

細胞型人工酸素運搬体ヘモグロビン小胞体の 体内動態特性解析に基づく安全性及び有効性評価

生命薬科学専攻 医療薬学講座 薬物動態制御学分野 田口 和明

現行の献血に依存した血液供給体制では、医療現場における血液製剤の安全性及び安定供給の確保は最重要課題の一つであり、この問題を克服するために、人工酸素運搬体の開発が急がれている。ヘモグロビン小胞体 (HbV) は直径約 250 nm の均一な粒径のリン脂質二分子膜より構成される小胞体中に、ヒト赤血球由来ヘモグロビン (Hb) を内包させたポリエチレングリコール (PEG) 修飾細胞型人工酸素運搬体である。これまでに、HbV の有用性は数多くの前臨床試験 (薬理試験, 製剤試験等) において確認されているものの、体内動態に関する情報は不足している。

そこで本研究では、HbV の体内動態特性の基盤情報の構築及び臨床使用を想定した適用疾患 (肝疾患, 出血性ショック) 時における体内動態特性を解明することにより、HbV の安全性・有効性を評価した。

以下に、得られた知見を要約する。

1. ヘモグロビン小胞体 (HbV) 構成成分の体内動態解析

健常ラットに HbV の内部 Hb をヨウ素 (^{125}I) 標識した ^{125}I -HbV 及び脂質膜をトリチウム (^3H) 標識した ^3H -HbV を臨床推奨量 (1400 mg Hb/kg) で投与した結果、 ^{125}I -HbV 及び ^3H -HbV の血漿中濃度推移はほぼ一致し、HbV は小胞体構造を保持したまま血中に滞留することが確認された。また、両標識体ともに主要分布臓器は肝臓及び脾臓であることが示された。さらに、HbV は分解された後、内部 Hb は速やかに臓器中から消失し、7 日以内に尿中へ排泄されるのに対して、脂質膜成分は 14 日以内に糞中へ排泄された。加えて、マウス、ラット、ウサギの体内動態結果に基づき、ヒトにおける HbV の半減期をアロメトリック式より算出したところ、約 3-4 日と予測された。

2. 肝機能低下時における HbV の体内動態特性の検討及び安全性評価

四塩化炭素誘発慢性肝障害ラットモデルを作成し、 ^3H -HbV により、体内動態特性を解析したところ、肝機能マーカーの一つであるアスパラギン酸アミノ基転移酵素 (AST) 値と血中クリアランス、HbV の肝臓への分布量、糞中排泄量はそれぞれ負の相関関係を示した。また、AST 値は細網内皮系細胞の代謝能とも負の相関関係を示した。このような体内動態の変動により、肝疾患時には HbV による副作用の誘導が懸念されたが、HbV 投与 14 日後の血漿生化学パラメータは投与前の値と変わらなかった。加えて、肝臓、脾臓中にヘモジデリンの蓄積がみられたが、血漿及び臓器中酸化ストレスの増加は確認されなかった。以上の知見より、慢性肝障害時において HbV の体内動態は変動するが、この体内動態変動が生体へ与える影響は少なく、肝機能低下時においても HbV は十分な代謝・排泄能を保持していると考えられた。

3. 出血性ショックモデルラットにおける HbV 単回投与時の体内動態解析

40% 出血性ショックラットモデルを作成し、 ^{125}I -HbV により体内動態評価を行った。その結果、出血性ショックモデルラットでは主要分布臓器・排泄経路などの基本的な体内動態特性は健常ラットと同等であったものの、血中滞留性が減少していた。そのため、HbV の薬理効果の持続性の

減弱が懸念されたが、健常ラットに比べ、出血性ショックラットでは投与初期より臓器分布が増大し、排泄量は変化しなかった。これらの結果より、出血性ショック時に観察される血中滞留性の減少は、臓器移行性の増加に基づく、見かけの血漿中濃度の減少であると考えられた。

4. HbV による accelerated blood clearance (ABC) 現象の誘導

リポソーム製剤投与に伴い惹起される ABC 現象の有無を HbV について検討するために、マウスに非標識 HbV (0.1 or 1400 mg Hb/kg) を投与し、その7日後に標識 ^{125}I -HbV (0.1 or 1400 mg Hb/kg) を再投与した。その結果、HbV 低投与量 (0.1 mg Hb/kg) 時では、ABC 現象誘導の原因となる抗 HbV IgM の産生が確認され、初回投与時と比較して、2回目投与時には著しい血中滞留性の低下とともに、肝臓及び脾臓への有意な分布量の増大が観察され、ABC 現象の誘導が確認された。一方、HbV 高投与量 (1400 mg Hb/kg) 時では、抗 HbV IgM の産生は確認されたものの、血中滞留性の低下は有意に抑制された。また、抗 HbV IgM の認識部位は、HbV 脂質膜構成成分の PEG であった。以上より、臨床推奨量 (1400 mg Hb/kg) で HbV を頻回投与しても、見かけ上 ABC 現象は誘導されないものと考えられた。

5. 出血性ショックモデルラットにおける HbV 頻回投与時の体内動態解析

出血性ショックモデルラットを HbV (1400 mg Hb/kg) で蘇生し、その1時間後に HbV を再投与したところ、抗 HbV IgM は産生されず、2回目投与した HbV の体内動態に影響はみられなかった。一方、出血性ショックモデルラットを HbV で蘇生し、その4日後に HbV を再投与すると、抗 HbV IgM の産生、補体活性の誘導、さらには貪食活性の上昇が生じており、ABC 現象が誘導されることが明らかとなった。また、出血性ショックモデルラットを HbV で蘇生し、その7日後に HbV を再投与すると、抗 HbV IgM の産生及び補体活性の誘導は認められなかったが、貪食活性が上昇しており、ABC 現象の誘導が確認された。

6. HbV 蘇生による大腸菌増殖への影響

出血性ショックモデルラットを HbV または洗浄赤血球で蘇生し、血漿サンプルを大腸菌 ATCC 株とインキュベートしたときの大腸菌増殖率の検討を行ったところ、HbV 蘇生4日目の血漿においてのみ有意な大腸菌増殖抑制効果が確認された。興味深いことに、この大腸菌増殖抑制効果は補体価及び IgM 濃度とそれぞれ良好な相関関係を示した。また、盲腸結紮穿孔モデルを作成し、生存率・血中菌量を測定したところ、HbV 蘇生4日目群で生存率の向上及び血中菌量の減少が確認された。したがって、出血性ショック時に HbV で蘇生すると、補体価の上昇により菌増殖を抑制する可能性が示唆された。

以上、本研究において、HbV は健常時のみならず、代謝・排泄能が低下した状態や出血性ショック時においても、十分な代謝・排泄性を有しており、生体蓄積性は非常に少ないことが明らかになった。しかしながら、出血性ショック時において、繰り返し投与に伴い ABC 現象に起因する血中滞留性の低下が確認されたため、頻回投与時においてはこの点を考慮して投与設計を行う必要性が考えられた。今回得られた知見は、今まで不足していた HbV の体内動態特性を詳細に解析し、その安全性及び有効性を評価したものであり、今後、ヒトでの HbV の臨床試験に向けた至適投与設計の立案や HbV 開発の際の有用な基礎資料になるものと考えられる。