5 L-アスパラギナーゼ注射剤中に含まれるたんぱく質凝集体

これらの凝集体を捕集し、顕微ラマン分光法により分析したところ、これらはL-アスパラギナーゼ由来であることが認められました。これらの凝集体の生成数は条件により変化が認められました。特に、注射剤調製時の振とうや調製に使用する注射シリンジ内のシリコンオイルなどにより凝集化が促進されることが明らかになりました。

現状ではシリコンオイルフリーの注射シリンジは日本では医療用として販売されておらず、また皮下注射ということでインラインフィルターを使用することも難しいため、過度な振とうを避けることが短期的な対応策と思いますが、実際難しい面も存在します。抗体製剤などでも、同様の現象がみられることから、バイオ医薬品に関しては、シリンジに含まれるシリコンオイル対策が望まれると考えています。

## 6. 静岡県立大学薬学部臨床薬剤学分野

2009年10月より、賀川義之教授の主宰する静岡県立大学臨床薬剤学分野のメンバーの一員となりました。静岡県立大学では薬学部5年生の30名程度

の実務実習を静岡県立総合病院で行い、その実務実習を我々教員が主導で行っています。私もそのメンバーの一人として、また、研究者として研究・教育・実習にと静岡県立大学と総合病院を日々行き来しています。現在1年余りが経過したが、ここではライデン大学で行っていた薬物封入ベシクルに関する研究やバイオ医薬品の凝集体に関する研究を展開し始めています。

## 7. おわりに

今回このような執筆の機会をいただき、原稿を書くために自分の研究を振り返ってみると、非常に多くの施設に滞在し、行く先々で多くの方の指導のもとで今日の私があるのだと改めて痛感しました。タイトルは壮大なものをつけさせていただきましたが、私自身現在この研究者紹介のタイトルの通りのができていないこと痛感しています。今後は、臨床現場の視点を交えて、できるだけ臨床と基礎をつなげられるような研究を展開し、このタイトルに近づければと考えています。特に、東大病院で習得した院内製剤の知識を基礎研究につなげていき、患者治療に直接貢献できればと思う次第です。

## 引用文献

- 1) T. Uchino, Y. Tozuka, T. Oguchi, K. Yamamoto, The change in the structure of amylose during the inclusion of 2-naphthol in sealed-heating process, *J. Incl. Phenom.*, **39**, 145–149 (2001).
- 2) T. Uchino, Y. Tozuka, T. Oguchi, K. Yamamoto, Inclusion compound formation of amylose by sealed-heating with salicylic acid analogues, *J. Incl. Phenom.*, **49**, 31–36 (2002).
- 3) 内野智信, 戸塚裕一, 崔 偶植, 小口敏夫, 山本恵司, 密封加熱による直鎖アミロースへの安息香酸類の包接化学動, *薬剤学*, **62**, 58–66 (2002).
- 4) T. Uchino, F. Lefeber, G. Gooris, J. Bouwstra, *Int J. Pharm.*, submitted
- 5) 内野智信, 本田英博, 柳原良次, 高橋昌広, 吉森孝行, 小松 守, 櫻井智宏, 賀川義之, 鈴木洋史, 日本薬剤学会第25年会要旨集, 165 (2010).