

論文の内容の要旨

論文題目 液性検体や薬剤の常温乾燥保存を目指した保存操作の設計と検体劣化の予測に関する研究

氏名 魏 霖

1. 緒言

製薬業界では、組換え DNA 技術の発展により、ここ数十年にわたって、バイオ医薬品がより重要になってきている。バイオ医薬品とは、化学合成された医薬品と異なり、ワクチン、血液、および生細胞を含む医薬品である。過去 20 年米国食品医薬品局 (FDA) に新規登録された医薬品の数によれば、2014 以降、新規登録されたバイオ医薬品の数が毎年増えており、2017 年には全体の 3 割に至っている。しかし、バイオ医薬品の構造は非常に複雑であるため、タンパク質の高次構造の崩壊や凝集などの変化が起こると、薬理作用の低下をもたらす恐れがあり、一般医薬品と同じく数ヶ月から数年にわたる長期間の安定を確保することは難しい。一方、臨床検査の検体に関しても保存の重要性が指摘される。がんなどの疾患は、より早期に見つけることが望まれているものの、がんは遺伝子の疾患であるため、遺伝子の発見に直接かかわる RNA やバイオマーカーであるタンパク質の劣化は極めて速く、分解または分子の酵素活性がなくなってしまうと測定が難しくなる。このため、これまでに有効なバイオマーカーは約 15 万種類ほど発見されているが、臨床検査では 100 種類しか実用されていない。以上より、液性のバイオ医薬品や検体の簡便かつ高品位な長期保存法が望まれている。

2. 本研究の目的

本研究では、保護物質の物性や乾燥操作が検体の保護効果に及ぼす影響を予測することを目標とし、血液検査における肝臓疾患のバイオマーカーである、LDH (Lactose Dehydrogenase) をモデル検体として、保護物質種類の選択、検体の乾燥操作、と保存後の酵素活性の経時変化の関係を明らかにして、保存プロセスを設計する手法を提案する。第 1 章緒論と第 5 章の展望を除くと、具体的な実験・解析内容は、以下の通りである。

第 2 章 保護物質水溶液にあるモデル検体の酵素活性の劣化速度と保護物質水溶液中の水分子の回転緩和時間の関係を測定

第 3 章 検体の乾燥操作に必要な過飽和保護物質水溶液の水分子輸送物性の測定

第 4 章 第 3 章で測定した物性値を用いて、乾燥操作による保護物質水溶液の含水率を物質輸送方程式より計算し、古典的核生成理論を用いてガラス化の有無を判断する数値シミュレーションの構築と検証。

3. 研究方法

本研究では、緒論である第 1 章につづいて、第 2 章において液性状態しか保存できない薬剤を保存する際に、薬剤や検体の有効期間を予測するために、誘電分光により食品安定剤として使われているタンパク質高分子、 ϵ -ポリリジン (PLL) と生体保護物質機能が非常に高い二糖類のトレハロース (TRE) の混合水溶液中の水分子の回転緩和時間を測定し、これらの保護物質水溶液中に添加したタンパク質である乳酸脱水素酵素 (LDH, 肝臓疾患の指標としてよく使われている) 活性の劣化速度との関係を比較した。測定した LDH 活性の劣化速度と水分子の緩和時間との相関を調べることで、緩和時間の測定よりタンパク質の劣化速度を予測する可能性について論じた。

常温乾燥保存による液性薬剤・検体の保存は、より多くの試料を均一なガラス化状態で乾燥させるため、乾燥過程における液体試料中の水分濃度分布を制御することが必要となる。試料中の水分分布を予測するためには、水の拡散係数が非常に重要である。第 3 章では、既存の報告がない、過飽和状態における保護物質水溶液の拡散係数の新しい測定方法を提案し、TRE と PLL について、過飽和状態でガラス化が起きるまで含水率付近までの広い領域について拡散係数を測定した。即ち、保護物質水溶液の一次元非定常乾燥系の実験を行い、赤外分光法を利用して試料中の水分濃度を計測した。測定された濃度分布と拡散方程式を用いて、過飽和濃度状態での水の拡散係数を算出する方法を新たに提案し、その妥当性を検証した。本手法は、近赤外吸収スペクトルにより水分子の水素結合状態が得られるため、水分子の水素結合状態が拡散係数に及ぼす影響についてもあわせて考察した。

最後に第 4 章において、保護物質水溶液の過飽和状態での水拡散係数を用いた、TRE 水溶液の一次元 (1D) 乾燥プロセスの数値シミュレーションを行った。提案した蒸発モデルは、気相側と液相側の両相の水の物質輸送を、界面輸送の制約も下で計算した。同モデルを用いた数値計算より、乾燥過程における TRE 水溶液中の水分濃度分布が得られ、その妥当性を実験により検証した。さらに、計算結果に基づき、古典核生成理論を利用した乾燥過程における TRE 二水和物結晶の核生成確率を計算し、乾燥中に TRE 水溶液が過飽和状態を維持できる確率を予測した。提案した乾燥モデルおよび TRE 二水和物結晶生成の予測を検証するため、乾燥した TRE 液膜中に残された水のガラス化の有無に関

する文献データと比較を行った。

4. 結果

測定した種々の保護物質水溶液の誘電緩和時間の結果より、保護物質水溶液には3種類の状態の水分子(強結合水, 弱結合水, 自由水)が存在していることが分かった。さらに, LDH 保存溶液中の水分子の回転緩和時間が長くなるほど, LDH の劣化緩和時間も長くなることが分かった。この結果より, 誘電分光方法を用いて保存水溶液の緩和時間を測定することで, タンパク質の劣化速度を予測することができることが分かった。

一次元非定常蒸発実験を行い, 新しい提案した計測手法によって各水溶液中の水拡散係数を測定した。測定結果によれば, 水の質量濃度が60wt%から30wt%に減少すると, 水溶液中の水拡散係数が1/100 近くに減少することが分かった。さらに, TRE などの二糖類水溶液と PLL 水溶液の水拡散係数は, 含水率が50wt%以上の場合にはほぼ同じであり, 50wt%以下の場合では, 水の拡散係数は, 二糖類水溶液中にある方が PLL 水溶液中の場合より急に減少する。その原因は, 赤外分光で測定された水素結合数の比から, 水分子と糖分子の間の強い水素結合により水分子の運動性が阻害されるためであると考えられた。

最後に, 測定した水の拡散係数を利用し, トレハロースが保護物質として, 水溶液の一次元非定常乾燥過程をモデル化し, 水溶液中の水分濃度を予測した。さらに, 古典核生成理論より, 乾燥過程における水溶液中に TRE 二水和物結晶物の生成確率を予測した。以上より, この予測および提案した乾燥モデルによれば, 乾燥過程における水溶液中の水分濃度分布が把握できるため, 最適な蒸発プロセスを設計することが可能となる。